

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202191377** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2021.10.11

(22) Дата подачи заявки
2019.11.15

(51) Int. Cl. *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 35/17 (2015.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)

(54) **СПОСОБЫ ДОЗИРОВАНИЯ МОДИФИЦИРОВАННЫХ СПОСОБАМИ ИНЖЕНЕРИИ Т-КЛЕТОК ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ В-КЛЕТОЧНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ**

(31) 62/768,844; 62/914,303

(32) 2018.11.16; 2019.10.11

(33) US

(86) PCT/US2019/061876

(87) WO 2020/102770 2020.05.22

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

(72) Изобретатель:

Треде Николаус Себастьян,
Альбертсон Тина, Кристин Брайан,
Йост Рэйчел К., Канг Мишель,
Ларсон Райан П., Теох Джеффри (US)

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

(57) Предусматриваются способы лечения и применения, вовлекающие введение доз модифицированных Т-клеток для лечения индивидуумов с заболеваниями и состояниями, такими как определенные В-клеточные злокачественные опухоли, и связанные с ними способы, композиции, применения и изделия. Модифицированные клетки, как правило, экспрессируют рекомбинантные рецепторы, такие как химерные рецепторы антигена (CAR). В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние представляет собой острый лимфобластный лейкоз (ALL) или неходжкинскую лимфому (NHL). В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет возраст в конкретном диапазоне, как, например, индивидуумы в возрасте 25 лет или менее, такие как педиатрические индивидуумы.

202191377
A1

202191377
A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420- 568911EA/032

СПОСОБЫ ДОЗИРОВАНИЯ МОДИФИЦИРОВАННЫХ СПОСОБАМИ ИНЖЕНЕРИИ Т-КЛЕТОК ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ В-КЛЕТОЧНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

Перекрестная ссылка на родственные заявки

[0001] Настоящей заявке испрашивается приоритет по предварительной заявке США № 62/786844, поданной 16 ноября 2018 года, под названием "METHODS OF DOSING ENGINEERED T CELLS FOR THE TREATMENT OF B CELL MALIGNANCIES", и предварительной заявке США № 62/914303, поданной 11 октября 2019 года, под названием "METHODS OF DOSING ENGINEERED T CELLS FOR THE TREATMENT OF B CELL MALIGNANCIES", содержание которых включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме.

Включение списка последовательностей посредством ссылки

[0002] Настоящая заявка подается вместе со списком последовательностей в электронном формате. Список последовательностей предоставлен в качестве файла под названием 735042019540SeqList.txt, созданного 10 ноября 2019 года, который имеет размер 34,0 килобайт. Информация списка последовательностей в электронном формате включена в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме.

Область изобретения

[0003] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способам лечения и к применениям, вовлекающим введение доз модифицированных способами инженерии Т-клеток для лечения индивидуумов с заболеваниями и состояниями, такими как определенные В-клеточные злокачественные опухоли, и связанным с ними способам, композициям, применениям и изделиям. Модифицированные клетки, как правило, экспрессируют рекомбинантные рецепторы, такие как химерные рецепторы антигена (CAR). В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние представляет собой острый лимфобластный лейкоз (ALL) или неходжкинскую лимфому (NHL). В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет возраст в определенном диапазоне, как например, индивидуумы в возрасте 25 лет или менее, такие как педиатрические индивидуумы.

Уровень техники

[0004] Различные способы иммунотерапии и/или клеточной терапии доступны для лечения заболеваний и состояний. Например, адоптивная клеточная терапия (включая способы терапии, вовлекающие введение клеток, экспрессирующих рекомбинантные рецепторы, специфические для представляющего интерес заболевания или нарушения, такие как химерные рецепторы антигена (CAR) и/или другие рекомбинантные рецепторы, а также другие адоптивные способы терапии иммунными клетками и Т-клетками) могут быть полезными при лечении заболеваний или нарушений, таких как В-клеточные злокачественные опухоли или гематологические злокачественные опухоли. Требуются

усовершенствованные подходы. Предусматриваются способы и применения, которые удовлетворяют такие потребности.

Сущность изобретения

[0005] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, такую как В-ALL или В-NHL, включая злокачественную опухоль, которая является рецидивирующей и/или рефрактерной, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее, или в некоторых случаях менее 18 лет, композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19. Такие способы и применения включают терапевтические способы и применения, например, вовлекающие введение композиций Т-клеток, экспрессирующих CAR против CD19, в эффективном количестве для обеспечения лечения заболевания или нарушения. Применение включает применение таких клеток, экспрессирующих CAR против CD19, в таких способах лечения и для получения лекарственного средства для проведения таких терапевтических способов. В некоторых вариантах осуществления способы, таким образом, осуществляют лечение заболевания, или состояния, или нарушения у индивидуума.

[0006] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ вовлекает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг) и его возраст составляет менее 18 лет, от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 килограммов (кг) или более и возраст составляет от 18 до 25 лет, включительно, от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0007] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг) и его возраст составляет менее 18 лет, от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 килограммов (кг) или

более и возраст составляет от 18 до 25 лет, включительно, от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0008] В некоторых из вариантов осуществления (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг) и его возраст составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 килограммов (кг) или более и возраст составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0009] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте менее 18 лет композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0010] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте менее 18 лет композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0011] В некоторых из вариантов осуществления (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), композицию Т-клеток

вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0012] В некоторых из вариантов осуществления, если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до 1×10^6 CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума. В некоторых из вариантов осуществления, если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до 1×10^6 CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума.

[0013] В некоторых из вариантов осуществления, если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых из вариантов осуществления, если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до 1×10^8 CAR+ Т-клеток. В некоторых из вариантов осуществления, если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых из вариантов осуществления, если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до 1×10^8 CAR+ Т-клеток.

[0014] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, включающие введение индивидууму в возрасте менее 18 лет композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0015] В некоторых из вариантов осуществления, если у индивидуума отсутствует ответ и у него не развивается токсичность ровно или приблизительно через 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34 или 35 суток после введения композиции Т-клеток; способ дополнительно включает введение индивидууму дополнительной дозы композиции Т-клеток в количестве, выбранном из следующих: (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,1 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,1 \times 10^8$ CAR+ Т-

клеток.

[0016] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, включающие введение индивидууму в возрасте менее 18 лет композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,15 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0017] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, включающие введение индивидууму в возрасте менее 18 лет композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,3 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0018] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, включающие введение индивидууму в возрасте менее 18 лет композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0019] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, включающие введение индивидууму в возрасте менее 18 лет композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0020] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, включающие введение индивидууму в возрасте менее 18 лет

композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), ровно или приблизительно $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0021] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ вовлекает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее, композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; или (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0022] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; или (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0023] В некоторых из вариантов осуществления: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0024] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, включающие введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор

антигена (CAR) против CD19, где композицию вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

[0025] В некоторых из вариантов осуществления композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

[0026] В некоторых из вариантов осуществления композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления, если индивидуум не имеет ответа и у него не развивается токсичность ровно или приблизительно через 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34 или 35 суток после введения композиции Т-клеток; способ дополнительно включает введение индивидууму дополнительной дозы композиции Т-клеток, где дополнительную дозу композиции Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,1 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,1 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,15 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,3 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

[0027] В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или

приблизительно до $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

[0028] В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

[0029] В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления, если индивидуум не имеет ответа и у него не развивается токсичность ровно или приблизительно через 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34 или 35 суток после введения композиции Т-клеток; способ дополнительно включает введение индивидууму дополнительной дозы композиции Т-клеток, где, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, дополнительную дозу композиции Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,1 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,1 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,15 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,3 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

[0030] В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума

составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0031] В некоторых из предусматриваемых способов и применений, индивидуум имеет массу тела по меньшей мере ровно или приблизительно 6 кг. В некоторых из любых предусматриваемых способов и применений масса тела индивидуума составляет по меньшей мере ровно или приблизительно 12 кг.

[0032] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ вовлекает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее и с массой тела 12 кг или более композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, ровно или приблизительно $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0033] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ вовлекает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее и с массой тела 12 кг или более композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где

композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, ровно или приблизительно $0,15 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0034] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ вовлекает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее и с массой тела 12 кг или более композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, ровно или приблизительно $0,3 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0035] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее и с массой тела 12 кг или более композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0036] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ вовлекает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее и с массой тела 12 кг или более композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, ровно или приблизительно $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0037] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ вовлекает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее и с массой тела 12 кг или более композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где

композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, ровно или приблизительно 1×10^6 CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно 1×10^8 CAR+ Т-клеток в целом; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно 1×10^8 CAR+ Т-клеток.

[0038] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее и с массой тела 6 кг или более композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, ровно или приблизительно 1×10^6 CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно 1×10^8 CAR+ Т-клеток в целом; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0039] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте менее 18 лет и с массой тела 12 кг или более композиции, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена против CD19 (CAR), где композицию вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления композицию вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

[0040] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте менее 18 лет и с массой тела 12 кг или более композиции, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена против CD19 (CAR), где композицию вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления композицию вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

[0041] В некоторых из вариантов осуществления композицию вводят в количестве,

которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления композицию вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления композицию вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,15 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления композицию вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,3 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления композицию вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления композицию вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления композицию вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

[0042] В некоторых из вариантов осуществления вводят общий объем по меньшей мере 0,05 мл композиции Т-клеток в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл. В некоторых из вариантов осуществления вводят общий по меньшей мере ровно или приблизительно 0,1 мл композиции Т-клеток в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл. В некоторых из предусматриваемых способов и применений вводят общий объем по меньшей мере ровно или приблизительно 0,5 мл композиции Т-клеток в концентрации ровно или более $2,5 \times 10^6$ клеток/мл.

[0043] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, включающие введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом в объеме по меньшей мере 0,1 мл; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, менее чем ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0044] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную

злокачественную опухоль, включающие введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом в объеме по меньшей мере 0,1 мл; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0045] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, включающие введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом в объеме по меньшей мере 0,1 мл; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0046] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, включающие введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом в объеме по меньшей мере 0,1 мл; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0047] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, включающие введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом в объеме по меньшей мере 0,1 мл; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0048] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, включающие введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не

превышающее ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом в объеме по меньшей мере 0,1 мл; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0049] В некоторых из вариантов осуществления концентрация Т-клеток составляет ровно или более $2,5 \times 10^6$ клеток/мл.

[0050] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ вовлекает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее, композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом в объеме по меньшей мере 0,05 мл; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0051]

[0052] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ вовлекает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее, композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом, в объеме по меньшей мере 0,15 мл; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0053] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ вовлекает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее, композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом, в объеме по меньшей мере 0,3 мл; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0054] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный

рецептор антигена (CAR) против CD19, в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом, в объеме по меньшей мере 0,5 мл; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0055] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ вовлекает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее, композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом, в объеме по меньшей мере 0,75 мл; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0056] В рамках настоящего изобретения предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно 1×10^8 CAR+ Т-клеток в целом, в объеме по меньшей мере 0,5 мл; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых из вариантов осуществления вводят общий объем по меньшей мере ровно или приблизительно 0,05 мл композиции Т-клеток. В некоторых из вариантов осуществления вводят общий объем по меньшей мере ровно или приблизительно 0,1 мл композиции Т-клеток. В некоторых из вариантов осуществления вводят общий объем по меньшей мере ровно или приблизительно 0,5 мл композиции Т-клеток. В некоторых из вариантов осуществления вводят общий объем по меньшей мере ровно или приблизительно 1,0 мл композиции Т-клеток.

[0057] В некоторых из вариантов осуществления общий объем вводимой композиции Т-клеток составляет по меньшей мере 0,05 мл. В некоторых из вариантов осуществления общий объем вводимой композиции Т-клеток составляет по меньшей мере 0,1 мл. В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления общий объем вводимой композиции Т-клеток составляет по меньшей мере 1,0 мл. В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления концентрация Т-клеток в композиции составляет более чем ровно или приблизительно 5×10^6 клеток/мл или составляет или приблизительно составляет 5×10^6 клеток/мл. В некоторых из предусматриваемых

вариантов осуществления концентрация Т-клеток в композиции составляет более чем ровно или приблизительно 10×10^6 клеток/мл или составляет или приблизительно составляет 10×10^6 клеток/мл. В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления концентрация Т-клеток в композиции составляет более чем или приблизительно более чем 15×10^6 клеток/мл или составляет или приблизительно составляет 15×10^6 клеток/мл.

[0058] В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления композиция Т-клеток содержит $CD4^+$ и $CD8^+$ CAR+ Т-клетки. В некоторых из вариантов осуществления композиция включает первую композицию, содержащую одно из $CD4^+$ Т-клеток и $CD8^+$ Т-клеток, и вторую композицию, содержащую другое из $CD4^+$ Т-клеток и $CD8^+$ Т-клеток. В некоторых из вариантов осуществления первую композицию и вторую композицию вводят по отдельности. В некоторых из вариантов осуществления первую композицию и вторую композицию вводят одновременно. В некоторых из вариантов осуществления первую композицию и вторую композицию вводят последовательно в любом порядке. В некоторых аспектах первая композиция содержит $CD4^+$ CAR+ Т-клетки и вторая композиция содержит $CD8^+$ Т-клетки. В других аспектах первая композиция содержит $CD8^+$ CAR+ Т-клетки и вторая композиция содержит $CD4^+$ CAR+ Т-клетки.

[0059] В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления вводимое количество композиции Т-клеток содержит заданное соотношение $CD4^+$ CAR+ Т-клеток и $CD8^+$ CAR+ Т-клеток и/или $CD4^+$ Т-клеток и $CD8^+$ Т-клеток, которое составляет или приблизительно составляет 1:1 или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1. В некоторых из вариантов осуществления, таких как варианты осуществления, вовлекающие введение первой и второй композиции, $CD4^+$ CAR+ Т-клетки в одной из первой и второй композиций и $CD8^+$ CAR+ Т-клетки в другой из первой и второй композиций присутствуют в заданном соотношении, которое составляет или приблизительно составляет 1:1, или составляет от приблизительно 1:3 и до приблизительно 3:1. В некоторых из вариантов осуществления, таких как варианты осуществления, вовлекающие введение первой и второй композиции, $CD4^+$ CAR+ Т-клетки и $CD8^+$ CAR+ Т-клетки, вводимые в первой и второй композициях, присутствуют в заданном соотношении, которое составляет или приблизительно составляет 1:1 или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1. В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления заданное соотношение составляет или приблизительно составляет 1:1.

[0060] В некоторых из предусматриваемых способов и применений В-клеточная злокачественная опухоль представляет собой лимфому или лейкоз. В некоторых из вариантов осуществления В-клеточная злокачественная опухоль является рецидивирующей и/или рефрактерной.

[0061] В некоторых из предусматриваемых способов или применений В-клеточная злокачественная опухоль представляет собой В-клеточный острый лимфобластный лейкоз (В-ALL). В некоторых из вариантов осуществления В-клеточная злокачественная опухоль

представляет собой В-клеточный острый лимфобластный лейкоз (В-ALL), необязательно CD19+ В-ALL. В некоторых из вариантов осуществления В-клеточная злокачественная опухоль представляет собой рецидивирующий или рефрактерный (r/r) В-клеточный острый лимфобластный лейкоз (В-ALL). В некоторых из вариантов осуществления индивидуум с r/r В-ALL имеет морфологические признаки заболевания в костном мозге, необязательно где индивидуум имеет 5% или более лимфобластов по морфологии. В некоторых из вариантов осуществления индивидуум имеет В-ALL, который представляет собой любое из следующих: первый или последующий рецидив в костном мозге, любой рецидив в костном мозге после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT); первичный рефрактерный, необязательно после 2 или более отдельных схем индукционной терапии; рефрактерный к химиотерапии, необязательно после 1 курса химиотерапии, направленного на рецидивирующий лейкоз; или не подходящий для аллогенной HSCT. В некоторых из вариантов осуществления В-ALL является рецидивирующим и/или рефрактерным. В некоторых из вариантов осуществления индивидуум имеет В-ALL, включающий любое из следующих: первый или последующий рецидив в костном мозге, любой рецидив в костном мозге после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT); первичный рефрактерный, необязательно не достигший полного ответа (CR) или с полным ответом с неполным восстановлением формулы крови (CRi), необязательно после 2 или более отдельных схем индукционной терапии; рефрактерный к химиотерапии, необязательно не достигший CR/CRi, необязательно после 1 курса химиотерапии против рецидивирующего лейкоза; или не подходящий для аллогенной HSCT.

[0062] В некоторых из вариантов осуществления В-ALL является положительным в отношении минимальной резидуальной болезни (MRD+). В некоторых из вариантов осуществления индивидуумы с В-ALL имеют менее 5% лимфобластов по морфологии и/или заболевание, положительное в отношении минимальной резидуальной болезни (MRD+), как определяют посредством валидированного анализа, с частотой 1×10^{-4} или более в костном мозге после двух линий терапии.

[0063] В некоторых из вариантов осуществления индивидуум имеет положительный по филадельфийской хромосоме ALL, и он имеет непереносимость или неуспех одной или несколько линий терапии ингибиторами тирозинкиназ (TKI), или терапия TKI ему противопоказана.

[0064] В некоторых из предусматриваемых способов или применений В-клеточная злокачественная опухоль представляет собой В-клеточную неходжкинскую лимфому (В-NHL). В некоторых из вариантов осуществления В-клеточная злокачественная опухоль представляет собой В-клеточную неходжкинскую лимфому (В-NHL), необязательно CD19+ В-NHL. В некоторых из вариантов осуществления В-клеточная злокачественная опухоль представляет собой рецидивирующую или рефрактерную (r/r) В-клеточную неходжкинскую лимфому (В-NHL).

[0065] В некоторых из вариантов осуществления В-NHL представляет собой

диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (DLBCL), первичную медиастинальную крупноклеточную В-клеточную лимфому (PMBCL) или лимфому Беркитта. В некоторых из вариантов осуществления индивидуум имеет В-NHL, при которой остается поддающееся определению заболевание после 1 или нескольких линий химиотерапии, у него оказалась неуспешной HSCT, или он не подходит для HSCT. В некоторых из вариантов осуществления В-NHL является рецидивирующей и/или рефрактерной.

[0066] В некоторых из предусматриваемых способов или применений перед введением индивидууму предварительно проводят лимфодеплецию, включающую введение флударабина и/или циклофосфамида. В некоторых из предусматриваемых способов или применений способ дополнительно включает, непосредственно перед введением, проведение лимфодеплеции у индивидуума, включающей введение флударабина и/или циклофосфамида. В некоторых из вариантов осуществления лимфодеплеция включает введение циклофосфамида в дозе приблизительно 200-400 мг/м², необязательно ровно или приблизительно 300 мг/м², включительно, и/или флударабина в дозе приблизительно 20-40 мг/м², необязательно 30 мг/м², каждые сутки в течение 2-4 суток, необязательно в течение 3 суток. В некоторых из вариантов осуществления лимфодеплеция включает введение циклофосфамида в дозе приблизительно 300 мг/м² каждые сутки в течение 3 суток и флударабина в дозе приблизительно 30 мг/м² каждые сутки в течение 3 суток. В некоторых из вариантов осуществления циклофосфамид и флударабин вводят совместно. В некоторых из вариантов осуществления циклофосфамид и флударабин вводят внутривенно. В некоторых из вариантов осуществления лимфодеплецию проводят за 2-7 суток до введения композиции Т-клеток.

[0067] В любых из предусматриваемых способов и применений индивидуумом является человек.

[0068] В любых из предусматриваемых способов и применений CAR содержит scFv, специфичный к CD19 человека, трансмембранный домен, цитоплазматический сигнальный домен, происходящий из костимулирующей молекулы, и цитоплазматический сигнальный домен, происходящий из первичной сигнальной ITAM-содержащей молекулы. В некоторых из вариантов осуществления CAR содержит, в указанном порядке, scFv, специфичный к CD19 человека, трансмембранный домен, цитоплазматический сигнальный домен, происходящий из костимулирующей молекулы, и цитоплазматический сигнальный домен, происходящий из первичной сигнальной ITAM-содержащей молекулы. В некоторых из таких вариантов осуществления цитоплазматический домен, происходящий из костимулирующей молекулы, представляет собой или содержит 4-1BB человека. В некоторых из таких вариантов осуществления цитоплазматический сигнальный домен, происходящий из первичной сигнальной ITAM-содержащей молекулы, представляет собой или содержит сигнальный домен CD3-зета человека. В некоторых из любых таких вариантов осуществления CAR необязательно дополнительно

содержит спейсер между трансмембранным доменом и scFv.

[0069] В любом из предусматриваемых вариантов осуществления CAR содержит, в указанном порядке, scFv, специфичный к CD19 человека, спейсер, трансмембранный домен, цитоплазматический сигнальный домен, происходящий из костимулирующей молекулы, и цитоплазматический сигнальный домен, происходящей из первичной сигнальной ITAM-содержащей молекулы. В некоторых из таких вариантов осуществления цитоплазматический домен, происходящий из костимулирующей молекулы, представляет собой или содержит 4-1BB человека. В некоторых из таких вариантов осуществления цитоплазматический сигнальный домен, происходящий из первичной сигнальной ITAM-содержащей молекулы, представляет собой или содержит сигнальный домен CD3-зета человека.

[0070] В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления спейсер представляет собой полипептидный спейсер, который содержит или состоит из всей или части шарнирной области иммуноглобулина или ее модифицированной версии, необязательно шарнирной области IgG4 или ее модифицированной версии. В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления спейсер имеет размер приблизительно 15 аминокислот или менее и не содержит внеклеточную область CD28 или внеклеточную область CD8. В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления спейсер имеет длину ровно или приблизительно 12 аминокислот. В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления спейсер имеет или состоит из последовательности SEQ ID NO: 1, последовательности, кодируемой SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34 или варианта любой из вышеуказанной, обладающего по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичностью с ней. В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления спейсер содержит или состоит из конструкции формулы X_1PPX_2P , где X_1 представляет собой глицин, цистеин или аргинин и X_2 представляет собой цистеин или треонин.

[0071] В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления цитоплазматический сигнальный домен, происходящий из костимулирующей молекулы, т.е. костимулирующий домен, содержит SEQ ID NO: 12 или ее вариант, обладающий по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичностью последовательности с ней.

[0072] В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления цитоплазматический сигнальный домен, происходящий из первичной сигнальной ITAM-содержащей молекулы, т.е. первичного сигнального домена, содержит SEQ ID NO: 13, 14 или 15, или обладает по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичностью последовательности с ними.

[0073] В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления scFv содержит переменную область легкой цепи (V_L), содержащую последовательность CDRL1 RASQDISKYLN (SEQ ID NO: 35), последовательность CDRL2 SRLHSGV (SEQ ID

NO: 36) и последовательность CDRL3 GNTLPYTFG (SEQ ID NO: 37), и переменную область тяжелой цепи (V_H), содержащую последовательность CDRH1 DYGVV (SEQ ID NO: 38), последовательность CDRH2 VIWGSETTYNSALKS (SEQ ID NO: 39) и последовательность CDRH3 YAMDYWG (SEQ ID NO: 40). В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления scFv содержит V_L , содержащую последовательность CDRL1 FMC63, последовательность CDRL2 FMC63, последовательность CDRL3 FMC63, и V_H , содержащую последовательность CDRH1 FMC63, последовательность CDRH2 FMC63 и последовательность CDRH3 FMC63. В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления scFv содержит V_H , указанную в SEQ ID NO:41, и V_L , указанную в SEQ ID NO: 42. В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления V_H и V_L разделены гибким линкером. В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления гибкий линкер представляет собой или содержит последовательность, указанную в SEQ ID NO:24. В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления scFv представляет собой или содержит последовательность, указанную в SEQ ID NO:43.

[0074] В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления Т-клетки представляют собой первичные Т-клетки, полученные от индивидуума, в некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления Т-клетки являются аутологичными для индивидуума.

[0075] В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления индивидуум перед введением композиции имеет или идентифицирован как имеющий клетки, экспрессирующие CD19. В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления детекцию экспрессии CD19 проводят посредством проточной цитометрии в периферической крови или костном мозге и/или посредством иммуногистохимического исследования биоптата костного мозга. В некоторых из вариантов осуществления детекцию экспрессии CD19 проводят посредством проточной цитометрии, необязательно в периферической крови или костном мозге, и/или посредством иммуногистохимического исследования, необязательно биоптата костного мозга.

[0076] В некоторых из вариантов осуществления индивидууму не проводили предшествующую клеточную терапию, которая включает введение композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие CAR. В некоторых из вариантов осуществления индивидууму проводили предшествующую клеточную терапию, которая включает введение композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие CAR. В некоторых из вариантов осуществления индивидууму проводили предшествующую терапию, нацеленную на CD19, необязательно где индивидуум имеет или идентифицирован как имеющий клетки, экспрессирующие CD19, или имеющий CD19-положительное заболевание, после завершения предшествующей терапии, нацеленной на CD19.

[0077] В некоторых из вариантов осуществления по меньшей мере ровно или приблизительно 35%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%,

95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более CAR-экспрессирующих Т-клеток, CAR-экспрессирующих CD4+ Т-клеток или CAR-экспрессирующих CD8+ Т-клеток в композиции имеют поверхность, положительную по CCR7, CD27, CD45RA и/или CD28. В некоторых из вариантов осуществления по меньшей мере ровно или приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более CAR-экспрессирующих Т-клеток, CAR-экспрессирующих CD4+ Т-клеток или CAR-экспрессирующих CD8+ Т-клеток в композиции имеют поверхность, положительную по CCR7. В некоторых из вариантов осуществления по меньшей мере ровно или приблизительно 35%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более CAR-экспрессирующих Т-клеток, CAR-экспрессирующих CD4+ Т-клеток или CAR-экспрессирующих CD8+ Т-клеток в композиции имеют поверхность, положительную по CCR7 и CD45RA.

[0078] В некоторых из вариантов осуществления по меньшей мере ровно или приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более CAR-экспрессирующих Т-клеток, CAR-экспрессирующих CD4+ Т-клеток или CAR-экспрессирующих CD8+ Т-клеток в композиции имеют поверхность, положительную по CD27. В некоторых из вариантов осуществления по меньшей мере ровно или приблизительно 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более CAR-экспрессирующих Т-клеток, CAR-экспрессирующих CD4+ Т-клеток или CAR-экспрессирующих CD8+ Т-клеток в композиции имеют поверхность, положительную по CD27 и CD28. В некоторых из вариантов осуществления по меньшей мере ровно или приблизительно 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более CAR-экспрессирующих Т-клеток, CAR-экспрессирующих CD4+ Т-клеток или CAR-экспрессирующих CD8+ Т-клеток в композиции являются отрицательными по активной каспазе 3.

[0079] Также в рамках настоящего изобретения предусматривается изделие, содержащее композицию для клеточной терапии, или одну из множества композиций клеточной терапии, содержащих Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена против CD19 (CAR), и инструкции по проведению клеточной терапии, где в инструкциях описано введение Т-клеточной композиции согласно любому из предусматриваемых способов.

Подробное описание

[0080] Среди предусматриваемых вариантов осуществления представлены способы и применения, такие как терапевтические способы и применения, которые вовлекают введение модифицированных клеток (например, Т-клеток) и/или их композиций для лечения индивидуумов, имеющих заболевание или состояние, которое обычно представляет собой или включает В-клеточную злокачественную опухоль или гематологическую злокачественную опухоль. В некоторых вариантах осуществления В-клеточная злокачественная опухоль представляет собой В-клеточный острый лимфобластный лейкоз (B-ALL) или В-клеточную неходжкинскую лимфому (B-NHL). В

некоторых вариантах осуществления модифицированные клетки экспрессируют рекомбинантный рецептор, такой как химерный рецептор антигена (CAR), который может нацеливаться на, связывать и/или распознавать антиген, который ассоциирован с В-клеточной злокачественной опухолью. В некоторых аспектах индивидуумы включают индивидуумов в возрасте 25 лет или менее, таких как педиатрические индивидуумы или молодые взрослые индивидуумы. В некоторых аспектах способы вовлекают определение уровня, числа или дозы модифицированных клеток для введения для лечения в конкретной группе индивидуумов, такой как индивидуумы в возрасте 25 лет или менее, такие как педиатрические индивидуумы или молодые взрослые. В некоторых вариантах осуществления индивидуумы представляют собой педиатрических индивидуумов. В некоторых вариантах осуществления индивидуумы представляют собой молодых взрослых. Также предусматриваются композиции для применения в клеточной терапии, например, в соответствии со способами и применениями, описанными в настоящем описании. Также предусматриваются изделия и наборы для применения в способах, описанных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления изделия и наборы необязательно содержат инструкции по применению в соответствии со способами и применениями, описанными в настоящем описании.

[0081] Адоптивная клеточная терапия (включая способы терапии, вовлекающие введение клеток, экспрессирующих химерные рецепторы, такие как химерные рецепторы антигена (CAR) и/или другие рекомбинантные рецепторы антигена, специфические для представляющего интерес заболевания или нарушения, а также другие адоптивные способы терапии иммунными клетками Т-клетками) могут быть эффективными для лечения гематологических злокачественных опухолей или В-клеточных злокачественных опухолей и других заболеваний и нарушений, таких как другие злокачественные опухоли. В определенных контекстах доступные подходы адоптивной клеточной терапии не всегда могут быть полностью удовлетворительными. В некоторых контекстах оптимальный ответ на терапию может зависеть от способности введенных клеток распознавать и связывать мишень, например, антиген-мишень, для транспортировки, локализации и успешного проникновения в соответствующие области в организма индивидуума, опухоли и их окружение, для активации, экспансии и проявления различных эффекторных функций, включая цитотоксическое уничтожение и секрецию различных факторов, таких как цитокины, для персистенции, в том числе долговременного, для дифференцировки, преобразования или вовлечения в перепрограммирование в определенные фенотипические состояния, для обеспечения эффективных и стойких ответов памяти после клиренса и повторного воздействия лиганда-мишени или антигена-мишени, и для избегания или уменьшения истощения, анергии, терминальной дифференцировки и/или дифференцировки в супрессивное состояние.

[0082] В некоторых аспектах терапевтический эффект адоптивной клеточной терапии может ограничиваться риском и/или развитием токсичности у индивидуума, которому вводят такие клетки, которая в некоторых случаях может быть тяжелой, при

определенных дозах или экспозиции введенных клеток. В некоторых случаях, в то время как более высокая доза таких клеток может повышать терапевтический эффект, например, посредством повышения экспозиции клеток, например, путем способствования экспансии и/или персистенции, она также может приводить к еще более высокому риску развития токсичности или более тяжелой токсичности. Также в некоторых случаях индивидуумы с более высокой нагрузкой заболеванием могут иметь более высокий риск развития токсичности или более тяжелую токсичность. Кроме того, факторы, которые могут повышать риск, относительный риск и/или вероятность развития токсичности после введения дозы клеток клеточной терапии (например, терапии CAR-T-клетками), включают количество клеток, вводимое индивидууму вследствие дозирования клеток на основе массы, например, больше клеток вводят индивидуумам с большей массой. Определенные доступные способы дозирования индивидуумам клеточной терапии не всегда могут быть полностью удовлетворительными. Увеличение дозы клеток или способствование экспансии или пролиферации введенных клеток у индивидуума может быть связано с более высокими частотами ответа, а также с увеличением развития токсичности.

[0083] В некоторых аспектах, конкретная группа индивидуумов, такая как педиатрические индивидуумы или молодые взрослые индивидуумы, могут иметь различия в ответе на адоптивную клеточную терапию и/или развитие токсичности после введения вследствие различий в размере тела, объеме циркуляции и/или активности или функции введенных клеток. В некоторых аспектах определение подходящих доз для конкретных групп индивидуумов, когда доза приводит к высокой или определенной желаемой степени вероятности исхода лечения, такого как благоприятный исход или ответ и/или длительный исход или ответ, и также относительно низкой или минимизированной или желаемой степени вероятности риска развития токсического исхода или токсичности, после проведения у индивидуума клеточной терапии, может быть затруднено. Предусматриваются способы и применения, которые могут достигать таких результатов.

[0084] Таким образом, в некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы, применения, изделия и/или композиции могут обеспечивать преимущества над другими доступными способами, или решениями, или подходами лечения, такими как адоптивная клеточная терапия. В частности, к предусматриваемым вариантам осуществления относится варианты осуществления, которые включают способы проведения Т-клеточной терапии, включающей Т-клетки (CD4 и/или CD8 Т-клетки), экспрессирующие CAR, такой как CAR против CD19, у индивидуумов в возрасте 25 лет или менее, таких как педиатрические индивидуумы или молодые взрослые индивидуумы, с В-клеточной злокачественной опухолью, такой как В-ALL или В-NHL. Предусматриваемые способы и применения позволяют дозирование клеток, которые могут достигать или могут быть ассоциированы с повышенной вероятностью ответа и сниженной вероятностью риска развития токсичности.

[0085] Все публикации, в том числе патентные документы, научные статьи и базы данных, на которые приводится ссылка в настоящей заявке, включены посредством ссылки в полном объеме для любых целей в той же степени, как если бы каждая индивидуальная публикация была индивидуально включена посредством ссылки. Если определение, указанное в настоящем описании, противоречит или иным образом не соответствует определению, указанному в патентах, заявках, опубликованных заявках и других публикациях, которые включены в настоящее описание посредством ссылки, определение, приведенное в настоящем описании, преобладает над определением, которое включено в настоящее описание посредством ссылки.

[0086] Заголовки разделов, использованные в настоящем описании, приведены только для организационных целей, и их не следует истолковывать как ограничивающие описанное изобретение.

I. СПОСОБЫ И ПРИМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ С ГЕННО-МОДИФИЦИРОВАННЫМИ Т-КЛЕТКАМИ

[0087] Предусматриваются способы и применения, такие как терапевтические способы и применения, вовлекающие введение модифицированных клеток (например, Т-клеток) и/или их композиций для лечения индивидуумов, имеющих заболевание или состояние, которое представляет собой или включает В-клеточную злокачественную опухоль или гематологическую злокачественную опухоль. В некоторых аспектах В-клеточная злокачественная опухоль представляет собой В-клеточный острый лимфобластный лейкоз (В-ALL) или В-клеточную неходжкинскую лимфому (В-NHL). В некоторых аспектах способы и применения предназначены для лечения конкретной группы индивидуумов, таких как индивидуумов в возрасте 25 лет или менее и/или педиатрические индивидуумы или молодые взрослые индивидуумы.

[0088] В некоторых вариантах осуществления способы и применения включают введение индивидууму клеток, экспрессирующих модифицированные способами генной инженерии (рекомбинантные) рецепторы клеточной поверхности в адоптивной клеточной терапии, которые, как правило, включают химерные рецепторы, такие как химерные рецепторы антигенов (CAR), связывающие или распознающие антиген, экспрессируемый, ассоциированный с и/или специфический для В-клеточной злокачественной опухоли, такой как В-ALL или В-NHL, и/или типа клеток, из которой она происходит. Клетки, как правило, вводят в композиции, составленной для введения. В некоторых вариантах осуществления, модифицированные клетки или композиции, содержащие модифицированные клетки, вводят индивидууму, имеющему В-клеточную злокачественную опухоль, например, посредством адоптивной клеточной терапии, такой как адоптивная Т-клеточная терапия. В некоторых вариантах осуществления способы вовлекают лечение индивидуума, имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, дозой клеток, экспрессирующих рецептор антигена (например, CAR-экспрессирующих клеток).

[0089] В некоторых вариантах осуществления способы вовлекают введение

конкретного количества, такого как одна или несколько доз, клеток индивидууму, причем это количество или доза(ы) может включать конкретное количество или относительное количество клеток или модифицированных клеток и/или заданное соотношение или композицию из двух или более подтипов в композиции, таких как CD4 против CD8 Т-клетки, или конкретное количество или относительное количество клеток на массу тела индивидуума (например, на килограмм (кг) массы тела). В некоторых аспектах, если масса тела индивидуума превышает определенную максимальную массу тела, вводят конкретное количество или относительное количество клеток. В некоторых вариантах осуществления способы вовлекают введение количества или дозы индивидууму в зависимости от возраста и/или массы тела индивидуума.

[0090] В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают лечение конкретной группы или подгруппы индивидуумов, например, индивидуумов конкретного возраста, таких как индивидуумы в возрасте 25 лет или менее. В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают лечение индивидуумов в конкретном возрасте, таких как индивидуумы младше 18 лет. В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают лечение педиатрических индивидуумов или молодых взрослых индивидуумов.

[0091] В некоторых вариантах осуществления способы, применения и изделия вовлекают или используются для лечения индивидуумов, включая отбор или идентификацию конкретной группы или подгруппы индивидуумов, например, на основе возраста, конкретных типов заболевания, диагностических критериев, предшествующих способов лечения и/или ответа на предшествующие способы лечения. В некоторых вариантах осуществления способы вовлекают лечение индивидуума, у которого произошел рецидив после ремиссии после лечения одним или несколькими предшествующими способами терапии, или который стал рефрактерным к ним; или индивидуума, у которого произошел рецидив или который является рефрактерным (R/R) к одному или нескольким предшествующим способам терапии, например, одной или нескольким линиям стандартной терапии. В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают лечение конкретной группы или подгруппы индивидуумов, такой как педиатрические индивидуумы и/или молодые взрослые индивидуумы, идентифицированные как имеющие В-злокачественную опухоль, которая является R/R в отношении стандартной терапии. В некоторых вариантах осуществления индивидуумы могут иметь заболевание высокого риска, такое как В-клеточная злокачественная опухоль, которая является агрессивной и/или имеет плохой прогноз, или которая является R/R в отношении стандартной терапии. В некоторых вариантах осуществления способы вовлекают лечение индивидуумов, имеющих R/R В-ALL, R/R В-NHL или В-ALL, которые демонстрируют минимальную резидуальную болезнь (MRD+ В-ALL). В некоторых аспектах NHL может включать диффузную В-клеточную лимфому (DLBCL), лимфому Беркитта (BL) или первичную медиастинальную

В-клеточную лимфому (PMBCL). В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет R/R DLBCL, R/R BL или R/R PMBCL.

[0092] В некоторых вариантах осуществления рецептор антигена (например, CAR) специфически связывается с антигеном-мишенью, ассоциированным с заболеванием, нарушением или состоянием, таким как заболевание, нарушение или состояние, ассоциированное с В-клеточной злокачественной опухолью, такое как В-ALL или В-NHL. В некоторых вариантах осуществления антиген, ассоциированный с заболеванием или нарушением, представляет собой CD19, CD20, CD22, ROR1, CD45, CD21, CD5, CD33, Ig-каппа, Ig-лямбда, CD79a, CD79b или CD30. В некоторых вариантах осуществления антиген, ассоциированный с заболеванием или нарушением, выбран из CD19.

[0093] В некоторых аспектах предусматриваются композиции, способы и применения для введения определенной композиции клеточной терапии в конкретных дозах, которые ассоциированы с высокой частотой ответа и/или высокой длительностью ответа, и низкими уровнями и/или встречаемостью токсичности. В некоторых вариантах осуществления для некоторых индивидуумов композицию или дозу вводят в виде дозы на основе массы, такой как конкретный уровень или количество клеток на килограмм (кг) массы тела индивидуума. В некоторых вариантах осуществления для некоторых индивидуумов композицию или дозу вводят в виде постоянной и/или фиксированной дозы, такой как конкретная постоянная доза, клеток и/или одного или нескольких типов клеток, имеющих конкретный фенотип, такая как конкретное количество таких клеток или количество, которое входит в пределы конкретного диапазона и/или степени вариабельности или отклонения от заданного количества.

[0094] В некоторых вариантах осуществления предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, такую как В-ALL или В-NHL, включая злокачественную опухоль, которая рецидивировала и/или является рефрактерной, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее, или в некоторых случаях менее 18 лет, композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19. Такие способы и применения включают терапевтические способы и применения, например, вовлекающие введение композиций Т-клеток, экспрессирующих CAR против CD19, в эффективном количестве для обеспечения лечения заболевания или нарушения. Применения включают применения таких Т-клеток, экспрессирующих CAR против CD19, или композиций, содержащих такие клетки, в таких способах и терапиях, и для получения лекарственного средства для проведения таких способов терапии. Также предусматриваются композиции, такие как фармацевтические композиции, например, содержащие Т-клетки, экспрессирующие CAR против CD19, в соответствии со способами, описанными в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления способы и применения, таким образом, осуществляют лечение заболевания, или состояния, или нарушения у индивидуума.

[0095] В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и

применения вовлекают введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг) и его возраст составляет менее 18 лет, от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 килограммов (кг) или более и возраст составляет от 18 до 25 лет, включительно, от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0096] В некоторых вариантах осуществления предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг) и его возраст составляет менее 18 лет, от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 килограммов (кг) или более и возраст составляет от 18 до 25 лет, включительно, от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0097] В некоторых вариантах осуществления, предусматриваемые способы и применения вовлекают введение индивидууму в возрасте менее 18 лет композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0098] В некоторых вариантах осуществления предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте менее 18 лет композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве,

выбранном из следующих: (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до 1×10^6 CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума. В некоторых вариантах осуществления, если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0099] В некоторых из вариантов осуществления, если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до 1×10^6 CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума.

[0100] В некоторых вариантах осуществления предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; или (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0101] В некоторых вариантах осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых вариантах осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых вариантах осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых вариантах осуществления, если возраст

индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0102] В некоторых из предусматриваемых способов и применений масса тела индивидуума составляет по меньшей мере ровно или приблизительно 6 кг. В некоторых из предусматриваемых способов и применений масса тела индивидуума составляет по меньшей мере ровно или приблизительно 12 кг. В некоторых из предусматриваемых способов и применений масса тела индивидуума составляет менее чем ровно или приблизительно 100 кг.

[0103] В некоторых вариантах осуществления предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее и с массой тела 12 кг или более композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0104] В некоторых вариантах осуществления предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее и с массой тела 6 кг или более композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, ровно или приблизительно 1×10^6 CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно 1×10^8 CAR+ Т-клеток в целом; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0105] В некоторых вариантах осуществления предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте менее 18 лет и с массой тела 12 кг или более композиции, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена против CD19 (CAR), где композицию вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-

клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых вариантах осуществления, композицию вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых вариантах осуществления, композицию вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

[0106] В некоторых вариантах осуществления способы вовлекают введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; или (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0107] В некоторых из предусматриваемых способов и применений вводят общий объем композиции Т-клеток по меньшей мере 0,05 мл в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл. В некоторых из предусматриваемых способов и применений вводят общий объем композиции Т-клеток по меньшей мере 0,5 мл в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл.

[0108] В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

[0109] В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,15 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,3 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая

ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

[0110] В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых из вариантов осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0111] В некоторых вариантах осуществления предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом, в объеме по меньшей мере 0,5 мл; и

(ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ T-клеток.

[0112] В некоторых вариантах осуществления предусматриваются способы лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно 1×10^8 CAR+ Т-клеток в целом, в объеме по меньшей мере 0,5 мл; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0113] В некоторых из вариантов осуществления общий объем вводимой композиции Т-клеток составляет по меньшей мере 0,05 мл. В некоторых из вариантов осуществления общий объем вводимой композиции Т-клеток составляет по меньшей мере 0,1 мл. В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления общий объем вводимой композиции Т-клеток составляет по меньшей мере 1,0 мл. В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления концентрация Т-клеток в композиции составляет более чем ровно или приблизительно 5×10^6 клеток/мл или составляет или приблизительно составляет 5×10^6 клеток/мл. В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления концентрация Т-клеток в композиции составляет более чем ровно или приблизительно 10×10^6 клеток/мл или составляет или приблизительно составляет 10×10^6 клеток/мл. В некоторых из предусматриваемых вариантов осуществления концентрация Т-клеток в композиции составляет более чем или приблизительно более чем 15×10^6 клеток/мл или составляет или приблизительно составляет 15×10^6 клеток/мл.

[0114] В некоторых вариантах осуществления вводимая композиция или доза содержит заданное соотношение CD4⁺- и CD8⁺-клеток (например, соотношение 1:1 CD4⁺:CD8⁺ CAR⁺ Т-клеток) и/или содержит соотношение, которое находится в пределах степени варибельности такого соотношения, такой как не более+10%, такой как не более+8%, такой как степень варибельности или отклонения не более+10%, такая как не более+8%. В некоторых вариантах осуществления CD4⁺ и CD8⁺ клетки составляют и вводят по отдельности. В некоторых вариантах осуществления вводимые клетки демонстрируют устойчивую активность и/или функцию, например, продуцирование цитокинов, апоптоз и/или экспансию. В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые композиции демонстрируют в высокой степени устойчивую и определенную активность и низкую варибельность между клетками, например, с точки зрения количества клеток, функции клеток и/или активности клеток, в композиции или между препаратами. В некоторых вариантах осуществления устойчивость активности и/или функции, например, низкая варибельность между препаратами композиции,

обеспечивает улучшенную эффективность и/или безопасность. В некоторых вариантах осуществления введение композиций с определенным составом приводит к низкой вариабельности продукта и низкой токсичности, например, CRS или нейротоксичности, по сравнению с введением клеточных композиций с высокой гетерогенностью. В некоторых вариантах осуществления устойчивая композиция с определенным составом также демонстрирует устойчивую клеточную экспансию. Такая устойчивость может облегчать идентификацию дозы, терапевтического окна, оценку ответа на дозу и идентификацию факторов индивидуума, которые могут коррелировать с исходами безопасности или токсичности.

[0115] В некоторых вариантах осуществления в определенной группе индивидуумов, в которой проводят однократную инфузию, конкретного уровня дозы можно достигать частоты длительного ответа после 6 месяцев или более, превышающей 60%. В некоторых вариантах осуществления индивидуумы в некоторых группах могут достигать общей частоты ответа (ORR, в некоторых случаях также известной как объективная частота ответа) более 80%, частоты полного ответа (CR) более 60% и/или частоты CR с высокой длительностью через 6 месяцев. В некоторых вариантах осуществления индивидуумы, которым вводят заданную дозу, демонстрируют улучшенные исходы в отношении безопасности, например, более двух третей индивидуумов не имеют никаких CRS или NT. В некоторых аспектах частота тяжелого CRS или тяжелой NT является низкой. В некоторых вариантах осуществления более высокая экспозиция (например, C_{max} и AUC_{0-28}), наблюдаемая для конкретной определенной дозы, не ассоциирована с повышенной токсичностью, например, CRS или NT. В некоторых вариантах осуществления, конкретные факторы индивидуума, например, определенные биомаркеры, можно использовать для прогнозирования риска токсичности. В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые варианты осуществления можно использовать для достижения высокой частоты ответа при низком риске токсичности.

[0116] В некоторых вариантах осуществления не более 25%, не более 20%, не более 15%, не более 10% или не более 5% индивидуумам, которых лечат с использованием предусматриваемых композиций, изделий, наборов, способов и применений, вводят средство (например, тоцилизумаб и/или дексаметазон) для облегчения, лечения или предупреждения токсичности либо до, либо после проведения клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления индивидууму не проводят никакого профилактического лечения перед введением модифицированных клеток (например, CAR-T-клеток).

[0117] В некоторых вариантах осуществления способы, клетки и композиции могут обеспечивать высокую частоту длительного ответа у индивидуумов по ряду характеристик пациента и/или опухолевой нагрузке. В некоторых вариантах осуществления способы, клетки и композиции могут обеспечивать высокую частоту длительного ответа у пациентов с высоким риском, имеющих плохой прогноз, при

снижении риска неблагоприятных эффектов или токсичности. В некоторых вариантах осуществления способы и применения обеспечивают или достигают более высокой частоты ответа и/или более длительных ответов или эффективности, и/или уменьшенного риска токсичности или других побочных эффектов, которые могут быть ассоциированы с клеточной терапией, таких как нейротоксичность (NT) или синдром высвобождения цитокинов (CRS). В некоторых аспектах предусматриваемые наблюдения указывают на низкую частоту тяжелой NT (sNT) или тяжелого CRS (sCRS) и высокую частоту пациентов без какой-либо токсичности, например, NT или CRS.

A. Способ лечения

[0118] Способы, предусматриваемые в рамках настоящего изобретения, представляют собой способы лечения, которые вовлекают введение модифицированных клеток или композиций, содержащих модифицированные клетки, такие как модифицированные Т-клетки. Также предусматриваются способы и применения, такие как терапевтические и профилактические применения, модифицированных клеток (например, Т-клеток) и/или их композиций, включая способы или применения для лечения индивидуумов, имеющих заболевание, нарушение или состояние, такое как В-клеточная злокачественная опухоль или гематологическая злокачественная опухоль, которые вовлекают введение модифицированных клеток и/или их композиций. Такие способы и применения включают терапевтические способы и применения, например, вовлекающие введение модифицированных клеток или композиций, содержащих их, индивидууму, имеющему В-клеточную злокачественную опухоль или гематологическую злокачественную опухоль, такую как В-клеточный острый лимфобластный лейкоз (В-ALL) или В-клеточная неходжкинская лимфома (В-NHL). В некоторых вариантах осуществления молекулу, клетку и/или композицию вводят в эффективном количестве для обеспечения лечения заболевания, нарушения или состояния.

[0119] В некоторых аспектах предусматриваемые способы вовлекают введение модифицированных клеток или композиций, содержащих модифицированные клетки, такие как модифицированные Т-клетки, индивидууму, такому как индивидуум, который имеет гематологическую злокачественную опухоль или В-клеточную злокачественную опухоль. В некоторых аспектах также предусматриваются применения модифицированных клеток или композиций, содержащих модифицированные клетки, такие как модифицированные Т-клетки, для лечения В-клеточной злокачественной опухоли или гематологической злокачественной опухоли, в некоторых аспектах в соответствии с любым из способов, описанных в настоящем описании. В некоторых аспектах также предусматриваются применения модифицированных клеток или композиций, содержащих модифицированные клетки, такие как модифицированные Т-клетки, для производства лекарственного средства для лечения В-клеточной злокачественной опухоли, например, для проведения таких терапевтических способов. В некоторых аспектах также предусматриваются способы ведения модифицированных клеток или композиций, содержащих модифицированные клетки, такие как

модифицированные Т-клетки, для применения для лечения В-клеточной злокачественной опухоли или для введения индивидууму, имеющему В-клеточную злокачественную опухоль. В некоторых вариантах осуществления способы проводят путем введения модифицированных клеток или композиций, содержащих их, индивидууму, имеющему, имевшему или предположительно имеющему В-клеточную злокачественную опухоль. В некоторых вариантах осуществления, способы, таким образом, осуществляют лечение В-клеточной злокачественной опухоли у индивидуума. Также в рамках настоящего изобретения предусматривается применение любой из композиций, таких как фармацевтические композиции, предусматриваемые в рамках настоящего изобретения, для лечения В-клеточной злокачественной опухоли, такое как применение в режиме лечения.

[0120] В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения могут достигать улучшенного ответа и/или более длительных ответов или эффективности и/или сниженного риска токсичности или других побочных эффектов, например, в конкретных группах подвергаемых лечению индивидуумов по сравнению с определенными альтернативными способами.

[0121] Основные способы введения клеток для адоптивной клеточной терапии известны и могут использоваться совместно с предусматриваемыми способами и композициями. Например, способы адоптивной терапии Т-клетками описаны, например, в публикации патентной заявки США № 2003/0170238; патенте США № 4690915; 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.

[0122] В некоторых вариантах осуществления способы и применения вовлекают лечение индивидуумов, включая отбор или идентификацию конкретной группы или подгруппы индивидуумов, например, на основе возраста, конкретных типов заболевания, диагностических критериев, предшествующих способов лечения и/или ответа на предшествующие способы лечения.

[0123] В некоторых вариантах осуществления В-клеточная злокачественная опухоль или гематологическая злокачественная опухоль, подлежащая лечению в соответствии со способами и применениями, описанными в настоящем описании, может представлять собой любую злокачественную опухоль, в которой экспрессия антигена, который ассоциирован с и/или вовлечен в этиологию В-клеточной злокачественной опухоли или гематологической злокачественной опухоли, например, вызывает, усиливает или иным образом вовлечена в В-клеточную злокачественную опухоль или гематологическую злокачественную опухоль. В некоторых аспектах В-клеточная злокачественная опухоль ассоциирована с трансформацией клеток (например, злокачественной). В конкретных вариантах осуществления рекомбинантный рецептор, например CAR, специфически связывается с антигеном, ассоциированным с В-клеточной злокачественной опухолью или гематологической злокачественной опухолью.

[0124] В некоторых вариантах осуществления В-клеточная злокачественная опухоль или гематологическая злокачественная опухоль ассоциирована с опухолью, злокачественной опухолью, новообразованием или другим пролиферативным заболеванием или нарушением. В некоторых аспектах такие заболевания включают, но не ограничиваются ими, лейкоз, лимфому, например, острый миелоидный (или миелогенный) лейкоз (AML), хронический миелоидный (или миелогенный) лейкоз (CML), острый лимфоцитарный (или лимфобластный) лейкоз (ALL), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), волосатоклеточный лейкоз (HCL), мелколимфоцитарную лимфому (SLL), лимфому из клеток мантийной зоны (MCL), лимфому из клеток маргинальной зоны, лимфому Беркитта, лимфому Ходжкина (HL), неходжкинскую лимфому (NHL), анапластическую крупноклеточную лимфому (ALCL), фолликулярную лимфому, рефрактерную фолликулярную лимфому, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (DLBCL) и множественную миелому (MM). В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние представляет собой В-клеточную злокачественную опухоль, выбранную из острого лимфобластного лейкоза (ALL), острого ALL, хронического лимфобластного лейкоза (CLL), неходжкинской лимфомы (NHL) и диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (DLBCL). В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние представляет собой NHL, и NHL выбрана из группы, состоящей из агрессивной NHL, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (DLBCL), NOS (de novo или трансформировавшейся из вялотекущей), первичной медиастинальной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (PMBCL), Т-клеточной/обогащенной гистиоцитами крупноклеточной В-клеточной лимфомы (TCHRBCL), лимфомы Беркитта (BL), лимфомы из клеток мантийной зоны (MCL), фолликулярной лимфомы (FL) и/или фолликулярной лимфомы степени 3В (FL3В). К В-клеточной злокачественной опухоли относится В-клеточный острый лимфобластный лейкоз (В-ALL) и В-клеточная неходжкинская лимфома (В-NHL). В некоторых аспектах NHL может включать диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (DLBCL), лимфому Беркитта (BL) или первичную медиастинальную В-клеточную лимфому (PMBCL).

[0125] В некоторых вариантах осуществления В-клеточная злокачественная опухоль представляет собой острый лимфобластный лейкоз (ALL), такой как В-клеточный острый лимфобластный лейкоз (В-ALL). В некоторых аспектах ALL, агрессивная злокачественная опухоль крови и костного мозга (BM), классифицируется Всемирной организацией здравоохранения (WHO) как лимфоидное новообразование из клеток-предшественников, в основном В-клеточного типа, причем только приблизительно 10%-15% случаев вовлекает Т-клетки. В некоторых аспектах В-клеточный ALL (В-ALL) из клеток-предшественников, в некоторых случаях экспрессирующий CD79а, CD19, лейкоцитарный антиген человека-родственный антигену D (HLA-DR), и другие В-клеточные антигены, составляет 80%-85% случаев взрослого ALL и приблизительно 30% всех злокачественных опухолей детского возраста. ALL является наиболее

распространенной злокачественной опухолью среди детей и подростков в США (US), составляя 20% от всех злокачественных опухолей, диагностированных у индивидуумов в возрасте менее 20 лет. В некоторых аспектах заболевание, нарушение или состояние может упоминаться как лимфобластная лимфома (LBL), если инфильтрация костного мозга (BM) составляет менее 25%, и, если вовлечение BM составляет выше 25%, заболевание, нарушение или состояние может упоминаться как лейкоз.

[0126] В некоторых аспектах иммунофенотипирование (например, посредством проточной цитометрии) и/или цитогенетику можно использовать для различения между ALL из предшественников В- и Т-клеток, и оно демонстрирует статус дифференцировки злокачественных В-клеток (например, про-В, обычные, пре-В и зрелые В-клетки). В некоторых вариантах осуществления индивидуум, подлежащий лечению в соответствии со способами и применениями, описанными в настоящем описании, имеет ALL и может быть идентифицирован как имеющий иммунофенотипический или цитогенетический признак, ассоциированный с различными типами ALL, как описано в настоящем описании, например, в таблице 2. В некоторых случаях определение типа заболевания и статуса дифференцировки является необходимым для выбора лечения. В некоторых аспектах ALL является наиболее распространенной формой новообразования из предшественников В-клеток, и он характеризуется пролиферацией и накоплением злокачественных, трансформированных и незрелых кроветворных клеток ("бласты"), которые накапливаются в крови и костном мозге (см., например, Gokbuget et al., *Blood*. 2012 Aug 30;120(9):1868-76). Как правило, для диагностики ALL требуется анализ костного мозга. В некоторых аспектах анализ костного мозга детей с ALL демонстрирует, что большинство детей с ALL имеют массивную лейкозную инфильтрацию, составляющую более 50% бластных клеток, при световой микроскопии. В некоторых случаях также могут поражаться другие лимфатические органы, такие как лимфатические узлы и селезенка, а также не лимфатические органы, в частности, центральная нервная система (ЦНС). В некоторых аспектах менее 10% педиатрических индивидуумов имеют симптоматическое вовлечение ЦНС, однако частота является более высокой у индивидуумов со зрелой В-ALL (Faderl et al., *Cancer*. 2010 Mar 01;116(5):1165-76.). Как правило, факторы риска развития ALL включают возраст, воздействие химиотерапии или лучевой терапии, и генетические нарушения, включая синдром Дауна. В некоторых аспектах риск развития ALL является наиболее высоким у детей в возрасте менее 5 лет; риск медленно снижается до середины 20-х лет, и начинает вновь расти после 50 лет. В некоторых случаях приблизительно 75% пациентов с В-ALL имеют рецидивирующие хромосомные транслокации или соматическую анеуплоидию, некоторые из которых могут использоваться для прогнозирования заболевания. В некоторых аспектах приблизительно половина пациентов с ALL детского возраста имеют хромосомные транслокации. В некоторых случаях эти хромосомные транслокации не могут быть обнаружены посредством общепринятого цитогенетического анализа, но определяются с использованием флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) или полимеразной цепной

реакции (ПЦР). Как правило, наиболее частой хромосомной транслокацией для ALL является транслокация t(12;21), вызывающая слияние ETV6-родственный runt фактор транскрипции 1, которое происходит в 20%-25% случаях детского B-ALL со стандартным риском согласно National Cancer Institute (NCI). В некоторых случаях дети с этим генетическим изменением могут иметь общую частоту выживаемости (OS) > 95%.

[0127] В некоторых аспектах, комбинированная химиотерапия является вариантом лечения для детского ALL, и в некоторых случаях ее используют в качестве терапии первой линии. В некоторых аспектах, индукционная терапия первой линии, независимо от присутствующих признаков, включает винкристин, дексаметазон (или преднизон), аспарагиназу и доксорубицин (в некоторых случаях указывается как режим Berlin-Frankfurt-Münster (BFM)). В некоторых случаях, более 95% детей, которым проводят терапию первой линии, могут достигать полного ответа (CR) в течение первых 4 недель лечения с 5-летней общей выживаемостью (OS) приблизительно 90% (Pui et al., J Clin Oncol. 2015 Sep 20;33(27):2938-48). В некоторых случаях у индивидуумов, имеющих заболевание центральной нервной системы (ЦНС), может использоваться интратекальная тройная терапия (введение метотрексата (MTX), цитарабина и преднизолона) в ходе индукционной терапии вместе с внутривенным (в/в) введением высокой дозы MTX для уменьшения риска системного рецидива. В некоторых случаях можно использовать лучевую терапию в комбинации с интратекальным MTX в ограниченных ситуациях, в частности, когда существует высокий риск рецидива в ЦНС, но вследствие риска отдаленного нейрокогнитивного нарушения лучевую терапию редко используют в качестве терапии первой линии. В некоторых аспектах после достижения индивидуумом полного ответа (CR), постиндукционное лечение может варьироваться в зависимости от отнесения к группе риска. Как правило, всем индивидуум проводят интенсифицирующую терапию после CR и до начала поддерживающей терапии. В некоторых аспектах, часто используемая терапия включает циклофосфамид, цитарабин в низкой дозе и тиопурин. В некоторых случаях поддерживающая терапия может включать меркаптопурин, MTX в низкой дозе и в некоторых случаях, импульсное введение винкристин/стероидов. В некоторых аспектах, терапевтический режим может зависеть от категории риска пациента. Вследствие риска поздней токсичности, в некоторых случаях воздействие антрациклинов и алкилирующих средств может быть ограничено у детей с ALL стандартного риска. В некоторых случаях могут использоваться антрациклины и алкилирующие средства, если у индивидуума имеется минимальная резидуальная болезнь (MRD). В некоторых аспектах для ALL повышенные уровни MRD могут быть ассоциированы с ухудшением исхода. В некоторых случаях сохранение MRD в течение 12 недель может быть очень плохим прогностическим фактором с 5-летней выживаемостью без заболевания (DFS) приблизительно 40% (Borowitz et al., Blood. 2015 Aug 20;126(8):964-71). В некоторых случаях у индивидуумов с промежуточным риском рецидива ALL в ВМ низкая MRD после индукции может быть ассоциирована с хорошим долгосрочным прогнозом для стандартной химиотерапии/лучевой терапии. Напротив, в некоторых случаях

индивидуумы с недостаточным ответом имеют чрезвычайно плохой прогноз. В некоторых аспектах уровни MRD после индукции могут быть сильным независимым прогностическим фактором для длительного исхода у детей с промежуточным риском рецидива ALL в ВМ.

[0128] В некоторых аспектах ALL может быть далее классифицирован на основе классификации Всемирной организации здравоохранения для острого лимфобластного лейкоза. В некоторых аспектах классификация может быть основана на генетических, иммунофенотипических, молекулярных и морфологических признаках, обнаруживаемых в цитогенетических и молекулярно-диагностических тестах (см., например, Arber et al., Blood. 127(20): 2391-2405; Mrozek et al., Hematol Oncol Clin North Am. 2009 October; 23(5): 991-v). В некоторых аспектах классификация В-клеточного лимфобластного лейкоза/лимфомы включает следующие категории: с рецидивирующими генетическими аномалиями; с t(9;22)(q34.1;q11.2), BCR-ABL1; с t(v;11q23.3) с перестройкой KMT2A; с t(12;21)(p13.2;q22.1), ETV6-RUNX1; с t(5;14)(q31.1;q32.3), IL3-IGH; с t(1;19)(q23;p13.3), TCF3-PBX1; с гипердиплоидией; с гиподиплоидией; и без дополнительных уточнений (NOS). В некоторых аспектах ALL может включать Т-лимфобластный лейкоз/лимфому. В некоторых аспектах ALL может включать острый лейкоз неясного происхождения, который распределяют на следующие категории: острый недифференцированный лейкоз; острый лейкоз смешанного фенотипа (MPAL) с t(9;22)(q34.1;q11.2), BCR-ABL1; MPAL с t(v;11q23.3) с перестройкой KMT2A; MPAL, В/миелоидный, NOS; и MPAL, Т/миелоидный, NOS.

[0129] В некоторых аспектах В-ALL может быть подразделен на следующие категории на основе фенотипов клеток: ранний пре-В-ALL (TdT+, CD19+, CD10-); обычный ALL (CD19+, CD10+/CALLA+); пре-В ALL (CD10+/-, CD19+, HLA Dr+, цитоплазматический IgM+); и зрелый В ALL (CD10+, CD19+, CD20+, CD22+, поверхностный IgM+).

[0130] В некоторых аспектах ALL может быть классифицирован на основе франко-американско-британской (FAB) системы следующим образом: ALL-L1 (Т-клеточный или пре-В-клеточный с мелкими и гомогенными (единообразными) клетками); ALL-L2 (Т-клеточный или пре-В-клеточный; с крупными и гетерогенными (варьирующими) клетками); и ALL-L3 (В-клеточный; с крупными и варьирующими клетками с вакуолями). В некоторых аспектах ALL из зрелых В-клеток также может называться лейкозом Беркитта.

[0131] В некоторых аспектах ALL представляет собой положительный по филадельфийской хромосоме (Ph⁺) подтип ALL. Этот подтип характеризуется, частично, плохим исходом при лечении посредством стандартной химиотерапии. Филадельфийская хромосома присутствует в 3-4% случаев педиатрического острого лимфобластного лейкоза (Ph⁺ ALL) и приблизительно в 25% случаев взрослого ALL. В определенных вариантах осуществления филадельфийская хромосома содержит транслокацию t(9;22)(q34;q11), которая приводит к новому химерному гену и белку, где ген BCR на

хромосоме 22 слит с геном, кодирующим тирозинкиназу Абельсона (ABL1) на хромосоме 9. Полученный слитый транскрипт и белок BCR-ABL1 представляет собой конститутивно активированную тирозинкиназу, которая активирует различные сигнальные пути, вызывая лейкозную трансформацию гемопоэтических стволовых клеток. В некоторых вариантах осуществления индивидуумы, имеющие Ph⁺ подтип ALL, имеют одну или несколько клеток, которые имеют филадельфийскую хромосому, таких как клетки костного мозга. В некоторых аспектах ALL представляет собой подобный филадельфийскому (Ph-подобный) подтип ALL. В некоторых вариантах осуществления Ph-подобный подтип характеризуется сходными профилями экспрессии генов, называемыми "кластерной группой R8", "подобным филадельфийской (Ph) хромосоме", "Ph-подобным", "BCR-ABL1-подобным" или "профилем экспрессии генов активированной тирозинкиназы". Было показано, что эти профили экспрессии генов являются в высокой степени сходными с профилями экспрессии генов, определяемыми у индивидуумов с Ph⁺ ALL, несмотря на тот факт, что в некоторых аспектах индивидуумы с Ph-подобным подтипом не имеют филадельфийскую хромосомную транслокацию или слитый транскрипт BCR-ABL1. Распространенность Ph-подобного подтипа составляет приблизительно 12% у детей, 21% у подростков (в возрасте 16-20 лет) и 20%-24% у взрослых старше 40 лет с пиком (27%) у молодых взрослых в возрасте от 21 до 39 лет. В некоторых случаях он встречается более часто у мужчин и у пациентов с синдромом Дауна. Ph-подобный ALL чаще встречается у индивидуумов латиноамериканской этнической принадлежности и ассоциирован с наследственными генетическими вариантами в GATA3 (rs3824662). В некоторых аспектах Ph-подобный ALL является клинически и биологически гетерогенным подтипом B-ALL.

[0132] В некоторых аспектах неходжкинская лимфома (NHL) представляет собой гетерогенную группу лимфопролиферативных злокачественных опухолей с различающимся клиническим течением и ответами на лечение. В некоторых случаях используют схему классификации лимфом ВОЗ для определения конкретных подтипов лимфомы и подразделения их на основе их клеточного происхождения (В, Т или натуральные киллеры (NK)) и статуса дифференцировки лимфоцитов. В некоторых аспектах от восьмидесяти процентов до 90% NHL имеют В-клеточное происхождение и экспрессируют CD19. В некоторых случаях прогноз NHL зависит от гистологического типа (вялотекущий против агрессивного), стадии, возраста и способа лечения. В некоторых вариантах осуществления подтипы NHL, которые встречаются во взрослых и педиатрических популяциях, демонстрируют как сходства, так и различия. В некоторых вариантах осуществления детская NHL имеет агрессивное клиническое течение, в то время как в некоторых вариантах осуществления, взрослые NHL демонстрируют как вялотекущие, так и агрессивные гистологические формы. В некоторых вариантах осуществления, вялотекущие подтипы NHL, которые встречаются у взрослых, включают фолликулярную лимфому (FL), лимфому из клеток маргинальной зоны (MZL) и хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL). В некоторых вариантах осуществления агрессивные В-клеточные подтипы включают диффузную крупноклеточную В-клеточную

лимфому (DLBCL) и лимфому из клеток мантийной зоны (MCL).

[0133] В некоторых аспектах многие из типов NHL, включая FL, CLL и MCL, которые относительно распространены у взрослых, возникают редко, или даже не возникают, у детей. В некоторых случаях педиатрическую В-клеточную неходжскинскую лимфому (В-NHL), включающую 3 основных гистологических подтипа, классифицируют как агрессивную: лимфома Беркитта (BL), DLBCL и первичная медиастинальная крупноклеточная В-клеточная лимфома (PMBCL), в порядке уменьшения общей встречаемости. В некоторых вариантах осуществления случаи LBL имеют Т-клеточное происхождение, а остальные имеют иммунофенотипы пре-В или зрелых В-клеток.

[0134] В некоторых аспектах встречаемость NHL у младенцев является редкой и встречаемость у взрослых возрастает с возрастом. В некоторых аспектах подростке имеют более высокую смертность по сравнению с детьми. В некоторых аспектах преобладающие формы педиатрической В-NHL составляют приблизительно 60% от всех случаев детской NHL. В некоторых аспектах, приблизительно от 25% до 30% детей имеют рецидив или рефрактерное заболевание с частотой излечения менее 30% (Jourdain et al., Haematologica. 2015 Jun;100(6):810-7).

[0135] В некоторых случаях как для агрессивного, так и для вялотекущего подтипов, педиатрическая r/g В-NHL является трудноизлечимой. В некоторых случаях прогноз после рецидива остается относительно плохим. В некоторых вариантах осуществления лечение спасения состоит в химиотерапии высокой дозой, за которой следует фаза интенсификации либо с аутологичными, либо с аллогенными, гемопоэтическими SCT (HSCT).

[0136] В некоторых аспектах диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома (DLBCL) составляет от 10% до 20% В-клеточных лимфом у детей и более часто встречается у подростков. В некоторых аспектах диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома является преобладающей формой NHL у детей и подростков, встречаясь с большей частотой у подростков и составляя вплоть до 37% от всех случаев NHL в возрасте в диапазоне от 15 до 19 лет.

[0137] В некоторых аспектах BL является наиболее распространенной NHL у детей в возрасте 14 лет или менее, составляя от 30% до 40% от всех случаев NHL в Северной Америке и Европе. В некоторых аспектах NHL может возникать в области живота и/или головы и шеи и манифестируется в качестве развернутого заболевания, вовлекающего костный мозг и/или ЦНС приблизительно 20%-25% пациентов. В некоторых аспектах встречаемость BL остается относительно постоянной на протяжении жизни в противоположность другим подтипам NHL, включающим DLBCL, частота которых может возрастать с возрастом. В некоторых аспектах BL имеет отчетливый эпидемиологический характер вследствие ее ассоциации с инфекциями вирусом Эпштейна-Барр (EBV) и малярией, которые являются эндемичными в странах Африки южнее Сахары.

[0138] В некоторых аспектах до недавнего времени PMBCL считалась формой DLBCL, составляющей 10% или менее от всех случаев. В некоторых случаях PMBCL в

настоящее время признается отдельной единицей в классификации ВОЗ, поскольку в некоторых аспектах PMBCL имеет обособленный иммунофенотип, профиль экспрессии генов и клинические проявления по сравнению с другими гистологическими типами. В некоторых аспектах встречаемость PMBCL достигает пика на третьем или четвертом десятилетии жизни, и она более распространена у женщин.

[0139] В некоторых вариантах осуществления стадия NHL может быть определена на основе классификации Лугано (см., например, Cheson et al., (2014) JCO 32(27):3059-3067; Cheson, B.D. (2015) Chin Clin Oncol 4(1):5). В некоторых случаях стадии указываются посредством римских цифр от I до IV (1-4), и ограниченные стадии (I или II) лимфом, которые поражают органы вне лимфатической системы (внеузловые органы) обозначают посредством E. Стадия I соответствует вовлечению одного узла или группы соседних узлов или единичным внеузловым очагам повреждения без вовлечения узлов (IE). Стадия 2 соответствует вовлечению двух или более групп узлов с одной стороны от диафрагмы или стадии I или II с поражением узлов с ограниченным внеузловым вовлечением (IIE). Стадия III соответствует вовлечению узлов по обеим сторонам от диафрагмы или узлам выше диафрагмы с вовлечением селезенки. Стадия IV соответствует дополнительному внелимфатическому вовлечению несмежных областей. Кроме того, "массивное заболевание" может использоваться для описания крупных опухолей в грудной клетке, в частности, для стадии II. Степень заболевания определяют посредством позитронной эмиссионной томографии (PET)-компьютерной томографии (СТ) для авидных лимфом, и СТ для невидных гистологических форм.

[0140] В некоторых вариантах осуществления индивидуум, которого лечат в соответствии со способами и применениями, описанными в настоящем описании, имеет NHL, и имеет или идентифицирован как имеющий иммунофенотипический или цитогенетический признак, как описано в настоящем описании, например, в таблице 2. В некоторых вариантах осуществления индивидуум, подвергаемый лечению в соответствии со способами и применениями, описанными в настоящем описании, имеет NHL, и имеет или идентифицирован как имеющий лимфому "двойного/тройного удара" или лимфому молекулярных подтипов "двойного/тройного удара". В некоторых вариантах осуществления лимфома представляет собой лимфому "двойного удара", характеризующуюся присутствием перестроек (например, транслокацией) генов MYC (онкоген миелоцитоматоза), BCL2 (В-клеточная лимфома 2) и/или BCL6 (В-клеточная лимфома 6). В некоторых вариантах осуществления перестройка гена задействует локус MYC/8q24 в комбинации с другой генной перестройкой. Например, другая генная перестройка включает t(14;18)(q32;q21), вовлекающую BCL2. В некоторых вариантах осуществления генные перестройки задействуют локус MYC/8q24 в комбинации с BCL6/3q27. В некоторых вариантах осуществления лимфома представляет собой лимфому "тройного удара", характеризующуюся присутствием генных перестроек MYC, BCL2 и BCL6; см., например, Aukema et al., (2011) Blood 117:2319-2331. В некоторых аспектах таких вариантов осуществления индивидуум имеет ECOG 0-1, или не имеет или не

предполагается или не характеризуется как имеющий DLBCL, трансформированную из MZL или CLL. В некоторых аспектах терапия показана для таких индивидуумов, и/или в инструкциях описано введение индивидууму в такой популяции. В некоторых вариантах осуществления, на основе критериев ВОЗ 2016 года (Swerdlow et al., (2016) Blood 127(20):2375-2390), лимфому "двойного/тройного удара" можно считать высокозлокачественной В-клеточной лимфомой с перестройками MYC и BCL2 и/или BCL6 с гистологией DLBCL (двойного/тройного удара).

[0141] В некоторых вариантах осуществления тип В-клеточной злокачественной опухоли или гематологической злокачественной опухоли может быть идентифицирован путем оценки и/или анализа хромосомных структур в отношении аномалий, например, на основе цитогенетических признаков, описанных в настоящем описании, например, в таблице 2. Например, в некоторых вариантах осуществления хромосомы анализируют посредством кариотипирования, например, способом G-бэндинга. G-бэндинг определяет кариотип индивидуума, в то время как краситель Гимза дает серию темных и светлых полос, где каждая хромосома демонстрирует уникальный паттерн полос под световым микроскопом. Каждую хромосому можно далее охарактеризовывать положением ее центromеры (метацентрическое, субметацентрическое, акроцентрическое), делящей ее на короткое плечо, р (малое) плечо и длинное плечо, называемое q-плечом. Затем хромосомы размещают парами бок о бок для детекции аномалий, включая делеции, дубликации или другие структурные перестройки. Этот способ является относительно недорогим и является хорошим тестом первой линии в отношении аномалий, однако ограничением этого способа является неспособность выявлять мелкие делеции и перестройки.

[0142] В некоторых вариантах осуществления другие способы, которые можно использовать для определения типов В-клеточной злокачественной опухоли или гематологической злокачественной опухоли, включают флуоресцентную гибридизацию *in situ* (FISH) и многоцветную FISH, в которой используются флуоресцентно меченные зонды для детекции присутствия или отсутствия конкретного хромосомного сегмента или гена. FISH и многоцветная FISH могут выявлять мелкие делеции, дубликации и/или малозаметные хромосомные перестройки. Анализ с использованием FISH и многоцветной FISH можно проводить для тех же образцов, которые были получены для хромосомного анализа. В некоторых вариантах осуществления тип В-клеточной злокачественной опухоли идентифицируют и/или определяют посредством FISH и/или многоцветной FISH.

[0143] В некоторых вариантах осуществления способы вовлекают лечение индивидуума, у которого произошел рецидив после ремиссии после лечения или который стал рефрактерным к лечению, посредством одного или нескольких предшествующих способов терапии; или индивидуума, у которого произошел рецидив или который является рефрактерным (R/R) к одному или нескольким предшествующим способам терапии, например, одной или нескольким линиям стандартной терапии. В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают лечение конкретной группы или подгруппы индивидуумов, таких как педиатрические

индивидуумы, идентифицированные как имеющие В-клеточную злокачественную опухоль, которая является R/R при стандартной терапии. В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет заболевание высокого риска, такое как В-клеточная злокачественная опухоль, которая является агрессивной и/или имеет плохой прогноз, или является R/R при стандартной терапии. В некоторых вариантах осуществления способы вовлекают лечение индивидуумов, имеющих R/R B-ALL, R/R B-NHL или B-ALL, которая имеет минимальную резидуальную болезнь (MRD+ B-ALL). В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет R/R DLBCL, R/R BL или R/R PMBCL.

[0144] В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают лечение конкретной группы или подгруппы индивидуумов, например, индивидуумов конкретного возраста, таких как индивидуумы в возрасте 25 лет или менее. В некоторых вариантах осуществления возраст индивидуума составляет 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16 или 15 лет. В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают лечение индивидуумов конкретного возраста, таких как индивидуумы в возрасте 25 лет или менее. В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают лечение индивидуумов конкретного возраста, таких как индивидуумы в младше 18 лет. В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают лечение педиатрических индивидуумов или молодых взрослых индивидуумов.

[0145] В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение CAR-экспрессирующих клеток индивидууму, имеющему массу тела ровно или приблизительно 6 кг. В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение CAR-экспрессирующих клеток индивидууму, имеющему массу тела ровно или приблизительно 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 кг или более. В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение CAR-экспрессирующих клеток индивидууму, имеющему массу тела ровно или приблизительно 12 кг или более или более. В некоторых вариантах осуществления масса тела индивидуума составляет менее чем ровно или приблизительно 100 кг.

[0146] В некоторых вариантах осуществления возраст индивидуума составляет менее 18 лет, и он имеет массу тела ровно или приблизительно 12 кг или более. В некоторых вариантах осуществления возраст индивидуума составляет менее 18 лет, и он имеет массу тела ровно или приблизительно 6 кг. В некоторых вариантах осуществления возраст индивидуума составляет 25 лет или менее, и он имеет массу тела ровно или приблизительно 12 кг или более. В некоторых вариантах осуществления возраст индивидуума составляет 25 лет или менее, и он имеет массу тела ровно или приблизительно 6 кг или более.

[0147] В некоторых вариантах осуществления перед введением клеток или композиции индивидуум имеет или идентифицирован как имеющий клетки, экспрессирующие антиген, на который нацелен рекомбинантный рецептор (например,

CD19). В некоторых вариантах осуществления индивидуум или биологический образец от индивидуума имеет признаки экспрессии CD19 или содержит CD19-экспрессирующие клетки при определении посредством проточной цитометрии (например, из образцов периферической крови или костного мозга) или иммуногистохимии (например, биопсия костного мозга). В некоторых вариантах осуществления детекцию экспрессии антигена (например, CD19) проводят посредством проточной цитометрии в периферической крови или костном мозге и/или посредством иммуногистохимии биоптата костного мозга.

[0148] В некоторых вариантах осуществления перед введением клеток или композиции индивидуум имеет или идентифицирован как имеющий показатель по шкале Карновского 50 или более, если возраст индивидуума составляет 16 или более, или показатель по шкале Ланского 50 или более, если возраст индивидуума составляет менее 16 лет.

[0149] В некоторых вариантах осуществления способы включают введение клеток индивидууму, выбранному или идентифицированному как имеющий определенный прогноз или риск ALL или NHL. В некоторых случаях индивидуумы с ALL или NHL могут быть классифицированы на группы, которые могут информировать о прогнозе заболевания и/или рекомендованной стратегии лечения. В некоторых случаях эти группы могут представлять собой группы "низкого риска", "промежуточного риска", "высокого риска" и/или "очень высокого риска", и пациентов по сути можно классифицировать в зависимости от ряда факторов, включая, но не ограничиваясь ими, генетические аномалии и/или морфологические или физические характеристики. В некоторых вариантах осуществления индивидуумов, которых лечат в соответствии со способами, и/или изделиями или композициями, классифицируют или идентифицируют, исходя из риска ALL или NHL. В некоторых вариантах осуществления индивидуумом является индивидуум, имеющий высокий риск ALL или высокий риск NHL.

[0150] В некоторых вариантах осуществления индивидуума ранее лечили способом терапии или терапевтическим средством, нацеленным на заболевание или состояние, например, ALL или NHL, перед введением клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор. В некоторых вариантах осуществления индивидуума ранее лечили посредством трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT), например, аллогенных HSCT или аутологичных HSCT. В некоторых вариантах осуществления индивидуум имел плохой прогноз после лечения посредством стандартной терапии и/или у него оказалась неуспешной одна или несколько линий предшествующей терапии. В некоторых вариантах осуществления индивидууму проводят или ранее проводили по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере или приблизительно 1, 2, 3 или 4 других способа терапии для лечения ALL или NHL, отличных от лимфодеплеции и/или дозы клеток, экспрессирующих рецептор антигена. В некоторых вариантах осуществления индивидуума ранее лечили посредством химиотерапии или лучевой терапии. В некоторых аспектах индивидуум является рефрактерным или не отвечающим на другой способ терапии или терапевтическое средство. В некоторых вариантах осуществления

индивидуум имеет персистирующее или рецидивирующее заболевание, например, после лечения посредством другого способа терапии или терапевтического вмешательства, включая химиотерапию или лучевую терапию.

[0151] В некоторых вариантах осуществления индивидуум представляет собой индивидуума, подходящего для трансплантации, такого как индивидуум, подходящий для трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT), например, аллогенных HSCT. В некоторых таких вариантах осуществления индивидууму ранее не проводили трансплантацию, несмотря на то, что он являлся подходящим для нее, до введения модифицированных клеток (например, CAR-T-клеток) или композиции, содержащей клетки, индивидууму, как описано в настоящем описании.

[0152] В некоторых вариантах осуществления индивидуум представляет собой индивидуума, не подходящего для трансплантации, такого как индивидуум, не подходящий для трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT), например, аллогенных HSCT. В некоторых вариантах осуществления такому индивидууму вводят модифицированные клетки (например, CAR-T-клетки) или композицию, содержащую клетки, в соответствии с описанными в настоящем описании вариантами осуществления.

[0153] В некоторых вариантах осуществления перед введением клеток или композиции индивидуум имеет рецидивирующую и/или рефрактерную (R/R) B-ALL. В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет R/R B-ALL, которая может быть охарактеризована посредством морфологического признака заболевания в костном мозге, например, 5% или более лимфобластов по морфологии, и любого из следующих: (a) первый или более рецидив в костном мозге, или (b) любой рецидив в костном мозге после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT), или (c) первичное рефрактерное заболевание, определяемое как не достижение полного ответа (CR) или полного ответа с неполным восстановлением формулы крови (CRi), необязательно после 2 или более отдельных схем индукционной терапии (или рефрактерное к химиотерапии заболевание, определяемое как не достижение CR/CRi после 1 курса стандартной терапии рецидивирующего лейкоза), или (d) является неподходящим для аллогенной HSCT.

[0154] В некоторых вариантах осуществления перед введением клеток или композиции индивидуум имеет B-ALL, положительную по минимальной резидуальной болезни (MRD+). В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет MRD+ B-ALL, которая может быть охарактеризована как имеющая менее 5% лимфобластов по морфологии, и/или MRD может быть обнаружена посредством валидированного анализа, с частотой 1×10^{-4} или более в клетках ВМ после двух линий терапии.

[0155] В некоторых вариантах осуществления перед введением клеток или композиции индивидуум имеет B-NHL. В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет B-NHL, которая может быть охарактеризована как наличие поддающегося определению заболевания после 1 или более линий химиотерапии и/или наличие неуспешной HSCT или как не подходящая для HSCT.

[0156] В некоторых вариантах осуществления перед введением клеток или композиции индивидуум имеет положительный по филадельфийской хромосоме ALL и является нетолерантным к или у него оказалась неуспешной одна или несколько линий терапии ингибитором тирозинкиназы (TKI), или терапия TKI ему противопоказана.

[0157] В некоторых вариантах осуществления перед введением клеток или композиции индивидуум, как показано, имеет достаточную функцию органов, такую как достаточная функция костного мозга, достаточная функция почек, достаточная функция легких и/или достаточная сердечная функция. В некоторых аспектах достаточная функция костного мозга может быть охарактеризована как достаточная функция костного мозга для проведения лимфодеплеции. В некоторых аспектах достаточная функция почек может быть охарактеризована как клиренс креатенина, вычисленный с использованием формулы Шварца, или скорость гломерулярной фильтрации (GFR) радиоизотопа > 70 мл/мин/1,73 м². В некоторых аспектах, достаточная функция легких может быть охарактеризована как диспноэ \leq степени 1 в соответствии с Общими критериями токсичности для неблагоприятных явлений (CTCAE) и насыщение кислородом (SaO₂) $\geq 92\%$ при дыхании комнатным воздухом. В некоторых аспектах достаточная функция сердца может быть охарактеризована как фракция выброса левого желудочка (LVEF) $\geq 40\%$ при оценке посредством эхокардиографии (ЕСНО) или радиоизотопной вентрикулографии (MUGA) в пределах 4 недель перед лейкаферезом.

[0158] В некоторых вариантах осуществления перед введением клеток или композиции индивидуум, как показано, имеет достаточный доступ к сосудам для процедуры лейкафереза.

[0159] В некоторых вариантах осуществления до и в ходе режима лечения клетками или композициями индивидуум пользуется эффективной контрацепцией.

[0160] В некоторых случаях определенные индивидуумы является не подходящими для лечения или им прекращено лечение в соответствии с предусматриваемыми способами и применениями. В некоторых аспектах индивидуумы, которые являются не подходящими или у которых прекращено лечение в соответствии с предусматриваемыми способами и применениями, могут иметь любое, некоторое или всех из следующих: индивидуум имеет какое-либо значительное медицинское состояние, лабораторную аномалию или психическое заболевание, которое препятствует проведению режима лечения у индивидуума; индивидуум имеет какое-либо состояние, включая наличие лабораторных аномалий, которое может вызывать у индивидуума неприемлемый риск в случае лечения в соответствии со способами и применениями; индивидуум имеет любое состояние, которое препятствует возможности интерпретировать результаты лечения; индивидуум имеет другую первичную злокачественную опухоль в анамнезе, которая не была в ремиссии в течение по меньшей мере 2 лет перед введением клеток; индивидуум, которому проводили предшествующую терапию, нацеленную на тот же антиген, на которой нацелен рекомбинантный рецептор, экспрессируемый клеткой (например, CD19), если показано, что у него не экспрессируется антиген (например, CD19) или он

демонстрирует CD19-негативное заболевание после завершения предшествующей терапии; индивидуумы, которым проводили предшествующую терапию, которая включает терапию CAR T-клетками или другими генно-модифицированными T-клетками; индивидуум с предшествующим анамнезом инфекции или активной инфекцией гепатитом В, гепатитом С или вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ); индивидуумы с неконтролируемой системной грибковой, бактериальной, вирусной или другой инфекцией (включая туберкулез), несмотря на соответствующие антибиотики или другой способ лечения во время лейкафереза или введения модифицированных клеток; у индивидуума присутствует острая или хроническая реакция "трансплантат против хозяина" (GVHD); индивидуум с активным аутоиммунным заболеванием, требующим иммуносупрессивной терапии; индивидуум имеет нарушения сердца (степени 3 или 4 согласно СТСАЕ версии 4.03) в пределах 6 месяцев перед лейкаферезом или введением модифицированных клеток; индивидуум с сопутствующим генетическим синдромом за исключением синдрома Дауна; индивидуум с активным заболеванием центральной нервной системы (ЦНС) и значительным неврологическим нарушением (индивидуумы с вовлечением ЦНС-2 или ЦНС-3 могут быть выбраны или им может проводиться введение, если у них отсутствуют симптомы или они не имеют значительного неврологического нарушения); индивидуумы с анамнезом или наличием клинически значимой патологии ЦНС; беременные или кормящие индивидуумы.

[0161] В некоторых аспектах индивидуумы, которым проводили один или несколько из следующих способов лечения или терапии, могут быть не подходящими или у них может быть прекращено лечение в соответствии с предусматриваемыми способами и применениями: терапевтические дозы кортикостероидов (определяемые как > 20 мг/сутки преднизона или эквивалента) в пределах 7 суток до лейкафереза или за 72 часа до введения модифицированных клеток (за исключением физиологического замещения, местных и ингаляционных стероидов); химиотерапия в низкой дозе (например, винкристин, ритуксимаб, циклофосфамид ≤ 300 мг/м²), проводимая после лейкафереза для поддержания контроля заболевания, должна быть прекращена за ≥ 7 суток до лимфодеплеции; цитотоксические химиотерапевтические средства, которые не считаются лимфотоксическими в пределах 1 недели перед лейкаферезом (за исключением пероральных средств против злокачественной опухоли, включая леналидомид и ибрутиниб, если перед лейкаферезом прошло по меньшей мере 3 времени полужизни); лимфотоксические химиотерапевтические средства (например, циклофосфамид, ифосфамид, бендамустин) в пределах 2 недель перед лейкаферезом; экспериментальные средства в пределах 4 недель перед лейкаферезом, если не документировано отсутствие ответа или PD для экспериментальной терапии и не прошло по меньшей мере 3 времени полужизни перед лейкаферезом; иммуносупрессивные способы терапии в пределах 4 недель перед лейкаферезом и введением модифицированных клеток (например, ингибиторы кальциневрина, метотрексат или другие химиотерапевтические средства, микофенолат, рапамицин, талидомид, иммуносупрессивные антитела, такие как антитела

против фактора некроза опухоли (TNF), против IL-6 или против IL-6R); инфузии донорных лимфоцитов (DLI) в пределах 6 недель перед введением модифицированных клеток; облучение в пределах 6 недель до лейкафереза (индивидуумы должны иметь прогрессирующее заболевание (PD) в облученных очагах или иметь дополнительные не облученные очаги для того, чтобы быть подходящими для введения модифицированных клеток, и облучение одного очага повреждения, если присутствуют дополнительные не облученные поддающиеся определению очаги, может быть допустимым вплоть до 2 недель перед лейкаферезом); или аллогенная HSCT в пределах 90 суток перед лейкаферезом.

[0162] В некоторых вариантах осуществления показатель общего состояния Восточной кооперативной онкологической группы (ECOG) можно использовать для оценки или выбора индивидуумов для лечения, например, индивидуумов, которые имеют плохой показатель общего состояния после предшествующих способов терапии (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 осуществлять уход за собой, его повседневной активности и физической способности (например, ходьба, работа и т.д.). В некоторых вариантах осуществления показатель общего состояния ECOG 0 указывает на то, что индивидуум может осуществлять нормальную активность. В некоторых аспектах индивидуумы с показателем общего состояния ECOG 1 демонстрируют некоторое ограничение физической активности, но индивидуум является полностью амбулаторным. В некоторых аспектах пациенты с показателем общего состояния ECOG 2 являются более чем на 50% амбулаторными. В некоторых случаях индивидуум с показателем общего состояния ECOG 2 также может быть способным осуществлять уход за собой; см. например, Sørensen et al., (1993) *Br J Cancer* 67(4) 773-775. Критерии, отражающие показатель общего состояния ECOG, описаны в таблице 1 ниже:

Таблица 1. Критерии общего состояния ECOG	
Степень	Показатель общего состояния ECOG
0	Полностью активен, способен выполнять функции, которые выполнялись до заболевания, без ограничений
1	Ограничен в отношении активности физической нагрузки, но является амбулаторным и способен выполнять работу легкого или сидячего характера, например, легкую домашнюю работу, офисную работу
2	Является амбулаторным и способен осуществлять уход за собой, но не способен выполнять никакую трудовую активность; вплоть до и приблизительно более 50% часов бодрствования
3	Способен только к ограниченному уходу за собой; не встает с постели или кресла в течение более 50% часов бодрствования

4	Полностью нетрудоспособен; не может осуществлять уход за собой; полностью прикован к постели или креслу
5	Мертвый

[0163] В некоторых вариантах осуществления, способы вовлекают лечение индивидуума, который имеет показатель общего состояния Восточной кооперативной онкологической группы (ECOG) 0-1 или 0-2. В некоторых вариантах осуществления, способы осуществляют лечение популяции пациентов с плохим прогнозом или пациентов с DLBCL, или индивидуумов этих популяций, которые обычно плохо отвечают на терапию или конкретную сравнительную терапию, таких как индивидуум, имеющий одну или несколько, как например, две или три, хромосомных транслокации (например, так называемая лимфома "двойного удара" или "тройного удара"; имеющая транслокации локусов MYC/8q24, обычно в комбинации с t(14; 18) (q32; q21) гена bcl-2 или/и хромосомной транслокацией BCL6/3q27; см., например, Xu et al. (2013) Int J Clin Exp Pathol. 6(4): 788-794), и/или индивидуум, у которого произошел рецидив в пределах 12 месяцев после введения аутологичного трансплантата стволовых клеток (ASCT), и/или индивидуум, считающийся рефрактерным к химиотерапии.

[0164] В некоторых вариантах осуществления модифицированные клетки или композиции, содержащие такие клетки, используемые в способах и применениях, описанных в настоящем описании, содержат рекомбинантные рецепторы, которые нацелены на антиген, ассоциированный с В-клеточной злокачественной опухолью или гематологической злокачественной опухолью. В некоторых вариантах осуществления антигены, на которые нацелены рецепторы, включают антигены, ассоциированные с В-клеточной злокачественной опухолью, такой как любой из ряда известных В-клеточных маркеров. В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой или включает CD19, CD20, CD22, ROR1, CD45, CD21, CD5, CD33, Ig-каппа, Ig-лямбда, CD79a, CD79b или CD30.

[0165] В некоторых вариантах осуществления клеточную терапию, например, адоптивную терапию Т-клетками, проводят посредством аутологичного переноса, при котором клетки выделяют и/или иным образом получают от индивидуума, которому будут проводить клеточную терапию, или из образца, полученного от такого индивидуума. Таким образом, в некоторых аспектах клетки получают от индивидуума, например, пациента, нуждающегося в лечении, и после выделения и обработки клетки вводят тому же индивидууму.

[0166] В некоторых вариантах осуществления клеточную терапию, например, адоптивную терапию Т-клетками, проводят посредством аллогенного переноса, при котором клетки выделяют и/или иным образом получают от индивидуума, отличного от индивидуума, которому намереваются проводить или в конечном итоге проводят клеточную терапию, например, от первого индивидуума. В таких вариантах осуществления клетки затем вводят другому индивидууму, например, второму

индивидууму, того же вида. В некоторых вариантах осуществления первый и второй индивидуумы являются генетически идентичными. В некоторых вариантах осуществления первый и второй индивидуумы являются генетически сходными. В некоторых вариантах осуществления у второго индивидуума экспрессируется тот же класс или надтип HLA, что и у первого индивидуума.

[0167] В некоторых вариантах осуществления введение проводят посредством болюсной инфузии, посредством инъекции, например, внутривенной или подкожной инъекции, внутриглазной инъекции, окологлазничной инъекции, субретинальной инъекции, инъекции в стекловидное тело, трансептальной инъекции, субсклеральной инъекции, интрахороидальной инъекции, внутрикамерной инъекции, субконъюнктивальной инъекции, инъекции в субтеноново пространство, ретробульбарной инъекции, околубульбарной инъекции или задней околосоцеральной доставки. В некоторых вариантах осуществления их вводят парентеральным, внутривенным, и интраназальным путем, и, если является желательным местное лечение, посредством введения в очаг повреждения. Парентеральные инфузии включают внутримышечное, внутривенное, внутриартериальное, внутрибрюшинное или подкожное введение. В некоторых вариантах осуществления данную дозу вводят посредством однократного болюсного введения клеток. В некоторых вариантах осуществления ее вводят посредством многократных болюсных введений клеток, например, на протяжении периода не более 3 суток, или посредством непрерывного инфузионного введения клеток. В некоторых вариантах осуществления введение дозы клеток или проведение любого дополнительного способа терапии, например, лимфодеплеции, интервенционной терапии и/или комбинированной терапии, проводят посредством амбулаторной доставки.

[0168] Для предупреждения или лечения заболевания подходящая дозировка может зависеть от типа заболевания, от которого лечат, типа клеток или рекомбинантных рецепторов, тяжести и течения заболевания, введения клеток для профилактических или терапевтических целей, предшествующей терапии, клинического анамнеза пациента и ответа на клетки, и мнения лечащего врача. В некоторых вариантах осуществления композиции и клетки удобно вводить за один раз или на протяжении серии введений.

[0169] В некоторых вариантах осуществления клетки вводят в качестве части комбинированного лечения, например, одновременно или последовательно, в любом порядке, с другим или дополнительным терапевтическим вмешательством, таким как антитело или модифицированная клетка, или рецептор, или средство, такое как цитотоксическое или терапевтическое средство. В некоторых вариантах осуществления клетки вводят совместно с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами или совместно с другим терапевтическим вмешательством либо одновременно, либо последовательно в любом порядке. В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство представляет собой любые вмешательства или средства, описанные в настоящем описании, такие как любые средства комбинированной терапии, описанные в разделе IV, или любые вмешательства или

средства, которые могут облегчать симптомы токсичности, описанные в настоящем описании, например, в разделе I.D. В некоторых контекстах клетки вводят совместно с другой терапией достаточно близко во времени, чтобы клеточные популяции усиливали эффект одного или нескольких дополнительных терапевтических средств или наоборот. В некоторых вариантах осуществления клетки вводят до одного или нескольких дополнительных терапевтических средств. В некоторых вариантах осуществления клетки вводят после одного или нескольких дополнительных терапевтических средств. В некоторых вариантах осуществления одно или несколько дополнительных терапевтических средств включают цитокин, такой как ИЛ-2, например, для повышения длительности нахождения. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение химиотерапевтического средства.

[0170] В некоторых вариантах осуществления способы включают введение химиотерапевтического средства, например, кондиционирующего химиотерапевтического средства, например, для уменьшения опухолевой нагрузки перед введением.

[0171] Прекондиционирование индивидуумов с иммунодеплецией (например, лимфодеплецией) в некоторых аспектах может улучшить эффекты адоптивной клеточной терапии (АСТ).

[0172] Таким образом, в некоторых вариантах осуществления способы включают введение прекодиционирующего средства, такого как средство лимфодеплеции или химиотерапевтическое средство, такое как циклофосфамид, флударабин или их комбинации, индивидууму до начала клеточной терапии. Например, индивидууму можно вводить прекодиционирующее средство по меньшей мере за 2 дня до, например, по меньшей мере за 3, 4, 5, 6 или 7 дней до начала клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления индивидууму вводят прекодиционирующее средство не более чем за 7 дней до, например, не более чем за 6, 5, 4, 3 или 2 дня до начала клеточной терапии.

[0173] В некоторых вариантах осуществления прекодиционирование индивидуума проводят посредством циклофосфамида в дозе от или приблизительно от 20 мг/кг до 100 мг/кг массы тела, например, от или приблизительно от 40 мг/кг до 80 мг/кг. В некоторых аспектах индивидууму вводят приблизительно 60 мг/кг циклофосфамида. В некоторых вариантах осуществления циклофосфамид вводят один раз в сутки в течение одних или двух суток. В некоторых вариантах осуществления, где средство лимфодеплеции включает циклофосфамид, индивидууму вводят циклофосфамид в дозе от или приблизительно от 100 мг/м^2 до 500 мг/м^2 площади поверхности тела индивидуума, как например, от или приблизительно от 200 мг/м^2 до 400 мг/м^2 , или от 250 мг/м^2 до 350 мг/м^2 , включительно. В некоторых случаях индивидууму вводят приблизительно 100 мг/м^2 циклофосфамида. В некоторых случаях индивидууму вводят приблизительно 150 мг/м^2 циклофосфамида. В некоторых случаях индивидууму вводят приблизительно 200 мг/м^2 циклофосфамида. В некоторых случаях индивидууму вводят приблизительно 250 мг/м^2 циклофосфамида. В некоторых случаях индивидууму вводят приблизительно 300 мг/м^2 циклофосфамида.

мг/м² циклофосфамида. В некоторых вариантах осуществления циклофосфамид можно вводить в однократной дозе или можно вводить многократными дозами, например, вводить каждые сутки, раз в двое суток или раз в трое суток. В некоторых вариантах осуществления циклофосфамид вводят каждые сутки, например, в течение 1-5 суток, например, в течение от 3 до 5 суток. В некоторых случаях индивидууму вводят циклофосфамид в количестве приблизительно 300 мг/м² площади поверхности тела индивидуума каждые сутки в течение 3 суток перед началом клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления индивидууму вводят всего ровно или приблизительно 300 мг/м², 400 мг/м², 500 мг/м², 600 мг/м², 700 мг/м², 800 мг/м², 900 мг/м², 1000 мг/м², 1200 мг/м², 1500 мг/м², 1800 мг/м², 2000 мг/м², 2500 мг/м², 2700 мг/м², 3000 мг/м², 3300 мг/м², 3600 мг/м², 4000 мг/м² или 5000 мг/м² циклофосфамида, или диапазон, определяемый любыми из вышеуказанных величин, перед началом клеточной терапии.

[0174] В некоторых вариантах осуществления, когда средство лимфодеплеции включает флударабин, индивидууму вводят флударабин в дозе от или приблизительно от 1 мг/м² до 100 мг/м² площади поверхности тела индивидуума, как например, от или приблизительно от 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 индивидууму вводят приблизительно 10 мг/м² флударабина. В некоторых случаях индивидууму вводят приблизительно 15 мг/м² флударабина. В некоторых случаях индивидууму вводят приблизительно 20 мг/м² флударабина. В некоторых случаях индивидууму вводят приблизительно 25 мг/м² флударабина. В некоторых случаях индивидууму вводят приблизительно 30 мг/м² флударабина. В некоторых вариантах осуществления флударабин можно вводить в однократной дозе, или его можно вводить многократными дозами, например, вводимыми каждые сутки, каждые двое суток или каждые трое суток. В некоторых вариантах осуществления флударабин вводят каждые сутки, например, в течение 1-5 суток, например, в течение 2-4 суток. В некоторых случаях индивидууму вводят флударабин в количестве приблизительно 30 мг/м² площади поверхности тела индивидуума каждые сутки в течение 3 суток перед началом клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления индивидууму вводят всего ровно или приблизительно 10 мг/м², 20 мг/м², 25 мг/м², 30 мг/м², 40 мг/м², 50 мг/м², 60 мг/м², 70 мг/м², 80 мг/м², 90 мг/м², 100 мг/м², 120 мг/м², 150 мг/м², 180 мг/м², 200 мг/м², 250 мг/м², 270 мг/м², 300 мг/м², 330 мг/м², 360 мг/м², 400 мг/м² или 500 мг/м² циклофосфамида, или диапазон, определяемый любыми из вышеуказанных величин, перед началом клеточной терапии.

[0175] В некоторых вариантах осуществления средство лимфодеплеции включает одно средство, такое как циклофосфамид или флударабин. В некоторых вариантах осуществления индивидууму вводят только циклофосфамид без флударабина или других средств лимфодеплеции. В некоторых вариантах осуществления перед введением индивидууму проводят лимфодеплецию, включающую введение циклофосфамида в количестве ровно или приблизительно 200-400 мг/м² площади поверхности тела,

необязательно ровно или приблизительно 300 мг/м^2 , каждые сутки, в течение 2-4 суток. В некоторых вариантах осуществления индивидууму вводят только флударабин, например, без циклофосфида или других средств лимфодеплеции. В некоторых вариантах осуществления перед введением индивидууму проводят лимфодеплецию, включающую введение флударабина в количестве ровно или приблизительно $20\text{-}40 \text{ мг/м}^2$ площади поверхности тела индивидуума, необязательно ровно или приблизительно 30 мг/м^2 , каждые сутки, в течение 2-4 суток.

[0176] В некоторых вариантах осуществления средством лимфодеплеции включает комбинацию средств, такую как комбинация циклофосфида и флударабина. Таким образом, комбинация средств может включать циклофосфид в любой дозе или по любой схеме введения, как например, те, которые описаны выше, и флударабин в любой дозе или по любой схеме введения, как например, те, которые описаны выше. Например, в некоторых аспектах индивидууму вводят 60 мг/кг ($\sim 2 \text{ г/м}^2$) циклофосфида и от 3 до 5 доз 25 мг/м^2 флударабина перед первой или последующей дозой. В некоторых вариантах осуществления индивидууму вводят флударабин ($30 \text{ мг/м}^2/\text{сутки}$ в течение 3 суток) и циклофосфид ($300 \text{ мг/м}^2/\text{сутки}$ в течение 3 суток) (flu/cy) одновременно, внутривенно, перед введением клеток.

[0177] После введения клеток в некоторых вариантах осуществления определяют биологическую активность популяций модифицированных клеток, например, любым из ряда известных способов. Параметры оценки включают специфическое связывание модифицированных или натуральных Т-клеток или других иммунных клеток с антигеном, *in vivo*, например, посредством визуализации, или *ex vivo*, например, посредством ELISA или проточной цитометрии. В определенных вариантах осуществления способность модифицированных клеток разрушать клетки-мишени можно определять с использованием любых подходящих известных способов, таких как анализ цитотоксичности, описанный, 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 определенных вариантах осуществления биологическую активность клеток определяют посредством анализа экспрессии и/или секреции одного или нескольких цитокинов, таких как CD107a, $\text{IFN}\gamma$, IL-2 и TNF. В некоторых аспектах биологическую активность определяют посредством оценки клинического исхода, например, уменьшения опухолевой массы или нагрузки.

[0178] В определенных вариантах осуществления модифицированные клетки далее модифицируют любым из ряда способов для повышения их терапевтической или профилактической эффективности. Например, сконструированный рекомбинантный рецептор, экспрессируемый популяцией, можно конъюгировать, либо прямо, либо непрямо через линкер, с нацеливающей частью. Практика конъюгации соединений, например, CAR, с нацеливающими частями, известна. См., например, Wadwa et al., *J. Drug Targeting* 3: 1 1 1 (1995) и патент США 5087616. В некоторых вариантах осуществления клетки вводят в качестве части комбинированного лечения, например, одновременно или

последовательно в любом порядке, с другим терапевтическим вмешательством, таким как антитело или сконструированная клетка, или рецептор, или средство, такое как цитотоксическое или терапевтическое средство. В некоторых вариантах осуществления клетки вводят совместно с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами или совместно с другим терапевтическим вмешательством, либо одновременно, либо последовательно в любом порядке. В некоторых контекстах клетки вводят совместно с другой терапией достаточно близко по времени, чтобы клеточные популяции усиливали эффект одного или нескольких дополнительных терапевтических средств, или наоборот. В некоторых вариантах осуществления клетки вводят до одного или нескольких дополнительных терапевтических средств. В некоторых вариантах осуществления клетки вводят после одного или нескольких дополнительных терапевтических средств. В некоторых вариантах осуществления одно или несколько дополнительных средств включают цитокин, такой как ИЛ-2, например, для повышения длительности нахождения.

В. Дозирование

[0179] В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение всей или части композиции, содержащей клетки, такие как модифицированные Т-клетки, экспрессирующие рекомбинантный рецептор, такой как химерный рецептор антигена (CAR). В некоторых аспектах индивидууму вводят конкретный уровень или число клеток или конкретное количество композиции, содержащей конкретный уровень или число клеток. В некоторых аспектах индивидууму вводят одну или несколько доз клеток, содержащих конкретный уровень или число клеток, или конкретное количество композиции. В некоторых вариантах осуществления дозу клеток вводят индивидууму в соответствии с предусматриваемыми способами и/или с предусматриваемыми изделиями или композициями. В некоторых вариантах осуществления размер, величину или время введения доз определяют в зависимости от возраста индивидуума. В некоторых вариантах осуществления размер, величину или время введения доз определяют в зависимости от массы тела индивидуума. В некоторых вариантах осуществления размер, величину или время введения доз определяют в зависимости от конкретного типа В-клеточной злокачественной опухоли или гематологической злокачественной опухоли у индивидуума.

[0180] В некоторых вариантах осуществления уровень или число клеток в дозе определяют в зависимости от возраста индивидуума. В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение CAR-экспрессирующих клеток индивидууму в возрасте 25 лет или менее. В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение CAR-экспрессирующих клеток индивидууму младше 18 лет. В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение CAR-экспрессирующих клеток педиатрическому индивидууму. В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение CAR-

экспрессирующих клеток молодому взрослому индивидууму.

[0181] В некоторых вариантах осуществления уровень или число клеток, которые вводят в способах и применениях, описанных в настоящем описании, соответствуют уровню или числу клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, клеток, экспрессирующих химерный рецептор антигена (CAR), тотальных Т-клеток или тотальных мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC). В некоторых вариантах осуществления уровень или число клеток, которые вводят в способах и применениях, описанных в настоящем описании, соответствуют уровню или числу CD3+ Т-клеток, CD4+ Т-клеток, CD8+ Т-клеток, и в некоторых случаях также экспрессирующих рекомбинантный рецептор или экспрессирующих CAR Т-клеток.

[0182] В некоторых вариантах осуществления уровень или число клеток в дозе определяют в зависимости от массы тела индивидуума. В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение CAR-экспрессирующих клеток индивидууму, имеющему массу тела менее 100 килограммов (кг). В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение CAR-экспрессирующих клеток индивидууму, имеющему массу тела 100 кг или более. В некоторых аспектах, исходя из массы тела индивидуума, индивидууму вводят дозу, которая вычислена в зависимости от массы тела (например, клеток/кг массы тела индивидуума) или постоянную или фиксированную дозу.

[0183] В некоторых вариантах осуществления способы вовлекают введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг) и его возраст составляет менее 18 лет, от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 килограммов (кг) или более и возраст составляет от 18 до 25 лет, включительно, от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0184] В некоторых вариантах осуществления, если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до 1×10^6 CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума.

[0185] В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если

масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0186] В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение индивидууму в возрасте младше 18 лет композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0187] В некоторых вариантах осуществления, если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до 1×10^6 CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума. В некоторых вариантах осуществления, если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до 1×10^8 CAR+ Т-клеток.

[0188] В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые варианты осуществления вовлекают введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; или (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0189] В некоторых вариантах осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

[0190] В некоторых вариантах осуществления индивидуумам в возрасте менее 18 лет вводят дозу, определенную на основе массы тела индивидуума, но вплоть до максимального уровня или максимального числа клеток, или предельного уровня или предельного числа клеток. В некоторых вариантах осуществления максимальное или

предельное число или уровень клеток в дозе могут представлять собой фиксированное число или уровень. В некоторых вариантах осуществления возраст индивидуума составляет менее 18 лет, и ему вводят дозу клеток, таких как CAR-экспрессирующие клетки, на килограмм массы тела индивидуума (количество клеток/кг), вплоть до максимального количества клеток. В некоторых вариантах осуществления возраст индивидуума составляет менее 18 лет, и ему вводят от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но количество не превышает ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых вариантах осуществления возраст индивидуума составляет менее 18 лет, и ему вводят от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но количество не превышает ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых вариантах осуществления возраст индивидуума составляет менее 18 лет, и ему вводят по меньшей мере ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но количество не превышает ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых вариантах осуществления возраст индивидуума составляет менее 18 лет, и ему вводят по меньшей мере ровно или приблизительно $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но количество не превышает ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

[0191] В некоторых вариантах осуществления возраст индивидуума составляет менее 18 лет, и его масса тела составляет менее 100 килограммов (кг), и индивидууму вводят от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума. В некоторых вариантах осуществления возраст индивидуума составляет менее 18 лет, и его масса тела составляет менее 100 килограммов (кг), и индивидууму вводят ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума. В некоторых вариантах осуществления возраст индивидуума составляет менее 18 лет, и его масса тела составляет менее 100 килограммов (кг), и индивидууму вводят ровно или приблизительно $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума.

[0192] В некоторых вариантах осуществления для индивидуумов, которым вводят дозу на основе массы тела, доза клеток, таких как CAR-экспрессирующие клетки, составляет от ровно или приблизительно 2×10^5 клеток на кг массы тела индивидуума (клеток/кг) до ровно или приблизительно 2×10^6 клеток/кг массы тела индивидуума, как например, от ровно или приблизительно 4×10^5 клеток/кг массы тела индивидуума до ровно или приблизительно 1×10^6 клеток/кг массы тела индивидуума или от ровно или приблизительно 6×10^5 клеток/кг массы тела индивидуума до ровно или приблизительно 8×10^5 клеток/кг массы тела индивидуума. В некоторых вариантах осуществления доза клеток составляет не более 2×10^5 клеток на килограмм массы тела индивидуума (клеток/кг), как например, не более чем ровно или приблизительно 3×10^5 клеток/кг, не

более чем ровно или приблизительно 4×10^5 клеток/кг, не более чем ровно или приблизительно 5×10^5 клеток/кг, не более чем ровно или приблизительно 6×10^5 клеток/кг, не более чем ровно или приблизительно 7×10^5 клеток/кг, не более чем ровно или приблизительно 8×10^5 клеток/кг, не более чем ровно или приблизительно 9×10^5 клеток/кг, не более чем ровно или приблизительно 1×10^6 клеток/кг, или не более чем ровно или приблизительно 2×10^6 клеток/кг. В некоторых вариантах осуществления доза клеток составляет по меньшей мере или по меньшей мере приблизительно или ровно или приблизительно 2×10^5 клеток на килограмм массы тела индивидуума (клеток/кг), как например, по меньшей мере или по меньшей мере приблизительно или ровно или приблизительно 3×10^5 клеток/кг, по меньшей мере или по меньшей мере приблизительно или ровно или приблизительно 4×10^5 клеток/кг, по меньшей мере или по меньшей мере приблизительно или ровно или приблизительно 5×10^5 клеток/кг, по меньшей мере или по меньшей мере приблизительно или ровно или приблизительно 6×10^5 клеток/кг, по меньшей мере или по меньшей мере приблизительно или ровно или приблизительно 7×10^5 клеток/кг, по меньшей мере или по меньшей мере приблизительно или ровно или приблизительно 8×10^5 клеток/кг, по меньшей мере или по меньшей мере приблизительно или ровно или приблизительно 9×10^5 клеток/кг, по меньшей мере или по меньшей мере приблизительно или ровно или приблизительно 1×10^6 клеток/кг, или по меньшей мере или по меньшей мере приблизительно или ровно или приблизительно 2×10^6 клеток/кг.

[0193] В некоторых вариантах осуществления возраст индивидуума составляет менее 18 лет, и его масса тела составляет 100 килограммов (кг) или более, и индивидууму вводят от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления возраст индивидуума составляет менее 18 лет, и его масса тела составляет 100 килограммов (кг) или более, и индивидууму вводят от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления возраст индивидуума составляет менее 18 лет, его масса тела составляет 100 килограммов (кг) или более, и индивидууму вводят ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления возраст индивидуума составляет менее 18 лет, и его масса тела составляет 100 килограммов (кг) или более, и индивидууму вводят ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0194] В некоторых из вариантов осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение индивидууму в возрасте младше 18 лет композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0195] В некоторых из вариантов осуществления предусматриваемые способы и

применения вовлекают введение индивидууму в возрасте младше 18 лет композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,15 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0196] В некоторых из вариантов осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение индивидууму в возрасте младше 18 лет композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,3 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0197] В некоторых из вариантов осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение индивидууму в возрасте младше 18 лет композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0198] В некоторых из вариантов осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение индивидууму в возрасте младше 18 лет композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0199] В некоторых из вариантов осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение индивидууму в возрасте младше 18 лет композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), ровно или приблизительно $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и (ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0200] В некоторых вариантах осуществления, если возраст индивидуума

составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых из таких вариантов осуществления после введения ровно или приблизительно $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом, у индивидуума отсутствует ответ или неблагоприятное явление, например, токсичность, такая как CRS или NT, через или приблизительно через 28 суток после первоначального введения, и индивидууму проводят другую лимфодеплецию и дозу повышают ровно или приблизительно $0,1 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,1 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых вариантах осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,1 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,1 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых вариантах осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,15 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых вариантах осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,3 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых вариантах осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых вариантах осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом. В некоторых вариантах осуществления, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

[0201] В некоторых вариантах осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых вариантах

осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0202] В некоторых вариантах осуществления в рамках настоящего изобретения предусматриваются способы и применения, которые вовлекают введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее и с массой тела 12 кг или более композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, ровно или приблизительно $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0203] В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее и с массой тела 12 кг или более композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, ровно или приблизительно $0,15 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0204] В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее и с массой тела 12 кг или более композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, ровно или приблизительно $0,3 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0205] В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее и с массой тела 12 кг или более композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, равно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая равно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, равно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0206] В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее и с массой тела 12 кг или более композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, равно или приблизительно $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая равно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, равно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0207] В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее и с массой тела 12 кг или более композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, равно или приблизительно 1×10^6 CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая равно или приблизительно 1×10^8 CAR+ Т-клеток в целом; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, равно или приблизительно 1×10^8 CAR+ Т-клеток.

[0208] В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее и с массой тела 6 кг или более композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, равно или приблизительно 1×10^6 CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая равно или приблизительно 1×10^8 CAR+ Т-клеток в целом; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, равно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0209] В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение индивидууму в возрасте младше 18 лет и с массой тела 12 кг или более композиции, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена против CD19 (CAR), где композицию вводят в количестве, которое составляет

ровно или приблизительно $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

[0210] В некоторых вариантах осуществления индивидуумам в возрасте младше 18 лет вводят дозу, которая определяется на основе конкретного объема композиции, но вплоть до максимального или предельного уровня или числа клеток. В некоторых вариантах осуществления возраст индивидуума составляет менее 18 лет, и ему вводят дозу клеток, таких как CAR-экспрессирующие клетки, которая содержит минимальный объем композиции, содержащей клетки, в конкретной концентрации вплоть до максимального количества клеток. В некоторых вариантах осуществления минимальный объем вводимых клеток составляет по меньшей мере ровно или приблизительно 0,05 мл. В некоторых вариантах осуществления минимальный объем вводимых клеток составляет по меньшей мере ровно или приблизительно 0,1 мл. В некоторых вариантах осуществления минимальный объем вводимых клеток составляет по меньшей мере ровно или приблизительно 0,5 мл. В некоторых вариантах осуществления минимальный объем вводимых клеток составляет по меньшей мере ровно или приблизительно 0,75 мл. В некоторых вариантах осуществления минимальный объем вводимых клеток составляет по меньшей мере ровно или приблизительно 1,0 мл.

[0211] В некоторых вариантах осуществления композицию вводят в объеме ровно или приблизительно 0,05 мл. В некоторых вариантах осуществления композицию вводят в объеме ровно или приблизительно 0,1 мл. В некоторых вариантах осуществления композицию вводят в объеме ровно или приблизительно 0,5 мл. В некоторых вариантах осуществления композицию вводят в объеме ровно или приблизительно 0,75 мл. В некоторых вариантах осуществления композицию вводят в объеме ровно или приблизительно 1,0 мл.

[0212] В некоторых вариантах осуществления вводят две отдельных композиции клеток, такие как композиция, содержащая CD4+ CAR+ Т-клетки, и композиция, содержащая CD8+ CAR+ Т-клетки, и каждую композицию вводят в минимальном объеме по меньшей мере ровно или приблизительно 0,5 мл или по меньшей мере ровно или приблизительно 1,0 мл.

[0213] В некоторых вариантах осуществления вводят общий объем композиции Т-клеток по меньшей мере 0,05 мл в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл. В некоторых вариантах осуществления вводят общий объем композиции Т-клеток по меньшей мере 0,5 мл в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл.

[0214] В некоторых вариантах осуществления способы вовлекают введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, в концентрации ровно или более чем $0,25 \times 10^6$ клеток/мл, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до

$1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в объеме по меньшей мере 0,5 мл; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0215] В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом, в объеме по меньшей мере 0,5 мл; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0216] В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^5$ клеток/мл, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом, в объеме по меньшей мере 0,5 мл; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0217] В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих: (i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно 1×10^8 CAR+ Т-клеток в целом, в объеме по меньшей мере 0,5 мл; и (ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0218] В некоторых из вариантов осуществления общий объем вводимой композиции Т-клеток составляет по меньшей мере 0,05 мл. В некоторых из вариантов осуществления общий объем вводимой композиции Т-клеток составляет по меньшей мере 0,1 мл. В некоторых из вариантов осуществления общий объем вводимой композиции Т-клеток составляет по меньшей мере 0,15 мл. В некоторых из вариантов осуществления общий объем вводимой композиции Т-клеток составляет по меньшей мере 0,3 мл. В некоторых из вариантов осуществления общий объем вводимой композиции Т-клеток составляет по меньшей мере 0,5 мл. В некоторых из вариантов осуществления общий объем вводимой композиции Т-клеток составляет по меньшей мере 0,75 мл. В некоторых из вариантов осуществления общий объем вводимой композиции Т-клеток составляет по

приблизительно составляет 15×10^6 клеток/мл. В некоторых вариантах осуществления можно вводить минимальный объем по меньшей мере ровно или приблизительно 0,5 мл или по меньшей мере ровно или приблизительно 1,0 мл любой такой композиции.

[0221] В некоторых вариантах осуществления индивидуумам в возрасте от 18 до 25 лет, включительно, вводят дозу, которая представляет собой постоянную дозу клеток или фиксированную дозу клеток, так что доза клеток не связана с или не основана на площади поверхности тела или массе тела индивидуума. В некоторых вариантах осуществления возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, и ему вводят от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, и ему вводят от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, и ему вводят ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, и ему вводят ровно или приблизительно ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

[0222] В некоторых вариантах осуществления максимальный (или предельный) вводимый уровень или число клеток представляют собой уровень или число, эквивалентные дозе на основе массы тела для индивидуума с конкретной массой тела, такой как от ровно или приблизительно 50 кг до ровно или приблизительно 150 кг. В некоторых вариантах осуществления максимальный (или предельный) вводимый уровень или число клеток представляют собой уровень или число, которые эквивалентны дозе на основе массы тела для индивидуума, который имеет массу тела 100 кг. В некоторых вариантах осуществления максимальный (или предельный) вводимый уровень или число клеток представляют собой уровень или число, которые эквивалентны дозе на основе массы тела для индивидуума, который имеет массу тела 150 кг. В некоторых вариантах осуществления доза на основе массы тела составляет от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; или составляет от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; или составляет ровно или приблизительно $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; или составляет ровно или приблизительно $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума. В некоторых вариантах осуществления доза на основе массы тела составляет от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; или составляет от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; или составляет ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; или составляет ровно или приблизительно $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума.

[0223] В некоторых вариантах осуществления вводимый постоянный или фиксированный уровень или число клеток, вводимых индивидууму, например, индивидууму в возрасте от 18 до 25 лет, включительно, представляет собой уровень или число, которые эквивалентны дозе на основе массы тела для индивидуума с конкретной массой тела, такой как от ровно или приблизительно 50 кг до ровно или приблизительно 150 кг. В некоторых вариантах осуществления постоянный или фиксированный уровень или число клеток, вводимых индивидууму, например, индивидууму в возрасте от 18 до 25 лет, включительно, представляет собой уровень или число, которые эквивалентны дозе на основе массы тела для индивидуума, который имеет массу тела 100 кг. В некоторых вариантах осуществления постоянный или фиксированный уровень или число клеток, вводимых индивидууму, например, индивидууму в возрасте от 18 до 25 лет, включительно, представляет собой уровень или число, которые эквивалентны дозе на основе массы тела для индивидуума, который имеет массу тела 150 кг. В некоторых вариантах осуществления доза на основе массы тела составляет от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; или составляет от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; или составляет ровно или приблизительно $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; или составляет ровно или приблизительно $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума. В некоторых вариантах осуществления доза на основе массы тела составляет от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; или составляет от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; или составляет ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; или составляет ровно или приблизительно $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума.

[0224] В некоторых вариантах осуществления для индивидуумов, которым вводят постоянное или фиксированное число или уровень клеток, доза клеток не связана или не основана на площади поверхности тела или массе тела индивидуума. В некоторых вариантах осуществления для индивидуумов, которым вводят постоянную или фиксированную дозу клеток, доза находится в диапазоне от приблизительно одного миллиона до приблизительно 100 миллиардов клеток и/или это количество клеток на килограмм массы тела, как например, например, от 1 миллиона до приблизительно 50 миллиарда клеток (например, приблизительно 5 миллионов клеток, приблизительно 25 миллионов клеток, приблизительно 500 миллионов клеток, приблизительно 1 миллиард клеток, приблизительно 5 миллиардов клеток, приблизительно 20 миллиардов клеток, приблизительно 30 миллиардов клеток, приблизительно 40 миллиардов клеток или диапазон, определяемый любыми двумя из вышеуказанных величин), как например, от приблизительно 10 миллионов до приблизительно 100 миллиардов клеток (например,

приблизительно 20 миллионов клеток, приблизительно 30 миллионов клеток, приблизительно 40 миллионов клеток, приблизительно 60 миллионов клеток, приблизительно 70 миллионов клеток, приблизительно 80 миллионов клеток, приблизительно 90 миллионов клеток, приблизительно 10 миллиардов клеток, приблизительно 25 миллиардов клеток, приблизительно 50 миллиардов клеток, приблизительно 75 миллиардов клеток, приблизительно 90 миллиардов клеток, или диапазон, определяемый любыми двумя из вышеуказанных величин), и в некоторых случаях от приблизительно 100 миллионов клеток до приблизительно 50 миллиардов клеток (например, приблизительно 120 миллионов клеток, приблизительно 250 миллионов клеток, приблизительно 350 миллионов клеток, приблизительно 450 миллионов клеток, приблизительно 650 миллионов клеток, приблизительно 800 миллионов клеток, приблизительно 900 миллионов клеток, приблизительно 3 миллиарда клеток, приблизительно 30 миллиардов клеток, приблизительно 45 миллиардов клеток) или любую величину между этими диапазонами. В некоторых вариантах осуществления уровень или число клеток, описанных в настоящем описании, приведен в отношении уровня или числа клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, клеток, экспрессирующих химерный рецептор антигена (CAR), тотальных Т-клеток, или тотальных мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC), или уровня или числа CD3+ Т-клеток, CD4+ Т-клеток, CD8+ Т-клеток и в некоторых случаях также экспрессирующих рекомбинантный рецептор или экспрессирующих CAR Т-клеток.

[0225] В некоторых вариантах осуществления постоянная или фиксированная доза клеток составляет от или приблизительно от 1×10^5 до 5×10^8 CAR+ Т-клеток в целом, от 1×10^5 до $2,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом, от 1×10^5 до 1×10^8 CAR+ Т-клеток в целом, от 1×10^5 до 5×10^7 CAR+ Т-клеток в целом, от 1×10^5 до $2,5 \times 10^7$ CAR+ Т-клеток в целом, от 1×10^5 до 1×10^7 CAR+ Т-клеток в целом, от 1×10^5 до 5×10^6 CAR+ Т-клеток в целом, от 1×10^5 до $2,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток в целом, от 1×10^5 до 1×10^6 CAR+ Т-клеток в целом, от 1×10^6 до 5×10^8 CAR+ Т-клеток в целом, от 1×10^6 до $2,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом, от 1×10^6 до 1×10^8 CAR+ Т-клеток в целом, от 1×10^6 до 5×10^7 CAR+ Т-клеток в целом, от 1×10^6 до $2,5 \times 10^7$ CAR+ Т-клеток в целом, от 1×10^6 до 1×10^7 CAR+ Т-клеток в целом, от 1×10^6 до 5×10^6 CAR+ Т-клеток в целом, от 1×10^6 до $2,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток в целом, от $2,5 \times 10^6$ до 5×10^8 CAR+ Т-клеток в целом, от $2,5 \times 10^6$ до $2,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом, от $2,5 \times 10^6$ до 1×10^8 CAR+ Т-клеток в целом, от $2,5 \times 10^6$ до 5×10^7 CAR+ Т-клеток в целом, от $2,5 \times 10^6$ до $2,5 \times 10^7$ CAR+ Т-клеток в целом, от $2,5 \times 10^6$ до 1×10^7 CAR+ Т-клеток в целом, от $2,5 \times 10^6$ до 5×10^6 CAR+ Т-клеток в целом, от 5×10^6 до 5×10^8 CAR+ Т-клеток в целом, от 5×10^6 до 1×10^8 CAR+ Т-клеток в целом, от 5×10^6 до $2,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом, от 5×10^6 до 5×10^7 CAR+ Т-клеток в целом, от 5×10^6 до $2,5 \times 10^7$ CAR+ Т-клеток в целом, от 5×10^6 до 1×10^7 CAR+ Т-клеток в целом, от 1×10^7 до 5×10^8 CAR+ Т-клеток в целом, от 1×10^7 до $2,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом, от 1×10^7 до 1×10^8 CAR+ Т-клеток в целом, от 1×10^7 до 5×10^7 CAR+ Т-клеток в целом, от 1×10^7 до $2,5 \times 10^7$ CAR+ Т-клеток в целом, от $2,5 \times 10^7$ до 5×10^8 CAR+ Т-клеток в целом, от $2,5 \times 10^7$ до $2,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом, от

2,5×10⁷ до 1×10⁸ CAR+ Т-клеток в целом, от 2,5×10⁷ до 5×10⁷ CAR+ Т-клеток в целом, от 5×10⁷ до 5×10⁸ CAR+ Т-клеток в целом, от 5×10⁷ до 2,5×10⁸ CAR+ Т-клеток в целом, от 5×10⁷ до 1×10⁸ CAR+ Т-клеток в целом, от 1×10⁸ до 5×10⁸ CAR+ Т-клеток в целом, от 1,5×10⁸ до 2,5×10⁸ CAR+ Т-клеток в целом или от 2,5×10⁸ до 5×10⁸ CAR+ Т-клеток в целом.

[0226] В некоторых вариантах осуществления доза генно-модифицированных клеток составляет по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере 1×10⁵ CAR+ Т-клеток, по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере 2,5×10⁵ CAR+ Т-клеток, по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере 5×10⁵ CAR+ Т-клеток, по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере 1×10⁶ CAR+ Т-клеток, по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере 2,5×10⁶ CAR+ Т-клеток, по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере 5×10⁶ CAR+ Т-клеток, по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере 1×10⁷ CAR+ Т-клеток, по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере 2,5×10⁷ CAR+ Т-клеток, по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере 5×10⁷ CAR+ Т-клеток, по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере 1×10⁸ CAR+ Т-клеток, по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере 2,5×10⁸ CAR+ Т-клеток или по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере 5×10⁸ CAR+ Т-клеток.

[0227] В некоторых вариантах осуществления Т-клетки дозы включают CD4⁺ Т-клетки, CD8⁺ Т-клетки или CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетки.

[0228] В некоторых вариантах осуществления, например, CD8⁺ Т-клетки дозы, в том числе в дозе, включающей CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетки, включают приблизительно от 1×10⁶ до 5×10⁸ тотальных CAR+ CD8⁺ клеток, например, в диапазоне приблизительно от 5×10⁶ до 1×10⁸ таких клеток, 5×10⁶, 1×10⁷, 1,5×10⁷, 3×10⁷, 2,5×10⁷, 5×10⁷, 7,5×10⁷, 1×10⁸, 1,5×10⁸ или 5×10⁸ таких тотальных клеток, или диапазон между любыми двумя из вышеуказанных величин. В некоторых вариантах осуществления индивидууму вводят множество доз, и каждая из доз или тотальных доз могут находиться в пределах любых из вышеуказанных величин. В некоторых вариантах осуществления доза клеток включает введение от или приблизительно от 1×10⁷ до 0,75×10⁸ тотальных CAR+ CD8⁺ Т-клеток, от 1×10⁷ до 2,5×10⁷ тотальных CAR+ CD8⁺ Т-клеток, от или приблизительно от 1×10⁷ до 0,75×10⁸ тотальных CAR+ CD8⁺ Т-клеток, в каждом случае включительно. В некоторых вариантах осуществления доза клеток включает введение ровно или приблизительно 5×10⁶, 1×10⁷, 1,5×10⁷, 3×10⁷, 2,5×10⁷, 5×10⁷, 7,5×10⁷, 1×10⁸, 1,5×10⁸ или 5×10⁸ тотальных CAR+ CD8⁺ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления доза Т-клеток включает: ровно или приблизительно 5×10⁷ CAR+ Т-клеток или ровно или приблизительно 2,5×10⁷ CAR+ CD8⁺ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления доза Т-клеток включает: ровно или приблизительно 1×10⁸ CAR+ Т-клеток или ровно или приблизительно 5×10⁷ CAR+ CD8⁺ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления доза Т-клеток включает: ровно или приблизительно 1,5×10⁸ CAR+ Т-клеток или ровно или приблизительно 0,75×10⁸ CAR+ CD8⁺ Т-клеток.

[0229] В некоторых вариантах осуществления дозу клеток, например, экспрессирующих рекомбинантный рецептор Т-клеток, вводят индивидууму в качестве однократной дозы или вводят только один раз в две недели, один месяц, три месяца, шесть месяцев, 1 год или более.

[0230] В контексте адоптивной клеточной терапии введение данной "дозы" охватывает введение данного количества или числа клеток в качестве одной композиции и/или одного непрерывного введения, например, в качестве однократной инъекции или непрерывной инфузии, и также охватывает введение данного количества или числа клеток в качестве разделенной дозы или в качестве нескольких композиций, предоставленных в виде нескольких индивидуальных композиций или инфузий, на протяжении определенного периода времени, который составляет не более 3 суток. Таким образом, в некоторых контекстах доза представляет собой однократное или непрерывное введение определенного количества клеток, осуществляемое или начинающееся в один момент времени. Однако в некоторых контекстах дозу вводят в виде множества инъекций или инфузий на протяжении периода, составляющего не более трех суток, например, один раз в сутки на протяжении трех суток или на протяжении двух суток, или посредством множества инфузий на протяжении одних суток.

[0231] Таким образом, в некоторых аспектах клетки дозы вводят в одной фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления клетки дозы вводят в множестве композиций, в совокупности содержащих клетки первой дозы.

[0232] В некоторых вариантах осуществления "разделенная доза" относится к дозе, которая разделена так, что ее вводят на протяжении более чем одних суток. Этот тип дозирования охватывается способами по настоящему изобретению и считается однократной дозой.

[0233] Таким образом дозу можно вводить в виде разделенной дозы, например, разделенной дозы, вводимой с течением времени. Например, в некоторых вариантах осуществления дозу можно вводить индивидууму на протяжении 2 суток или на протяжении 3 суток. Иллюстративные способы разделенного дозирования включают введение 25% дозы в первый день и введение остальных 75% дозы на второй день. В других вариантах осуществления 33% первой дозы могут быть введены в первый день, и остальные 67% могут быть введены на второй день. В некоторых аспектах 10% дозы вводят в первый день, 30% дозы вводят на второй день и 60% дозы вводят на третий день. В некоторых вариантах осуществления интервал между введением доз составляет не более 3 суток.

[0234] В некоторых вариантах осуществления клетки дозы можно вводить посредством введения множества композиций или растворов, например, первого и второго, необязательно более, каждый из которых содержит некоторое количество клеток дозы. В некоторых аспектах множество композиций, каждая из которых содержит отличающуюся популяцию и/или подтипы клеток, вводят отдельно или независимо, необязательно в течение определенного периода времени. Например, популяции или

подтипы клеток могут включать CD8⁺ и CD4⁺ Т-клетки, соответственно, и/или CD8⁺ и CD4⁺-обогащенные популяции, соответственно, например, CD4⁺ и/или CD8⁺ Т-клетки, которые в каждом случае индивидуально включают клетки, генетически модифицированные для экспрессии рекомбинантного рецептора. В некоторых вариантах осуществления введение дозы включает введение первой композиции, содержащей дозу CD8⁺ Т-клеток или дозу CD4⁺ Т-клеток, и введение второй композиции, содержащей другую дозу CD4⁺ Т-клеток и CD8⁺ Т-клеток.

[0235] В некоторых вариантах осуществления введение композиции или дозы, например, введение множества композиций клеток, вовлекает введение композиций клеток по отдельности. В некоторых аспектах отдельное введение проводят одновременно или последовательно в любом порядке. В некоторых вариантах осуществления доза включает первую композицию и вторую композицию, и первую композицию и вторую композицию вводят с интервалом от 0 до 12 часов, от 0 до 6 часов или от 0 до 2 часов. В некоторых вариантах осуществления начало введения первой композиции и начало введения второй композиции проводят с интервалом не более 2 часов, не более 1 часа, или не более 30 минут, не более 15 минут, не более 10 минут или не более 5 минут. В некоторых вариантах осуществления начало и/или завершение введения первой композиции и завершение и/или начало введения второй композиции проводят в пределах не более 2 часов, не более 1 часа, или не более 30 минут, не более 15 минут, не более 10 минут или не более 5 минут.

[0236] В некоторых композициях первая композиция, например, первая композиция дозы, содержит CD4⁺ Т-клетки. В некоторых композициях, первая композиция, например, первая композиция дозы, содержит CD8⁺ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления первую композицию вводят до второй композиции.

[0237] В некоторых вариантах осуществления доза или композиция клеток включает определенное или заданное соотношение CD4⁺ клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, и CD8⁺ клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, и/или CD4⁺ клеток и CD8⁺ клеток, которое необязательно составляет приблизительно 1:1 или от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1, как например, приблизительно 1:1. В некоторых аспектах введение композиции или дозы с заданным или желаемым соотношением различных популяций клеток (таким как соотношение CD4⁺:CD8⁺ или соотношение CAR⁺:CD4⁺:CAR⁺:CD8⁺, например, 1:1) вовлекает введение композиции клеток, содержащей одну из популяций, а затем введение отдельной композиции клеток, содержащей другую из популяций, где введение происходит в или приблизительно в заданном или желаемом соотношении. В некоторых аспектах введение дозы или композиции клеток в определенном соотношении приводит к увеличенной экспансии, длительности нахождения и/или противоопухолевой активности терапии Т-клетками.

[0238] В некоторых вариантах осуществления индивидууму вводят множество доз, например, две или более дозы или множество последовательных доз, клеток. В некоторых вариантах осуществления индивидууму вводят две дозы. В некоторых вариантах

осуществления индивидууму вводят последующую дозу, например, вторую дозу, приблизительно через 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 суток после первой дозы. В некоторых вариантах осуществления множество последовательных доз вводят после первой дозы, так что дополнительную дозу или дозы вводят после введения последующей дозы. В некоторых аспектах количество клеток, вводимых индивидууму в дополнительной дозе, является таким же или сходным с первой дозой и/или последующей дозой. В некоторых вариантах осуществления дополнительная доза или дозы превышают предшествующие дозы.

[0239] В некоторых аспектах размер первой и/или последующей дозы определяется, исходя из одного или нескольких критериев, таких как ответ индивидуума на предшествующее лечение, например, химиотерапию, нагрузка заболеванием у индивидуума, такая как опухолевая нагрузка, объем, размер или степень, выраженность или тип метастазов, стадия и/или вероятность или встречаемость у индивидуума развития токсических исходов, например, CRS, синдрома активации макрофагов, синдрома лизиса опухоли, нейротоксичности и/или иммунного ответа хозяина против вводимых клеток и/или рекомбинантных рецепторов.

[0240] В некоторых аспектах время между введением первой дозы и введением последующей дозы составляет от приблизительно 9 до приблизительно 35 суток, от приблизительно 14 до приблизительно 28 суток, или от 15 до 27 суток. В некоторых вариантах осуществления введение последующей дозы проводят в момент времени более чем приблизительно 14 суток после и менее чем приблизительно 28 суток после введения первой дозы. В некоторых аспектах время между первой и последующей дозами составляет приблизительно 21 сутки. В некоторых вариантах осуществления дополнительную дозу или дозы, например, последующие дозы, вводят после введения последующей дозы. В некоторых аспектах дополнительную последующую дозу или дозы вводят по меньшей мере приблизительно через 14 и менее чем приблизительно через 28 суток после введения предшествующей дозы. В некоторых вариантах осуществления дополнительную дозу вводят менее чем приблизительно через 14 суток после предшествующей дозы, например, через 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или 13 суток после предшествующей дозы. В некоторых вариантах осуществления никакой дозы не вводят менее чем приблизительно через 14 суток после предшествующей дозы и/или никакой дозы не вводят более чем приблизительно 28 суток после предшествующей дозы.

[0241] В некоторых вариантах осуществления доза клеток, например, экспрессирующих рекомбинантный рецептор клеток, включает две дозы (например, двойную дозу), включающие первую дозу Т-клеток и последующую дозу Т-клеток, где одна или обе из первой дозы и второй дозы включает введение разделенной дозы Т-клеток.

[0242] В некоторых вариантах осуществления доза клеток, как правило, является достаточно большой, чтобы она была эффективной в отношении снижения нагрузки заболеванием.

[0243] В некоторых вариантах осуществления клетки вводят в требуемой дозировке, которая в некоторых аспектах включает требуемую дозу или количество клеток или типа(ов) клеток, и/или требуемое соотношение типов клеток. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления дозировка клеток основана на общем количестве клеток (или количество на кг массы тела) и требуемом соотношении индивидуальных популяций или подтипов, таком как соотношение CD4⁺ и CD8⁺. В некоторых вариантах осуществления дозировка клеток основана на требуемом общем количестве (или количестве на кг массы тела) клеток в отдельных популяциях или отдельных типах клеток. В некоторых вариантах осуществления дозировка основана на комбинации таких признаков, как требуемое количество всех клеток, требуемое соотношение и требуемое общее количество клеток в отдельных популяциях.

[0244] В некоторых вариантах осуществления популяции или подтипы клеток, такие как CD8⁺ и CD4⁺ Т-клетки, вводят на уровне или в пределах допустимого различия требуемой дозы всех клеток, такой как требуемая доза Т-клеток. В некоторых аспектах требуемая доза представляет собой требуемое количество клеток или требуемое количество клеток на единицу массы тела индивидуума, которому вводят клетки, например, количество клеток/кг. В некоторых аспектах требуемая доза находится на уровне или выше минимального количества клеток или минимального количества клеток на единицу массы тела. В некоторых аспектах, среди всех клеток, введенных в требуемой дозе, индивидуальные популяции или подтипы присутствуют на уровне или близко к конечному соотношению (такому как соотношение CD4⁺ и CD8⁺), например, в пределах определенного допустимого отклонения или ошибки такого соотношения.

[0245] В некоторых вариантах осуществления клетки вводят на уровне или в пределах допустимого различия для требуемой дозы одной или нескольких отдельных популяций или подтипов клеток, такой как требуемая доза CD4⁺ клеток и/или требуемая доза CD8⁺ клеток. В некоторых аспектах требуемая доза клеток представляет собой требуемое количество клеток подтипа или популяции или требуемое количество таких клеток на единицу массы тела индивидуума, которому клетки вводят, например, количество клеток/кг. В некоторых аспектах требуемая доза находится на уровне или выше минимального количества клеток популяции или подтипа или минимального количества популяции или подтипа на единицу массы тела.

[0246] Таким образом, в некоторых вариантах осуществления дозировка основана на требуемой фиксированной дозе всех клеток и требуемом соотношении и/или основана на требуемой фиксированной дозе одного или нескольких, например каждого, из отдельных подтипов или субпопуляций. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления дозировка основана на требуемой фиксированной или минимальной дозе Т-клеток и требуемом соотношении CD4⁺ и CD8⁺ клеток, и/или основана на требуемой фиксированной или минимальной дозе CD4⁺ и/или CD8⁺ клеток.

[0247] В некоторых вариантах осуществления клетки вводят на уровне или в пределах допустимого диапазона требуемого конечного соотношения множества

популяций или подтипов клеток, таких как CD4⁺ и CD8⁺ клетки или подтипы. В некоторых аспектах требуемое соотношение может представлять собой определенное соотношение, или оно может представлять собой диапазон соотношений. Например, в некоторых вариантах осуществления требуемое соотношение (например, соотношение CD4⁺ и CD8⁺ клеток) составляет от или приблизительно от 5:1 до или приблизительно до 5:1 (или более чем приблизительно 1:5 и менее чем приблизительно 5:1), или от или приблизительно от 1:3 до или приблизительно до 3:1 (или более чем приблизительно 1:3 и менее чем приблизительно 3:1), например, от или приблизительно от 2:1 до или приблизительно до 1:5 (или более чем приблизительно 1:5 и менее чем приблизительно 2:1, например, ровно или приблизительно 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, допустимое отклонение находится в пределах приблизительно 1%, приблизительно 2%, приблизительно 3%, приблизительно 4%, приблизительно 5%, приблизительно 10%, приблизительно 15%, приблизительно 20%, приблизительно 25%, приблизительно 30%, приблизительно 35%, приблизительно 40%, приблизительно 45%, приблизительно 50% от требуемого соотношения, включая любую величину между этими диапазонами.

[0248] В конкретных вариантах осуществления количества и/или концентрации клеток относятся к количеству экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, CAR) клеток. В других вариантах осуществления количества и/или концентрации клеток относятся к количеству или концентрации всех вводимых клеток, Т-клеток или мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC).

[0249] В некоторых аспектах величину дозы определяют, исходя из одного или нескольких критериев, таких как ответ индивидуума на предшествующее лечение, например химиотерапию, нагрузка заболеванием у индивидуума, такая как опухолевая нагрузка, объем, размер или степень, выраженность или тип метастазов, стадия и/или вероятность или встречаемость у индивидуума токсических исходов, например, CRS, синдрома активации макрофагов, синдрома лизиса опухоли, нейротоксичности и/или иммунного ответа хозяина против вводимых клеток и/или рекомбинантных рецепторов.

[0250] В некоторых вариантах осуществления способы и применения также включают поведение введения одной или нескольких дополнительных доз клеток, экспрессирующих химерный рецептор антигена (CAR), и/или лимфодеплеции и/или комбинированной терапии, и/или одну или несколько стадий способов повторяют. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько дополнительных доз являются такими же, как и первоначальная доза. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько дополнительных доз отличаются от первоначальной дозы, например, являются более высокими, например, в 2 раза, в 3 раза, в 4 раза, в 5 раз, в 6 раз, в 7 раз, в 8 раз, в 9 раз или в 10 раз более высокими, чем первоначальная доза, или более низкими, например, в 2 раза, в 3 раза, в 4 раза, в 5 раз, в 6 раз, в 7 раз, в 8 раз, в 9 раз или в 10 раз более низкими, чем первоначальная доза. В некоторых вариантах осуществления введение

одной или нескольких дополнительных доз определяется на основе ответа индивидуума на первоначальное лечение или любое предшествующее лечение, нагрузки заболеванием у индивидуума, такой как опухолевая нагрузка, масса, размер или степень, распространенность или тип метастазов, стадия и/или вероятность или частота развития у индивидуума токсических исходов, например, CRS, синдрома активации макрофагов, синдрома лизиса опухоли, нейротоксичности и/или иммунного ответа хозяина против вводимых клеток и/или рекомбинантных рецепторов.

С. Ответ, эффективность и выживаемость

[0251] В некоторых вариантах осуществления введение в соответствии со способами и применениями может приводить к лечению заболевания или состояния у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления введение в соответствии со способами и применениями может приводить к наличию у индивидуума ответа (например, клинического ответа) на лечение. В некоторых вариантах осуществления введение в соответствии со способами и применениями может осуществлять лечение индивидуума, несмотря на то, что индивидуум стал резистентным к другой терапии.

[0252] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40% или по меньшей мере 50% индивидуумов, которых лечат в соответствии со способом, достигают полной ремиссии (CR); и/или по меньшей мере приблизительно 40%, по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 60% или по меньшей мере приблизительно 70% индивидуумов, которых лечат в соответствии со способом, достигают объективного ответа (OR). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере 50% индивидуумов, по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере 60% индивидуумов, по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере 70% индивидуумов, по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере 80% индивидуумов или по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере 90% индивидуумов, которых лечат в соответствии со способом и применениями, достигают CR и/или достигают объективного ответа (OR).

[0253] В некоторых вариантах осуществления критерии, оцениваемые в отношении ответа на лечение, включают общую частоту ответа (ORR; также в некоторых случаях известный как частота объективного ответа), полный ответ (CR; также в некоторых случаях известный как полный ответ), длительность ответа (DOR), выживаемость без прогрессирования (PFS), общую выживаемость (OS), частоту негативных случаев в отношении минимальной резидуальной болезни (MRD), выживаемость без рецидива (RFS), бессобытийную выживаемость (EFS), частоту трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (HSCT) после введения модифицированных клеток и/или фармакокинетические параметры, такие как C_{max} , T_{max} и площадь под кривой (AUC).

[0254] В некоторых вариантах осуществления оцениваемым показателем или критерием является общая частота ответа (ORR). В некоторых вариантах осуществления ORR для определенных индивидуумов может быть описана как общее количество

индивидуумов, достигших полного ответа (CR) или CR с неполным восстановлением формулы крови (CRi) через некоторый период времени после введения модифицированных клеток, например, на 28 сутки и/или 56 сутки. В некоторых вариантах осуществления ORR индивидуумов, которых лечат в соответствии со способом и применениями, составляет по меньшей мере ровно или приблизительно 50%, по меньшей мере ровно или приблизительно 60%, ровно или приблизительно 70%, по меньшей мере ровно или приблизительно 80%, по меньшей мере ровно или приблизительно 85%, по меньшей мере ровно или приблизительно 90% или по меньшей мере ровно или приблизительно 95%.

[0255] В некоторых вариантах осуществления оцениваемым показателем или критерием является частота негативных случаев в отношении минимальной резидуальной болезни (MRD). В некоторых вариантах осуществления MRD-негативный ответ описывают как общее число индивидуумов, достигших MRD-негативного ответа через некоторый период времени после введения модифицированных клеток, например, на 28 сутки и/или 56 сутки. В некоторых вариантах осуществления показатель MRD-негативного ответа у индивидуумов, которых лечат в соответствии со способом и применениями, составляет по меньшей мере ровно или приблизительно 50%, по меньшей мере ровно или приблизительно 60%, ровно или приблизительно 70%, по меньшей мере ровно или приблизительно 80%, по меньшей мере ровно или приблизительно 85%, по меньшей мере ровно или приблизительно 90% или по меньшей мере ровно или приблизительно 95%. В некоторых вариантах осуществления MRD можно определять с использованием любых критериев, описанных в настоящем описании. В некоторых аспектах рецидив MRD после лечения может быть описан как определение MRD посредством подтвержденного анализа с частотой 1×10^{-4} или более в клетках ВМ после первоначального MRD-негативного (менее 1×10^{-4}) полного ответа (CR) или полного ответа с неполным восстановлением формулы крови (CRi).

[0256] В некоторых аспектах частота MRD-негативного ответа может быть описана как количество индивидуумов, достигших CR или CRi с MRD-негативным ВМ на 28 сутки, подтвержденного на 56 сутки, деленное на количество всех индивидуумов, включенных в анализ. В некоторых аспектах первую оценку проводят через 28 суток после введения CAR-экспрессирующих клеток. В некоторых вариантах осуществления, если индивидуума нельзя оценить в отношении CR/CRi вследствие гипоплазии костного мозга, проводят повторное исследование костного мозга, когда появляются признаки гемопоэтического восстановления, так чтобы можно было оценить MRD-негативную ремиссию. В некоторых случаях, для наилучшего общего ответа на заболевание, считающегося MRD-негативным CR или CRi, отсутствуют клинические признаки рецидива при оценке в периферической крови, костном мозге, цереброспинальной жидкости и оценке внекостномозгового заболевания (когда это применимо) без детекции MRD в костном мозге (ниже уровня детекции, $<0,01\%$ посредством подтвержденного анализа). В некоторых аспектах результат MRD подтверждают минимум через 4 недели

(28 недель) после первоначального достижения MRD-негативного CR или CRi. В некоторых аспектах также в эту оценку включена дополнительная оценка. В некоторых вариантах осуществления оцениваемый показатель или критерий представляет собой общую частоту ответа (ORR). В некоторых вариантах осуществления ORR для определенных индивидуумов может быть описана как общее количество индивидуумов, достигших полного ответа (CR) или частичного ответа (PR) через некоторый период времени после введения модифицированных клеток, например, на 28 суток и/или 56 суток. В некоторых вариантах осуществления ORR индивидуумов, которых лечат в соответствии со способом и применениями, составляет по меньшей мере ровно или приблизительно 50%, по меньшей мере ровно или приблизительно 60%, ровно или приблизительно 70%, по меньшей мере ровно или приблизительно 80%, по меньшей мере ровно или приблизительно 85%, по меньшей мере ровно или приблизительно 90% или по меньшей мере ровно или приблизительно 95%.

[0257] В некоторых вариантах осуществления оцениваемым показателем или критерием является длительность ответа (DOR). В некоторых вариантах осуществления DOR может быть описана как время от первого ответа до прогрессирующего заболевания (PD), рецидива заболевания или гибели по любой причине в зависимости от того, что произойдет раньше. В некоторых аспектах DOR определяют вплоть до приблизительно 2, 3 или 4 лет после введения модифицированных клеток. В некоторых аспектах ответ длится в течение по меньшей мере 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18, 24, 36 или 48 месяцев после начала введения модифицированных клеток у по меньшей мере ровно или приблизительно 20%, по меньшей мере ровно или приблизительно 30%, ровно или приблизительно 40%, по меньшей мере ровно или приблизительно 50%, по меньшей мере ровно или приблизительно 60%, ровно или приблизительно 70%, по меньшей мере ровно или приблизительно 80%, по меньшей мере ровно или приблизительно 85%, по меньшей мере ровно или приблизительно 90% или по меньшей мере ровно или приблизительно 95% индивидуумов, которых лечили в соответствии со способом и применениями.

[0258] В некоторых вариантах осуществления оцениваемым показателем или критерием является выживаемость без рецидива (RFS). В некоторых вариантах осуществления RFS может быть описана как время от первого ответа до документального подтверждения прогрессирующего заболевания (PD), рецидива заболевания или смерти по любой причине, в зависимости от того, что произойдет раньше. В некоторых аспектах RFS изменяют вплоть до приблизительно 2, 3 или 4 лет после введения модифицированных клеток. В некоторых аспектах RFS составляет по меньшей мере 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18, 24, 36 или 48 месяцев после начала введения модифицированных клеток у по меньшей мере ровно или приблизительно 20%, по меньшей мере ровно или приблизительно 30%, ровно или приблизительно 40%, по меньшей мере ровно или приблизительно 50%, по меньшей мере ровно или приблизительно 60%, ровно или приблизительно 70%, по меньшей мере ровно или приблизительно 80%, по меньшей мере ровно или приблизительно 85%, по меньшей мере

ровно или приблизительно 90% или по меньшей мере ровно или приблизительно 95% индивидуумов, которых лечили в соответствии со способом и применениями.

[0259] В некоторых вариантах осуществления оцениваемым показателем или критерием является бессобытийная выживаемость (EFS). В некоторых вариантах осуществления EFS может быть описана как время от начала проведения инфузии до прогрессирующего заболевания (PD), рецидива заболевания, начала новой терапии против злокачественной опухоли или смерти по любой причине, в зависимости от того, что произойдет раньше. В некоторых аспектах EFS измеряют вплоть до приблизительно 2, 3 или 4 лет после введения модифицированных клеток. В некоторых аспектах EFS составляет по меньшей мере 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18, 24, 36 или 48 месяцев после начала введения модифицированных клеток у по меньшей мере ровно или приблизительно 20%, по меньшей мере ровно или приблизительно 30%, ровно или приблизительно 40%, по меньшей мере ровно или приблизительно 50%, по меньшей мере ровно или приблизительно 60%, ровно или приблизительно 70%, по меньшей мере ровно или приблизительно 80%, ровно или приблизительно 85%, по меньшей мере ровно или приблизительно 90% или по меньшей мере ровно или приблизительно 95% индивидуумов, которых лечили в соответствии со способом и применениями.

[0260] В некоторых вариантах осуществления оцениваемым показателем или критерием является общая выживаемость (OS). В некоторых вариантах осуществления OS может быть описана как время от начала введения модифицированных клеток до времени смерти по любой причине. В некоторых аспектах OS измеряют вплоть до приблизительно 2, 3 или 4 лет после введения модифицированных клеток. В некоторых аспектах OS составляет по меньшей мере 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18, 24, 36 или 48 месяцев после начала введения модифицированных клеток у по меньшей мере ровно или приблизительно 20%, по меньшей мере ровно или приблизительно 30%, ровно или приблизительно 40%, по меньшей мере ровно или приблизительно 50%, по меньшей мере ровно или приблизительно 60%, ровно или приблизительно 70%, по меньшей мере ровно или приблизительно 80%, по меньшей мере ровно или приблизительно 85%, по меньшей мере ровно или приблизительно 90% или по меньшей мере ровно или приблизительно 95% индивидуумов, которых лечили в соответствии со способом и применениями.

[0261] В некоторых вариантах осуществления оцениваемым показателем или критерием является частота негативных случаев в отношении минимальной резидуальной болезни (MRD). В некоторых вариантах осуществления MRD-негативный ответ у некоторых индивидуумов может быть описан как процент индивидуумов с B-ALL, достигших CR или CRi и MRD-негативного костного мозга через некоторый период времени после введения модифицированных клеток. В некоторых аспектах MRD-негативный ответ определяют вплоть до приблизительно 2, 3 или 4 лет после введения модифицированных клеток. В некоторых вариантах осуществления частота MRD-негативного ответа у индивидуумов, которых лечат в соответствии со способом и применениями, составляет по меньшей мере ровно или приблизительно 20%, по меньшей

мере ровно или приблизительно 30%, ровно или приблизительно 40%, по меньшей мере ровно или приблизительно 50%, по меньшей мере ровно или приблизительно 60%, ровно или приблизительно 70%, по меньшей мере ровно или приблизительно 80%, по меньшей мере ровно или приблизительно 85%, по меньшей мере ровно или приблизительно 90% или по меньшей мере ровно или приблизительно 95%.

[0262] В некоторых вариантах осуществления оцениваемым показателем или критерием является частота трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT) после ответа на введение модифицированных клеток. В некоторых вариантах осуществления частота HSCT может быть описана как процент индивидуумов, которые достигли ответа после введения модифицированных клеток и которым затем была проведена HSCT. В некоторых аспектах частоту HSCT измеряют вплоть до приблизительно 2, 3 или 4 лет после введения модифицированных клеток. В некоторых вариантах осуществления частота HSCT после ответа индивидуума, которого лечат в соответствии со способом и применениями, составляет менее чем ровно или приблизительно 80%, менее чем ровно или приблизительно 70%, ровно или приблизительно 60%, менее чем ровно или приблизительно 50%, менее чем ровно или приблизительно 40%, ровно или приблизительно 30%, менее чем ровно или приблизительно 20% или менее чем ровно или приблизительно 10%.

[0263] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 40% или по меньшей мере 50% индивидуумов, которых лечат в соответствии со способами, описанными в настоящем описании, достигают полной ремиссии (CR; также в некоторых случаях известный как полный ответ), демонстрируют выживаемость без прогрессирования (PFS) и/или общую выживаемость (OS), превышающую ровно или приблизительно 3 месяца, 6 месяцев или 12 месяцев или превышающую 13 месяцев или приблизительно 14 месяцев; в среднем, индивидуумы, которых лечат в соответствии со способом, демонстрируют срединную PFS или OS, превышающую ровно или приблизительно 6 месяцев, 12 месяцев или 18 месяцев; и/или индивидуум демонстрирует PFS или OS после терапии в течение по меньшей мере ровно или приблизительно 6, 12, 18 или более месяцев или более.

[0264] 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 индивидуумов, которых лечат в соответствии с предусматриваемыми способами и/или предусматриваемыми изделиями или композициями достигают полного ответа (CR). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80% или по меньшей мере 90% индивидуумов, которых лечат в соответствии с предусматриваемыми способами и/или предусматриваемыми изделиями или композициями достигают объективного ответа (OR). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или более

индивидуумов, которых лечат в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями достигают CR или OR к моменту времени один месяц, два месяца или три месяца.

[0265] В некоторых вариантах осуществления к моменту времени три месяца, четыре месяца, пять месяцев, шесть месяцев или более после начала проведения клеточной терапии по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или более индивидуумов, которых лечат в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, остаются в ответе, например, остаются в CR или OR. В некоторых вариантах осуществления ответ, такой как CR или OR, длится в течение по меньшей мере трех месяцев, четырех месяцев, пяти месяцев, шести месяцев, семи месяцев, восьми месяцев или девяти месяцев, например, у по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или более индивидуумов, которых лечат в соответствии с предусматриваемыми способами, или таких индивидуумов, которые достигли CR к моменту времени один месяц или три месяца. 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 индивидуумов, которых лечат в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, или таких индивидуумов, которые достигли CR к моменту времени один месяц или три месяца, выживают или выживают без прогрессирования в течение более чем или приблизительно более чем трех месяцев, четырех месяцев, пяти месяцев, шести месяцев, семи месяцев, восьми месяцев или девяти месяцев.

[0266] В некоторых вариантах осуществления достигнутый ответ, наблюдаемый у таких индивидуумов, на лечение в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, ассоциирован с или приводит к низкому риску какой-либо токсичности или низкому риску тяжелой токсичности у большинства подвергаемых лечению индивидуумов. В некоторых вариантах осуществления более чем или приблизительно более чем 30%, 35%, 40%, 50%, 55%, 60% или более индивидуумов, которых лечат в соответствии с предусматриваемыми способами и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, не имеют никакой степени CRS или никакой степени нейротоксичности (NT). В некоторых вариантах осуществления более чем или приблизительно более чем 50%, 60%, 70%, 80% или более индивидуумов, которых лечат в соответствии с предусматриваемыми способами и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, не имеют тяжелой CRS или CRS степени 3 или выше. В некоторых вариантах осуществления более чем или приблизительно более чем 50%, 60%, 70%, 80% или более индивидуумов, которых лечат в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, не имеют тяжелой нейротоксичности или нейротоксичности степени 3 или выше, такой как нейротоксичность степени 4 или 5.

[0267] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере ровно или приблизительно 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% индивидуумов, которых лечат в соответствии со способом и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, не имеют CRS или нейротоксичности с ранним началом и/или не имеют начала CRS раньше чем через 1 сутки, 2 суток, 3 суток или 4 суток после начала введения. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере ровно или приблизительно 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% индивидуумов, которых лечат в соответствии со способами и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, не имеют начала нейротоксичности ранее чем через 3 суток, 4 суток, 5 суток, шесть суток или 7 суток после начала введения. В некоторых аспектах срединное начало нейротоксичности у индивидуумов, которых лечат в соответствии со способами и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, происходит в момент или после срединного пика, или срединного времени до разрешения, CRS у индивидуумов, которых лечат в соответствии со способом. В некоторых случаях, срединное время начала нейротоксичности среди индивидуумов, которых лечат в соответствии со способом, составляет более чем ровно или приблизительно 8, 9, 10 или 11 суток.

[0268] В некоторых аспектах доза находится в диапазоне, в котором наблюдается корреляция (необязательно линейная взаимосвязь) между количеством таких клеток (например, CAR+ Т-клеток в целом или CD8⁺ и/или CD4⁺ CAR⁺ Т-клеток) и одним или несколькими исходами, указывающими на терапевтический ответ или его длительность (например, вероятность достижения ремиссии, полная ремиссия и/или конкретная длительность ремиссии), и/или длительностью любого из вышеуказанных. В некоторых аспектах, обнаружено, что более высокая доза вводимых клеток может приводить к большему ответу без или по существу без влияния или воздействия на частоту или риск токсичности (например, CRS или нейротоксичность), или степень встречаемости или риск токсичности, у индивидуума, например, тяжелого CRS или тяжелой нейротоксичности.

[0269] В некоторых аспектах предусматриваемые способы могут достигать высокой или конкретной частоты ответа (такой как частота ответа в популяции при оценке через определенный период времени после введения, такой как три месяца или шесть месяцев), например, ORR (такая как ORR через 6 месяцев или 3 месяца) 40% или более, 45% или более, 50% или более, 55% или более, 60% или более, 65% или более, 70% или более, 75%, или 80%, или 81%, 82%, 83%, 84% или 85% или более, и частоты CR (такой как частота CR через 6 месяцев или 3 месяцев) 30% или более, 35% или более, 40% или более, 45% или более, 50% или более, 55% или более, 60% или более, 65% или более, 70% или более, 71%, 72%, 73% или более, или приблизительно 75% или более, который также является длительным, например, в течение конкретного периода времени или в течение по меньшей мере конкретного периода времени, например, сохраняется в течение более чем 1, 3 или 6 месяцев или более или 9 месяцев или более после начала терапии. В некоторых вариантах осуществления такой частоты ответа и длительности достигают после только одного введения дозы такой терапии. Лечение таких индивидуумов

предусматриваемыми способами и/или предусматриваемыми изделиями или композициями в некоторых вариантах осуществления также приводит к достижению индивидуумами высокой частоты ответа, но, тем не менее, к отсутствию проявления более высокой встречаемости развития токсичности, такой как нейротоксичность или CRS, даже при более высокой дозировке клеток. В некоторых вариантах осуществления приблизительно или более чем у 50%, 55% или 60% индивидуумов, достигших таких ответов, не развивается никакая степень токсичности, такая как любая степень CRS и/или нейротоксичности.

[0270] В некоторых аспектах показатели ответа у индивидуумов, таких как индивидуумы с ALL или NHL, основаны на критериях Лугано. (Cheson et al., (2014) JCO 32(27):3059-3067; Johnson et al., (2015) Radiology 2:323-338; Cheson, B.D. (2015) Chin Clin Oncol 4(1):5). В некоторых аспектах для оценки ответа используются любые клинические, гематологические и/или молекулярные способы. В некоторых аспектах, оценка ответа с использованием критериев Лугано, вовлекает применение позитронной эмиссионной томографии (PET)-компьютерной томографии (СТ) и/или СТ в соответствующих случаях. Оценка посредством PET-СТ может далее включать применение фтордезоксиглюкозы (FDG) для FDG-авидных лимфом. В некоторых аспектах оценка ответа с использованием критериев Лугано вовлекает применение позитронной эмиссионной томографии (PET)-компьютерной томографии (СТ) и/или СТ в соответствующих случаях для оценки посредством визуализации. FDG-авидные лимфомы включают лимфому Ходжкина (HL) и определенные неходжкинские лимфомы (NHL), включая диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (DLBCL), NHL из клеток маргинальной зоны с агрессивной трансформацией и FDG-авидные узловые лимфомы (по сути все гистологические типы за исключением: хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), мелколимфоцитарной лимфомы, лимфоплазматической лимфомы/макроглобулинемии Вальденстрема и фунгоидного микоза). В некоторых случаях для не FDG-авидной гистологии предпочтительным способом визуализации является СТ. В некоторых аспектах сканирование после лечения проводят настолько долго, насколько это возможно, после проведения лечения. В некоторых аспектах сканирование после лечения проводят минимум через 3 недели после терапии, как например, через 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 9 недель, 10 недель, 11 недель, 12 недель или более после проведения лечения. В некоторых аспектах, когда PET-СТ используют для оценки ответа при FDG-авидной гистологии, можно использовать шкалу из 5 точек. В некоторых отношениях шкала из 5 точек включает следующие критерии: 1, нет поглощения выше фонового уровня; 2, поглощение \leq чем в средостении; 3, поглощение $>$ чем в средостении, но \leq чем в печени; 4, поглощение умеренно $>$ чем в печени; 5, поглощение значительно выше чем в печени и/или новые очаги; X, новые области поглощения, маловероятно связанные с лимфомой.

[0271] В некоторых аспектах, когда PET-СТ используют для оценки ответа при FDG-авидной гистологии, для оценки или определения стадии можно использовать шкалу

из 5 точек, такую как шкала из пяти точек Довиля (Deauville 5ps). Показатель Довиля основан на визуальной интерпретации поглощения фтордезоксиглюкозы (FDG), визуализированной посредством сканирования ПЕТ/СТ, каждого очага повреждения, по сравнению с двумя эталонными органами, средостением (т.е. депо крови) и печенью. Одну оценку (первоначальное определение стадии) проводят до лечения, и второй раунд сканирования FDG посредством ПЕТ/СТ используют для оценки остаточных масс (по сравнению с поглощением FDG в эталонных органах) в ходе и/или после лечения. Шкала находится в диапазоне от 1 до 5, где 1 является наилучшим и 5 является наихудшим. Каждый FDG-авидный (или ранее FDG-авидный) очаг повреждения оценивают независимо. В некоторых отношениях шкала из 5 точек включает следующие критерии: 1, нет поглощения выше фонового уровня; 2, поглощение \leq чем в средостении; 3, поглощение $>$ чем в средостении, но \leq чем в печени; 4, поглощение умеренно $>$ чем в печени; 5, поглощение значительно выше чем в печени (например, максимальная величина стандартного поглощения ($SUV_{MAX} > 2 \times$ печень; 5a) и/или новый очаг (при оценке ответа), которые возможно связаны с лимфомой (5b); X, новые области поглощения, маловероятно связанные с лимфомой.

[0272] Показатель Довиля, равный 1 или 2, считается отражающим полный метаболический ответ (CMR) в промежуточный момент времени и в конце лечения. Показатель Довиля, равный 3, также отражает CMR, однако интерпретация показателя 3 зависит от времени оценки, клинического контекста и лечения. Показатель Довиля 4 или 5 в промежуточный момент времени считается отражающим частичный метаболический ответ. Однако показатель Довиля 4 или 5 в конце лечения отражает остаточное метаболическое заболевание, если поглощение снизилось относительно исходного уровня; отсутствие метаболического ответа (NMR), если не произошло изменения поглощения относительно исходного уровня; и прогрессирующее метаболическое заболевание (PMD), если произошло повышение поглощения от исходного уровня и/или имеются новые очаги повреждения. В промежуточный момент времени и в конце лечения NMR или PMD указывает на неуспех лечения.

[0273] В некоторых аспектах полный ответ, как описывают с использованием критериев Лугано, вовлекает полный метаболический ответ и полный радиологический ответ в различных определяемых областях. В некоторых аспектах эти области включают лимфатические узлы и внемлимфатические области, где CR описывают как показатель, равный 1, 2 или 3, с остаточной массой по 5-бальной шкале или без нее, когда используют ПЕТ-СТ. В некоторых аспектах в кольце Вальдейера или внеузловых участках с высоким физиологическим поглощением или с активацией в селезенке или костном мозге (например, в случае химиотерапии или миелоидных колониестимулирующих факторов), поглощение может превышать нормальное в средостении и/или печени. В этом случае полный метаболический ответ может быть предположен, если поглощение в областях первоначального вовлечения не превышает поглощение в окружающей нормальной ткани, даже если ткань имеет высокое физиологическое поглощение. В некоторых аспектах ответ

оценивают в лимфатических узлах с использованием СТ, где CR описывают как отсутствие внелимфатических областей заболевания, и целевые узлы/узловые массы должны регрессировать до $\leq 1,5$ см в наиболее длинном поперечном диаметре очага повреждения (LDi). Следующие области оценки включают костный мозг, где оценка на основе PET-СТ должна указывать на отсутствие признаков FDG-avidного заболевания в костном мозге, и оценка на основе СТ должна указывать на нормальную морфологию, которая, если неопределима, должна быть ИНС-негативной. Следующие области могут включать оценку увеличения органов, которое должно регрессировать до нормы. В некоторых аспектах оценивают не измеренные очаги повреждения или новые очаги повреждения, которые в случае CR должны отсутствовать (Cheson et al., (2014) JCO 32(27):3059-3067; Johnson et al., (2015) Radiology 2:323-338; Cheson, B.D. (2015) Chin Clin Oncol 4(1):5).

[0274] В некоторых аспектах частичный ответ (PR; также в некоторых случаях известный как частичная ремиссия), как описывают с использованием критериев Лугано, вовлекает частичный метаболический и/или радиологический ответ в различных определяемых областях. В некоторых аспектах эти области включают лимфатические узлы и внелимфатические области, где PR описывают как показатель, равный 4 или 5, со сниженным поглощением по сравнению с исходным, и остаточной массой(ами) любого размера, когда используют PET-СТ. В промежуточный момент времени такие данные могут указывать на отвечающее заболевание. В конце лечения такие данные могут указывать на остаточное заболевание. В некоторых аспектах ответ оценивают в лимфатических узлах с использованием СТ, где PR является таким, как описывают в качестве $\geq 50\%$ снижения SPD во вплоть до 6 целевых определяемых узлах и внеузловых областях. Если очаг повреждения является слишком малым для определения на СТ, приписывают величину 5 мм \times 5 мм в качестве величины по умолчанию; если очаг повреждения более не является видимым, величина составляет 0 мм \times 0 мм; для узла >5 мм \times 5 мм, но меньше нормального, для вычисления используют фактические измеренные размеры. Следующие области оценки включают костный мозг, где оценка на основе PET-СТ должна указывать на остаточное поглощение, превышающее поглощение в нормальном костном мозге, но сниженное по сравнению с исходным уровнем (допустимо диффузное поглощение, совместимое с реактивными изменениями в результате химиотерапии). В некоторых аспектах, если существуют персистирующие очаговые изменения в костном мозге в контексте узлового ответа, этот фактор следует учитывать для дальнейшей оценки посредством MRI или биопсии, или посредством интервального сканирования. В некоторых аспектах следующие области могут включать оценку увеличения органов, где длина селезенки должна регрессировать на $>50\%$ от величины выше нормы. В некоторых аспектах оценивают не измеренные очаги повреждения и новые очаги повреждения, которые в случае PR должны отсутствовать/быть нормальными, регрессировать, но не увеличиваться. Также с использованием оценки на основе PET-СТ и/или СТ можно определять отсутствие ответа/стабильное заболевание

(SD) или прогрессирующее заболевание (PD) (Cheson et al., (2014) JCO 32(27):3059-3067; Johnson et al., (2015) Radiology 2:323-338; Cheson, B.D. (2015) Chin Clin Oncol 4(1):5).

[0275] В некоторых отношениях выживаемость без прогрессирования (PFS) описывают в качестве периода времени в ходе и после лечения заболевания, такого как злокачественная опухоль, когда индивидуум живет с заболеванием, но ухудшения не происходит. В некоторых аспектах объективный ответ (OR) описывают в качестве поддающегося определению ответа. В некоторых аспектах частоту объективного ответа (ORR; также в некоторых случаях известная как общая частота ответа) описывают как доля пациентов, которые достигли CR или PR. В некоторых аспектах общую выживаемость (OS) описывают как период времени либо от даты постановки диагноза, либо от начала лечения заболевания, такого как злокачественная опухоль, в течение которого индивидуумы, у которых диагностировано заболевание, остаются живыми. В некоторых аспектах бессобытийную выживаемость (EFS) описывают как период времени после окончания лечения злокачественной опухоли, когда индивидуум остается свободным от определенных осложнений или событий, на предупреждение или отсрочивание которых было направлено лечение. Эти события могут включать возвращение злокачественной опухоли или возникновение определенных симптомов, таких как боль в костях в результате злокачественной опухоли, которая распространилась в кости, или смерть.

[0276] В некоторых вариантах осуществления показатель длительности ответа (DOR) включает время от документального подтверждения ответа на опухоль до прогрессирования заболевания. В некоторых вариантах осуществления параметр для оценки ответа может включать длительный ответ, например, ответ, который сохраняется после некоторого периода времени после начала терапии. В некоторых вариантах осуществления на длительный ответ указывает частота ответа приблизительно через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18 или 24 месяцев после начала терапии. В некоторых вариантах осуществления ответ длится в течение более чем 3 месяцев или более чем 6 месяцев.

[0277] В некоторых аспектах используют критерии RECIST для определения объективного ответа на опухоль; в некоторых аспектах в солидных опухолях (Eisenhauer et al., European Journal of Cancer 45 (2009) 228-247). В некоторых аспектах критерии RECIST используют для определения объективного ответа на опухоль в целевых очагах. В некоторых отношениях полный ответ, как определяют с использованием критериев RECIST, описывают как исчезновение всех целевых очагов, и любые патологические лимфатические узлы (как целевые, так и нецелевые) должны иметь уменьшение по короткой оси до <10 мм. В других аспектах частичный ответ, как определяют с использованием критериев RECIST, описывают как снижение по меньшей мере на 30% суммы диаметров целевых очагов, принимая в качестве эталона исходную сумму диаметров. В других аспектах прогрессирующее заболевание (PD) описывают как увеличение по меньшей мере на 20% суммы диаметров целевых очагов, принимая в

качестве эталона наименьшую сумму в исследовании (она включает исходную сумму, если она является наименьшей в исследовании). В дополнение к относительному увеличению на 20%, эта сумма также должна демонстрировать абсолютное увеличение, составляющее по меньшей мере 5 мм (в некоторых аспектах появление одного или нескольких новых очагов также считается прогрессированием). В других аспектах стабильное заболевание (SD) описывают как ни достаточное уменьшение для определения PR, ни достаточное увеличение для определения PD, принимая за эталон наименьшую сумму диаметров в исследовании.

[0278] В некоторых аспектах введение в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, как правило, снижает или препятствует распространению или нагрузке заболеванием или состоянием у индивидуума. Например, когда заболевание или состояние представляет собой опухоль, способы, как правило, уменьшают размер, объем опухоли, метастазы, процент бластов в костном мозге или молекулярно определяемую злокачественную опухоль и/или улучшают прогноз или выживаемость или другой симптом, ассоциированный с опухолевой нагрузкой.

[0279] Нагрузка заболеванием может охватывать общее количество клеток, пораженных заболеванием, у индивидуума или в органе, ткани или жидкости организма индивидуума, таких как орган или ткань опухоли или из другой области, например, которое указывает на метастаз. Например, опухолевые клетки могут быть обнаружены и/или количественно определены в крови или костном мозге в контексте определенных гематологических злокачественных опухолей. В некоторых вариантах осуществления нагрузка заболеванием может включать массу опухоли, число и степень метастазов и/или процент бластных клеток, присутствующих в костном мозге.

[0280] В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет лейкоз. Степень нагрузки заболеванием может быть определена посредством оценки остаточного лейкоза в крови или костном мозге.

[0281] В некоторых аспектах частота ответа у индивидуумов, таких как индивидуумы с CLL, основана на критериях ответа в соответствии с Международным семинаром по хроническому лимфоцитарному лейкозу (IWCLL) (Hallek, et al., Blood 2008, Jun 15; 111(12): 5446-5456). В некоторых аспектах эти критерии описывают следующим образом: полная ремиссия (CR; также в некоторых случаях известная как полный ответ), которая в некоторых аспектах требует отсутствия клональных лимфоцитов в периферической крови при определении посредством иммунофенотипирования, отсутствие лимфаденопатии, отсутствие гепатомегалии или спленомегалии, отсутствие конституциональных симптомов и удовлетворительная формула крови; полная ремиссия с неполным восстановлением костного мозга (CRi), которую в некоторых аспектах описывают как CR, выше, но без нормальной формулы крови; частичная ремиссия (PR; также в некоторых случаях известная как частичный ответ), которую в некоторых аспектах описывают как $\geq 50\%$ снижение количества лимфоцитов, $\geq 50\%$ снижение

лимфаденопатии или $\geq 50\%$ уменьшение печени или селезенки, вместе с улучшением формулы периферической крови; прогрессирующее заболевание (PD), которое в некоторых аспектах описывают как $\geq 50\%$ увеличение числа лимфоцитов до $> 5 \times 10^9/\text{л}$, $\geq 50\%$ повышение лимфаденопатии, $\geq 50\%$ увеличение размера печени или селезенки, трансформацию Рихтера, или новые цитопении вследствие CLL; и стабильное заболевание, которое в некоторых аспектах описывают как отсутствие удовлетворения критериям CR, CRi, PR или PD.

[0282] В некоторых вариантах осуществления индивидуумы демонстрируют CR или OR, если в пределах 1 месяца после введения дозы клеток размер лимфатических узлов у индивидуума составляет менее чем ровно или приблизительно 20 мм, менее чем ровно или приблизительно 10 мм или менее чем ровно или приблизительно 10 мм.

[0283] В некоторых вариантах осуществления индексный клон CLL не обнаруживается в костном мозге индивидуума (или в костном мозге более чем 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или более индивидуумов, которых лечат в соответствии со способами). В некоторых вариантах осуществления индексный клон CLL оценивают посредством глубокого секвенирования IgH. В некоторых вариантах осуществления индексный клон не обнаруживают в момент времени, который составляет ровно или приблизительно или по меньшей мере ровно или приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 18 или 24 месяца после введения клеток.

[0284] В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет морфологическое заболевание, если в костном мозге присутствует 5% или более бластов, например, при определении посредством световой микроскопии, например, 10% или более бластов в костном мозге, например 20% или более бластов в костном мозге, 30% или более бластов в костном мозге, 40% или более бластов в костном мозге или 50% или более бластов в костном мозге. В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет полную или клиническую ремиссию, если в костном мозге присутствует менее 5% бластов.

[0285] В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет лейкоз. Степень нагрузки заболеванием может быть определена посредством оценки остаточного лейкоза в крови или костном мозге.

[0286] В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет морфологическое заболевание, если в костном мозге присутствует 5% или более бластов, например, при определении посредством световой микроскопии, как например, 10% или более бластов в костном мозге, 20% или более бластов в костном мозге, 30% или более бластов в костном мозге, 40% или более бластов в костном мозге или 50% или более бластов в костном мозге. В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет полную или клиническую ремиссию, если в костном мозге присутствует менее 5% бластов.

[0287] В некоторых вариантах осуществления индивидуум может иметь полную ремиссию, но присутствует небольшая доля морфологически неопределимых (посредством световой микроскопии) остаточных лейкозных клеток. Индивидуума считают имеющим минимальную резидуальную болезнь (MRD), если индивидуум имеет

менее 5% бластов в костном мозге и имеет молекулярно обнаруживаемую злокачественную опухоль. В некоторых вариантах осуществления молекулярно обнаруживаемую злокачественную опухоль можно оценивать с использованием любого из множества молекулярных способов, которые позволяют чувствительную детекцию небольшого количества клеток. В некоторых аспектах MRD определяют посредством валидированного анализа с частотой 1×10^{-4} или более в клетках ВМ. В некоторых аспектах, такие способы включают анализ с использованием ПЦР, который может определять уникальные перестройки генов Ig/T-клеточного рецептора или слитые транскрипты, образующиеся при хромосомных транслокациях. В некоторых вариантах осуществления проточную цитометрию можно использовать для идентификации злокачественных клеток на основе лейкоз-специфических иммунофенотипов. В некоторых вариантах осуществления молекулярная детекция злокачественных клеток может выявить всего 1 лейкозную клетку на 100000 нормальных клеток. В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет MRD, которая является молекулярно обнаруживаемой, если обнаруживают по меньшей мере или более 1 лейкозной клетки на 100000 клеток, например, посредством ПЦР или проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления нагрузка заболеванием у индивидуума является молекулярно необнаруживаемой или MRD⁻, так что в некоторых случаях невозможно выявить лейкозные клетки у индивидуума с использованием способов ПЦР или проточной цитометрии.

[0288] В некоторых вариантах осуществления индексный клон лейкоза не обнаруживается в костном мозге индивидуума (или в костном мозге более 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или более индивидуумов, которых лечат в соответствии со способами). В некоторых вариантах осуществления индексный клон лейкоза оценивают посредством глубокого секвенирования IGH. В некоторых вариантах осуществления индексный клон не обнаруживается в момент времени, который составляет ровно или приблизительно или по меньшей мере ровно или приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 18 или 24 месяцев после введения клеток.

[0289] В некоторых аспектах MRD обнаруживают посредством проточной цитометрии. Проточную цитометрию можно использовать для мониторинга образцов костного мозга и периферической крови в отношении злокачественных клеток. В конкретных аспектах проточную цитометрию используют для детекции или мониторинга присутствия злокачественных клеток в костном мозге. В некоторых аспектах для детекции злокачественных клеток используют многопараметрическую иммунологическую детекцию (см., например, Coustan-Smith et al., (1998) *Lancet* 351:550-554). В некоторых аспектах для детекции злокачественных клеток используют многопараметрическую иммунологическую детекцию. В некоторых примерах для детекции злокачественных клеток можно использовать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 или 50 параметров. Антигены, используемые для детекции, выбирают на основе определяемой злокачественной опухоли (Foon and Todd (1986) *Blood* 68:1-31).

[0290] В некоторых примерах костный мозг собирают посредством аспирации

костного мозга или биопсии костного мозга, и лимфоциты выделяют для анализа. Для детекции эпитопов таких как терминальная дезоксинуклеотидилтрансфераза (TdT), CD3, CD10, CD11c, CD13, CD14, CD33, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD34, CD45, CD56, CD79b, IgM и/или KORSА3544, на выделенных лимфоцитах, можно использовать моноклональные и/или поликлональные антитела, конъюгированные с флуорохромом (например, флуоресцеинизотиоцианат (FITC), фикоэритрин, белок хлорофилла перидинин или биотин). Затем можно проводить детекцию меченых клеток с использованием проточной цитометрии, такой как многопараметрическая проточная цитометрия, или масс-спектрометрии, для детекции множества эпитопов.

[0291] В некоторых вариантах осуществления присутствие MRD при ALL можно определять на основе наличия менее чем 5% лимфобластов по морфологии, и/или MRD можно определять посредством валидированного анализа с частотой 1×10^{-4} или более в клетках костного мозга после двух линий терапии. В некоторых аспектах частоту ответа для MRD можно определять на основе доли индивидуумов, достигших CR или CRi без обнаружения MRD в костном мозге (например, $<0,01\%$ посредством подтвержденного анализа), вплоть до 24 месяцев после введения композиции модифицированных клеток, относительно числа индивидуумов, доступных для анализа.

[0292] Лимфоидные клетки могут быть идентифицированы и гейтированы на основе точечного графика рассеяния света, а затем вторично гейтированы для идентификации клеточных популяций, экспрессирующих представляющие интерес иммунофенотипические признаки. Иллюстративные эпитопы приведены в таблице 2 ниже. Другая иммунологическая классификация лейкозов и лимфом включает лейкозы и лимфомы, описанные, например, в Foon and Todd Blood (1986) 68(1): 1-31, и Mrozek et al., Hematol Oncol Clin North Am. 2009 October; 23(5): 991-v. В некоторых аспектах проточно-цитометрическая оценка MRD может быть осуществлена посредством количественного определения живых лимфоцитов, имеющих один или несколько фенотипов ALL или NHL. В некоторых аспектах проточно-цитометрическая оценка MRD может быть осуществлена посредством количественного определения живых лимфоцитов, имеющих один или несколько иммунофенотипов CLL (например, низкое прямое/боковое рассеяние; CD3^{neg}; CD5⁺; CD14^{neg}; CD19⁺; CD23⁺; CD45⁺; CD56^{neg}).

Таблица 2. Иллюстративные иммунофенотипы и цитогенетические характеристики

Заболевание	Иммунофенотип	Цитогенетика
-------------	---------------	--------------

Таблица 2. Иллюстративные иммунофенотипы и цитогенетические характеристики		
Заболевание	Иммунофенотип	Цитогенетика
Острый лимфобластный лейкоз (ALL)	В-клеточный росток: CD19+; CD22+; CD79a+; TdT+; CD10+/-; цитоплазматический Ig +/-; поверхностный Ig +/- Т-клеточный росток: CD2+; CD3+; CD4+; CD5+; CD7+; CD8+; TdT+	Криптический t(12;21) t(1;19)(q23;p13) филадельфийская хромосома (t(9;22)(q34;q11)) t(4;11)(q21;q23) t(8;14)(q24;q32) t(11;14)(p13;q11) t(v;11q23.3) гипердиплоидия гиподиплоидия рецидивирующие генетические аномалии подобный филадельфийской хромосоме
В-клеточный острый лимфобластный лейкоз/лимфома	CD19+; CD22+; CD79a+; TdT+; CD10+/-; цитоплазматический Ig +/-; поверхностный Ig +/-	t(9;22)(q34.1;q11.2) t(v;11q23.3) t(12;21)(p13.2;q22.1) t(5;14)(q31.1;q32.3) t(1;19)(q23;p13.3)
Хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL)	Общий В+; CD5+; CD23+; CD79b/CD22 слабый; FMC7-; sIg слабый	Трисомия12 del(13)(q14.3) del 11q22-q23 del 17p13 (p53) перестройка t(11;14)(q13;q32) BCL1/IgH t(14;19)(q32;q13) Делеция IgH (14q32) del(6q) +8q24 +3 +18 del 6q21

Таблица 2. Иллюстративные иммунофенотипы и цитогенетические характеристики		
Заболевание	Иммунофенотип	Цитогенетика
Мелколимфоцитарная лимфома (SLL)	Общая В+; CD5+; CD23+; CD10-; sIgM+ слабая	del(6)(q21-23)
Лимфоплазматическая лимфома	Общая В+; CD5-; CD10-; cyIgM+	t(9;14)(p13;q32) PAX5/IgH
Лимфома из клеток фолликулярного центра	Общая В+; CD10+/-; CD5-; sIg+	t(14;18)(q32;q21) / BCL2 Rearr
Диффузная крупноклеточная лимфома	CD19+; CD22+; CD10-/+; SIg+	t(14;18) и мутации p53 t(3;V)(q27;V)/ BCL6 Rearr варианты c-MYC Rearr
Лимфома Беркитта (BL)	Общая В+; TdT-; CD10+; CD5-; sIgM+	t(8;14)(q24;q32) или варианты/c-MYC Rearr
Беркитт-подобная лимфома	Общая В+; TdT-; CD10-/+ CD5-; sIg+	t(8;14) или варианты t(8;14)+ t(14;18)
Лимфома из клеток мантийной зоны	Общая В +; CD5+; CD23-; CD10-/+; sIgM+ яркая	t(11;14)(q13;q32) / BCL1 Rearr
В-клеточная лимфомы из клеток маргинальной зоны (MZBCL)	Общая В+; CD5-/+; CD10-; CD23-; CD11c+/-; cyIg + (40% клеток), sIgM+ яркая; sIgD-	t(11;18)(q21;q21) / слияние PI2/MLT: внеузловая низкоккачественная лимфома MALT; вялотекущее заболевание t(1;14)(p21;q32): внеузловая лимфома MALT del(7)(q22-31): MZBCL селезенки /+3q: узловая, внеузловая и селезеночная MZBCL

Таблица 2. Иллюстративные иммунофенотипы и цитогенетические характеристики		
Заболевание	Иммунофенотип	Цитогенетика
+: позитивный в >90% случаев +/-: позитивный в более чем 50% случаев -/+: позитивный в менее чем 50% случаев -: позитивный в <10% случаев Общие В-клеточные маркеры: например, CD19, CD20, CD79a sIg: поверхностные иммуноглобулины суIg: цитоплазматические иммуноглобулины		

[0293] В некоторых аспектах глубокое секвенирование локуса тяжелой цепи иммуноглобулинов (IGH) собранных В-клеток можно использовать для детекции минимальной резидуальной болезни (MRD). Клональное присутствие конкретной перестройки IgG может обеспечивать маркер для детекции присутствия В-клеточных злокачественных опухолей, таких как ALL или NHL и/или остаточное присутствие их злокачественных клеток. В некоторых аспектах клетки, такие как популяция, содержащая или предположительно содержащая В-клетки, собирают и выделяют из крови. В некоторых аспектах клетки собирают и выделяют из костного мозга, например, из аспириатов костного мозга или биоптатов костного мозга, и/или из других биологических образцов. В некоторых аспектах амплификацию посредством полимеразной цепной реакции (ПЦР) определяющей комплементарность области 3 (CDR3) проводят с использованием праймеров к высококонсервативным последовательностям в областях V и J локуса генов, которые можно использовать для идентификации клональных популяций клеток для целей оценки минимальной резидуальной болезни. Можно использовать другие способы детекции клональных популяций, такие как подходы секвенирования единичных клеток, включая способы, обеспечивающие информацию в отношении количества клеток конкретного ростка и/или экспрессирующих конкретную переменную цепь, такую как переменная тяжелая цепь или ее участок связывания, таких как клональная популяция. В некоторых аспектах ДНК IGH амплифицируют с использованием вырожденных праймеров или праймеров, распознающих области переменных цепей среди различных клонов клеток, таких как праймеры, распознающие консенсусную V-область и вырожденную консенсусную J-область последовательности IGH. Иллюстративная последовательность V-области представляет собой ACACGGCCTCGTGTATTACTGT (SEQ ID NO: 57). Иллюстративная вырожденная консенсусная последовательность J-области представляет собой ACCTGAGGAGACGGTGACC (SEQ ID NO: 58).

[0294] Продукт ПЦР или результат секвенирования в некоторых аспектах является специфичным к перестроенному аллелю и служит в качестве клонального маркера для

детекции MRD. После амплификации способом ПЦР области CDR3 продукты ПЦР можно секвенировать с получением специфических для пациента олигонуклеотидов, сконструированных в качестве зондов для аллель-специфической ПЦР для чувствительной детекции MRD после лечения В-клеточных злокачественных опухолей посредством терапии CAR-T-клетками, например, терапии CD19 CAR-T-клетками. В примерах, где продукт ПЦР не получают с использованием консенсусных праймеров, вместо этого могут использоваться праймеры для каркасной области 1, специфичные к семейству V-областей.

[0295] В некоторых аспектах персистенция обнаруживаемых посредством ПЦР опухолевых клеток, таких как клетки В-клеточной злокачественной опухоли, такой как ALL или NHL, например, поддающихся обнаружению последовательностей IGH, соответствующих злокачественным или клональным последовательностям IGH, после лечения ассоциирована с повышенным риском рецидива. В некоторых аспектах пациенты, которые являются негативными в отношении злокачественных последовательностей IGH после лечения (в некоторых аспектах, даже в контексте других критериев, указывающих на прогрессирующее заболевание или только на частичный ответ, таких как сохранение увеличенных лимфатических узлов или другие критерии, которые в некоторых контекстах могут быть ассоциированы с заболеванием или отсутствием полного ответа) могут считаться имеющими увеличенную вероятность PFS или достижения CR или длительного CR или продленной выживаемости, по сравнению с пациентами с персистенцией злокачественных последовательностей IGH. В некоторых вариантах осуществления такое прогностическое определение и определение стадии является особенно значимым для лечения, при котором наблюдают устранение злокачественных клеток за короткий период времени после проведения терапии, например, по сравнению с устранением других клинических симптомов, таких как размер лимфатических узлов или другие критерии определения стадии. Например, в некоторых таких аспектах отсутствие поддающегося обнаружению IGH или минимальной резидуальной болезни в образце, таком как костный мозг, может быть предпочтительным показателем ответа или вероятности или длительности ответа по сравнению с другими доступными подходами для определения стадии или прогностическими подходами. В некоторых аспектах результаты MRD, например, информация о глубоком секвенировании IGH, могут обеспечивать информацию для дальнейшего вмешательства или его отсутствия. Например, способы и другие предусматриваемые варианты осуществления в некоторых контекстах обеспечивают, то, что индивидуума, определенного как негативный в отношении злокачественного IGH, в некоторых аспектах могут далее не лечить или ему могут далее не вводить дозу предусматриваемой терапии, или что ему могут вводить более низкую или сниженную дозу. Напротив, может быть предусмотрено или определено, что индивидуума, имеющего MRD согласно глубокому секвенированию IGH, можно далее лечить, например, первоначально проводимой терапией в сходной или более высокой дозе, или другим способом лечения. В некоторых аспектах заболевание или состояние сохраняется после

введения первой дозы, и/или введение первой дозы является недостаточным для устранения заболевания или состояния у индивидуума.

[0296] В некоторых вариантах осуществления способ снижает нагрузку заболеванием или состоянием, например, количество опухолевых клеток, размер опухоли, длительность выживания пациентов или бессобытийную выживаемость, в большей степени и/или в течение более длительного периода времени по сравнению с уменьшением, которое наблюдалось бы в случае сравнимого способа с использованием альтернативного режима дозирования, такого как режим, в котором индивидууму вводят одно или несколько альтернативных терапевтических средств, и/или режим, в котором индивидууму не вводят дозу клеток и/или средство лимфодеплеции в соответствии с предусматриваемыми способами и/или предусматриваемыми изделиями или композициями. В некоторых вариантах осуществления нагрузку заболеванием или состоянием у индивидуума выявляют, оценивают или измеряют. В некоторых аспектах выявление нагрузки заболеванием можно проводить посредством детекции общего количества пораженных заболеванием или ассоциированных с заболеванием клеток, например, опухолевых клеток, у индивидуума, или в органе, ткани или жидкости тела индивидуума, такой как кровь или сыворотка. В некоторых аспектах оценивают выживаемость индивидуума, выживаемость в течение определенного периода времени, выживаемость, присутствие или длительность бессобытийной или бессимптомной выживаемости, или выживаемость без рецидива. В некоторых вариантах осуществления оценивают любой симптом заболевания или состояния. В некоторых вариантах осуществления определяют показатель нагрузки заболеванием или состоянием.

[0297] В некоторых вариантах осуществления бессобытийная выживаемость или общая выживаемость у индивидуума повышены посредством настоящих способов по сравнению с другими способами, например, способами, в которых индивидууму вводят одно или несколько альтернативных терапевтических средств, и/или способом, в котором индивидууму не вводят дозу клеток и/или средство лимфодеплеции в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями. Например, в некоторых вариантах осуществления бессобытийная выживаемость или вероятность для индивидуумов, которых лечат способами, через 6 месяцев после введения дозы составляет более чем приблизительно 40%, более чем приблизительно 50%, более чем приблизительно 60%, более чем приблизительно 70%, более чем приблизительно 80%, более чем приблизительно 90% или более чем приблизительно 95%. В некоторых аспектах общая выживаемость составляет более чем приблизительно 40%, более чем приблизительно 50%, более чем приблизительно 60%, более чем приблизительно 70%, более чем приблизительно 80%, более чем приблизительно 90% или более чем приблизительно 95%. В некоторых вариантах осуществления индивидуум, которого лечат способами, имеет бессобытийную выживаемость, выживаемость без рецидива или выживаемость по меньшей мере 6 месяцев, или по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 лет. В некоторых вариантах

осуществления время до прогрессирования увеличивается, например, до времени до прогрессирования, составляющего более чем ровно или приблизительно 6 месяцев, или по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 лет.

[0298] В некоторых вариантах осуществления после лечения посредством способов или применений вероятность рецидива снижается по сравнению с другими способами, например, способами, в которых индивидууму вводят одно или несколько альтернативных терапевтических средств, и/или способом, в котором индивидууму не вводят дозу клеток и/или средство лимфодеплеции в соответствии с предусматриваемыми способами и/или предусматриваемыми изделиями или композициями. Например, в некоторых вариантах осуществления вероятность рецидива через 6 месяцев после первой дозы составляет менее чем приблизительно 80%, менее чем приблизительно 70%, менее чем приблизительно 60%, менее чем приблизительно 50%, менее чем приблизительно 40%, менее чем приблизительно 30%, менее чем приблизительно 20% или менее чем приблизительно 10%.

[0299] В некоторых вариантах осуществления оцениваемым показателем или критерием является фармакокинетический параметр или параметр, который ассоциирован с экспозицией. В некоторых вариантах осуществления фармакокинетическим параметром является максимальная концентрация (C_{\max}) модифицированных клеток, присутствующих у индивидуума через некоторый период времени после введения модифицированных клеток. В некоторых вариантах осуществления C_{\max} измеряют вплоть до приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18 или 24 месяцев после введения модифицированных клеток. В некоторых вариантах осуществления фармакокинетическим параметром является время до максимальной концентрации (T_{\max}) модифицированных клеток, присутствующих у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления T_{\max} измеряют через вплоть до приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18 или 24 месяцев после введения модифицированных клеток. В некоторых вариантах осуществления фармакокинетическим параметром является площадь под кривой (AUC) модифицированных клеток, присутствующих у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления AUC измеряют через вплоть до приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18 или 24 месяцев после введения модифицированных клеток.

[0300] В некоторых случаях фармакокинетику можно оценивать путем измерения таких параметров, как максимальная (пиковая) концентрация в плазме (C_{\max}), пиковое время (т.е. когда достигается максимальная концентрация в плазме (C_{\max}); T_{\max}), минимальная концентрация в плазме (т.е. минимальная концентрация в плазме между дозами терапевтического средства, например, CAR+ Т-клеток; C_{\min}), время полувыведения ($T_{1/2}$) и площадь под кривой (т.е. площадь под кривой, полученная посредством нанесения на график времени против плазменной концентрации терапевтического средства CAR+ Т-клеток; AUC) после введения. Концентрацию конкретного терапевтического средства, например, CAR+ Т-клеток, в плазме после введения можно измерять с использованием любого способа, известного в данной области, подходящего для оценки концентраций терапевтических средств, например, CAR+ Т-клеток, в образцах крови, или любыми

способами, описанными в настоящем описании. Например, можно использовать способы на основе нуклеиновых кислот, такие как количественная ПЦР (кПЦР) или способы на основе проточной цитометрии, или другие способы анализа, такие как иммуноанализ, ELISA или способы анализа на основе хроматографии/масс-спектрометрии.

[0301] В некоторых вариантах осуществления фармакокинетику (ПК) введенных клеток, например, композиции CAR⁺ Т-клеток, определяют для оценки доступности, например, биодоступности, введенных клеток. В некоторых вариантах осуществления определенные фармакокинетические параметры введенных клеток включают максимальные (пиковые) концентрации в плазме (C_{max}), такие как C_{max} CD3⁺ CAR⁺ клеток, CD4⁺ CAR⁺ клеток и/или CD8⁺ CAR⁺ Т-клеток; момент времени, в который достигается C_{max} (T_{max}), такой как T_{max} CD3⁺ CAR⁺ клеток, CD4⁺ CAR⁺ клеток и/или CD8⁺ CAR⁺ Т-клеток, и/или площадь под кривой (AUC), такую как AUC₀₋₂₈, CD3⁺ CAR⁺ клеток, CD4⁺ CAR⁺ клеток и или CD8⁺ CAR⁺ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления фармакокинетическим параметром является пиковая концентрация CD3⁺ CAR⁺ Т-клеток (C_{max} CD3⁺ CAR⁺ Т-клеток) или концентрация CD8⁺ CAR⁺ Т-клеток (C_{max} CD8⁺ CAR⁺ Т-клеток). В некоторых вариантах осуществления фармакокинетическим параметром является AUC₀₋₂₈ CD3⁺ CAR⁺ Т-клеток (AUC₀₋₂₈ CD3⁺ CAR⁺ Т-клеток), или AUC₀₋₂₈ CD8⁺ CAR⁺ Т-клеток (AUC₀₋₂₈ CD8⁺ CAR⁺ Т-клеток).

[0302] В некоторых вариантах осуществления "экспозиция" может относиться к экспозиции в организме терапевтического средства, например, CAR⁺ Т-клеток в плазме (крови или сыворотке) после введения терапевтического средства на протяжении определенного периода времени. В некоторых вариантах осуществления экспозиция может быть указана в качестве площади под кривой концентрация терапевтического средства-время (AUC) при определении посредством фармакокинетического анализа после введения дозы терапевтического средства, например, CAR⁺ Т-клеток. В некоторых случаях AUC выражают в количестве клеток*сутки/мкл для клеток, вводимых в клеточной терапии, или в соответствующих ее единицах. В некоторых вариантах осуществления AUC измеряют в качестве средней AUC в популяции пациентов, такой как выборка пациентов, например, средней AUC одного или нескольких пациента(ов). В некоторых вариантах осуществления системная экспозиция относится к площади под кривой (AUC) в течение определенного периода времени, например, с суток 0 по сутки 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 21, 28 или более, или неделю 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более, или месяц 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18, 24, 48 или более. В некоторых вариантах осуществления AUC измеряют в качестве AUC от суток 0 по сутки 28 (AUC₀₋₂₈) после введения терапевтического средства, например, CAR⁺ Т-клеток, включая все измеренные данные или данные, экстраполированные из измеренных фармакокинетических (ПК) параметров, таких как средняя AUC в популяции пациентов, такой как выборка пациентов. В некоторых вариантах осуществления для определения экспозиции с течением времени, например, AUC для определенного периода времени, такой как AUC₀₋₂₈, строят кривую концентрация терапевтического средства-время с

использованием многократных измерений или оценки параметров, например, концентраций клеток, с течением времени, например, измерений, проводимых каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 21 или 28 суток или более.

[0303] В некоторых вариантах осуществления определяют присутствие и/или количество клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, CAR-экспрессирующих клеток, вводимых для терапии на основе Т-клеток) у индивидуума после введения Т-клеток и до, в ходе и/или после проведения терапии. В некоторых аспектах способы на основе нуклеиновых кислот, такие как количественная ПЦР (кПЦР), используют для оценки количества клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, CAR-экспрессирующих клеток, введенных для терапии на основе Т-клеток) в образце крови, или сыворотки, или органа, или ткани (например, образец из пораженной заболеванием области, например, образец опухоли) индивидуума. В некоторых аспектах длительность нахождения количественно определяют в качестве количества копий ДНК или плазмиды, кодирующей рецептор, например CAR, на микрограмм ДНК, или в качестве количества экспрессирующих рецептор, например CAR-экспрессирующих, клеток на микролитр образца, например, крови или сыворотки, или на общее количество моноклеарных клеток периферической крови (PBMC), или лейкоцитов, или Т-клеток на микролитр образца. В некоторых вариантах осуществления праймеры или зонд, используемые для кПЦР или других способов на основе нуклеиновых кислот, являются специфическими в отношении связывания, распознавания и/или амплификации нуклеиновых кислот, кодирующих рекомбинантный рецептор, и/или других компонентов или элементов плазмиды и/или вектора, включая регуляторные элементы, например, промоторы, транскрипционные и/или посттранскрипционные регуляторные элементы или элементы ответа, или маркеры, например, суррогатные маркеры. В некоторых вариантах осуществления праймеры могут быть специфическими в отношении регуляторных элементов, таких как посттранскрипционный регуляторный элемент вируса гепатита сурков (WPRE).

[0304] В некоторых вариантах осуществления детекцию клеток у индивидуума проводят через или по меньшей мере через 4, 14, 15, 27 или 28 суток после введения Т-клеток, например, CAR-экспрессирующих Т-клеток. В некоторых аспектах детекцию клеток проводят 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 после, или через 1, 2, 3, 4, 5, или более лет после введения Т-клеток, например, CAR-экспрессирующих Т-клеток.

[0305] В некоторых вариантах осуществления пиковые уровни и/или AUC оценивают, и/или образец получают от индивидуума, в момент времени по меньшей мере через 8 суток, 9 суток, 10 суток, 11 суток, 12 суток, 13 суток, 14 суток, 15 суток, 16 суток, 17 суток, 18 суток, 19 суток, 20 суток или 21 сутки после начала введения генно-модифицированных клеток. В некоторых вариантах осуществления пиковые уровни и/или AUC оценивают, и/или образец получают от индивидуума, в момент времени, который составляет от или приблизительно от 11 до 22 суток, от 12 до 18 суток или от 14 до 16

суток, в каждом случае включительно, после начала введения генно-модифицированных клеток.

[0306] Экспозиция, например, количество или концентрация клеток, например Т-клеток, введенных для Т-клеточной терапии, указывающие на экспансию и/или длительность нахождения, может быть указана в значениях максимальных количеств или концентрации клеток, воздействию которых индивидуума подвергают, длительности обнаружения клеток или клеток выше определенного количества или процента, площади под кривой (AUC) для количества или концентрации клеток с течением времени, и/или их комбинаций и их индикаторов. Такие результаты можно оценивать с использованием известных способов, таких как кПЦР, для детекции числа 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 проточно-цитометрический анализ, выявляющий клетки, экспрессирующие рецептор, как правило, с использованием антител, специфичных к рецепторам. Клеточные анализы также можно использовать для детекции количества, или процента, или концентрации функциональных клеток, таких как клетки, способные связывать, и/или нейтрализовывать, и/или индуцировать ответы, например, цитотоксические ответы, против клеток, пораженных заболеванием или состоянием или экспрессирующих антиген, распознаваемый рецептором.

[0307] В некоторых случаях определяют фармакокинетику введенных клеток, например, введенных посредством адоптивного переноса клеток, для оценки доступности, например биодоступности, введенных клеток. Способы определения фармакокинетики клеток, введенных посредством адоптивного переноса, могут включать взятие периферической крови от индивидуумов, которым введены модифицированные клетки, и определение количества или соотношения модифицированных клеток в периферической крови. Подходы для селекции и/или выделения клеток могут включать применение антител, специфичных к химерному рецептору антигена (CAR) (например, Brentjens et al., *Sci. Transl. Med.* 2013 Mar; 5(177): 177ra38), белок L (Zheng et al., *J. Transl. Med.* 2012 Feb; 10:29), эпитопных меток, таких как последовательности Strep-Tag, введенные непосредственно в определенные участки в CAR, где связывающие реагенты для Strep-Tag используют для непосредственной оценки CAR (Liu et al. (2016) *Nature Biotechnology*, 34:430; публикация международной патентной заявки № WO2015095895) и моноклональных антител, которые специфически связываются с полипептидом CAR (см. публикацию международной патентной заявки № WO2014190273). В некоторых случаях совместно с терапией модифицированными клетками можно использовать посторонние маркерные гены для обеспечения возможности детекции или селекции клеток и, в некоторых случаях, также для обеспечения самоуничтожения клеток. В некоторых случаях совместно с представляющим интерес трансгеном (например, кодирующим CAR) можно экспрессировать укороченный рецептор эпидермального фактора роста (EGFRt) в трансдуцированных клетках (см., например, патент США № 8802374). EGFRt может

содержать эпитоп, распознаваемый антителом цетуксимабом (Erbix®) или другим терапевтическим антителом против EGFR или связывающей молекулой, которые можно использовать для идентификации или селекции клеток, модифицированных посредством конструкции EGFRt и другого рекомбинантного рецептора, такого как химерный рецептор антигена (CAR), и/или для устранения или выделения клеток, экспрессирующих рецептор. См. патент США № 8802374 и Liu et al., Nature Biotech. 2016 April; 34(4): 430-434).

[0308] В некоторых вариантах осуществления количество CAR⁺ Т-клеток в биологическом образце, полученном от пациента, например, крови, можно определять через некоторый период времени после проведения клеточной терапии, например, для определения фармакокинетики клеток. В некоторых вариантах осуществления количество CAR⁺ Т-клеток, необязательно CAR⁺ CD8⁺ Т-клеток и/или CAR⁺ CD4⁺ Т-клеток, обнаруживаемых в крови индивидуума или у большинства индивидуумов, которых лечат способом, превышает 1 клетку на мкл, превышает 5 клеток на мкл или превышает 10 клеток на мкл.

D. Токсичность

[0309] В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения могут включать признаки, которые приводят к более низкой частоте и/или более низкой степени токсичности, токсическому исходу или симптому, способствующему токсичности профилю, фактору или свойству, как например, симптому или исходу, ассоциированному с или указывающему на синдром высвобождения цитокинов (CRS) или нейротоксичность, например, по сравнению с проведением альтернативной клеточной терапии, такой как альтернативная композиция CAR⁺ Т-клеток и/или альтернативное дозирование клеток, например, дозирование клеток, которые не вводят в заданном соотношении.

[0310] В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения не приводят к высокой частоте или вероятности токсичности или других токсических исходов, или снижают частоту или вероятность токсичности или токсических исходов, таких как нейротоксичность (NT), синдром высвобождения цитокинов (CRS), по сравнению с определенными другими способами клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления способы не приводят к или не повышают риск тяжелой NT (sNT), тяжелого CRS (sCRS), синдрома активации макрофагов, синдрома лизиса опухоли, лихорадки по меньшей мере ровно или приблизительно 38 градусов Цельсия в течение трех или более дней и уровня CRP в плазме по меньшей мере ровно или приблизительно 20 мг/дл. В некоторых вариантах осуществления более чем или более чем приблизительно 30%, 35%, 40%, 50%, 55%, 60% или более индивидуумов, которых лечат в соответствии с предусматриваемыми способами, не имеют никакой степени CRS или никакой степени нейротоксичности. В некоторых вариантах осуществления не более 50% подвергнутых лечению индивидуумов (например, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или более подвергнутых лечению индивидуумов) имеют синдром высвобождения цитокинов (CRS) степени выше 2 и/или

нейротоксичность степени выше 2. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 50% индивидуумов, которых лечат в соответствии со способом (например, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или более подвергнутых лечению индивидуумов) не имеют тяжелого токсического исхода (например, тяжелого CRS или тяжелой нейротоксичности), не имеют нейротоксичности степени 3 или выше и/или не имеют тяжелого CRS, или не имеют их в течение определенного периода времени после лечения, например, в пределах недели, двух недель или одного месяца после введения клеток. В некоторых вариантах осуществления параметры, оцениваемые для определения определенных видов токсичности, включают неблагоприятные явления (AE), ограничивающую дозу токсичность (DLT), CRS и NT.

[0311] Проведение адоптивной Т-клеточной терапии, такой как лечение Т-клетками, экспрессирующими химерные рецепторы антигенов, может индуцировать токсические эффекты или исходы, такие как синдром высвобождения цитокинов и нейротоксичность. В некоторых примерах такие эффекты или исходы параллельны высоким уровням циркулирующих цитокинов, которые могут лежать в основе наблюдаемой токсичности.

[0312] В некоторых вариантах осуществления после введения модифицированных клеток измеряют или определяют присутствие или развитие неблагоприятных явлений (AE). В некоторых аспектах определяют тип, частоту и тяжесть неблагоприятных явлений (AE), серьезных неблагоприятных явлений (SAE) и лабораторных аномалий (в целом и в клинических, гистологических и молекулярных подгруппах). В некоторых вариантах осуществления более чем или приблизительно более чем 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 50%, 55%, 60% или более индивидуумов, которых лечат в соответствии с предусматриваемыми способами, не имеют никаких AE или SAE.

[0313] В некоторых аспектах токсический исход представляет собой, или ассоциирован с, или указывает на синдром высвобождения цитокинов (CRS) или тяжелый CRS (sCRS). В некоторых случаях CRS, например, sCRS, может возникать после адоптивной Т-клеточной терапии и введения индивидуумам 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.

[0314] Как правило, CRS вызывается усиленным системным иммунным ответом, опосредуемым, например, Т-клетками, В-клетками, НК-клетками, моноцитами и/или макрофагами. Такие клетки могут высвобождать большое количество медиаторов воспаления, таких как цитокины и хемокины. Цитокины могут запускать острый воспалительный ответ и/или индуцировать повреждение эндотелия органов, что может приводить к микрососудистой проницаемости, сердечной недостаточности или смерти. Тяжелый угрожающий жизни CRS может приводить к инфильтрации легких и повреждению легких, почечной недостаточности или диссеминированному внутрисосудистому свертыванию. Другие тяжелые угрожающие жизни типы токсичности

могут включать сердечную токсичность, расстройство дыхания, неврологическую токсичность и/или печеночную недостаточность.

[0315] CRS можно лечить с использованием противовоспалительной терапии, такой как терапия против IL-6, например, антитело против IL-6, например тоцилизумаб, или антибиотики или другие средства, как описано. Исходы, признаки и симптомы CRS известны и включают исходы, признаки и симптомы, описанные в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, когда конкретный режим дозирования или введение обеспечивает или не обеспечивает данный ассоциированный с CRS исход, признак или симптом, могут быть указаны конкретные исходы, признаки и симптомы и/или их величины или степени.

[0316] В контексте введения CAR-экспрессирующих клеток, CRS, как правило, возникает через 6-20 суток после инфузии клеток, которые экспрессируют CAR. См. Xu et al., *Cancer Letters* 343 (2014) 172-78. В некоторых случаях, CRS возникает менее чем через 6 суток или более чем через 20 суток после инфузии CAR T-клеток. Встречаемость и время CRS могут быть связаны с исходными уровнями цитокинов или опухолевой нагрузкой во время инфузии. Часто CRS вовлекает повышенные сывороточные уровни интерферона (IFN)- γ , фактора некроза опухоли (TNF)- α , и/или интерлейкина (IL)-2. Другие цитокины, которые могут быстро индуцироваться при CRS, представляют собой IL-1 β , IL-6, IL-8 и IL-10.

[0317] Иллюстративные исходы, ассоциированные с CRS, включают лихорадку, мышечную ригидность, озноб, гипотензию, диспноэ, острый респираторный дистресс-синдром (ARDS), энцефалопатию, повышение ALT/AST, почечную недостаточность, нарушения сердца, гипоксию, неврологические нарушения и смерть. Неврологические осложнения включают делирий, подобную судорожной активность, помутненное сознание, затруднения с подбором слов, афазию и/или заторможенность. Другие связанные с CRS исходы включают усталость, тошноту, головную боль, судороги, тахикардию, миалгию, сыпь, острый синдром повышенной сосудистой проницаемости, нарушение функции печени и почечную недостаточность. В некоторых аспектах CRS ассоциирован с повышением уровня одного или нескольких факторов, таких как сывороточный ферритин, d-димер, аминотрансферазы, лактатдегидрогеназа и триглицериды, или с гипофибриногемией или гепатоспленомегалией. Другие иллюстративные признаки или симптомы, ассоциированные с CRS, включают гемодинамическую нестабильность, фебрильную нейтропению, повышение сывороточного уровня С-реактивного белка (CRP), изменения параметров свертывания (например, международное нормализованное соотношение (INR), протромбиновое время (PTI) и/или фибриноген), изменения функции сердца и других органов и/или абсолютное число нейтрофилов (ANC).

[0318] В некоторых вариантах осуществления исходы, ассоциированные с CRS, включают один или несколько из: персистирующей лихорадки, например, лихорадки определенной температуры, например, более чем ровно или приблизительно 38 градусов

Цельсия, в течение двух или более, например, трех или более, например, четырех или более суток или в течение по меньшей мере трех последовательных суток; лихорадка более чем ровно или приблизительно 38 градусов Цельсия; повышение уровня цитокинов, такое как максимальное кратное изменение, например, по меньшей мере ровно или приблизительно 75, по сравнению с уровнями до лечения по меньшей мере двух цитокинов (например, по меньшей мере два из группы, состоящей из интерферона-гамма (IFN γ), GM-CSF, IL-6, IL-10, Flt-3L, фракталкина и IL-5, и/или фактора некроза опухоли альфа (TNF α)), или максимальное кратное изменение, например, по меньшей мере ровно или приблизительно 250 по меньшей мере одного из таких цитокинов; и/или по меньшей мере один клинический признак токсичности, такой как гипотензия (например, требующая по меньшей мере одно внутривенное вазоактивное сосудосуживающее средство); гипоксия (например, уровни кислорода в плазме (PO $_2$) менее чем ровно или приблизительно 90%); и/или одно или несколько неврологических нарушений (включая изменения психического состояния, заторможенность и судороги).

[0319] Иллюстративные связанные с CRS исходы включают повышенные или высокие сывороточные уровни одного или нескольких факторов, включая цитокины и хемокины, и других факторов, ассоциированных с CRS. Кроме того, иллюстративные исходы включают повышение синтеза или секреции одного или нескольких таких факторов. Такой синтез или секреция могут осуществляться Т-клеткой или клеткой, которая взаимодействует с Т-клеткой, такой как клетка врожденного иммунитета или В-клетка.

[0320] В некоторых вариантах осуществления CRS-ассоциированные сывороточные факторы или CRS-связанные исходы включают воспалительные цитокины и/или хемокины, включая интерферон-гамма (IFN- γ), TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, sIL-2R α , гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), воспалительный белок макрофагов (MIP)-1, фактор некроза опухоли альфа (TNF α), IL-6, и IL-10, IL-1 β , IL-8, IL-2, MIP-1, Flt-3L, фракталкин и/или IL-5. В некоторых вариантах осуществления фактор или исход включает С-реактивный белок (CRP). В дополнение к рано и легко определяемому фактору риска для CRS, CRP также является маркером экспансии клеток. В некоторых вариантах осуществления индивидуумы, у которых определено наличие высоких уровней CRP, таких как ≥ 15 мг/дл, имеют CRS. В некоторых вариантах осуществления индивидуумы, у которых определено наличие высоких уровней CRP, не имеют CRS. В некоторых вариантах осуществления показатель CRS включает показатель CRP и другого фактора, указывающего на CRS.

[0321] В некоторых вариантах осуществления мониторинг одного или нескольких воспалительных цитокинов или хемокинов проводят до, в ходе и после лечения CAR. В некоторых аспектах один или несколько цитокинов или хемокинов включают IFN- γ , TNF- α , IL-2, IL-1 β , IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, sIL-2R α , гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) или макрофагальный воспалительный белок (MIP). В некоторых вариантах осуществления проводят мониторинг IFN- γ , TNF- α и IL-6.

[0322] Были разработаны критерии CRS, которые, по-видимому, коррелируют с появлением CRS для прогнозирования того, какие пациенты более вероятно будут иметь риск развития sCRS (см. Davilla et al. Science translational medicine. 2014;6(224):224ra25). Эти факторы включают лихорадку, гипоксию, гипотензию, неврологические изменения, повышенные сывороточные уровни воспалительных цитокинов, таких как набор из семи цитокинов (IFN γ , IL-5, IL-6, IL-10, Flt-3L, фракталкин и GM-CSF), чье индуцируемое лечением повышение может хорошо коррелировать как с опухолевой нагрузкой до лечения, так и с симптомами sCRS. Известны другие рекомендации по диагностике и управлению течением CRS (см., например, Lee et al, Blood. 2014;124(2):188-95). В некоторых вариантах осуществления критерии, отражающие степень CRS, представляют собой критерии, подробно описанные в таблице 3 ниже.

Таблица 3: Иллюстративные критерии оценки CRS	
Степень	Описание симптомов
1 Мягкая	Не угрожающая жизни, требует только симптоматического лечения, такого как жаропонижающие средства и противорвотные средства (например, лихорадка, тошнота, усталость, головная боль, миалгии, недомогание)
2 Умеренная	Требуют и отвечают на умеренное вмешательство: - Потребность в кислороде < 40%, или - Гипотензия, отвечающая на жидкости или низкую дозу одного сосудосуживающего средства, или - Органная токсичность степени 2 (согласно СТСАЕ v4.0)
3 Тяжелая	Требуют и отвечают на агрессивное вмешательство: - Потребность в кислороде \geq 40%, или - Гипотензия, требующая высокой дозы одного сосудосуживающего средства (например, норадреналин \geq 20 мкг/кг/мин, дофамин \geq 10 мкг/кг/мин, фенилэфрин \geq 200 мкг/кг/мин, или адреналин \geq 10 мкг/кг/мин), или - Гипотензия, требующая нескольких сосудосуживающих средств (например, вазопрессин+одно из перечисленных выше средств, или комбинация сосудосуживающих средств, эквивалентная \geq 20 мкг/кг/мин норадреналина), или - Органная токсичность степени 3 или трансаминит степени 4 (согласно СТСАЕ v4.0)
4 Угрожающая жизни	Угрожает жизни: - Потребность в дыхательной поддержке, или

	- Органная токсичность степени 4 (исключая трансаминит)
5 Фатальная	Смерть

[0323] В некоторых вариантах осуществления индивидуума считают имеющим "тяжелый CRS" ("sCRS") в ответ на проведение или на фоне проведения клеточной терапии или введения ее дозы клеток, если после введения индивидуум имеет: (1) лихорадку по меньшей мере 38 градусов Цельсия в течение по меньшей мере трех суток; (2) повышение уровня цитокинов, которое включает либо (а) максимальное кратное изменение по меньшей мере 75 для по меньшей мере двух из следующей группы из семи цитокинов по сравнению с уровнем непосредственно после введения: интерферон-гамма (IFN γ), GM-CSF, IL-6, IL-10, Flt-3L, фракталкин и IL-5; и/или (b) максимальное кратное изменение по меньшей мере 250 для по меньшей мере одного из следующей группы из семи цитокинов по сравнению с уровнем непосредственно после введения: интерферон-гамма (IFN γ), GM-CSF, IL-6, IL-10, Flt-3L, фракталкин и IL-5; и (c) по меньшей мере один клинический признак токсичности, такой как гипотензия (требуемая по меньшей мере одного внутривенного вазоактивного сосудосуживающего средства) или гипоксия (PO $_2$ <90%), или одно или несколько неврологическое нарушение(ий) (включая изменения психического статуса, заторможенность и/или судороги). В некоторых вариантах осуществления тяжелый CRS включает CRS степени 3 или выше, как указано в таблице 3.

[0324] В некоторых вариантах осуществления исходы, ассоциированные с тяжелым CRS или CRS степени 3 или выше, такой как степень 4 или выше, включают один или несколько из следующих: персистирующая лихорадка, например, лихорадка указанной температуры, например, более чем ровно или приблизительно 38 градусов Цельсия, в течение двух или более, например, трех или более, например, четырех или более суток или в течение по меньшей мере трех последовательных суток; лихорадка более чем ровно или приблизительно 38 градусов Цельсия; повышение уровня цитокинов, такое как максимальное кратное изменение, например, по меньшей мере ровно или приблизительно 75, по сравнению с уровнями до лечения по меньшей мере для двух цитокинов (например, по меньшей мере двух из группы, состоящей из интерферона-гамма (IFN γ), GM-CSF, IL-6, IL-10, Flt-3L, фракталкина и IL-5, и/или фактора некроза опухоли альфа (TNF α)), или максимальное кратное изменение, например, по меньшей мере ровно или приблизительно 250 для по меньшей мере одного из таких цитокинов; и/или по меньшей мере один клинический признак токсичности, такой как гипотензия (например, требующая по меньшей мере одно внутривенное вазоактивное сосудосуживающее средство); гипоксия (например, уровни кислорода в плазме (PO $_2$) менее чем ровно или приблизительно 90%); и/или одно или несколько неврологических нарушений (включая изменения психического состояния, заторможенность и судороги). В некоторых вариантах осуществления тяжелый CRS включает CRS, который требует контроля или ухода в отделении интенсивной терапии (ICU).

[0325] В некоторых вариантах осуществления CRS, такой как тяжелый CRS, охватывает комбинацию (1) персистирующей лихорадки (лихорадка по меньшей мере 38 градусов Цельсия в течение по меньшей мере трех суток) и (2) сывороточного уровня CRP по меньшей мере ровно или приблизительно 20 мг/дл. В некоторых вариантах осуществления CRS охватывает гипотензию, требующую применения двух или более сосудосуживающих средств, или дыхательную недостаточность, требующую искусственной вентиляции. В некоторых вариантах осуществления дозировка сосудосуживающих средств увеличивается при втором или последующем введении.

[0326] В некоторых вариантах осуществления тяжелый CRS или CRS степени 3 охватывает повышение уровня аланинаминотрансферазы, повышение уровня аспаратаминотрансферазы, озноб, фебрильную нейтропению, головную боль, дисфункцию левого желудочка, энцефалопатию, гидроцефалию и/или тремор.

[0327] Способ измерения или детекции различных исходов может быть определенным.

[0328] В некоторых аспектах токсический исход представляет собой или ассоциирован с нейротоксичностью. В некоторых вариантах осуществления симптомы, ассоциированные с клиническим риском нейротоксичности, включают помутнение сознания, бред, афазию, экспрессивную афазию, заторможенность, миоклонус, вялость, измененное психическое состояние, конвульсии, подобную судорожной активность, судороги (необязательно подтвержденные посредством электроэнцефалографии [ЭЭГ]), повышенные уровни бета-амилоида (A β), повышенные уровни глутамата и повышенные уровни кислородных радикалов. В некоторых вариантах осуществления нейротоксичность оценивают на основе тяжести (например, с использованием шкалы степени 1-5 (см., например, Guido Cavaletti & Paola Marmiroli Nature Reviews Neurology 6, 657-666 (December 2010); National Cancer Institute-Common Toxicity Criteria version 4.03 (NCI-CTCAE v4.03)).

[0329] В некоторых случаях неврологические симптомы могут представлять собой наиболее ранние симптомы sCRS. В некоторых вариантах осуществления начало неврологических симптомов происходит на 5-7 сутки после инфузии клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления длительность неврологических изменений может находиться в диапазоне от 3 до 19 суток. В некоторых случаях восстановление после неврологических изменений происходит после устранения других симптомов sCRS. В некоторых вариантах осуществления время или степень разрешения неврологических симптомов не ускоряется посредством лечения средством против IL-6 и/или стероидом(ами).

[0330] В некоторых вариантах осуществления индивидуума считают имеющим "тяжелую нейротоксичность" в ответ на введение или на фоне введения клеточной терапии или дозы ее клеток, если после введения индивидуум имеет симптомы, которые ограничивают уход за собой (например, купание, одевание и раздевание, питание, использование туалета, прием лекарственных средств), среди: 1) симптомов

периферической двигательной невропатии, включая воспаление или дегенерацию периферических двигательных нервов; 2) симптомов периферической сенсорной невропатии, включая воспаление или дегенерацию периферических чувствительных нервов, такие как искажение восприятия ощущений, что приводит к аномальному и неприятному ощущению, невралгии, такой как интенсивное болезненное ощущение вдоль нерва или группы нервов, и/или парестезии, такой как функциональные нарушения чувствительных нейронов, приводящие к аномальным кожным ощущениям покалывания, онемения, сдавливания, холода и тепла в отсутствии стимула. В некоторых вариантах осуществления тяжелая нейротоксичность включает нейротоксичность степени 3 или более, как указано в таблице 4.

Таблица 4: Иллюстративные критерии оценки нейротоксичности	
Степень	Описание симптомов
1 Бессимптомная или мягкая	Мягкие симптомы или их отсутствие
2 Умеренная	Наличие симптомов, которые ограничивают инструментальную активность повседневной жизни (ADL), такую как приготовление пищи, посещение продовольственных магазинов или магазинов одежды, использование телефона, обращение с деньгами
3 Тяжелая	Наличие симптомов, которые ограничивают ADL ухода за собой, такую как купание, одевание и раздевание, питание, использование туалета, прием лекарственных средств
4 Угрожающая жизни	Симптомы, которые угрожают жизни, требуя срочного вмешательства
5 Фатальная	Смерть

[0331] В некоторых вариантах осуществления способы обеспечивают уменьшение симптомов, ассоциированных с CRS или нейротоксичностью, по сравнению с другими способами. В некоторых аспектах предусматриваемые способы обеспечивают уменьшение симптомов, исходов или факторов, ассоциированных с CRS, включая симптомы, исходы и факторы, ассоциированные с тяжелым CRS или CRS степени 3 или выше, по сравнению с другими способами. Например, у индивидуумов, которых лечат в соответствии с настоящими способами, могут отсутствовать поддающиеся обнаружению, и/или они могут иметь уменьшенные, симптомы, исходы или факторы CRS, например, тяжелого CRS или CRS степени 3 или выше, такие как любые из описанных, например, в таблице 3. В некоторых вариантах осуществления индивидуумы, которых лечат

способами по настоящему изобретению, могут иметь уменьшенные симптомы нейротоксичности, такие как слабость или онемение конечностей, снижение памяти, зрения и/или интеллекта, неконтролируемое обсессивное и/или компульсивное поведение, бред, головная боль, когнитивные и поведенческие проблемы, включая снижение регуляции моторики, снижение когнитивной функции и дисфункцию автономной нервной системы, и половую дисфункцию, по сравнению индивидуумами, которых лечат другими способами. В некоторых вариантах осуществления индивидуумы, которых лечат способами по настоящему изобретению, могут иметь уменьшение симптомов, ассоциированных с периферической моторной невропатией, периферической сенсорной невропатией, дизестезией, невралгией или парестезией.

[0332] В некоторых вариантах осуществления способы приводят к уменьшению исходов, ассоциированных с нейротоксичностью, включая повреждение нервной системы и/или головного мозга, такое как гибель нейронов. В некоторых аспектах способы уменьшают уровень факторов, ассоциированных с нейротоксичностью, таких как бета-амилоид (A β), глутамат и кислородные радикалы.

[0333] В некоторых вариантах осуществления токсическим исходом является ограничивающая дозу токсичность (DLT). В некоторых вариантах осуществления токсическим исходом является ограничивающая дозу токсичность. В некоторых вариантах осуществления токсическим исходом является отсутствие ограничивающей дозу токсичности. В некоторых вариантах осуществления ограничивающую дозу токсичности (DLT) определяют как любую токсичность степени 3 или выше при оценке в соответствии с любыми известными или опубликованными рекомендациями по оценке конкретной токсичности, такими как любые из описанных выше, и включая Общую терминологию критериев нежелательных явлений (CTCAE) версии 4.0 от National Cancer Institute (NCI).

[0334] В некоторых вариантах осуществления низкая частота, риск или вероятность развития токсичности, например CRS или нейротоксичности, тяжелого CRS или нейротоксичности, например CRS или нейротоксичности степени 3 или выше, наблюдаемых при введении дозы Т-клеток в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, позволяет проведение клеточной терапии амбулаторно. В некоторых вариантах осуществления проведение клеточной терапии, например, введение дозы Т-клеток (например CAR⁺ Т-клеток) в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, проводят на амбулаторной основе, и оно не требует госпитализации индивидуума, например, в больницу, требующей проживания.

[0335] В некоторых аспектах индивидуумам, которым проводят клеточную терапию, например, вводят дозу Т-клеток (например, CAR⁺ Т-клеток) в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, включая индивидуумов, которых лечат амбулаторно, не проводят вмешательства для лечения какой-либо токсичности перед или при введении дозы клеток,

если или до тех пор, пока у индивидуума не появится признак или симптом токсичности, такой как нейротоксичность или CRS. Иллюстративные средства для лечения, замедления, ослабления или облегчения токсичности описаны в настоящем описании.

[0336] В некоторых вариантах осуществления, если индивидуум, которому проводят клеточную терапию, например, вводят дозу Т-клеток (например CAR⁺ Т-клеток), включая индивидуумов, которых лечат амбулаторно, имеет лихорадку, индивидууму вводят или инструктируют принимать или проводить терапию для снижения лихорадки. В некоторых вариантах осуществления лихорадка у индивидуума характеризуется как температура тела индивидуума, которая находится на (или измерена на) или выше определенной пороговой температуры или уровня. В некоторых аспектах пороговая температура ассоциирована по меньшей мере с небольшой лихорадкой, 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 ровно или приблизительно или по меньшей мере ровно или приблизительно 38, 39, 40, 41 или 42 градусов Цельсия и/или может находиться в диапазоне от ровно или приблизительно 38 градусов Цельсия до ровно или приблизительно 39 градусов Цельсия, в диапазоне от ровно или приблизительно 39 градусов Цельсия до ровно или приблизительно 40 градусов Цельсия, в диапазоне от ровно или приблизительно 40 градусов Цельсия до ровно или приблизительно 41 градусов Цельсия, или в диапазоне от ровно или приблизительно 41 градусов Цельсия до ровно или приблизительно 42 градусов Цельсия.

[0337] В некоторых вариантах осуществления лечение, предназначенное для уменьшения лихорадки, включает лечение жаропонижающим средством. Жаропонижающее средство может включать любое средство, например, соединение, композицию или ингредиент, которое снижает лихорадку, такое как любое из ряда средств, известных тем, что они имеют жаропонижающие эффекты, таких как NSAID (такие как ибупрофен, напроксен, кетопрофен и нимезулид), салицилаты, такие как аспирин, холина салицилат, магния салицилат и натрия салицилат, парацетамол, ацетаминофен, метамизол, набуметон, фенаксон, антипирин, фебрифугин. 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 вплоть до раза в четыре часа. В некоторых вариантах осуществления он представляет собой или содержит ибупрофен или аспирин.

[0338] В некоторых вариантах осуществления, если лихорадка представляет собой длительную лихорадку, индивидууму проводят альтернативное лечение токсичности, такое как любое лечение, описанное в настоящем описании. Для индивидуумов, которых лечат на амбулаторной основе, индивидуума инструктируют вернуться в больницу, если индивидуум имеет и/или определен или считается имеющим длительную лихорадку. В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет и/или определен или считается имеющим длительную лихорадку, если он или она имеет лихорадку выше

соответствующей пороговой температуры, и где лихорадка или температура тела индивидуума не уменьшается, или не уменьшается на или более чем на определенную величину (например, более чем на 1°C, и, как правило, она не отклоняется приблизительно или более чем приблизительно на 0,5°C, 0,4°C, 0,3°C или 0,2°C) после определенного лечения, такого как лечение, предназначенное для уменьшения лихорадки, такое как лечение жаропонижающим средством, например, NSAID или салицилатами, например ибупрофеном, ацетаминофеном или аспирином. Например, индивидуум считается имеющим длительную лихорадку, если он или она имеет, или определены как имеющие лихорадку по меньшей мере ровно или приблизительно 38 или 39 градусов Цельсия, которая не снижается или не снижается на более чем ровно или приблизительно 0,5°C, 0,4°C, 0,3°C или 0,2°C, или на ровно или приблизительно 1%, 2%, 3%, 4% или 5% на протяжении периода 6 часов, на протяжении периода 8 часов, или на протяжении периода 12 часов, или на протяжении периода 24 часов, в каждом случае после лечения жаропонижающими средствами, такими как ацетаминофен. В некоторых вариантах осуществления дозировка жаропонижающего средства представляет собой дозировку, обычно являющуюся эффективной у такого индивидуума для снижения лихорадки или конкретного типа лихорадки, такой как лихорадка, ассоциированная с бактериальной или вирусной инфекцией, например, локализованной или системной инфекцией.

[0339] В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет, и/или определен или считается имеющим, длительную лихорадку, если он или она имеет лихорадку на уровне или выше соответствующей пороговой температуры, и где лихорадка и температура тела не отклоняется на приблизительно или более чем приблизительно 1°C, и, как правило, не отклоняется на приблизительно или более чем приблизительно 0,5°C, 0,4°C, 0,3°C или 0,2°C. Такое отсутствие отклонения выше или на определенном уровне, как правило, измеряют на протяжении данного периода времени (такого как период времени 24 часа, 12 часов, 8 часов, 6 часов, 3 часа или 1 час, который может определяться от первого признака лихорадки или первой температуры выше указанного порогового значения). Например, в некоторых вариантах осуществления индивидуум считается или определен как имеющий длительную лихорадку, если он или она имеет лихорадку по меньшей мере ровно или приблизительно или по меньшей мере ровно или приблизительно 38 или 39 градусов Цельсия, которая не отклоняется на более чем ровно или приблизительно 0,5°C, 0,4°C, 0,3°C или 0,2°C в течение периода 6 часов, в течение периода 8 часов, или в течение периода 12 часов, или в течение периода 24 часов.

[0340] В некоторых вариантах осуществления лихорадка представляет собой длительную лихорадку; в некоторых аспектах индивидуума лечат в момент времени, когда определено, что индивидуум имеет длительную лихорадку, например, в пределах одного, двух, трех, четырех, пяти, шести или менее часов после такого определения или первого такого определения после первоначальной терапии, имеющей потенциал к индукции токсичности, такой как клеточная терапия, такая как доза T-клеток, например CAR+ T-клеток.

[0341] В некоторых вариантах осуществления одно или несколько вмешательств или введений средств для лечения токсичности, такой как нацеленная на токсичность терапия, проводят в момент времени, в который или непосредственно после которого определено или подтверждено (например, впервые определено или подтверждено), что индивидуум имеет длительную лихорадку, например, при определении в соответствии с любым из вышеупомянутых вариантов осуществления. В некоторых вариантах осуществления один или несколько нацеленных на токсичность способов терапии проводят в пределах определенного периода времени после такого подтверждения или определения, как например, в пределах 30 минут, 1 часа, 2 часов, 3 часов, 4 часов, 6 часов или 8 часов после этого.

II. РЕКОМБИНАНТНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ

[0342] В некоторых вариантах осуществления клетки для применения в или введения совместно с предусматриваемыми способами, содержат или модифицированы для того, чтобы они содержали, сконструированный рецептор, например, сконструированный рецептор антигена, такой как химерный рецептор антигена (CAR). Также предусматриваются популяции таких клеток, композиции, содержащие такие клетки и/или обогащенные такими клетками, такие как композиции, обогащенные клетками определенного типа, такими как Т-клетки или CD8⁺ или CD4⁺ клетки. Среди композиций находятся фармацевтические композиции и составы для введения, например, для адоптивной клеточной терапии. Также предусматриваются терапевтические способы для введения клеток и композиций индивидуумам, например, пациентам, в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями.

[0343] В некоторых вариантах осуществления клетки содержат одну или несколько нуклеиновых кислот, введенных посредством генной инженерии и, тем самым, экспрессируют рекомбинантные или генно-модифицированные продукты, такие как нуклеиновые кислоты. В некоторых вариантах осуществления генный перенос проводят посредством первоначальной стимуляции клеток, например, посредством комбинирования со стимулом, который индуцирует ответ, такой как пролиферация, выживание и/или активация, например, при определении по экспрессии цитокина или маркера активации с последующим введением нуклеиновых кислот, например, посредством трансдукции, в стимулированные клетки, и необязательно инкубацией или экспансией в культуре до количеств, достаточных для клинических применений.

[0344] Клетки, как правило, экспрессируют рекомбинантные рецепторы, такие как рецепторы антигенов, включающие химерные рецепторы антигенов (CAR), и другие антигенсвязывающие рецепторы такие как трансгенные Т-клеточные рецепторы (TCR). Также к рецепторам относятся другие химерные рецепторы.

A. Химерные рецепторы антигена (CAR)

[0345] В некоторых вариантах осуществления предусматриваемых способов и применений химерные рецепторы, такие как химерные рецепторы антигена, содержат

один или несколько доменов, которые сочетают в себе антиген- или 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 часть стимулирующего или активирующего внутриклеточного домена, такого как Т-клеточный стимулирующий или активирующий домен, обеспечивающий первичный сигнал активации или первичный сигнал. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен содержит или дополнительно содержит костимулирующий сигнальный домен для способствования эффекторным функциям. В некоторых вариантах осуществления химерные рецепторы, когда они встроены способами генной инженерии в иммунные клетки, могут модулировать активность Т-клеток и в некоторых случаях могут модулировать дифференцировку Т-клеток или гомеостаз, тем самым обеспечивая генно-модифицированные клетки с увеличенной продолжительностью жизни, выживанием и/или длительностью нахождения *in vivo*, например, для применения в способах адоптивной клеточной терапии.

[0346] Иллюстративные рецепторы антигенов, включая CAR и способы конструирования и введения таких рецепторов в клетки включают способы, описанные, например, в WO200014257, WO2013126726, WO2012/129514, WO2014031687, WO2013/166321, WO2013/071154, WO2013/123061, публикациях патентных заявок США № US2002131960, US2013287748, US20130149337, патентах США № 6451995, 7446190, 8252592, 8339645, 8398282, 7446179, 6410319, 7070995, 7265209, 7354762, 7446191, 8324353 и 8479118, и заявке на патент Европы № EP2537416, и/или способы, описанные Sadelain et al., *Cancer Discov.* 2013 April; 3(4): 388-398; Davila et al. (2013) *PLoS ONE* 8(4): e61338; Turtle et al., *Curr. Opin. Immunol.*, 2012 October; 24(5): 633-39; Wu et al., *Cancer*, 2012 March 18(2): 160-75. В некоторых аспектах рецепторы антигенов включают CAR, как описано в патенте США № 7446190, и CAR, описанные в WO/2014055668. Примеры CAR включают CAR, описанные в любой из вышеупомянутых публикаций, таких как WO2014031687, US 8339645, US 7446179, US 2013/0149337, US 7446190, US 8389282, Kochenderfer et al., (2013) *Nature Reviews Clinical Oncology*, 10, 267-276; Wang et al. (2012) *J. Immunother.* 35(9): 689-701; и Brentjens et al., *Sci Transl Med.* 2013 5(177). Также см. WO2014031687, US 8339645, US 7446179, US 2013/0149337, US 7446190 и US 8389282.

[0347] Рекомбинантные рецепторы, такие как CAR, как правило, включают внеклеточный антигенсвязывающий домен, такой как часть молекулы антитела, как правило, переменная область тяжелой цепи (V_H) и/или переменная область легкой цепи (V_L) антитела, например, scFv-фрагмента антитела.

[0348] В некоторых вариантах осуществления антиген, на который нацелен рецептор, представляет собой полипептид. В некоторых вариантах осуществления он представляет собой углевод или другую молекулу. В некоторых вариантах осуществления антиген селективно экспрессируется или сверхэкспрессируется на клетках, связанных с

заболеванием или состоянием, например, на опухолевых или патогенных клетках, по сравнению с нормальными или не являющимися мишенями клетками или тканями. В других вариантах осуществления антиген экспрессируется на нормальных клетках и/или экспрессируется на модифицированных клетках.

[0349] В некоторых вариантах осуществления антиген, на который нацелен рецептор, включает антигены, ассоциированные с В-клеточной злокачественной опухолью, такой как любой из ряда известных В-клеточных маркеров. В некоторых вариантах осуществления антиген, на который нацелен рецептор, представляет собой CD20, CD19, CD22, ROR1, CD45, CD21, CD5, CD33, Ig-каппа, Ig-лямбда, CD79a, CD79b или CD30.

[0350] В некоторых вариантах осуществления химерный рецептор антигена включает внеклеточную часть, содержащую антитело или фрагмент антитела. В некоторых аспектах химерный рецептор антигена включает внеклеточную часть, содержащую антитело или фрагмент и внеклеточный сигнальный домен. В некоторых вариантах осуществления антитело или фрагмент включает scFv.

[0351] В некоторых вариантах осуществления антиген, на который нацелен антигенсвязывающий домен, представляет собой CD19. В некоторых аспектах антигенсвязывающий домен рекомбинантного рецептора, например CAR, связывает, например, специфически связывает или специфически распознает, CD19, такой как CD19 человека. В некоторых вариантах осуществления scFv содержит V_H и V_L , происходящую из антитела или фрагмента антитела, специфичного к CD19. В некоторых вариантах осуществления антитело или фрагмент антитела, который связывает CD19, представляет собой антитело мышинового происхождения, такое как FMC63 и SJ25C1. В некоторых вариантах осуществления антитело или фрагмент антитела представляет собой антитело человека, например, как описано в публикации патента США № US 2016/0152723.

[0352] Термин "антитело" в рамках настоящего изобретения используют в наиболее широком значении, и он включает поликлональные и моноклональные антитела, включая интактные антитела и функциональные (антигенсвязывающие) фрагменты антител, включая антигенсвязывающие (Fab) фрагменты, $F(ab')_2$ -фрагменты, Fab'-фрагменты, Fv-фрагменты, рекомбинантные IgG (rIgG)-фрагменты, переменные области тяжелой цепи (V_H), способные специфически связывать антиген, одноцепочечные фрагменты антител, включая одноцепочечные переменные фрагменты (scFv), и фрагменты в виде однодоменных антител (например, sdAb, sdFv, наноантитело). Термин охватывает модифицированные способами генной инженерии и/или иным образом модифицированные формы иммуноглобулинов, такие как интраантитела, пептиантитела, химерные антитела, полностью человеческие антитела, гуманизированные антитела и гетероконъюгированные антитела, полиспецифические, например, биспецифические антитела или триспецифические антитела, диантитела, триантитела и тетраантитела, тандемные ди-scFv, тандемные три-scFv. Если нет иных указаний, термин "антитело" следует понимать как охватывающее функциональные фрагменты антител, также в

настоящем описании называемые "антигенсвязывающими фрагментами". Также термин охватывает интактные или полноразмерные антитела, включая антитела любого класса или подкласса, включая IgG и его подклассы, IgM, IgE, IgA и IgD.

[0353] Термины "определяющая комплементарность область" и "CDR", являющиеся синонимами "гиперварибельной области" или "HVR", известны и относятся к не являющимся смежными последовательностям аминокислот в варибельных областях антитела, которые обеспечивают специфичность к антигену и/или аффинность связывания. Как правило, существует три CDR в каждой варибельной области тяжелой цепи (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3) и три CDR в каждой варибельной области легкой цепи (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3). "Каркасные области" и "FR" известны и относятся к не являющимся CDR частям варибельных областей тяжелой и легкой цепей. Как правило, существует четыре FR в каждой полноразмерной варибельной области тяжелой цепи (FR-H1, FR-H2, FR-H3 и FR-H4), и четыре FR в каждой полноразмерной варибельной области легкой цепи (FR-L1, FR-L2, FR-L3 и FR-L4).

[0354] Точные границы аминокислотных последовательностей данных CDR или FR могут быть без труда определены 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." ("контактная" схема нумерации); Lefranc MP et al., "IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains," *Dev Comp Immunol*, 2003 Jan;27(1):55-77 (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").

[0355] Границы данной CDR или FR могут варьироваться в зависимости от схемы, используемой для идентификации. Например, схема Kabat основана на структурном выравнивании, в то время как схема Chothia основана на структурной информации. Нумерация согласно как схеме Kabat, так и схеме Chothia, основана на наиболее частых длинах последовательностей областей антител со вставками, указываемыми буквами вставок, например "30a", и делециями в некоторых антителах. Эти две схемы размещают определенные инсерции и делеции ("инсерции-делеции") в различных положениях, что приводит к дифференциальной нумерации. Контактная схема основана на анализе комплексных кристаллических структур и является сходной во многих аспектах со схемой нумерации Chothia. Схема AbM является компромиссом между определениями по Kabat и по Chothia на основе определений, используемых программным обеспечением для моделирования антител AbM от Oxford Molecular.

[0356] В таблице 1, ниже, приведены иллюстративные положения границ CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 и CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, идентифицированных согласно схемам Kabat, Chothia, AbM и контактной, соответственно. Для CDR-H1, нумерация остатков приведена с использованием схем нумерации как Kabat, так и Chothia. FR находятся между CDR, например, причем FR-L1 находится перед CDR-L1, FR-L2 находится между CDR-L1 и CDR-L2, FR-L3 находится между CDR-L2 и CDR-L3 и т.д. Следует отметить, что, поскольку показанная схема нумерации Kabat помещает инсерции в положения H35A и H35B, конец петли CDR-H1 Chothia, когда его нумеруют с использованием показанных правил нумерации Kabat, варьируется между H32 и H34, в зависимости от длины петли.

Таблица 5. Границы CDR в соответствии с различными схемами нумерации

CDR	Kabat	Chothia	AbM	Контактная
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 по Kabat ¹)	H31--H35B	H26--H32..34	H26--H35B	H30--H35B
CDR-H1 (Нумерация по 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.

[0357] Таким образом, если нет иных указаний, следует понимать, что "CDR" или "определяющая комплементарность область" или индивидуальные точно определенные CDR (например, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3) данного антитела или его области, такой как его переменная область, охватывают (или точно определяют) определяющую комплементарность область, как определено в соответствии с любой из вышеупомянутых схем или другими известными схемами. Например, когда утверждается, что конкретная CDR (например, CDR-H3) содержит аминокислотную последовательность соответствующей CDR в данной аминокислотной последовательности области V_H или V_L, понятно, что такая CDR имеет последовательность соответствующей CDR (например, CDR-H3) в переменной области, как определено в соответствии с любой из вышеупомянутых схем или другими известными схемами. В некоторых вариантах осуществления конкретные последовательности CDR точно определены. Иллюстративные последовательности CDR предусматриваемых антител описаны с использованием различных схем нумерации, хотя понятно, что предусматриваемое антитело может включать CDR, как описано в соответствии с любой из вышеупомянутых схем нумерации

или другими схемами нумерации, известными специалисту в данной области.

[0358] Аналогично, если нет иных указаний, FR или индивидуальная точно определенная FR(несколько FR) (например, FR-H1, FR-H2, FR-H3, FR-H4), данного антитела или его области, такой как его переменная область, следует понимать как охватывающую (или точно определяющую) каркасную область, как определено в соответствии с любой из известных схем. В некоторых случаях схема идентификации конкретной CDR, FR, или нескольких FR или нескольких CDR указана в качестве CDR, определяемой способом Kabat, Chothia, AbM или контактным способом, или в соответствии с другими известными схемами. В других случаях приводится конкретная аминокислотная последовательность CDR или FR.

[0359] Термин "переменная область" или "переменный домен" относится к домену тяжелой или легкой цепи антитела, который вовлечен в связывание антитела с антигеном. Переменные домены тяжелой цепи и легкой цепи (V_H и V_L , соответственно) нативного антитела обычно имеют сходные структуры, причем 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 обеспечения специфичности связывания антигена. Более того, антитела, которые связывают конкретный антиген, можно выделять с использованием домена V_H или V_L из антитела, которое связывает антиген, для скрининга библиотеки комплементарных доменов V_L или V_H , соответственно. См., например, Portolano et al., *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson et al., *Nature* 352:624-628 (1991).

[0360] К антителам, включенным в предусматриваемый CAR, относятся 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 ограничиваются ими Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; диантитела; линейные антитела; переменные области тяжелых цепей (V_H); одноцепочечные молекулы антител, такие как scFv и однодоменные антитела, содержащие только область V_H ; и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен в предусматриваемых CAR представляет собой или содержит фрагмент антитела, содержащий переменную область тяжелой цепи (V_H) и переменную область легкой цепи (V_L). В конкретных вариантах осуществления антитела представляют собой одноцепочечные фрагменты антител, содержащие переменную область тяжелой цепи (V_H) и/или переменную область легкой цепи (V_L), такие как scFv.

[0361] В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой CD19. В некоторых вариантах осуществления scFv содержит V_H и V_L , происходящие из антитела или фрагмента антитела, специфичного к CD19. В некоторых вариантах осуществления антитело или фрагмент антитела, которые связывают CD19, представляют собой антитело мышинового происхождения, такое как FMC63 и SJ25C1. В некоторых вариантах

осуществления антитело или фрагмент антитела представляет собой антитело человека, например, как описано в публикации патента США № US 2016/0152723.

[0362] В некоторых вариантах осуществления scFv происходит из FMC63. FMC63, главным образом, относится к моноклональному IgG1-антителу мыши, индуцированному против клеток Nalm-1 и -16, экспрессирующих CD19 человеческого происхождения (Ling, N. R., et al. (1987). *Leucocyte typing III*. 302). В некоторых вариантах осуществления антитело FMC63 содержит CDR-H1 и CDR-H2, указанную в SEQ ID NO: 38 и 39, соответственно, и CDR-H3, указанную в SEQ ID NO: 40 или 54; и CDR-L1, указанную в SEQ ID NO: 35, и CDR-L2, указанную в SEQ ID NO: 36 или 55, и CDR-L3, указанную в SEQ ID NO: 37 или 34. В некоторых вариантах осуществления антитело FMC63 содержит переменную область тяжелой цепи (V_H), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41, и переменную область легкой цепи (V_L), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42.

[0363] В некоторых вариантах осуществления scFv содержит переменную область легкой цепи, содержащую последовательность CDR-L1 SEQ ID NO:35, последовательность CDR-L2 SEQ ID NO: 36 и последовательность CDR-L3 SEQ ID NO: 37, и/или переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность CDR-H1 SEQ ID NO: 38, последовательность CDR-H2 SEQ ID NO: 39 и последовательность CDR-H3 SEQ ID NO: 40. В некоторых вариантах осуществления scFv содержит переменную область тяжелой цепи, указанную в SEQ ID NO: 41, и переменную область легкой цепи, указанную в SEQ ID NO: 42. В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи и переменная область легкой цепи соединены линкером. В некоторых вариантах осуществления линкер является таким, как указано в SEQ ID NO: 56. В некоторых вариантах осуществления scFv содержит, в указанном порядке, V_H , линкер и V_L . В некоторых вариантах осуществления scFv содержит, в указанном порядке, V_L , линкер и V_H . В некоторых вариантах осуществления scFv кодируется последовательностью нуклеотидов, указанной в SEQ ID NO: 57, или последовательностью, которая обладает по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 57. В некоторых вариантах осуществления scFv содержит последовательность аминокислот, указанную в SEQ ID NO: 43, или последовательность, которая обладает по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 43.

[0364] В некоторых вариантах осуществления scFv происходит из SJ25C1. SJ25C1 представляет собой моноклональное IgG1-антитело мыши, индуцированное против клеток Nalm-1 и -16, экспрессирующих CD19 человеческого происхождения (Ling, N. R., et al. (1987). *Leucocyte typing III*. 302). В некоторых вариантах осуществления антитело SJ25C1 содержит последовательность CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, указанную в SEQ ID NO: 47-49, соответственно, и последовательность CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, указанную в SEQ ID NOS: 44-46, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело SJ25C1

содержит переменную область тяжелой цепи (V_H), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50, и переменную область легкой цепи (V_L), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 51.

[0365] В некоторых вариантах осуществления scFv содержит переменную область легкой цепи, содержащую последовательность CDR-L1 SEQ ID NO: 44, последовательность CDR-L2 SEQ ID NO: 45 и последовательность CDR-L3 SEQ ID NO: 46, и/или переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность CDR-H1 SEQ ID NO: 47, последовательность CDR-H2 SEQ ID NO: 48 и последовательность CDR-H3 SEQ ID NO: 49. В некоторых вариантах осуществления scFv содержит переменную область тяжелой цепи, указанную в SEQ ID NO: 50, и переменную область легкой цепи, указанную в SEQ ID NO: 51. В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи и переменная область легкой цепи соединены линкером. В некоторых вариантах осуществления линкер является таким, как указано в SEQ ID NO: 52. В некоторых вариантах осуществления scFv содержит, в указанном порядке, V_H , линкер и V_L . В некоторых вариантах осуществления scFv содержит, в указанном порядке, V_L , линкер и V_H . В некоторых вариантах осуществления scFv содержит последовательность аминокислот, указанную в SEQ ID NO: 53, или последовательность, которая обладает по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 53.

[0366] В некоторых вариантах осуществления антительная часть рекомбинантного рецептора, например CAR, дополнительно включает по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина, такую как шарнирная область, например, шарнирная область IgG4, и/или C_{H1}/C_L и/или Fc-область. В некоторых вариантах осуществления константная область или часть представляет собой константную область или часть IgG человека, такую как IgG4 или IgG1. В некоторых аспектах часть константной области служит в качестве спейсерной области между антигенраспознающим компонентом, например scFv, и трансмембранным доменом. Спейсер может иметь длину, которая обеспечивает увеличенную способность клетки отвечать после связывания антигена по сравнению с отсутствием спейсера. Иллюстративные спейсеры включают, но не ограничиваются ими, спейсеры, описанные в Hudecek et al. (2013) Clin. Cancer Res., 19:3153, WO2014031687, патенте США № 8822647 или опубликованной заявке № US 2014/0271635.

[0367] В некоторых вариантах осуществления константная область или часть представляют собой константную область или часть IgG человека, такого как IgG4 или IgG1. В некоторых вариантах осуществления спейсер имеет последовательность ESKYGPPCPPCP (указанную в SEQ ID NO: 1), и кодируется последовательностью, указанной в SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления спейсер имеет последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3. В некоторых вариантах осуществления спейсер имеет последовательность, указанную в SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления константная область или часть представляют собой константную область или часть IgD. В некоторых вариантах осуществления спейсер имеет последовательность,

указанную в SEQ ID NO: 5. В некоторых вариантах осуществления спейсер имеет последовательность аминокислот, которая обладает по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 1, 3, 4 или 5. В некоторых вариантах осуществления спейсер имеет последовательность, указанную в SEQ ID NO: 26-34. В некоторых вариантах осуществления спейсер имеет последовательность аминокислот, которая обладает по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 26-34.

[0368] В некоторых вариантах осуществления рецептор антигена содержит внутриклеточный домен, связанный прямо или непрямо с внеклеточным доменом. В некоторых вариантах осуществления химерный рецептор антигена включает трансмембранный домен, связывающий внеклеточный домен и внутриклеточный сигнальный домен. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен включает ITAM. Например, в некоторых аспектах антигенраспознающий домен (например, внеклеточный домен), как правило, связан с одним или несколькими внутриклеточными сигнальными компонентами, которые имитируют активацию через рецепторный комплекс для антигена, такой как комплекс TCR в случае CAR, и/или передают сигнал через другой рецептор клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления химерный рецептор содержит трансмембранный домен, связанный или слитый между внеклеточным доменом (например, scFv) и внутриклеточным сигнальным доменом. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий компонент (например, антитело) связан с одним или несколькими трансмембранными и внутриклеточными сигнальными доменами.

[0369] В одном варианте осуществления используют трансмембранный домен, который в природе ассоциирован с одним из доменов в рецепторе, например CAR. В некоторых случаях трансмембранный домен выбирают или модифицируют посредством аминокислотной замены, чтобы избежать связывания таких доменов с трансмембранными доменами тех же или отличающихся поверхностных мембранных белков, чтобы минимизировать взаимодействия с другими членами рецепторного комплекса.

[0370] В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен происходит либо из природного, либо из синтетического источника. Когда источник является природным, в некоторых аспектах домен происходит из любого мембраносвязанного или трансмембранного белка. Трансмембранные области включают области, происходящие из (т.е. содержат по меньшей мере трансмембранную область(и) из) альфа, бета или зета-цепи Т-клеточного рецептора, CD28, CD3-эпсилон, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154. Альтернативно в некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен 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 находится на каждом конце синтетического трансмембранного домена. В некоторых вариантах осуществления связывание осуществляется посредством линкеров, спейсеров и/или трансмембранного домена(ов). В некоторых аспектах трансмембранный домен содержит трансмембранную часть CD28.

[0371] В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен и трансмембранный домен могут быть связаны прямо или непрямо. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен и трансмембранный домен связаны посредством спейсера, такого как любой из спейсеров, описанных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления рецептор содержит внеклеточную часть молекулы, из которой происходит трансмембранный домен, такую как внеклеточная часть CD28.

[0372] Среди внутриклеточных сигнальных доменов или областей представлены те, которые имитируют или приблизительно соответствуют сигналу через природный рецептор антигена, сигналу через такой рецептор в комбинации с костимулирующим рецептором и/или сигналу через костимулирующий рецептор отдельно. В некоторых вариантах осуществления присутствует короткий олиго- или полипептидный линкер, например, линкер длиной от 2 до 10 аминокислот, такой как линкер, содержащий остатки глицина и серина, например, дублет глицин-серин, и он образует связь между трансмембранным доменом и цитоплазматическим сигнальным доменом CAR.

[0373] В некоторых аспектах активация Т-клеток описана как опосредуемая двумя классами цитоплазматических сигнальных последовательностей: последовательностями, которые инициируют зависимую от антигена первичную активацию через TCR (первичные цитоплазматические сигнальные последовательности), и последовательностями, которые действуют независимым от антигена образом, предоставляя вторичный или костимулирующий сигнал (вторичные цитоплазматические сигнальные последовательности). В некоторых аспектах CAR включает один или оба из таких сигнальных компонентов.

[0374] Рецептор, например CAR, как правило, включает по меньшей мере один внутриклеточный сигнальный компонент или компоненты. В некоторых аспектах CAR включает первичную цитоплазматическую сигнальную последовательность, которая регулирует первичную активацию комплекса TCR. Первичные цитоплазматические сигнальные последовательности, которые действуют стимулирующим образом, могут содержать сигнальные мотивы, которые известны в качестве иммунорецепторных мотивов активации на основе тирозина или ITAM. Примеры ITAM, содержащих первичные цитоплазматические сигнальные последовательности, включают ITAM, происходящие из зета-цепи CD3, FcR-гамма, CD3-гамма, CD3-дельта и CD3-эпсилон. В некоторых вариантах осуществления цитоплазматическая сигнальная молекула(ы) в CAR содержит(ат) цитоплазматический сигнальный домен, его часть или последовательность, происходящую из CD3-зета.

[0375] В некоторых вариантах осуществления рецептор включает внутриклеточный компонент комплекса TCR, такой как цепь CD3 TCR, которая опосредует активацию и

цитотоксичность Т-клеток, например, зета-цепь CD3. Таким образом, в некоторых аспектах антигенсвязывающая часть связана с одним или несколькими передающими сигнал модулями клеток. В некоторых вариантах осуществления передающие сигнал модули клеток 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, такую как Fc-рецептор γ , CD8, CD4, CD25 или CD16. Например, в некоторых аспектах CAR или другой химерный рецептор включает химерную молекулу между CD3-зета (CD3- ζ) или Fc-рецептором γ и CD8, CD4, CD25 или CD16.

[0376] В некоторых вариантах осуществления при связывании CAR или другого химерного рецептора цитоплазматический домен или внутриклеточный сигнальный домен рецептора активирует по меньшей мере одну из нормальных эффекторных функций или ответов иммунных клеток, например, Т-клеток, модифицированных для экспрессии CAR. Например, в некоторых контекстах CAR индуцирует функцию Т-клеток, такую как цитолитическая активность или Т-хелперная активность, такая как секреция цитокинов или других факторов. В некоторых вариантах осуществления вместо интактной иммуностимулирующей цепи используют укороченную часть внутриклеточного сигнального домена рецепторного компонента антигена или костимулирующей молекулы, 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 корецепторов, которые в естественных условиях действуют совместно с такими рецепторами, инициируя передачу сигнала после связывания рецептора антигена, и/или любое производное или вариант таких молекул.

[0377] В контексте природного TCR, полная активация обычно требует не только передачи сигнала через TCR, но также костимулирующего сигнала. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления для обеспечения полной активации также в CAR включен компонент для генерирования вторичного или костимулирующего сигнала. В других вариантах осуществления CAR не включает компонент для генерирования костимулирующего сигнала. В некоторых аспектах дополнительный CAR экспрессируется в той же клетке и обеспечивает компонент для вторичного или костимулирующего сигнала.

[0378] В некоторых вариантах осуществления химерный рецептор антигена содержит внутриклеточный домен Т-клеточной костимулирующей молекулы. В некоторых вариантах осуществления CAR включает сигнальный домен и/или трансмембранную часть костимулирующего рецептора, такого как CD28, 4-1BB, OX40, DAP10 и ICOS. В некоторых аспектах один и тот же CAR включает как активирующие, так и костимулирующие компоненты. В некоторых вариантах осуществления химерный рецептор антигена содержит внутриклеточный домен, происходящий из Т-клеточной

костимулирующей молекулы, или его функциональный вариант, например, между трансмембранным доменом и внутриклеточным сигнальным доменом. В некоторых аспектах Т-клеточная костимулирующая молекула представляет собой CD28 или 41BB.

[0379] В некоторых вариантах осуществления активирующий домен включен в один CAR, в то время как костимулирующий компонент предоставляется другим CAR, распознающим другой антиген. В некоторых вариантах осуществления CAR включают активирующие или стимулирующие CAR и костимулирующие CAR, экспрессируемые на одной клетке (см. WO2014/055668). В некоторых аспектах клетки включают один или несколько стимулирующих или активирующих CAR и/или костимулирующий CAR. В некоторых вариантах осуществления клетки, кроме того, включают ингибиторные CAR (iCAR, см. Fedorov et al., *Sci. Transl. Medicine*, 5(215) (December, 2013), такие как CAR, распознающий антиген, отличный от антигена, ассоциированного с и/или являющегося специфическим для заболевания или состояния, при котором активирующий сигнал, доставляемый посредством нацеленного на заболевание CAR, уменьшается или ингибируется посредством связывания ингибиторного CAR с его лигандом, например, для снижения неспецифических эффектов.

[0380] В определенных вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен содержит трансмембранный и сигнальный домен CD28, связанный с внутриклеточным доменом CD3 (например, CD3-зета). В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен содержит химерные костимулирующие домены CD28 и CD137 (4-1BB, TNFRSF9), связанные с внутриклеточным доменом CD3-зета.

[0381] В некоторых вариантах осуществления CAR охватывает один или несколько, например, два или более, костимулирующих домена и домен активации, например, первичный домен активации, в цитоплазматической части. Иллюстративные CAR включают внутриклеточные компоненты CD3-зета, CD28 и 4-1BB.

[0382] В некоторых вариантах осуществления рецептор антигена, кроме того, включает маркер, и/или клетки, экспрессирующие CAR или другой рецептор антигена, дополнительно включают суррогатный маркер, такой как маркер клеточной поверхности, который может быть использован для подтверждения трансдукции или модификации клетки для экспрессии рецептора. В некоторых аспектах маркер включает весь или часть (например, укороченную форму) CD34, NGFR или рецептора эпидермального фактора роста, такого как укороченная версия такого рецептора клеточной поверхности (например, tEGFR). В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая маркер, функционально связана с полинуклеотидом, кодирующим линкерную последовательность, такая как последовательность расщепляемого линкера, например, T2A. Например, маркер и необязательно линкерная последовательность могут представлять собой любой маркер и линкерную последовательность, описанные в опубликованной патентной заявке № WO2014031687. Например, маркер может представлять собой укороченный EGFR (tEGFR), т.е. необязательно связанный с

линкерной последовательностью, такой как последовательность расщепляемого линкера T2A.

[0383] Иллюстративный полипептид для укороченного EGFR (например, tEGFR) содержит последовательность аминокислот, указанную в SEQ ID NO: 7 или 16, или последовательность аминокислот, которая обладает по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 7 или 16. Иллюстративная последовательность линкера T2A содержит последовательность аминокислот, указанную в SEQ ID NO: 6 или 17, или последовательность аминокислот, которая обладает по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичностью с SEQ ID NO: 6 или 17.

[0384] В некоторых вариантах осуществления маркер представляет собой молекулу, например, белок клеточной поверхности, не встречающуюся в природе на Т-клетках или не встречающуюся в природе на поверхности Т-клеток, или ее часть. В некоторых вариантах осуществления молекула представляет собой не собственную молекулу, например, не собственный белок, т.е. белок, который не распознается как "собственный" иммунной системой хозяина, которому будут проводить адоптивный перенос клеток.

[0385] В некоторых вариантах осуществления маркер не выполняет терапевтическую функцию и/или не имеет эффекта, отличного от применения в качестве маркера для генной инженерии, например, для селекции успешно модифицированных клеток. В других вариантах осуществления маркер может представлять собой терапевтическую молекулу или молекулу, иным образом проявляющую некоторый желаемый эффект, такую как лиганд для клетки, которая встретится *in vivo*, такой как костимулирующая молекула или молекула иммунной точки контроля для усиления и/или снижения ответов клеток при адоптивном переносе и встрече с лигандом.

[0386] В некоторых случаях CAR упоминаются как CAR первого, второго и/или третьего поколения. В некоторых аспектах CAR первого поколения представляет собой CAR, который только обеспечивает 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, который включает внутриклеточный сигнальный домен из костимулирующего рецептора, такого как CD28 или CD137; в некоторых аспектах CAR третьего поколения представляет собой CAR, который включает множество костимулирующих доменов различных костимулирующих рецепторов.

[0387] Например, в некоторых вариантах осуществления CAR содержит антитело, например, фрагмент антитела, трансмембранный домен, который представляет собой или содержит трансмембранную часть CD28 или ее функциональный вариант, и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий сигнальную часть CD28 или ее функциональный вариант и сигнальную часть CD3-зета или ее функциональный вариант.

В некоторых вариантах осуществления CAR содержит антитело, например, фрагмент антитела, трансмембранный домен, который представляет собой или содержит трансмембранную часть CD28 или ее функциональный вариант, и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий сигнальную часть 4-1BB или ее функциональный и сигнальную часть CD3-зета или ее функциональный вариант. В некоторых таких вариантах осуществления рецептор дополнительно включает спейсер, содержащий часть молекулы Ig, такой как молекула Ig человека, такую как шарнирная область Ig, например, шарнирная область IgG4, как например, спейсер только из шарнирной области.

[0388] В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен рекомбинантного рецептора, например CAR, представляет собой или включает трансмембранный домен CD28 человека (например, номер доступа № P01747.1) или его вариант, такой как трансмембранный домен, который содержит последовательность аминокислот, указанную в SEQ ID NO: 8, или последовательность аминокислот, которая обладает по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 8; в некоторых вариантах осуществления содержащая трансмембранный домен часть рекомбинантного рецептора содержит последовательность аминокислот, указанную в SEQ ID NO: 9, или последовательность аминокислот, обладающую по меньшей мере ровно или приблизительно 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичностью с ней.

[0389] В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный компонент(ы) рекомбинантного рецептора, например CAR, содержит внутриклеточный костимулирующий сигнальный домен CD28 человека, или его функциональный вариант, или их часть, такой как домен с заменой LL на GG в положениях 186-187 нативного белка CD28. Например, внутриклеточный сигнальный домен может содержать последовательность аминокислот, указанную в SEQ ID NO: 10 или 11, или последовательность аминокислот, которая обладает по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 10 или 11. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен содержит костимулирующий сигнальный домен 4-1BB (например (номер доступа № Q07011.1), или его функциональный вариант, или их часть, такой как последовательность аминокислот, указанная в SEQ ID NO: 12, или последовательность аминокислот, которая обладает по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 12.

[0390] В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен рекомбинантного рецептора, например CAR, содержит стимулирующий сигнальный домен CD3-зета человека или его функциональный вариант, такой как цитоплазматический домен из 112 а.к. изоформы 3 CD3 ζ человека (номер доступа № P20963.2) или сигнальный домен CD3-зета, как описано в патенте США № 7446190 или в

патенте США № 8911993. Например, в некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен содержит последовательность аминокислот, как указано в SEQ ID NO: 13, 14 или 15, или последовательность аминокислот, которая обладает по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 13, 14 или 15.

[0391] В некоторых аспектах спейсер содержит только шарнирную область IgG, как например, только шарнирная область IgG4 или IgG1, как например, спейсер только из шарнирной области, указанный в SEQ ID NO: 1. В других вариантах осуществления спейсер представляет собой или содержит шарнирную область Ig, например, происходящую из IgG4 шарнирную область, необязательно связанную с доменами C_H2 и/или C_H3. В некоторых вариантах осуществления спейсер представляет собой шарнирную область Ig, например, шарнирную область IgG4, связанную с доменами C_H2 и C_H3, как указано в SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления спейсер представляет собой шарнирную область Ig, например, шарнирную область IgG4, связанную только с доменом C_H3, как указано в SEQ ID NO: 3. В некоторых вариантах осуществления спейсер представляет собой или содержит богатую глицин-серином последовательность или другой гибкий линкер, такой как известные гибкие линкеры.

[0392] Например, в некоторых вариантах осуществления CAR включает антитело, такое как фрагмент антитела, включая scFv, спейсер, такой как спейсер, содержащий часть молекулы иммуноглобулина, такую как шарнирная область и/или одна или несколько константных областей молекулы тяжелой цепи, такой как спейсер, содержащий шарнирную область Ig, трансмембранный домен, содержащий весь или часть происходящего из CD28 трансмембранного домена, происходящий из CD28 внутриклеточный сигнальный домен и сигнальный домен CD3-зета. В некоторых вариантах осуществления CAR включает антитело или фрагмент, такой как scFv, спейсер, такой как любой из спейсеров, содержащих шарнирную область Ig, происходящий из CD28 трансмембранный домен, происходящий из 4-1BB внутриклеточный сигнальный домен и происходящий из CD3-зета сигнальный домен.

[0393] В некоторых вариантах осуществления молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие такие конструкции CAR, дополнительно включают последовательность, кодирующую элемент рибосомального пропускания T2A и/или последовательность tEGFR, например, ниже последовательности, кодирующей CAR. В некоторых вариантах осуществления последовательность кодирует элемент рибосомального пропускания T2A, указанный в SEQ ID NO: 6 или 17, или последовательность аминокислот, которая обладает по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 6 или 17. В некоторых вариантах осуществления Т-клетки, экспрессирующие рецептор антигена (например, CAR) также можно получать для экспрессии укороченного EGFR (EGFRt) в качестве неиммуногенного эпитопа селекции (например, посредством введения

конструкции, кодирующей CAR и EGFRt, разделенные рибосомальным переключателем T2A, для экспрессии двух белков с одной конструкции), который затем можно использовать в качестве маркера для детекции таких клеток (см., например, патент США № 8802374). В некоторых вариантах осуществления последовательность кодирует последовательность tEGFR, указанную в SEQ ID NO: 7 или 16, или последовательность аминокислот, которая обладает по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 7 или 16. В некоторых случаях пептид, такой как T2A, может вызвать пропускание рибосомой (рибосомальное пропускание) синтеза пептида, связанного с C-концом элемента 2A, что приводит к разделению между концом последовательности 2A и следующим нижележащим пептидом (см., например, de Felipe. *Genetic Vaccines and Ther.* 2:13 (2004) и deFelipe et al. *Traffic* 5:616-626 (2004)). Известно множество элементов 2A. Примеры последовательностей 2A, которые могут использоваться в способах и нуклеиновых кислотах, описанных в настоящем описании, включают, но не ограничиваются ими, последовательности 2A из вируса ящура (F2A, например, SEQ ID NO: 21), вируса ринита лошадей А (E2A, например, SEQ ID NO: 20), вируса *Thosea asigna* (T2A, например, SEQ ID NO: 6 или 17) и тешовируса-1 свиней (P2A, например, SEQ ID NO: 18 или 19), как описано в публикации патента США № 20070116690.

[0394] Рекомбинантные рецепторы, такие как CAR, экспрессируемые клетками, введенными индивидууму, обычно распознают или специфически связывают молекулу, которая экспрессируется в, ассоциирована с и/или является специфической для заболевания или состояния, которые подвергают лечению, или связанных с ними клеток. При специфическом связывании с молекулой, например, антигеном, рецептор обычно доставляет иммуностимулирующий сигнал, такой как передаваемый через ITAM сигнал, в клетку, тем самым стимулируя иммунный ответ, нацеленный на заболевание или состояние.

В. Т-клеточные рецепторы (TCR)

[0395] В некоторых вариантах осуществления модифицированные клетки, такие как Т-клетки, используемые совместно с предусматриваемыми способами, применениями, изделиями или композициями, представляют собой клетки, которые экспрессируют Т-клеточный рецептор (TCR) или его антигенсвязывающую часть, которые распознают пептидный эпитоп или Т-клеточный эпитоп полипептида-мишени, такой как антиген опухоли, вирусный или аутоиммунный белок.

[0396] В некоторых вариантах осуществления "Т-клеточный рецептор" или "TCR" представляет собой молекулу, которая содержит переменные цепи α и β (также известные как TCR α и TCR β , соответственно) или переменные цепи γ и δ (также известные как TCR α и TCR β , соответственно), или их антигенсвязывающую часть, и которая способна специфически связываться с пептидом, связанным с молекулой МНС. В некоторых вариантах осуществления TCR имеет форму $\alpha\beta$. Как правило, TCR, которые существуют в формах $\alpha\beta$ и $\gamma\delta$, являются структурно сходными, однако Т-клетки,

экспрессирующие их, могут иметь различные анатомические положения или функции. TCR может находиться на поверхности клетки или может быть в растворимой форме. Как правило, TCR находится на поверхности Т-клеток (или Т-лимфоцитов), где он обычно ответственен за распознавание антигенов, связанных с молекулами основного комплекса гистосовместимости (МНС).

[0397] Если нет иных указаний, термин "TCR" следует интерпретировать как охватывающий полные TCR, а также их антигенсвязывающие части или антигенсвязывающие фрагменты. В некоторых вариантах осуществления TCR представляет собой интактный или полноразмерный TCR, включая TCR в форме $\alpha\beta$ или в форме $\gamma\delta$. В некоторых вариантах осуществления TCR представляет собой антигенсвязывающую часть, которая является меньшей, чем полноразмерный TCR, но которая связывается со специфическим пептидом, связанным с молекулой МНС, т.е. связывается с комплексом МНС-пептид. В некоторых случаях антигенсвязывающая часть или фрагмент TCR может содержать только часть структурных доменов полноразмерного или интактного TCR, но, тем не менее, способна связывать эпитоп пептида, такой как комплекс МНС-пептид, с которым связывается полный TCR. В некоторых случаях антигенсвязывающая часть содержит вариабельные домены TCR, такие как вариабельная цепь α и вариабельная цепь β TCR, достаточные для образования связывающего участка для связывания со специфическим комплексом МНС-пептид. Как правило, вариабельные цепи TCR содержат определяющие комплементарность области, вовлеченные в распознавание пептида, МНС и/или комплекса МНС-пептид.

С. Множественное нацеливание

[0398] В некоторых вариантах осуществления клетки, используемые в предусматриваемых способах, изделиях и композициях, включают клетки, в которых используется стратегия множественного нацеливания, такая как экспрессия двух или более модифицированных способами генной инженерии рецепторов на клетке, которые распознают один и тот же или различные антигены и, как правило, включают различные компоненты внутриклеточной передачи сигнала. Такие стратегии множественного нацеливания описаны, например, в WO 2014055668 (в которой описаны комбинации активирующих и костимулирующих CAR, например, нацеливание на два различных антигена, присутствующих по отдельности на нецелевых, например, нормальных клетках, но присутствуют вместе только на клетках, связанных с заболеванием или состоянием, поддающимся лечению) и Fedorov et al., *Sci. Transl. Medicine*, 5(215) (2013) (где описаны клетки, экспрессирующие активирующий и ингибиторный CAR, такие как клетки, в которых активирующий CAR связывается с одним антигеном, экспрессируемым как на нормальных или не связанных с заболеванием клетках, так и на клетках, связанных с заболеванием или состоянием, поддающимся лечению, и ингибиторный CAR связывается с другим антигеном, экспрессируемым только на нормальных клетках или клетках, на которые нежелательно воздействовать).

[0399] Например, в некоторых вариантах осуществления клетки включают

рецептор, экспрессирующий первый модифицированный способами инженерии рецептор антигена (например, CAR), который способен индуцировать активирующий или стимулирующий сигнал в клетке, как правило, при специфическом связывании с антигеном, распознаваемым первым рецептором, например, с первым антигеном. В некоторых вариантах осуществления клетка дополнительно включает второй модифицированный способами геной инженерии рецептор антигена (например, CAR), например, химерный костимулирующий рецептор, который способен индуцировать косимулирующий сигнал в иммунной клетке, обычно при специфическом связывании со вторым антигеном, распознаваемым вторым рецептором. В некоторых вариантах осуществления первый антиген и второй антиген являются одинаковыми. В некоторых вариантах осуществления первый антиген и второй антиген различаются.

[0400] В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй модифицированный способами инженерии рецептор антигена (например, CAR) способен индуцировать активирующий сигнал в клетке. В некоторых вариантах осуществления рецептор включает компонент внутриклеточной передачи сигнала, содержащий ITAM или ITAM-подобные мотивы. В некоторых вариантах осуществления активация, индуцируемая первым рецептором, вовлекает передачу сигнала или изменение экспрессии белка в клетке, которые приводят к инициации иммунного ответа, такой как фосфорилирование ITAM и/или инициация опосредуемого ITAM каскада передачи сигнала, образование иммунологического синапса и/или кластеризация молекул вблизи связываемого рецептора (например, CD4 или CD8, и т.д.), активация одного или нескольких факторов транскрипции, таких как NF-κB и/или AP-1, и/или индукция экспрессии генов факторов, таких как цитокины, пролиферация и/или выживание.

[0401] В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй рецептор включает внутриклеточные сигнальные домены или области костимулирующих рецепторов, таких как CD28, CD137 (41BB), OX40 и/или ICOS. В некоторых вариантах осуществления первый и второй рецепторы включают внутриклеточные сигнальные домены костимулирующего рецептора, которые различаются. В одном варианте осуществления первый рецептор содержит костимулирующую сигнальную область CD28 и второй рецептор содержит костимулирующую сигнальную область 4-1BB, или наоборот.

[0402] В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй рецептор включает как внутриклеточный сигнальный домен, содержащий ITAM или ITAM-подобные мотивы, и внутриклеточный сигнальный домен костимулирующего рецептора.

[0403] В некоторых вариантах осуществления первый рецептор содержит внутриклеточный сигнальный домен, содержащий ITAM или ITAM-подобные мотивы, и второй рецептор содержит внутриклеточный сигнальный домен костимулирующего рецептора. Костимулирующий сигнал в комбинации с активирующим сигналом, индуцированным в одной клетке, представляет собой сигнал, который приводит к иммунному ответу, такому как устойчивый и длительный иммунный ответ, такой как

увеличенная экспрессия генов, секреция цитокинов и других факторов, и опосредуемые Т-клетками эффекторные функции, такие как уничтожение клеток.

[0404] В некоторых вариантах осуществления ни связывание только первого рецептора, ни связывание только второго рецептора не индуцирует устойчивый иммунный ответ. В некоторых аспектах, если связывается только один рецептор, клетка становится толерантной или не отвечающей на антиген, или ингибируется, и/или не индуцируется к пролиферации или секреции факторов или выполнению эффекторных функций. Однако в некоторых таких вариантах осуществления, когда связывается несколько рецепторов, например, когда встречается клетка, экспрессирующая первый и второй антигены, достигается желаемый ответ, такой как полная иммунная активация или стимуляция, на что указывает, например, секреция одного или нескольких цитокинов, пролиферация, персистирование и/или выполнение иммунной эффекторной функции, такой как цитотоксическое уничтожение клетки-мишени.

[0405] В некоторых вариантах осуществления два рецептора индуцируют, соответственно, активирующий и ингибиторный сигнал в клетке, так что связывание одного из рецепторов с его антигеном активирует клетку или индуцирует ответ, однако связывание второго ингибиторного рецептора с его антигеном индуцирует сигнал, который подавляет или тормозит этот ответ. Примерами являются комбинации активирующих CAR и ингибиторных CAR, или iCAR. Можно использовать такую стратегию, например, в которой активирующий CAR связывает антиген, экспрессирующийся при заболевании или состоянии, но который также экспрессируется на нормальных клетках, и ингибиторный рецептор связывается с отдельным антигеном, который экспрессируется на нормальных клетках, но не на клетках, связанных с заболеванием или состоянием.

[0406] В некоторых вариантах осуществления стратегию множественного нацеливания используют в случае, когда антиген, ассоциированный с конкретным заболеванием или состоянием, экспрессируется на не связанной с заболеванием клетке и/или экспрессируется на самой модифицированной способами инженерии клетке, либо временно (например, при стимуляции в ассоциации с геной инженерией), либо постоянно. В таких случаях, вследствие необходимости связывания двух отдельных и обладающих индивидуальной специфичностью рецепторов антигенов, может повышаться специфичность, селективность и/или эффективность.

[0407] В некоторых вариантах осуществления множество антигенов, например, первый и второй антигены, экспрессируются на клетке, в ткани или при заболевании или состоянии, на которые осуществляют нацеливание, например, на злокачественной клетке. В некоторых аспектах, клетка, ткань, заболевание или состояние представляет собой множественную миелому или клетку множественной миеломы. В некоторых вариантах осуществления один или несколько антигенов, как правило, также экспрессируются на клетке, на которую нежелательно нацеливание посредством клеточной терапии, такой как нормальная или не связанная с заболеванием клетка или ткань, и/или сами

модифицированные способами инженерии клетки. В таких вариантах осуществления, вследствие необходимости связывания множества рецепторов для достижения ответа клетки, может быть достигнута специфичность и/или эффективность.

D. Химерный рецептор аутоантител (СААР)

[0408] В некоторых вариантах осуществления рекомбинантный рецептор представляет собой химерный рецептор аутоантител (СААР). В некоторых вариантах осуществления СААР связывает, например, специфически связывает или распознает, аутоантитело. В некоторых вариантах осуществления клетку, экспрессирующую СААР, такую как Т-клетка, модифицированная для экспрессии СААР, можно использовать для связывания и уничтожения клеток, экспрессирующих аутоантитела, но не клеток, экспрессирующих нормальные антитела. В некоторых вариантах осуществления СААР-экспрессирующие клетки можно использовать для лечения аутоиммунного заболевания, ассоциированного с экспрессией собственных антигенов, такого как аутоиммунные заболевания. В некоторых вариантах осуществления СААР-экспрессирующие клетки могут быть нацелены на В-клетки, которые в конечном итоге продуцируют антитела и экспонируют аутоантитела на их поверхностях, маркируя эти В-клетки в качестве специфических для заболевания мишеней для терапевтического вмешательства. В некоторых вариантах осуществления СААР-экспрессирующие клетки можно использовать для эффективного нацеливания на и уничтожения патогенных В-клеток при аутоиммунных заболеваниях посредством нацеливания на обуславливающие заболевание В-клетки с использованием антигенспецифического химерного рецептора аутоантитела. В некоторых вариантах осуществления рекомбинантный рецептор представляет собой СААР, такой как любой из СААР, описанных в публикации патентной заявки США № US 2017/0051035.

[0409] В некоторых вариантах осуществления СААР содержит связывающий аутоантитело домен, трансмембранный домен и одну или несколько внутриклеточных сигнальных областей или доменов (также взаимозаменяемо называемых цитоплазматическим сигнальным доменом или областью). В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная сигнальная область содержит внутриклеточный сигнальный домен. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен представляет собой или содержит первичный сигнальный домен, сигнальный домен, способный стимулировать и/или индуцировать первичный сигнал активации в Т-клетки, сигнальный домен компонента Т-клеточного рецептора (TCR) (например, внутриклеточный сигнальный домен или область цепи CD3-зета (CD3 ζ) или их функциональный вариант или сигнальная часть), и/или сигнальный домен, содержащий иммунорецепторный мотив активации на основе тирозина (ITAM).

[0410] В некоторых вариантах осуществления связывающий аутоантитело домен содержит аутоантиген или его фрагмент. Выбор аутоантигена может зависеть от типа аутоантитела, на которое осуществляют нацеливание. Например, аутоантиген может быть выбран, поскольку он распознает аутоантитело на клетке-мишени, такой как В-клетка,

ассоциированной с конкретным заболеванием, например, аутоиммунным заболеванием, таким как опосредуемое аутоантителом аутоиммунное заболевание. В некоторых вариантах осуществления аутоиммунное заболевание включает пемфигус обыкновенный (PV). Иллюстративные аутоантигены включают десмоглеин 1 (Dsg1) и Dsg3.

Е. Способы модификации клеток

[0411] В некоторых вариантах осуществления модифицированные клетки, например, модифицированные клетки, используемые в способах и применениях, описанных в настоящем описании, получают посредством способа, в котором продуцируется конечная композиция обогащенных Т-клеток из одной или нескольких исходных композиций и/или из одного биологического образца. В определенных вариантах осуществления конечная композиция содержит клетки, которые экспрессируют рекомбинантный рецептор, например CAR, такой как CAR против CD19. В конкретных вариантах осуществления клетки конечных композиций являются пригодными для введения индивидууму в качестве терапии, например, в соответствии со способами и применениями, описанными в настоящем описании, в том числе в терапии аутологичными клетками. В некоторых вариантах осуществления конечная композиция представляет собой композицию обогащенных CD4+ или CD8+ Т-клеток.

[0412] В некоторых вариантах осуществления способ получения или продуцирования модифицированных клеток осуществляется посредством процесса, который включает некоторые или все из стадий: сбора или получения биологического образца; выделения, селекции или обогащения исходных клеток из биологического образца; криоконсервации и хранения исходных клеток; размораживания и/или инкубации исходных клеток в условиях стимуляции; модификации стимулированных клеток для экспрессии или вмещения рекомбинантного полинуклеотида, например, полинуклеотида, кодирующего рекомбинантный рецептор, такой как CAR; культивации модифицированных клеток, например, до пороговой величины, плотности или экспансии; составления культивируемых клеток в конечную композицию; и/или криоконсервации и хранения составленных конечных клеток до извлечения клеток для инфузии и/или до тех пор, пока они не будут пригодными для введения индивидууму. В определенных вариантах осуществления способ осуществляют с двумя или более исходными композициями обогащенных Т-клеток, таких как отдельная CD4+ композиция и отдельная CD8+ композиция, которые по отдельности процессированы и модифицированы из одного и того же первоначального или исходного биологического образца и реинфузируются обратно индивидууму в заданном соотношении, например, в соотношении CD4+ и CD8+ Т-клеток 1:1. В некоторых вариантах осуществления обогащенные Т-клетки представляют собой или включают модифицированные Т-клетки, например, Т-клетки, трансдуцированные для экспрессии рекомбинантного рецептора.

[0413] В конкретных вариантах осуществления конечную композицию модифицированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, CAR против CD19), получают из первоначальной и/или исходной композиции клеток. В

некоторых вариантах осуществления исходная композиция представляет собой композицию обогащенных Т-клеток, обогащенных CD4+ Т-клеток и/или обогащенных CD8+ Т-клеток (далее в настоящем описании обозначаемую как композиции обогащенных Т-клеток, композиции обогащенных CD4+ Т-клеток и композиции обогащенных CD8+ Т-клеток, соответственно). В некоторых вариантах осуществления композиция, обогащенная CD4+ Т-клетками, содержит по меньшей мере 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 99,9% CD4+ Т-клеток. В конкретных вариантах осуществления композиция обогащенных CD4+ Т-клеток содержит 100% CD4+ Т-клеток или содержит приблизительно 100% CD4+ Т-клеток. В определенных вариантах осуществления композиция обогащенных Т-клеток включает или содержит менее 20%, менее 10%, менее 5%, менее 1%, менее 0,1% или менее 0,01% CD8+ Т-клеток и/или не содержит CD8+ Т-клеток, и/или свободна или по существу свободна от CD8+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления популяции клеток по существу состоят из CD4+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления композиция, обогащенная CD8+ Т-клетками, содержит по меньшей мере 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 99,9% CD8+ Т-клеток, или содержит или приблизительно содержит 100% CD8+ Т-клеток. В определенных вариантах осуществления композиция обогащенных CD8+ Т-клеток включает или содержит менее 20%, менее 10%, менее 5%, менее 1%, менее 0,1% или менее 0,01% CD4+ Т-клеток и/или не содержит CD4+ Т-клеток, и/или свободна или по существу свободна от CD4+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления популяции клеток по существу состоят из CD8+ Т-клеток.

[0414] В определенных вариантах осуществления способ получения модифицированных клеток, кроме того, может включать одно или несколько из: активации и/или стимуляции клеток, например, клеток исходной композиции; генной модификации активированных и/или стимулированных клеток, например, для введения полинуклеотида, кодирующего рекомбинантный белок, посредством трансдукции или трансфекции; и/или культивации модифицированных клеток, например, в условиях, которые способствуют пролиферации и/или экспансии. В конкретных вариантах осуществления предусматриваемые способы можно использовать совместно со сбором, накоплением и/или составлением конечных композиций, продуцированных после инкубации, активации, стимуляции, модификации, трансдукции, трансфекции и/или культивирования клеток.

[0415] В некоторых вариантах осуществления модифицированные клетки, такие как клетки, которые экспрессируют CAR против CD19, как описано, используемые в соответствии с предусматриваемыми способами и применениями, продуцируют или получают посредством процесса селекции, выделения, активации, стимуляции, экспансии, культивирования и/или составления клеток. В некоторых вариантах осуществления такие способы включают любые из описанных способов.

[0416] В некоторых вариантах осуществления модифицированные клетки, такие как клетки, которые экспрессируют CAR против CD19, как описано, используемые в

соответствии с предусматриваемыми способами и применениями, продуцируют или получают посредством иллюстративных процессов, как описано, например, в WO 2019/089855 и WO 2015/164675.

[0417] В некоторых из вариантов осуществления иллюстративные процессы получения, продуцирования или производства модифицированных клеток, таких как клетки, которые экспрессируют CAR против CD19, как описано, или композиция, содержащая такие клетки, такая как композиция, содержащая модифицированные CD4+ Т-клетки и модифицированные CD8+ Т-клетки, все из которых экспрессируют один и тот же химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, вовлекают осуществление для популяции обогащенных CD4+ и обогащенных CD8+ клеток, по отдельности, стадий процесса. В некоторых аспектах иллюстративного процесса получения или производства модифицированных клеток, проводят селекцию CD4+ и CD8+ клеток по отдельности из мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) человека, например, полученных посредством лейкофереза, с получением отдельных композиций обогащенных CD4+ и обогащенных CD8+ клеток. В некоторых аспектах, такие клетки могут быть криоконсервированными. В некоторых аспектах композиции CD4+ и CD8+ можно последовательно размораживать и по отдельности подвергать стадиям стимуляции, трансдукции и экспансии.

[0418] В некоторых аспектах иллюстративного способа получения или производства модифицированных клеток, размороженные CD4+ и CD8+ клетки стимулируют по отдельности, например, в присутствии парамагнитных покрытых полистиролом гранул, связанных с антителами против CD3 и против CD28 (например, в соотношении гранул и клеток 1:1). В некоторых аспектах стимуляцию проводят в среде, содержащей рекомбинантный IL-2 человека, рекомбинантный IL-15 человека и N-ацетилцистеин (NAC). В некоторых аспектах среда для культивирования CD4+ клеток также может включать рекомбинантный IL-7 человека.

[0419] В некоторых аспектах иллюстративного способа получения или производства модифицированных клеток, после добавления гранул CD4+ и CD8+ клетки по отдельности трансдуцируют лентивирусным вектором, кодирующим один и тот же CAR, такой как один и тот же CAR против CD19. В некоторых аспектах CAR может содержать scFv против CD19, происходящий из антитела мыши, иммуноглобулинового спейсера, трансмембранного домена, происходящего из CD28, костимулирующей области, происходящей из 4-1BB, и внутриклеточного сигнального домена CD3-зета. В некоторых аспектах вектор может кодировать укороченный рецептор, который служит в качестве суррогатного маркера для экспрессии CAR, который соединен с конструкцией CAR через последовательность T2A. В некоторых аспектах иллюстративного способа клетки трансдуцируют в присутствии 10 мкг/мл сульфата протамина.

[0420] В некоторых аспектах иллюстративного способа получения или производства модифицированных клеток после трансдукции гранулы извлекают из композиций клеток посредством воздействия магнитного поля. В некоторых аспектах

композиции CD4+ и CD8+ клеток культивируют по отдельности для экспансии при непрерывном перемешивании и подаче кислорода посредством биореактора (например, Xuri W25 Bioreactor). В некоторых случаях к среде добавляют полоксамер. В некоторых аспектах композиции как CD4+, так и CD8+ клеток культивируют в присутствии IL-2 и IL-15. В некоторых аспектах среда для CD4+ также включает IL-7. В некоторых случаях каждые из CD4+ и CD8+ клеток культивируют перед сбором до 4-кратной экспансии. В некоторых аспектах через одни сутки после достижения порогового уровня клетки из каждой композиции можно собирать по отдельности, составлять и криоконсервировать. В некоторых аспектах иллюстративные способы получения, продуцирования или производства модифицированных клеток, таких как клетки, которые экспрессируют CAR против CD19, как описано, или композиция, содержащая такие клетки, такая как композиция, содержащая модифицированные CD4+ Т-клетки и модифицированные CD8+ Т-клетки, в каждом случае экспрессирующие один и тот же химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, включают клетки, описанные в таблице 6 ниже.

Таблица 6: Иллюстративный способ получения CD4+ и CD8+ CAR-T-клеток

Стадия	CD4+ клетки	CD8+ клетки
Стимуляция (сутки 1-2)	- гранулы, конъюгированные с антителом против CD3/CD28 - соотношение гранул и клеток 1:1 - среда: IL-2, IL-7, IL-15 и NAC	- гранулы, конъюгированные с антителом против CD3/CD28 - соотношение гранул и клеток 1:1 - среда: IL-2, IL-15 и NAC
Трансдукция (сутки 2-5)	- адъювант трансдукции (например, 10 мкг/мл протамина сульфата)	- адъювант трансдукции (например, 10 мкг/мл протамина сульфата)
Удаление гранул (сутки 5*)	- удаление магнитных гранул	- удаление магнитных гранул
Экспансия (сутки 5* - сбор)	- Качающий биореактор и/или непрерывное перемешивание - Среда: IL-2, IL-7, IL15 и полоксамер	- Качающий биореактор и/или непрерывное перемешивание - Среда: IL-2, IL15 и полоксамер

*Приблизительно

[0421] В других аспектах другой иллюстративный процесс получения, продуцирования или производства модифицированных клеток или композиции, содержащей такие клетки, включает процесс, который отличается от описанного выше иллюстративного процесса тем, что: NAC не добавляют в среду в ходе стимуляции; среда CD4+ клеток не содержит IL-2; клетки стимулируют при соотношении гранул и клеток

3:1; клетки трансдуцируют более высокой концентрацией сульфата протамина; удаление гранул происходит приблизительно на 7 сутки; и экспансию проводят в статических условиях, т.е. без непрерывного перемешивания или перфузии (например, полунепрерывная и/или пошаговая перфузия), и без полоксамера.

[0422] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одну отдельную композицию обогащенных CD4+ Т-клеток и по меньшей мере одну отдельную композицию обогащенных CD8+ Т-клеток выделяют, подвергают селекции, обогащают или получают из одного биологического образца, например, образца РВМС или других лейкоцитов от одного и того же донора, такого как пациент или здоровый индивидуум. В некоторых вариантах осуществления отдельную композицию обогащенных CD4+ Т-клеток и отдельную композицию обогащенных CD8+ Т-клеток получают, например, первоначально выделяют, подвергают селекции и/или обогащают, из одного и того же биологического образца, такого как один биологический образец, полученный, собранный и/или взятый от одного индивидуума. В некоторых вариантах осуществления биологический образец сначала подвергают селекции CD4+ Т-клеток, где сохраняют как негативные, так и позитивные фракции, и негативную фракцию далее подвергают селекции CD8+ Т-клеток. В других вариантах осуществления биологический образец сначала подвергают селекции CD8+ Т-клеток, где как негативные, так и позитивные фракции сохраняют, и негативную фракцию далее подвергают селекции CD4+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления способы селекции проводят, как описано в международной публикации РСТ № WO2015/164675. В некоторых вариантах осуществления способы селекции проводят, как описано в международной публикации РСТ № WO 2019/089855. В некоторых аспектах биологический образец сначала подвергают позитивной селекции в отношении CD8+ Т-клеток с получением по меньшей мере одной композиции обогащенных CD8+ Т-клеток, а затем негативную фракцию подвергают позитивной селекции в отношении CD4+ Т-клеток с получением по меньшей мере одной композиции обогащенных CD4+ Т-клеток, так что по меньшей мере одна композиция обогащенных CD8+ Т-клеток и по меньшей мере одна композиция обогащенных CD4+ Т-клеток представляют собой отдельные композиции из одного и того же биологического образца, например, от одного и того же донора или здорового индивидуума. В некоторых аспектах, две или более отдельных композиций обогащенных Т-клеток, например, по меньшей мере одна из которых представляет собой композицию обогащенных CD4+ Т-клеток и по меньшей мере одна из которых представляет собой отдельную композицию обогащенных CD8+ Т-клеток из того же донора, по отдельности замораживают, например, с использованием криопротекции или криоконсервации в среде для криоконсервации.

[0423] В некоторых аспектах, две или более отдельных композиции обогащенных Т-клеток, например, по меньшей мере одна из которых представляет собой композицию обогащенных CD4+ Т-клеток и по меньшей мере одна из которых представляет собой отдельную композицию обогащенных CD8+ Т-клеток из того же биологического образца,

активируют и/или стимулируют путем приведения в контакт со стимулирующим реагентом (например, посредством инкубации с конъюгированными с CD3/CD28 магнитными гранулами для активации Т-клеток). В некоторых аспектах каждую из композиции активированных/стимулированных клеток модифицируют, трансдуцируют и/или трансфицируют, например, с использованием вирусного вектора, кодирующего рекомбинантный белок (например, CAR), для экспрессии одного и того же рекомбинантного белка в CD4+ Т-клетках и CD8+ Т-клетках каждой клеточной композиции. В некоторых аспектах способ включает удаление стимулирующего реагента, например, магнитных гранул, из клеточной композиции. В некоторых аспектах клеточную композицию, содержащую модифицированные CD4+ Т-клетки, и клеточную композицию, содержащую модифицированные CD8+ Т-клетки, культивируют по отдельности, например, для отдельной экспансии популяций CD4+ Т-клеток и CD8+ Т-клеток в ней. В определенных вариантах осуществления клеточную композицию после культивации собирают, и/или накапливают, и/или составляют, например, посредством промывания клеточной композиции в буфере для составления. В определенных вариантах осуществления составленную клеточную композицию, содержащую CD4+ Т-клетки, и составленную клеточную композицию, содержащую CD8+ Т-клетки, замораживают, например, с использованием криопротекции или криоконсервации в среде для криоконсервации. В некоторых аспектах модифицированные CD4+ Т-клетки и CD8+ Т-клетки в каждом составе происходят из одного и того же донора или биологического образца и экспрессируют один и тот же рекомбинантный белок (например CAR, такой как CAR против CD19). В некоторых аспектах отдельный модифицированный состав CD4+ и отдельный модифицированный состав CD8+ вводят в заданном соотношении, например 1:1, индивидууму, нуждающемуся в этом, такому как тот же донор.

С. Клетки и получение клеток для модификации способами генной инженерии

[0424] В некоторых вариантах осуществления клетки, такие как Т-клетки, используемые в предусматриваемых способах, применениях, изделиях или композициях, представляют собой клетки, подвергнутые генной модификации для экспрессии рекомбинантного рецептора, например, CAR или TCR, такого как CAR или TCR, описанные в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления модифицированные клетки используют в контексте клеточной терапии, например, адоптивной клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления модифицированные клетки представляют собой иммунные клетки. В некоторых вариантах осуществления модифицированные клетки представляют собой Т-клетки, такие как CD4+ или CD8+ Т-клетки.

[0425] В некоторых вариантах осуществления нуклеиновые кислоты, такие как нуклеиновые кислоты, кодирующие рекомбинантный рецептор, являются гетерологичными, т.е. обычно не присутствуют в клетке или образце, полученном из такой клетки, например, нуклеиновые кислоты, полученные из другого организма или клетки, которые, например, обычно не присутствуют в клетке, подвергаемой

модификации способами инженерии, и/или организме, из которого такая клетка происходит. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновые кислоты являются не встречающимися в природе, такими как нуклеиновая кислота, не встречающаяся в природе, включая нуклеиновую кислоту, содержащую химерные комбинации нуклеиновых кислот, кодирующие различные домены множества различных типов клеток.

[0426] Клетки, как правило, представляют собой эукариотические клетки, такие как клетки млекопитающих, и, как правило, они представляют собой клетки человека. В некоторых вариантах осуществления клетки происходят из крови, костного мозга, лимфы или лимфоидных органов, и представляют собой клетки иммунной системы, такие как клетки врожденного или адаптивного иммунитета, например, миелоидные или лимфоидные клетки, включая лимфоциты, главным образом, Т-клетки и/или НК-клетки. Другие иллюстративные клетки включают стволовые клетки, такие как мультипотентные и плюрипотентные стволовые клетки, в том числе индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (iPSC). Клетки, как правило, представляют собой первичные клетки, такие как клетки, выделенные непосредственно от индивидуума и/или выделенные от индивидуума и замороженные. В некоторых вариантах осуществления клетки включают одну или несколько подгрупп Т-клеток или других типов клеток, таких как целые популяции Т-клеток, CD4⁺ клетки, CD8⁺ клетки, и их субпопуляции, такие как субпопуляции, определяемые функцией, состоянием активации, зрелостью, потенциалом к дифференцировке, экспансией, рециркуляцией, локализацией и/или способностью к персистенции, специфичностью к антигену, типом рецептора антигена, присутствием в конкретном органе или компартменте, профилем секреции маркеров или цитокинов, и/или степенью дифференцировки. Что касается индивидуума, подвергаемого лечению, клетки могут быть аллогенными и/или аутологичными. Способы включают стандартные способы. В некоторых аспектах, например, в случае стандартных технологий, клетки являются плюрипотентными и/или мультипотентными, такими как стволовые клетки, такие как индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (iPSC). В некоторых вариантах осуществления способы включают выделение клеток от индивидуума, подготовку, переработку, культивирование и/или модификацию их способами инженерии, и обратное введение их тому же индивидууму, до или после криоконсервации.

[0427] Среди подтипов и субпопуляций Т-клеток и/или CD4⁺ и/или CD8⁺ Т-клеток представлены наивные Т (T_N) клетки, 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, инфильтрирующие опухоль лимфоциты (TIL), незрелые Т-клетки, зрелые Т-клетки, хелперные Т-клетки, цитотоксические Т-клетки, ассоциированные со слизистой оболочкой инвариантные Т-клетки (MAIT), встречающиеся в природе и адаптивные регуляторные T(T_{REG})-клетки, хелперные Т-клетки, такие как клетки TH1, клетки TH2, клетки TH3, клетки TH17, клетки TH9, клетки TH22, фолликулярные хелперные Т-клетки, альфа/бета Т-клетки и дельта/гамма Т-клетки.

[0428] В некоторых вариантах осуществления клетки представляют собой натуральные 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.

[0429] В некоторых вариантах осуществления клетки включают одну или несколько нуклеиновых кислот, введенных способами генной инженерии, и, тем самым, экспрессируют рекомбинантные или модифицированные способами генной инженерии продукты, такие как нуклеиновые кислоты. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновые кислоты являются гетерологичными, т.е. обычно не присутствуют в клетке или образце, полученном из клетки, как например, нуклеиновые кислоты, полученные из другого организма или клетки, которые, например, обычно не встречаются в клетке, подвергаемой модификации способами инженерии, и/или организме, из которого такая клетка происходит. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновые кислоты не являются встречающимися в природе, как например, нуклеиновая кислота, не встречающаяся в природе, включая нуклеиновую кислоту, содержащую химерные комбинации нуклеиновых кислот, кодирующих различные домены из нескольких различных типов клеток.

[0430] В некоторых вариантах осуществления получение модифицированных способами инженерии клеток включает одну или несколько стадий культивирования и/или получения. Клетки для введения нуклеиновой кислоты, кодирующей трансгенный рецептор, такой как CAR, можно выделять из образца, такого как биологический образец, например, образец, полученный от или происходящий из индивидуума. В некоторых вариантах осуществления индивидуум, клетку которого выделяют, представляет собой индивидуума, имеющего заболевание или состояние, или индивидуума, который нуждается в клеточной терапии или которому клеточную терапию будут проводить. В некоторых вариантах осуществления индивидуумом является человек, нуждающийся в конкретном терапевтическом вмешательстве, таком как адоптивная клеточная терапия, для которой клетки выделяют, процессируют и/или модифицируют способами инженерии.

[0431] Таким образом, в некоторых вариантах осуществления клетки представляют собой первичные клетки, например, первичные клетки человека. Образцы включают образцы ткани, жидкости и другие образцы, которые берут непосредственно от индивидуума, а также образцы, полученные в результате одной или нескольких стадий обработки, таких как разделение, центрифугирование, модификация способами генной инженерии (например, трансдукция вирусным вектором), промывание и/или инкубация. Биологический образец может представлять собой образец, полученный непосредственно из биологического источника, или образец, который обрабатывают. Биологические образцы включают, но не ограничиваются ими, жидкости организма, такие как кровь, плазма, сыворотка, цереброспинальная жидкость, синовиальная жидкость, моча и пот, образцы органов и тканей, в том числе обработанные образцы, происходящие из них.

[0432] В некоторых аспектах образец, из которого происходят или выделяют

клетки, представляет собой кровь или происходящий из крови образец, или представляет собой или происходит из продукта афереза или лейкоафереза. Иллюстративные образцы включают цельную кровь, мононуклеарные клетки периферической крови (РВМС), лейкоциты, клетки костного мозга, тимуса, биоптат ткани, клетки опухоли, лейкоза, лимфомы, лимфатического узла, ассоциированной с кишечником лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистой оболочкой лимфоидной ткани, селезенки, других лимфоидных тканей, печени, легкого, желудка, кишечника, толстого кишечника, почки, поджелудочной железы, молочной железы, кости, предстательной железы, шейки матки, яичек, яичников, миндалевидной железы или другого органа, и/или клетки, происходящие из них. Образцы включают, в контексте клеточной терапии, например, адоптивной клеточной терапии, образцы из аутологичных и аллогенных источников.

[0433] В некоторых вариантах осуществления клетки происходят из клеточных линий, например, линий Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления клетки получают из ксеногенного источника, например, из мыши, крысы, не являющегося человеком примата и свиньи.

[0434] В некоторых вариантах осуществления выделение клеток включает одну или несколько стадий препаративного и/или не аффинного разделения клеток. В некоторых примерах клетки промывают, центрифугируют и/или инкубируют в присутствии одного или нескольких реагентов, например, для удаления нежелательных компонентов, обогащения желательными компонентами, лизиса или удаления клеток, чувствительных к конкретным реагентам. В некоторых примерах клетки разделяют на основе одного или нескольких свойств, таких как плотность, способность к прикреплению, размер, чувствительность и/или резистентность к конкретным компонентам.

[0435] В некоторых примерах клетки из циркулирующей крови индивидуума получают, например, посредством афереза или лейкоафереза. В некоторых аспектах образцы содержат лимфоциты, в том числе Т-клетки, моноциты, гранулоциты, В-клетки, другие ядросодержащие лейкоциты, эритроциты и/или тромбоциты, и в некоторых аспектах они содержат клетки, отличные от эритроцитов и тромбоцитов.

[0436] В некоторых вариантах осуществления клетки крови, полученные от индивидуума, промывают, например, для удаления фракции плазмы и для помещения клеток в подходящий 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 промывания проводят в полуавтоматической "проточной" центрифуге (например, устройство для обработки клеток Cobe 2991, Baxter) в соответствии с инструкциями изготовителя. В некоторых аспектах стадию промывания проводят посредством проточной фильтрации вдоль потока (TFF) в соответствии с инструкциями изготовителя. В некоторых вариантах осуществления после промывания клетки суспендируют в

различных биосовместимых буферах, например, таких как свободный от $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$ PBS. В определенных вариантах осуществления компоненты образца крови удаляют и клетки прямо ресуспендируют в культуральной среде.

[0437] В некоторых вариантах осуществления способы включают способы разделения по плотности, такие как получение лейкоцитов из периферической крови посредством лизиса эритроцитов и центрифугирования в градиенте Percoll или Ficoll.

[0438] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере часть стадии селекции включает инкубацию клеток с реагентом селекции. Инкубацию с реагентом или реагентами селекции, например, в качестве части способов селекции, которые можно проводить с использованием одного или несколько реагентов селекции для селекции одного или нескольких различных типов клеток на основе экспрессии или присутствие в или на клетке одной или нескольких специфических молекул, таких как поверхностные биомаркеры, например, поверхностные белки, внутриклеточные маркеры или нуклеиновая кислота. В некоторых вариантах осуществления можно использовать любой известный способ с использованием реагента или реагентов селекции для разделения на основе таких маркеров. В некоторых вариантах осуществления реагент или реагенты селекции приводят к разделению, которое представляет собой разделение на основе аффинности или иммуноаффинности. Например, селекция в некоторых аспектах включает инкубацию с реагентом или реагентами для разделения клеток или клеточных популяций на основе экспрессии клетками или уровня экспрессии клетками одного или нескольких маркеров, как правило, маркеров клеточной поверхности, например, посредством инкубации с антителом или связывающим партнером, который специфически связывается с такими маркерами, а затем, как правило, стадий промывания и отделения клеток, имеющих связанное антитело или связывающий партнер, от клеток, с которым не связалось антитело или связывающий партнер.

[0439] В некоторых аспектах таких процессах некоторый объем клеток смешивают с некоторым количеством желаемого реагента селекции на основе аффинности. Селекцию на основе иммуноаффинности можно проводить с использованием любой системы или способа, которые приводят к благоприятному энергетическому взаимодействию между отделяемыми клетками и молекулой, специфически связывающейся с маркером на клетке, например, антителом или другим партнером по связыванию на твердой поверхности, например, частице. В некоторых вариантах осуществления способы проводят с использованием частиц, таких как гранулы, например, магнитные гранулы, которые покрыты агентом селекции (например, антителом), специфичным к маркеру клеток. Частицы (например, гранулы) можно инкубировать или смешивать с клетками в контейнере, таком как пробирка или пакет, при качании или перемешивании, при постоянном соотношении плотности клеток и частиц (например, гранул) для способствования энергетически благоприятным взаимодействиям. В других случаях способы включают селекцию клеток, где всю или часть селекции проводят во внутренней полости центрифужной камеры, например, при центрифужном вращении. В некоторых

вариантах осуществления инкубацию клеток с реагентами селекции, такие как реагенты селекции на основе иммуноаффинности, проводят в центрифужной камере. В определенных вариантах осуществления выделение или разделение проводят с использованием системы, устройства или аппарата, описанных в публикации международной патентной заявки номер WO2009/072003 или US 20110003380 A1. В одном примере система представляет собой систему, как описано в международной публикации номер WO2016/073602.

[0440] В некоторых вариантах осуществления посредством проведения таких стадий селекции или их частей (например, инкубация с покрытыми антителом частицами, например, магнитными гранулами) в полости центрифужной камеры пользователь способен контролировать определенные параметры, такие как объем различных растворов, добавление раствора в ходе обработки и время добавления, которые могут обеспечить преимущества по сравнению с другими доступными способами. Например, возможность уменьшить объем жидкости в полости в ходе инкубации может увеличить концентрацию частиц (например, реагента с гранулами), используемых в селекции, и, таким образом, химический потенциал раствора, без влияния на общее количество клеток в полости. Это в свою очередь может усилить попарные взаимодействия между обрабатываемыми клетками и частицами, используемыми для селекции. В некоторых вариантах осуществления проведение стадии инкубации в камере, например, когда она ассоциирована с системой, линией и управлением, как описано в настоящем описании, позволяет пользователю обеспечивать встряхивания раствора в желаемый момент(ы) времени в ходе инкубации, что также может улучшить взаимодействие.

[0441] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере часть стадии селекции проводят в центрифужной камере, и она включает инкубацию клеток с реагентом селекции. В некоторых аспектах таких способов некоторый объем клеток смешивают с некоторым количеством желаемого реагента селекции на основе аффинности, который является значительно меньшим, чем обычно используется при проведении сходных селекции в пробирке или контейнере для селекции того же количества клеток и/или объема клеток в соответствии с инструкциями изготовителя. В некоторых вариантах осуществления используют количество реагента или реагентов селекции, которое составляет не более 5%, не более 10%, не более 15%, не более 20%, не более 25%, не более 50%, не более 60%, не более 70% или не более 80% от количества того же реагента(ов) селекции, которое используется для селекции клеток в инкубации в пробирке или контейнере для того же количества клеток и/или того же объема клеток в соответствии с инструкциями изготовителя.

[0442] В некоторых вариантах осуществления для селекции клеток, например, селекции на основе иммуноаффинности, клетки инкубируют в полости камеры в композиции, которая также содержит буфер для селекции с реагентом селекции, таким как молекула, которая специфически связывается с поверхностным маркером на клетках, обогащение и/или истощение которых проводят, но не на других клетках в композиции,

таким как антитело, которое необязательно связано с каркасом, таким как полимер или поверхность, например, гранула, например, магнитная гранула, такая как магнитные гранулы, связанные с моноклональными антителами, специфичными к CD4 и CD8. В некоторых вариантах осуществления, как описано, реагент селекции добавляют к клеткам в полости камеры в количестве, которое является по существу меньшим (например, не более 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% от этого количества), чем количество реагента селекции, которое обычно используют или было бы необходимым для достижения приблизительно той же или сходной эффективности селекции того же количества клеток или того же объема клеток, когда селекцию проводят в пробирке при встряхивании или вращении. В некоторых вариантах осуществления инкубацию проводят с добавлением буфера для селекции и реагента селекции для достижения целевого объема при инкубации с реагентом, например, от 10 мл до 200 мл, как например, по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере 10 мл, 20 мл, 30 мл, 40 мл, 50 мл, 60 мл, 70 мл, 80 мл, 90 мл, 100 мл, 150 мл или 200 мл. В некоторых вариантах осуществления буфере для селекции и реагент селекции предварительно смешивают перед добавлением к клеткам. В некоторых вариантах осуществления буфер для селекции и реагент селекции добавляют к клеткам по отдельности. В некоторых вариантах осуществления инкубацию в ходе селекции проводят в условиях периодического осторожного перемешивания, которые могут способствовать энергетически благоприятным реакциям и, тем самым, позволять использовать меньше реагента селекции в целом при достижении высокой эффективности селекции.

[0443] В некоторых вариантах осуществления общая длительность инкубации с реагентом селекции составляет от или приблизительно от 5 минут до 6 часов, как например, от 30 минут до 3 часов, например, по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере 30 минут, 60 минут, 120 минут или 180 минут.

[0444] В некоторых вариантах осуществления инкубацию, как правило, проводят в условиях смешения, например, в присутствии вращения, как правило, при относительно низкой мощности или скорости, такой как скорость, меньшая чем скорость, используемая для осаждения клеток, такая как от или приблизительно от 600 об/мин до 1700 об/мин (например, ровно или приблизительно или по меньшей мере 600 об/мин, 1000 об/мин, или 1500 об/мин или 1700 об/мин), например, при RCF в образце, или на стенке камеры или другого контейнера от или приблизительно от 80g до 100g (например, ровно или приблизительно или по меньшей мере 80g, 85g, 90g, 95g или 100g). В некоторых вариантах осуществления вращение проводят с использованием повторяющихся интервалов вращения при такой низкой скорости с последующим периодом покоя, таких как вращение и/или покой в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 секунд, как например, вращение в течение приблизительно 1 или 2 секунд с последующим покоем в течение приблизительно 5, 6, 7 или 8 секунд.

[0445] В некоторых вариантах осуществления такой способ проводят в полностью закрытой системе, в которую встроена камера. В некоторых вариантах осуществления

этот процесс (и в некоторых аспектах также одну или несколько дополнительных стадий, таких как описанная выше стадия промывания образца, содержащего клетки, такого как образец, полученный посредством афереза) проводят автоматизированным образом, так что клетки, реагент и другие компоненты помещаются в и выталкиваются из камеры в соответствующие моменты времени и проводится центрифугирование, так чтобы провести стадию промывания и связывания в одной закрытой системе с использованием автоматизированной программы.

[0446] В некоторых вариантах осуществления после инкубации и/или смешения клеток и реагента и/или реагентов селекции, инкубированные клетки подвергают разделению для селекции клеток на основе присутствия или отсутствия конкретного реагента или реагентов. В некоторых вариантах осуществления разделение проводят в той же закрытой системе, в которой проводили инкубацию клеток с реагентом селекции. В некоторых вариантах осуществления после инкубации с реагентами селекции инкубированные клетки, включая клетки, с которыми связан реагент селекции, переносят в систему для разделения клеток на основе иммуноаффинности. В некоторых вариантах осуществления система для разделения на основе иммуноаффинности представляет собой или содержит колонку для магнитного разделения.

[0447] В некоторых вариантах осуществления способы выделения включают разделение различных типов клеток на основе экспрессии или присутствия в клетке одной или нескольких определенных 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 аффинное или иммуноаффинное разделение. Например, в некоторых аспектах выделение включает разделение клеток и популяций клеток на основе экспрессии или уровня экспрессии клетками одного или нескольких маркеров, как правило, маркеров клеточной поверхности, например, посредством инкубации с антителом или партнером по связыванию, которые специфически связываются с такими маркерами, после которой обычно следуют стадии промывания и отделения клеток, связавших антитело или партнер по связыванию, от клеток, которые не связались с антителом или партнером по связыванию.

[0448] Такие стадии разделения могут быть основаны на положительной селекции, при которой клетки, связавшие реагенты, сохраняются для дальнейшего применения, и/или отрицательной селекции, при которой сохраняются клетки, не связавшиеся с антителом или партнером по связыванию. В некоторых примерах обе фракции сохраняют для дальнейшего применения. В некоторых аспектах негативная селекция может быть полезной, в частности, когда отсутствует доступное антитело, которое специфически идентифицирует тип клеток в гетерогенной популяции, так что разделение лучше всего проводить на основе маркеров, экспрессируемых клетками, отличными от требуемой популяции.

[0449] Разделение не должно приводить к 100% обогащению или устранению конкретной клеточной популяции или клеток, экспрессирующих конкретный маркер. Например, положительная селекция или увеличение в количестве клеток конкретного типа, таких как клетки, экспрессирующие маркер, относится к увеличению количества или процента таких клеток, но не должна приводить к полному отсутствию клеток, экспрессирующих маркер. Аналогично, негативная селекция, удаление или истощение клеток конкретного типа, таких как клетки, экспрессирующие маркер, относится к уменьшению количества или процента таких клеток, но она не должна приводить к полному устранению таких клеток.

[0450] В некоторых примерах проводят несколько раундов разделения, где подвергнутую позитивной или негативной селекции фракцию подвергают другой стадии разделения, такой как последующая позитивная или негативная селекция. В некоторых примерах одна стадия разделения может истощать клетки, экспрессирующие несколько маркеров одновременно, например, посредством инкубации клеток с несколькими антителами или партнерами по связыванию, каждый из которых является специфичным к маркеру, на который нацелена отрицательная селекция. Аналогично, несколько типов клеток можно одновременно подвергать позитивной селекции посредством инкубации с несколькими антителами или партнерами по связыванию, экспрессируемыми на различных типах клеток.

[0451] Например, в некоторых аспектах способами позитивной или негативной селекции выделяют определенные 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.

[0452] Например, CD3+, CD28+ Т-клетки можно подвергать позитивной селекции с использованием конъюгированных с антителом против CD3/антителом против CD28 магнитных гранул (например, DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T Cell Expander).

[0453] В некоторых вариантах осуществления выделение поводят посредством увеличения в количестве конкретной популяции клеток путем позитивной селекции или истощения конкретной популяции клеток путем негативной селекции. В некоторых вариантах осуществления позитивную или негативную селекцию проводят путем инкубации клеток с одним или несколькими антителами или другими связывающими соединениями, которые специфически связываются с одним или несколькими поверхностными маркерами, экспрессируемыми (маркер+) или экспрессируемыми на относительно более высоком уровне (маркер^{высокий}) на клетках, подвергнутых позитивной или негативной селекции, соответственно.

[0454] В конкретных вариантах осуществления биологический образец, например, образец РВМС или других лейкоцитов, подвергают селекции CD4+ Т-клеток, где сохраняют как негативные, так и позитивные фракции. В определенных вариантах осуществления селекцию CD8+ Т-клеток проводят из негативной фракции. В некоторых

вариантах осуществления биологический образец подвергают селекции CD8⁺ Т-клеток, где сохраняют негативные и позитивные фракции. В определенных вариантах осуществления селекцию CD4⁺ Т-клеток проводят из негативной фракции.

[0455] В некоторых вариантах осуществления Т-клетки выделяют из образца РВМС посредством негативной селекции по маркерам, экспрессируемым на не Т-клетках, таких как В-клетки, моноциты или другие лейкоциты, такие как CD14. В некоторых аспектах стадию CD4⁺ или CD8⁺ селекции используют для разделения CD4⁺ хелперных и CD8⁺ цитотоксических Т-клеток. Такие популяции CD4⁺ и CD8⁺ можно далее сортировать на субпопуляции посредством позитивной или негативной селекции маркеров, экспрессируемых или экспрессируемых на относительно более высоком уровне на одной или нескольких наивных субпопуляциях Т-клеток, субпопуляциях Т-клеток памяти и/или субпопуляциях эффекторных Т-клеток.

[0456] В некоторых вариантах осуществления среди CD8⁺ клеток далее увеличивают содержание или истощают наивные клетки, центральные клетки памяти, эффекторные клетки памяти и/или центральные стволовые клетки памяти, например, путем позитивной или негативной селекции на основе поверхностных антигенов, ассоциированных с соответствующей субпопуляцией. В некоторых вариантах осуществления увеличение содержания центральных Т-клеток (Т_{CM}) памяти проводят для повышения эффективности, например, для повышения долговременной выживаемости, экспансии и/или приживания после введения, которые в некоторых аспектах являются особенно устойчивыми 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 комбинирование обогащенных по TCM CD8⁺ Т-клеток и CD4⁺-клеток далее повышает эффективность.

[0457] В некоторых вариантах осуществления Т-клетки памяти присутствуют как в CD62L⁺, так и в CD62L⁻ подгруппах CD8⁺ лимфоцитов периферической крови человека. В РВМС можно увеличивать содержание или истощать CD62L⁻CD8⁺ и/или CD62L⁺CD8⁺ фракции, например, с использованием антител против CD8 и против CD62L.

[0458] В некоторых вариантах осуществления увеличение содержания центральных Т-клеток памяти (Т_{CM}) основано на положительной или высокой поверхностной экспрессии CD45RO, CD62L, CCR7, CD28, CD3 и/или CD127; в некоторых аспектах оно основано на негативной селекции клеток, экспрессирующих или экспрессирующих на высокому уровню CD45RA и/или гранзим В. В некоторых аспектах выделение CD8⁺ популяции, обогащенной клетками TCM, проводят путем истощения клеток, экспрессирующих CD4, CD14, CD45RA, и позитивной селекции или увеличения содержания клеток, экспрессирующих CD62L. В одном аспекте увеличение содержания центральных Т-клеток памяти (TCM) проводят, начиная с негативной фракции клеток, подвергнутой селекции на основе экспрессии CD4, которые подвергают негативной селекции на основе экспрессии CD14 и CD45RA, и позитивной селекции на основе CD62L. Такую селекцию в некоторых аспектах проводят одновременно и в других

аспектах ее проводят последовательно в любом порядке. В некоторых аспектах ту же стадию селекции на основе экспрессии CD4, которую используют для получения популяции или субпопуляции CD8⁺ клеток, также используют для получения популяции или субпопуляции CD4⁺ клеток, так что как положительные, так и отрицательные фракции при разделении на основе CD4 сохраняются и используются для последующих стадий способов, необязательно после одной или нескольких дополнительных стадий позитивной или негативной селекции.

[0459] В конкретном примере образец PBMC или другой образец лейкоцитов подвергают селекции CD4⁺ клеток, где сохраняют как негативные, так и позитивные фракции. Негативную фракцию затем подвергают негативной селекции на основе экспрессии CD14 и CD45RA или CD19, и позитивной селекции на основе маркера, характерного для центральных Т-клеток памяти, такого как CD62L или CCR7, где позитивную и негативную селекцию проводят в любом порядке.

[0460] CD4⁺ Т-хелперные клетки сортируют на наивные клетки, центральные клетки памяти и эффекторные клетки посредством идентификации популяций клеток, которые имеют антигены клеточной поверхности. CD4⁺ лимфоциты можно получать стандартными способами. В некоторых вариантах осуществления наивные CD4⁺ Т-лимфоциты представляют собой CD45RO⁻, CD45RA⁺, CD62L⁺, CD4⁺ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления центральные CD4⁺ клетки памяти являются CD62L⁺ и CD45RO⁺. В некоторых вариантах осуществления эффекторные CD4⁺ клетки представляют собой CD62L⁻ и CD45RO⁻.

[0461] В одном примере для увеличения содержания CD4⁺ клеток посредством негативной селекции коктейль моноклональных антител, как правило, включает антитела к CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR и CD8. В некоторых вариантах осуществления антитело или партнер по связыванию связывают с твердой подложкой или матрицей, такой как магнитные гранулы или парамагнитные гранулы, чтобы обеспечить разделение клеток для позитивной и/или негативной селекции. Например, в некоторых вариантах осуществления клетки и популяции клеток разделяют или выделяют с использованием способов иммуномагнитного (или аффинномагнитного) разделения (рассмотренных 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 и U. Schumacher © Humana Press Inc., Totowa, NJ).

[0462] В некоторых аспектах образец или композицию клеток, подлежащие разделению, инкубируют с мелким намагничивающимся или магниточувствительным материалом, таким как магниточувствительные частицы или микрочастицы, такие как парамагнитные гранулы (например, такие как гранулы Dynalbeads или MACS). Магниточувствительный материал, например, частицы, обычно прямо или непрямо связан с партнером по связыванию, например, антителом, который специфически связывается с молекулой, например, поверхностным маркером, присутствующем на клетке, клетках или популяции клеток, которые желательны разделить, например, которые намереваются

подвергнуть негативной или позитивной селекции.

[0463] В некоторых вариантах осуществления магнитная частица или гранула содержит магниточувствительный материал, связанный с определенным связывающим партнером, таким как антитело или другой связывающий партнер. Существует множество магниточувствительных материалов, используемых в способах разделения. Подходящие магнитные частицы включают частицы, описанные в Molday, патент США № 4452773, и описании патента Европы EP 452342 B, которые включены в настоящее описание посредством ссылок. Другими примерами являются коллоидные распределенные по размеру частицы, такие как частицы, описанные в патенте США № 4795698, Owen, и патенте США № 5200084, Liberti et al.

[0464] Инкубацию, как правило, проводят в условиях, в 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 связаны с магнитной частицей или гранулой, специфически связываются с молекулами клеточной поверхности, если они присутствуют на клетках в образце.

[0465] В некоторых аспектах образец помещают в магнитное поле и клетки, с которыми связаны магниточувствительные или намагничиваемые частицы, связываются с магнитом и отделяются от немеченых клеток. Для позитивной селекции клетки, связавшиеся с магнитом, сохраняют; для негативной селекции сохраняют клетки, которые не связались (немеченые клетки). В некоторых аспектах комбинацию позитивной и негативной селекции проводят в ходе той же стадии селекции, где позитивные и негативные фракции сохраняют и далее обрабатывают или подвергают другим стадиям разделения.

[0466] В определенных вариантах осуществления магниточувствительные частицы покрывают первичными антителами или другими партнерами по связыванию, вторичными антителами, лектинами, ферментами или стрептавидином. В определенных вариантах осуществления магнитные частицы связывают с клетками посредством покрытия первичными антителами, специфичными к одному или нескольким маркерам. В определенных вариантах осуществления клетки, а не гранулы, метят первичным антителом или партнером по связыванию, а затем добавляют магнитные частицы, покрытые специфическим для типа клеток вторичным антителом или другим партнером по связыванию (например, стрептавидин). В определенных вариантах осуществления покрытые стрептавидином магнитные частицы используют совместно с биотинилированными первичными или вторичными антителами.

[0467] В некоторых вариантах осуществления магниточувствительные частицы оставляют связанными с клетками, которые затем инкубируют, культивируют и/или модифицируют способами инженерии; в некоторых аспектах частицы оставляют связанными с клетками для введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления намагничивающиеся или магниточувствительные частицы извлекают из клеток. Способы

извлечения намагничиваемых частиц из клеток известны, и они включают, например, использование конкурирующих немеченых антител, и намагничивающихся частиц или антител, конъюгированных с расщепляемыми линкерами. В некоторых вариантах осуществления намагничивающиеся частицы являются биodeградируемыми.

[0468] В некоторых вариантах осуществления селекцию на основе аффинности проводят посредством магнитно-активируемой сортировки клеток (MACS) (Miltenyi Biotec, Auburn, CA). Системы магнитно-активируемой сортировки клеток (MACS) способны к селекции с высокой чистотой клеток, с которыми связаны намагниченные частицы. В определенных вариантах осуществления MACS действует в режиме, в котором не являющиеся мишенью и являющиеся мишенью типы клеток последовательно элюируются после применения внешнего магнитного поля. Иными словами, клетки, связанные с магнитными частицами, удерживаются на месте, в то время как несвязанные типы клеток элюируются. Затем после завершения этой первой стадии элюирования типы клеток, которые были захвачены в магнитное поле и элюирование которых предотвращалось, освобождают таким образом, чтобы их можно было элюировать и извлечь. В определенных вариантах осуществления не являющиеся мишенью клетки метят и устраняют из гетерогенной популяции клеток.

[0469] В определенных вариантах осуществления выделение или разделение проводят с использованием системы, устройства или аппарата, которые осуществляют одну или несколько из стадий выделения, подготовки клеток, разделения, процессинга, инкубации, культивирования и/или составления. В некоторых аспектах используют систему для проведения каждой из этих стадий в закрытой или стерильной среде, например, для минимизации ошибки, обработки пользователем и/или контаминации. В одном примере система представляет собой систему, как описано в WO2009/072003 или US 20110003380.

[0470] В некоторых вариантах осуществления система или устройство проводят одну или несколько, например, все из стадий выделения, обработки, модификации и составления в объединенной или автономной системе, и/или автоматическим или программируемым образом. В некоторых аспектах система или устройство включает компьютер и/или компьютерную программу, соединенные с системой или устройством, которые позволяют пользователю программировать, контролировать, оценивать результат и/или корректировать различные аспекты стадий обработки, выделения, модификации способами инженерии и составления.

[0471] В некоторых аспектах разделение и/или другие стадии проводят с использованием системы CliniMACS (Miltenyi Biotec), например, для автоматического разделения клеток в клиническом масштабе в закрытой и стерильной системе. Компоненты могут включать интегрированный микрокомпьютер, элемент магнитного разделения, перистальтический насос и различные запорные клапаны. В некоторых аспектах интегрированный компьютер контролирует все компоненты устройства и управляет системой для выполнения повторяющихся процедур в стандартизированной

последовательности. В некоторых аспектах элемент магнитного разделения включает подвижный постоянный магнит и подставку для колонки для селекции. Перистальтический насос контролирует скорость потока через комплект трубок и вместе с запорным клапаном обеспечивает контролируемый поток буфера через систему и непрерывное суспендирование клеток.

[0472] В некоторых аспектах система CliniMACS использует намагничиваемые частицы, с которыми связано антитело, которые предоставляются в стерильном не пирогенном растворе. В некоторых вариантах осуществления после мечения клеток магнитными частицами клетки промывают для удаления избытка частиц. Затем к комплекту трубок подсоединяют мешок для получения клеток, который в свою очередь соединяют с мешком, содержащим буфер, и мешком для сбора клеток. Комплект трубок состоит из заранее собранных стерильных трубок, в том числе трубок предколонки и колонки для разделения, и они предназначены только для однократного применения. После начала программы разделения система автоматически подает образец клеток в колонку для разделения. Меченые клетки удерживаются в колонке, в то время как немеченые клетки удаляют посредством серии стадий промывания. В некоторых вариантах осуществления популяции клеток для применения в способах, описанных в настоящем описании, являются немечеными и не удерживаются в колонке. В некоторых вариантах осуществления популяции клеток для применения в способах, описанных в настоящем описании, являются мечеными и остаются в колонке. В некоторых вариантах осуществления популяции клеток для применения в способах, описанных в настоящем описании, элюируются из колонки после устранения магнитного поля и собираются в пакет для сбора клеток.

[0473] В определенных вариантах осуществления разделение и/или другие стадии проводят с использованием системы CliniMACS Prodigy (Miltenyi Biotec). В некоторых аспектах система CliniMACS Prodigy оборудована элементом переработки клеток, который позволяет автоматическое промывание и фракционирование клеток посредством центрифугирования. Система CliniMACS Prodigy также может включать встроенную камеру и программное обеспечение для распознавания изображений, которое определяет оптимальный конечный этап фракционирования клеток путем различения макроскопических слоев продукта исходных клеток. Например, периферическая кровь автоматически разделяется на слои эритроцитов, лейкоцитов и плазматитов. Система CliniMACS Prodigy также может включать встроенную камеру для культивирования клеток, которая выполняет протоколы культивирования клеток, например, такие как дифференцировка и экспансия клеток, нагрузка антигеном и длительное культивирование клеток. Впускные каналы могут позволить стерильное удаление и восполнение среды, и мониторинг клеток можно проводить с использованием встроенного микроскопа. См., например, Klebanoff et al. (2012) *J Immunother.* 35(9): 651-660, Terakura et al. (2012) *Blood.* 1:72-82, и Wang et al. (2012) *J Immunother.* 35(9):689-701.

[0474] В некоторых вариантах осуществления популяцию клеток, описанную в

настоящем описании, собирают и обогащают (или истощают) проточной цитометрией, при которой клетки, окрашенные на несколько маркеров клеточной поверхности, перемещаются в потоке жидкости. В некоторых вариантах осуществления популяцию клеток, описанную в настоящем описании, собирают и обогащают (или истощают) сортировкой в препаративном масштабе (FACS). В определенных вариантах осуществления популяцию клеток, описанную в настоящем описании, собирают и обогащают (или истощают) с использованием чипов микроэлектромеханических систем (MEMS) в комбинации с системной детекцией на основе FACS (см., например, WO 2010/033140, Cho et al. (2010) Lab Chip 10, 1567-1573; и Godin et al. (2008) J Biophoton. 1(5):355-376). В обоих случаях клетки можно метить несколькими маркерами, что позволяет выделить определенных подгрупп Т-клеток с высокой чистотой.

[0475] В некоторых вариантах осуществления антитела или партнеры по связыванию метят одним или несколькими поддающимися обнаружению маркерами для облегчения разделения при позитивной и/или негативной 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 к одному или нескольким маркерам клеточной поверхности, проводят в потоке жидкости, например, посредством активированной флуоресценцией сортировки клеток (FACS), в том числе в препаративном масштабе (FACS), и/или на чипах микроэлектромеханических систем (MEMS), например, в комбинации с системой проточно-цитометрической детекции. Такие способы позволяют позитивную и негативную селекцию на основе множества маркеров одновременно.

[0476] В некоторых вариантах осуществления способы получения включают стадии замораживания, например, криоконсервации, клеток либо до, либо после выделения, инкубации и/или модификации способами инженерии. В некоторых вариантах осуществления стадия замораживания и последующего размораживания устраняет гранулоциты и в некоторой степени моноциты из популяции клеток. В некоторых вариантах осуществления клетки суспендируют в растворе для замораживания, например, после стадии промывания для плазмы и тромбоцитов. В некоторых аспектах можно использовать любые из множества известных растворов для замораживания и параметров. Один пример вовлекает использование PBS, содержащего 20% DMSO и 8% сывороточный альбумин человека (HSA), или другой подходящей среды для замораживания клеток. Затем ее разбавляют 1:1 средой до конечной концентрации DMSO и HSA 10% и 4%, соответственно. Затем клетки обычно замораживают до -80°C со скоростью 1° в минуту и хранят в паровой фазе емкости для хранения с жидким азотом.

[0477] В некоторых вариантах осуществления выделение и/или селекция приводит к одной или нескольким исходным композициям обогащенных Т-клеток, например, CD3+ Т-клеток, CD4+ Т-клеток и/или CD8+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления две или более отдельных исходных композиций выделяют, подвергают селекции, обогащают или получают из одного биологического образца. В некоторых вариантах

осуществления отдельные исходные композиции выделяют, подвергают селекции, обогащают и/или получают из различных биологических образцов, собранных, взятых и/или полученных от одного индивидуума.

[0478] В определенных вариантах осуществления одна или несколько исходных композиций представляет собой или включает композицию обогащенных Т-клеток, которая включает по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, по меньшей мере 99,5%, по меньшей мере 99,9%, или ровно или приблизительно 100% CD3+ Т-клеток. В конкретном варианте осуществления исходная композиция обогащенных Т-клеток по существу состоит из CD3+ Т-клеток.

[0479] В определенных вариантах осуществления одна или несколько исходных композиций представляет собой или включает композицию обогащенных CD4+ Т-клеток, которая включает по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, по меньшей мере 99,5%, по меньшей мере 99,9%, или ровно или приблизительно 100% CD4+ Т-клеток. В определенных вариантах осуществления исходная композиция CD4+ Т-клеток включает менее 40%, менее 35%, менее 30%, менее 25%, менее 20%, менее 15%, менее 10%, менее 5%, менее 1%, менее 0,1% или менее 0,01% CD8+ Т-клеток, и/или не содержит CD8+ Т-клеток, и/или свободна или по существу свободна от CD8+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления композиция обогащенных Т-клеток по существу состоит из CD4+ Т-клеток.

[0480] В определенных вариантах осуществления одна или несколько композиций представляет собой или включает композицию CD8+ Т-клеток, которая представляет собой или включает по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, по меньшей мере 99,5%, по меньшей мере 99,9%, или ровно или приблизительно 100% CD8+ Т-клеток. В определенных вариантах осуществления композиция CD8+ Т-клеток содержит менее 40%, менее 35%, менее 30%, менее 25%, менее 20%, менее 15%, менее 10%, менее 5%, менее 1%, менее 0,1% или менее 0,01% CD4+ Т-клеток, и/или не содержит CD4+ Т-клеток, и/или свободна или по существу свободна от CD4+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления композиция обогащенных Т-клеток по существу состоит из CD8+ Т-клеток.

2. Активация и стимуляция

[0481] В некоторых вариантах осуществления клетки инкубируют и/или культивируют до или совместно с модификацией способами генной инженерии. Стадии инкубации могут включать культивирование, обработку, стимуляцию, активацию и/или увеличение в количестве. Инкубацию и/или модификацию способами инженерии можно

проводить в емкости для культивирования, такой как ячейка, камера, лунка, колонка, пробирка, комплект трубок, клапан, емкость, чашка для культивирования, мешок или другой контейнер для культивирования или обработки клеток. В некоторых вариантах осуществления композиции или клетки инкубируют в присутствии стимулирующих условий или стимулирующего средства. Такие условия включают условия, предназначенные для индукции пролиферации, экспансии, активации и/или выживания клеток в популяции, для имитации воздействия антигена и/или для подготовки клеток для модификации способами генной инженерии, например, для введения рекомбинантного рецептора антигена.

[0482] Условия могут включать одно или несколько из конкретной среды, температуры, содержания кислорода, содержания диоксида углерода, времени, средств, например, питательных веществ, аминокислот, антибиотиков, ионов и/или стимулирующих факторов, таких как цитокины, хемокины, антигены, партнеры по связыванию, слитые белки, рекомбинантные растворимые рецепторы и любые другие средства, предназначенные для активации клеток.

[0483] В некоторых вариантах осуществления условия стимуляции или средства включают одно или несколько средств, например, лиганд, которые способны стимулировать или активировать внутриклеточный сигнальный домен комплекса TCR. В некоторых аспектах средство включает или инициирует каскад внутриклеточной передачи сигнала TCR/CD3 в Т-клетке. Такие средства могут включать антитела, такие как антитела, специфичные к TCR, например, антитела против CD3. В некоторых вариантах осуществления условия стимуляции включают одно или несколько средств, например, лиганд, которые способны стимулировать костимулирующий рецептор, например, антитело против CD28. В некоторых вариантах осуществления такие средства и/или лиганды могут быть связаны с твердой подложкой, такой как гранулы, и/или одним или несколькими цитокинами. Необязательно, способ экспансии может дополнительно включать стадию добавления антитела против CD3 и/или против CD28 в культуральную среду (например, в концентрации по меньшей мере приблизительно 0,5 нг/мл). В некоторых вариантах осуществления стимулирующие средства включают IL-2, IL-15 и/или IL-7. В некоторых аспектах концентрация IL-2 составляет по меньшей мере приблизительно 10 единиц/мл.

[0484] В некоторых аспектах инкубацию проводят в соответствии со способами, такими как способы, описанные в патенте США № 6040177, выданном Riddell et al., Klebanoff et al. (2012) *J Immunother.* 35(9): 651-660, Terakura et al. (2012) *Blood*.1:72-82, и/или Wang et al. (2012) *J Immunother.* 35(9):689-701.

[0485] В некоторых вариантах осуществления Т-клетки увеличивают в количестве путем добавления в композицию для инициации культуры фидерных клеток, таких как не делящиеся моноклеарные клетки периферической крови (РВМС) (например, так чтобы конечная популяция клеток содержала по меньшей мере приблизительно 5, 10, 20 или 40 или более фидерных клеток РВМС на каждый Т-лимфоцит в первоначальной популяции,

подлежащей увеличению в количестве); и инкубации культуры (например, в течение периода времени, достаточного для увеличения количества Т-клеток). В некоторых аспектах не делящиеся фидерные клетки могут включать облученные гамма-излучением фидерные клетки РВМС. В некоторых вариантах осуществления РВМС облучают гамма-лучами в диапазоне приблизительно от 3000 до 3600 рад для предотвращения деления клеток. В некоторых аспектах фидерные клетки добавляют в культуральную среду перед добавлением популяций Т-клеток.

[0486] В некоторых вариантах осуществления условия стимуляции включают температуру, пригодную для выращивания Т-лимфоцитов человека, например, по меньшей мере приблизительно 25 градусов Цельсия, как правило, по меньшей мере приблизительно 30 градусов Цельсия, и обычно ровно или приблизительно 37 градусов Цельсия. Необязательно, инкубация может дополнительно включать добавление не делящихся трансформированных EBV лимфобластоидных клеток (LCL) в качестве фидерных клеток. LCL можно облучать гамма-лучами в диапазоне приблизительно от 6000 до 10000 рад. В некоторых аспектах фидерные клетки LCL предоставляют в любом подходящем количестве, таком как соотношение фидерных клеток LCL и исходных Т-лимфоцитов, составляющее по меньшей мере приблизительно 10:1.

[0487] В некоторых вариантах осуществления антигенспецифические Т-клетки, такие как антигенспецифические CD4+ и/или CD8+ Т-клетки, получают путем стимуляции наивных или антигенспецифических Т-лимфоцитов антигеном. Например, линии или клоны антигенспецифических Т-клеток, направленных на антигены цитомегаловируса, можно получать путем получения Т-клеток от инфицированных индивидуумов и стимуляции клеток *in vitro* тем же антигеном.

[0488] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере часть инкубации в присутствии одних или нескольких условий стимуляции или стимулирующих средств проводят во внутренней полости центрифужной камере, например, при центрифужном вращении, таком как описано в международной публикации номер WO2016/073602. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере часть инкубации, проводимой в центрифужной камере, включает смешение реагента или реагентов для индукции стимуляции и/или активации. В некоторых вариантах осуществления клетки, такие как подвергнутые селекции клетки, смешивают в условиях стимуляции или со стимулирующим средством в центрифужной камере. В некоторых аспектах таких процессов некоторый объем клеток смешивают в условиях стимуляции на некотором уровне или с некоторым количеством стимулирующих средств, которые являются значительно меньшими, чем обычно используется при проведении сходной стимуляции в планшете для культивирования клеток или другой системе.

[0489] В некоторых вариантах осуществления стимулирующее средство добавляют к клеткам в полости камеры в количестве, которое является по существу меньшим (например, составляет не более 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% от количества), чем количество стимулирующего средства, которое обычно используется или

было бы необходимым для достижения приблизительно той же или сходной эффективности селекции того же количества клеток или того же объема клеток, что и при проведении селекции проводят без смешения в центрифужной камере, например, в пробирке или пакете, без периодического качания или вращения. В некоторых вариантах осуществления инкубацию проводят при добавлении буфера для инкубации к клеткам и стимулирующего средства для достижения целевого объема при инкубации с реагентом, например, от 10 мл до 200 мл, как например, по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере или приблизительно или 10 мл, 20 мл, 30 мл, 40 мл, 50 мл, 60 мл, 70 мл, 80 мл, 90 мл, 100 мл, 150 мл или 200 мл. В некоторых вариантах осуществления буфер для инкубации и стимулирующее средство предварительно смешивают перед добавлением к клеткам. В некоторых вариантах осуществления буфер для инкубации и стимулирующее средство добавляют к клеткам по отдельности. В некоторых вариантах осуществления инкубацию в ходе стимуляции проводят в условиях периодического осторожного перемешивания, которые могут способствовать энергетически благоприятным реакциям и, тем самым, позволять использовать меньше реагента селекции в целом при достижении высокой эффективности стимуляции и активации клеток.

[0490] В некоторых вариантах осуществления инкубацию, как правило, проводят в условиях смешения, например, в присутствии вращения, как правило, при относительно низкой мощности или скорости, такой как скорость, меньшая чем скорость, используемая для осаждения клеток, такая как от или приблизительно от 600 об/мин до 1700 об/мин (например ровно или приблизительно или по меньшей мере 600 об/мин, 1000 об/мин, или 1500 об/мин или 1700 об/мин), например, при RCF в образце, или на стенке камеры или другого контейнера от или приблизительно от 80g до 100g (например, ровно или приблизительно или по меньшей мере 80g, 85g, 90g, 95g или 100g). В некоторых вариантах осуществления вращение проводят с использованием повторяющихся интервалов вращения при такой низкой скорости с последующим периодом покоя, таких как вращение и/или покой в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 секунд, как например, вращение в течение приблизительно 1 или 2 секунд с последующим покоем в течение приблизительно 5, 6, 7 или 8 секунд.

[0491] В некоторых вариантах осуществления общая длительность инкубации, например со стимулирующим средством, составляет от или приблизительно от 1 часа до 96 часов, от 1 часа до 72 часов, от 1 часа до 48 часов, от 4 часов до 36 часов, от 8 часов до 30 часов или от 12 часов до 24 часов, как например, по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере 6 часов, 12 часов, 18 часов, 24 часов, 36 часов или 72 часов. В некоторых вариантах осуществления дальнейшую инкубацию проводят в течение периода времени от или приблизительно от 1 часа до 48 часов, от 4 часов до 36 часов, от 8 часов до 30 часов или от 12 часов до 24 часов, включительно.

[0492] В конкретных вариантах осуществления условия стимуляции включают инкубацию, культивирование и/или культивацию композиции обогащенных Т-клеток с и/или в присутствии одного или нескольких цитокинов. В конкретных вариантах

осуществления один или несколько цитокинов представляют собой рекомбинантные цитокины. В некоторых вариантах осуществления один или несколько цитокинов представляют собой рекомбинантные цитокины человека. В определенных вариантах осуществления один или несколько цитокинов связываются с и/или способны связываться с рецепторами, которые экспрессируются посредством и/или являются эндогенными для Т-клеток. В конкретных вариантах осуществления один или несколько цитокинов представляет собой или включает представитель семейства цитокинов с 4-альфа-спиральным пучком. В некоторых вариантах осуществления представители семейства цитокинов с 4-альфа-спиральным пучком включают, но не ограничиваются ими, интерлейкин-2 (IL-2), интерлейкин-4 (IL-4), интерлейкин-7 (IL-7), интерлейкин-9 (IL-9), интерлейкин 12 (IL-12), интерлейкин 15 (IL-15), гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF) и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF).

[0493] В некоторых вариантах осуществления стимуляция приводит к активации и/или пролиферации клеток, например, перед трансдукцией.

3. Векторы и способы генной инженерии

[0494] В некоторых вариантах осуществления модифицированные клетки, такие как Т-клетки, используемые в предусматриваемых способах, применениях, изделиях или композициях, представляют собой клетки, генно-модифицированные для экспрессии рекомбинантного рецептора, например CAR, такого как CAR, описанные в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления клетки модифицируют посредством введения, доставки или переноса последовательностей нуклеиновых кислот, которые кодируют рекомбинантный рецептор и/или другие молекулы.

[0495] В некоторых вариантах осуществления способы получения модифицированных клеток включают введение полинуклеотида, кодирующего рекомбинантный рецептор (например, CAR против CD19), в клетку, например, такую как стимулированная или активированная клетка. В конкретных вариантах осуществления рекомбинантные белки представляют собой рекомбинантные рецепторы, такие как любые из описанных рекомбинантных рецепторов. Введение молекул нуклеиновых кислот, кодирующих рекомбинантный белок, такой как рекомбинантный рецептор, в клетку можно проводить с использованием любого из ряда известных векторов. Такие векторы включают вирусные и невирусные системы, в том числе лентивирусные и гамма-ретровирусные системы, а также системы на основе транспозонов, такие как системы переноса генов на основе PiggyBac или Sleeping Beauty. Иллюстративные способы включают способы переноса нуклеиновых кислот, кодирующих рецепторы, в том числе посредством вирусной, например, ретровирусной или лентивирусной, трансдукции, транспозонов и электропорации. В некоторых вариантах осуществления модификация способами инженерии обеспечивает одну или несколько полученных способами инженерии композиций обогащенных Т-клеток.

[0496] В определенных вариантах осуществления одна или несколько композиций

стимулированных Т-клеток представляют собой или включают две отдельных стимулированных композиции обогащенных Т-клеток. В конкретных вариантах осуществления две отдельных композиции обогащенных Т-клеток, например, две отдельных композиции обогащенных Т-клеток, которые подвергнуты селекции, выделены и/или обогащены из одного и того же биологического образца, модифицируют по отдельности. В определенных вариантах осуществления две отдельных композиции включают композицию обогащенных CD4+ Т-клеток. В конкретных вариантах осуществления две отдельных композиции включают композицию обогащенных CD8+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления две отдельных композиции обогащенных CD4+ Т-клеток и обогащенных CD8+ Т-клеток подвергают генной модификации по отдельности.

[0497] В некоторых вариантах осуществления перенос генов проводят сначала путем стимуляции клетки, например, применения к ней стимула, который индуцирует ответ, такой как пролиферация, выживание и/или активация, например, при определении по экспрессии цитокина или маркера активации с последующей трансдукцией активированных клеток и экспансией в культуре до количеств, достаточных для клинических применений. В определенных вариантах осуществления перенос генов проводят, сначала инкубируя клетки в стимулирующих условиях, например, любыми из описанных способов.

[0498] В некоторых вариантах осуществления способы генной инженерии проводят посредством приведения одной или нескольких клеток композиции в контакт с молекулой нуклеиновой кислоты, кодирующей рекомбинантный белок, например, рекомбинантный рецептор. В некоторых вариантах осуществления приведение в контакт можно осуществлять при центрифугировании, таком как спинокуляция (например, центрифужная инокуляция). Такие способы включают любой из способов, описанных в международной публикации номер WO2016/073602. Иллюстративные центрифужные камеры включают центрифужные камеры, изготавливаемые и продаваемые Biosafe SA, включая центрифужные камеры для применения с системой Serax® и Serax® 2, включая центрифужные камеры A-200/F и A-200 и различные наборы для применения с такими системами. Иллюстративные камеры, системы и инструменты и боксы для переработки описаны, например, в патенте США № 6123655, патенте США № 6733433 и опубликованной патентной заявке США, публикации № US 2008/0171951, и опубликованной международной патентной заявке, публикация № WO 00/38762, содержание каждой из которых включено в настоящее описание посредством ссылок в полном объеме. Иллюстративные наборы для применения с такими системами включают, но не ограничиваются ими, одноразовые наборы, продаваемые BioSafe SA под наименованиями продукта CS-430.1, CS-490.1, CS-600.1 или CS-900.2.

[0499] В некоторых вариантах осуществления приведение в контакт можно осуществлять при центрифугировании, таком как спинокуляция (например, центрифужная инокуляция). В некоторых вариантах осуществления композиция, содержащая клетки,

вектор, например, вирусные частицы и реагент, может подвергаться вращению, как правило, при относительно низкой мощности или скорости, такой как скорость ниже скорости, используемой для осаждения клеток, например, от или приблизительно от 600 об/мин до 1700 об/мин (например, ровно или приблизительно или по меньшей мере 600 об/мин, 1000 об/мин, или 1500 об/мин или 1700 об/мин). В некоторых вариантах осуществления вращение проводят с силой, например, относительной центробежной силой, от или приблизительно от 100g до 3200g (например, ровно или приблизительно или по меньшей мере ровно или приблизительно 100g, 200g, 300g, 400g, 500g, 1000g, 1500g, 2000g, 2500g, 3000g или 3200g), при определен, например, на внутренней или внешней стенке камеры или полости. Под термином "относительная центробежная сила" или RCF обычно подразумевают эффективную силу, действующую на объект или вещество (такие как клетка, образец или гранула, и/или точка в камере или другом вращающемся контейнере), относительно гравитационной силы земли, в конкретной точке пространства по сравнению с осью вращения. Эту величину можно определять с использованием хорошо известных формул, учитывая величину гравитационной силы, скорость вращения и радиус вращения (расстояние от оси вращения до объекта, вещества или частицы, для которых измеряют RCF).

[0500] В некоторых вариантах осуществления в систему включают и/или с ней ассоциируют другое оборудование, включая оборудование для производства операций, автоматизации, управления и/или мониторинга аспектов стадии трансдукции и одной или нескольких других стадий переработки, проводимых в системе, например, одной или нескольких стадий, которые можно проводить с или в связи с системой центрифужной камеры, как описано в настоящем описании или в международной публикации номер WO2016/073602. В некоторых вариантах осуществления это оборудование содержится в боксе. В некоторых вариантах осуществления оборудование включает бокс, который включает корпус, содержащий управляющую систему, центрифугу, крышку, двигатели, насосы, датчики, экраны и пользовательский интерфейс. Иллюстративное устройство описано в патенте США № 6123655, патенте США № 6733433 и US 2008/0171951.

[0501] В некоторых вариантах осуществления система включает серию контейнеров, например, пакетов, трубок, пробок, зажимов, соединителей и центрифужную камеру. В некоторых вариантах осуществления контейнеры, такие как пакеты, включают один или несколько контейнеров таких как пакеты, содержащие клетки, подлежащие трансдукции, и частицы вирусного вектора в одном контейнере или в отдельных контейнерах, таких как один и тот же пакет или отдельные пакеты. В некоторых вариантах осуществления система, кроме того, включает один или несколько контейнеров, таких как пакеты, содержащие среду, такую как разбавитель и/или промывочный раствор, которая подается в камеру, и/или другие компоненты для разбавления, ресуспендирования и/или промывания компонентов и/или композиций в ходе способов. Контейнеры могут быть подсоединены в одном или нескольких положениях в системе, таких как положение, соответствующее линии входа, линии

разбавителя, промывочной линии, спускной линии и/или выходной линии.

[0502] В некоторых вариантах осуществления камера соединена с центрифугой, которая способна обеспечивать вращение камеры, например, вокруг ее оси вращения. Вращение может происходить до, в ходе и/или после инкубации, связанной с трансдукцией клеток, и/или в ходе одной или нескольких других стадий обработки. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления одну или несколько различных стадий обработки проводят при вращении, например, при конкретном усилии. Камера, как правило, способна к вертикальному или в основном вертикальному вращению, так что камера расположена вертикально в ходе центрифугирования и боковая стенка и ось являются вертикальными или в основном вертикальными, с горизонтальной или в основном горизонтальной торцевой стенкой(ами).

[0503] В некоторых вариантах осуществления в ходе по меньшей мере части генной модификации, например трансдукции, и/или после генной модификации клетки переносят в систему пакетов биореактора для культивирования генно-модифицированных клеток, например, для культивирования или экспансии клеток.

[0504] В некоторых вариантах осуществления клетки трансфицируют рекомбинантными нуклеиновыми кислотами с использованием рекомбинантных инфекционных вирусных частиц, например, таких как векторы, происходящие из вируса обезьян 40 (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.

[0505] В некоторых вариантах осуществления ретровирусный вектор имеет последовательность длинного концевой повтора (LTR), например, ретровирусный вектор происходит из вируса лейкоза мышей Молони (MoMLV), вируса миелопролиферативной саркомы (MPSV), вируса эмбриональных стволовых клеток мышей (MESV), вируса стволовых клеток мышей (MSCV) или вируса некроза селезенки (SFFV). Большинство ретровирусных векторов происходят из ретровирусов мыши. В некоторых вариантах осуществления ретровирусы включают ретровирусы, происходящие из любого источника клеток птиц или млекопитающих. Ретровирусы, как правило, являются амфотерными, что означает, что они способны инфицировать клетки-хозяева нескольких видов, в том числе человека. В одном варианте осуществления ген, подлежащий экспрессии, заменяет ретровирусные последовательности gag, pol и/или env. Описан ряд иллюстративных ретровирусных систем (например, патенты США № 5219740; 6207453; 5219740; 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.

[0506] Способы лентивирусной трансдукции известны. Иллюстративные 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.

[0507] В некоторых вариантах осуществления частицы вирусного вектора содержат геном, происходящий из вектора на основе ретровирусного генома, например, происходящий из вектора на основе лентивирусного генома. В некоторых аспектах предусматриваемых векторов, гетерологичная нуклеиновая кислота, кодирующая рекомбинантный рецептор, такой как рецептор антигена, такой как CAR, находится и/или расположена между последовательностями 5'-LTR и 3'-LTR генома вектора.

[0508] В некоторых вариантах осуществления геном вирусного вектора представляет собой лентивирусный геном, такой как геном ВИЧ-1 или геном SIV. Например, лентивирусные векторы были получены посредством многократного ослабления генов вирулентности, например, могут быть удалены гены *env*, *vif*, *vpr* и *nef*, что делает вектор более безопасным для терапевтических целей. Лентивирусные векторы известны. См. Naldini et al., (1996 и 1998); Zufferey et al., (1997); Dull et al., 1998, патенты США № 6013516; и 5994136). В некоторых вариантах осуществления эти вирусные векторы являются основанными на плазмиде или основанными на вирусах, и организованы для вмещения необходимых последовательностей для включения чужеродной нуклеиновой кислоты, для селекции или для переноса нуклеиновой кислоты в клетку-хозяина. Известные лентивирусы могут быть без труда получены из депозитариев или коллекций, таких как American Type Culture Collection ("ATCC"; 10801 University Blvd., Manassas, Va. 20110-2209), или выделены из известных источников с использованием широко доступных способов.

[0509] Неограничивающие примеры лентивирусных векторов включают векторы, происходящие из лентивируса, такого как вирус иммунодефицита человека 1 (ВИЧ-1), ВИЧ-2, вирус иммунодефицита обезьян (SIV), Т-лимфотропный вирус 1 человека (HTLV-1), HTLV-2 или вирус инфекционной анемии лошадей (E1AV). Например, лентивирусные векторы были получены посредством многократного ослабления генов вирулентности ВИЧ, например, гены *env*, *vif*, *vpr*, *vpr* и *nef* удаляют, что делает вектор более безопасным для терапевтических целей. Лентивирусные векторы известны в данной области, см. Naldini et al., (1996 и 1998); Zufferey et al., (1997); Dull et al., 1998, патенты США № 6013516; и 5994136). В некоторых вариантах осуществления эти вирусные векторы являются основанными на плазмиде или основанными на вирусе, и организованы для вмещения необходимых последовательностей для включения чужеродной нуклеиновой кислоты, для селекции или для переноса нуклеиновой кислоты в клетку-хозяина. Известные лентивирусы могут быть без труда получены из депозитариев или коллекций, таких как American Type Culture Collection ("ATCC"; 10801 University Blvd., Manassas, Va. 20110-2209), или выделены из известных источников с использованием широко доступных способов.

[0510] В некоторых вариантах осуществления вектор вирусного генома может содержать последовательности 5' и 3' LTR ретровируса, такого как лентивирус. В некоторых аспектах конструкция вирусного генома может содержать последовательности из 5'- и 3'-LTR лентивируса и, в частности, могут содержать последовательности R и U5 из 5'-LTR лентивируса и инактивированный или самоинактивирующийся 3'-LTR из лентивируса. Последовательности LTR могут представлять собой последовательности LTR из любого лентивируса любого вида. Например, они могут представлять собой последовательности LTR из ВИЧ, SIV, FIV или BIV. Как правило, последовательности LTR представляют собой последовательности LTR ВИЧ.

[0511] В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота вирусного вектора, такого как вирусный вектор ВИЧ, лишена дополнительных транскрипционных элементов. Геном вектора может содержать инактивированный или самоинактивирующийся 3'-LTR (Zufferey et al. *J Virol* 72: 9873, 1998; Miyoshi et al., *J Virol* 72:8150, 1998). Например, для получения самоинактивирующихся (SIN) векторов можно использовать делецию в области U3 3'-LTR нуклеиновой кислоты, используемой для получения РНК вирусного вектора. Затем эту делецию можно переносить в 5'-LTR провирусной ДНК в ходе обратной транскрипции. Самоинактивирующийся вектор, как правило, имеет делецию энхансерных и промоторных последовательностей из 3'-длинного концевого повтора (LTR), который копируется в 5'-LTR в ходе инеграции вектора. В некоторых вариантах осуществления достаточная часть последовательности может быть удалена, включая удаление ТАТА-бокса, для устранения транскрипционной активности LTR. Это может препятствовать продуцированию полноразмерной векторной РНК в трансдуцированных клетках. В некоторых аспектах элемент U3 3'-LTR содержит делецию его энхансерной последовательности, ТАТА-бокса, участков Sp1 и NF-каппа В. В результате самоинактивирующегося 3'-LTR, провирус, который образуется после проникновения и обратной транскрипции, содержит инактивированный 5'-LTR. Это может повышать безопасность путем уменьшения риска мобилизации векторного генома и влияния LTR на близкорасположенные клеточные промоторы. Самоинактивирующийся 3'-LTR можно конструировать любым способом, известным в данной области. В некоторых вариантах осуществления это не влияет на титры вектора или на свойства вектора *in vitro* или *in vivo*.

[0512] Необязательно, последовательность U3 из лентивирусного 5'-LTR может быть заменена промоторной последовательностью в вирусной конструкции, такой как гетерологичная промоторная последовательность. Это может повышать титр вируса, выделяемого из упаковывающей клеточной линии. Также может быть включена энхансерная последовательность. Можно использовать любую комбинацию энхансер/промотор, которая повышает экспрессию вирусного РНК-генома в упаковывающей клеточной линии. В одном примере используют последовательность энхансера/промотора CMV (патент США № 5385839 и патент США № 5168062).

[0513] В определенных вариантах осуществления риск инсерционного мутагенеза

может быть минимизирован посредством конструирования генома ретровирусного вектора, такого как геном лентивирусного вектора, чтобы он был дефектным в отношении встраивания. Для получения не встраивающегося векторного генома можно использовать различные подходы. В некоторых вариантах осуществления мутацию(и) можно вносить способами инженерии в компонент интегразного фермента гена *pol*, так чтобы он кодировал белок с неактивной интегразой. В некоторых вариантах осуществления векторный геном сам по себе может быть модифицирован для предотвращения встраивания, например, посредством мутации или делеции одного или обоих участков присоединения, или обеспечения нефункциональности проксимального относительно 3'-LTR полипуринового участка (PPT) посредством делеции или модификации. В некоторых вариантах осуществления доступны негенетические подходы; они включают фармакологические средства, которые ингибируют одну или несколько функций интегразы. Эти подходы не являются взаимоисключающими; т.е. более одного из них можно использовать за раз. Например, как интегразы, так и участки присоединения могут быть нефункциональными, или интегразы и участок PPT могут быть нефункциональными, или участки присоединения и участок PPT могут быть нефункциональными, или все из них могут быть нефункциональными. Такие способы и вирусные векторные геномы известны и доступны (см. Philpott and Thrasher, *Human Gene Therapy* 18:483, 2007; Engelman et al. *J Virol* 69:2729, 1995; Brown et al *J Virol* 73:9011 (1999); WO 2009/076524; McWilliams et al., *J Virol* 77:11150, 2003; Powell and Levin *J Virol* 70:5288, 1996).

[0514] В некоторых вариантах осуществления вектор содержит последовательности для увеличения в количестве в клетке-хозяине, такой как прокариотическая клетка-хозяин. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота вирусного вектора содержит один или несколько ориджинов репликации для увеличения в количестве в прокариотической клетке, такой как бактериальная клетка. В некоторых вариантах осуществления векторы, которые включают прокариотический ориджин репликации, также могут содержать ген, экспрессия которого обеспечивает поддающийся детекции или селективный маркер, такой как ген резистентности к лекарственному средству.

[0515] Геном вирусного вектора, как правило, конструируют в форме плазмиды, которая может быть перенесена в упаковывающую или продуцирующую клеточную линию. Для получения ретровирусных частиц, геномы которых содержат РНК-копию генома вирусного вектора можно использовать любые из множества известных способов. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере в получение системы доставки генов на вирусной основе вовлечено два компонента: первый, упаковывающие плазмиды, охватывающие структурные белки, а также ферменты, необходимые для получения вирусной векторной частицы, и второй, сам вирусный вектор, т.е. генетический материал, подлежащий переносу. В конструкцию одного или обоих из этих компонентов могут быть внесены элементы контроля биобезопасности.

[0516] В некоторых вариантах осуществления упаковывающая плаزمида может

содержать все ретровирусные, например из ВИЧ-1, белки кроме белков оболочки (Naldini et al., 1998). В других вариантах осуществления вирусные векторы могут быть лишены дополнительных вирусных генов, таких как вирусные гены, которые ассоциированы с вирулентностью, например, *vpr*, *vif*, *vpr* и *nef*, и/или Tat, первичный трансактиватор ВИЧ. В некоторых вариантах осуществления лентивирусные векторы, такие как лентивирусные векторы на основе ВИЧ, содержат только три гена родительского вируса: *gag*, *pol* и *rev*, что снижает или устраняет вероятность восстановления вируса дикого типа посредством рекомбинации.

[0517] В некоторых вариантах осуществления геном вирусного вектора вводят в упаковывающую клеточную линию, которая содержит все компоненты, необходимые для упаковывания вирусной геномной РНК, транскрибируемой с генома вирусного вектора, в вирусные частицы. Альтернативно геном вирусного вектора может содержать один или несколько генов, кодирующих вирусные компоненты, в дополнение к одной или нескольким представляющим интерес последовательностям, например, рекомбинантным нуклеиновым кислотам. Однако в некоторых аспектах для предотвращения репликации генома в клетке-мишени эндогенные вирусные гены, требуемые для репликации, удаляют и предоставляют отдельно в упаковывающей клеточной линии.

[0518] В некоторых вариантах осуществления упаковывающую клеточную линию трансфицируют одним или несколькими плазмидными векторами, содержащими компоненты, необходимыми для получения частиц. В некоторых вариантах осуществления упаковывающую клеточную линию трансфицируют плазмидой, содержащей геном вирусного вектора, включая LTR, цис-действующую упаковывающую последовательность и представляющую интерес последовательность, т.е. нуклеиновую кислоту, кодирующую рецептор антигена, такой как CAR; и одной или несколькими плазмидами-помощниками, кодирующими ферментные и/или структурные компоненты вирусы, такие как Gag, pol и/или rev. В некоторых вариантах осуществления используют несколько векторов для разделения различных генетических компонентов, которые формируют частицы ретровирусного вектора. В некоторых таких вариантах осуществления предоставление отдельных векторов упаковывающей клетке уменьшает вероятность событий рекомбинации, которые в ином случае могут обеспечивать репликационно-компетентные вирусы. В некоторых вариантах осуществления можно использовать один плазмидный вектор, имеющий все ретровирусные компоненты.

[0519] В некоторых вариантах осуществления частица ретровирусного вектора, такая как частица лентивирусного вектора, является псевдотипированной для повышения эффективности трансдукции клеток-хозяев. Например, частица ретровирусного вектора, такая как частица лентивирусного вектора, в некоторых вариантах осуществления является псевдотипированной посредством гликопротеина VSV-G, что обеспечивает широкий диапазон клеток-хозяев, расширяющий типы клеток, которые могут быть трансдуцированы. В некоторых вариантах осуществления упаковывающую клеточную линию трансфицируют плазмидой или полинуклеотидом, кодирующим ненативный

гликопротеин оболочки, например, для включения ксенотропных, политропных или амфотропных оболочек, таких как оболочка вируса Синдбис, GALV или VSV-G.

[0520] В некоторых вариантах осуществления упаковывающая клеточная линия предоставляет компоненты, включающие регуляторные и структурные белки вируса, которые требуется в транс-формате, для упаковывания вирусной геномной РНК в лентивирусные векторные частицы. В некоторых вариантах осуществления упаковывающая клеточная линия может представлять собой любую клеточную линию, способную экспрессировать лентивирусные белки и продуцировать функциональные лентивирусные векторные частицы. В некоторых аспектах подходящие упаковывающие клеточные линии включают клетки 293 (ATCC CCL X), 293T, HeLA (ATCC CCL 2), D17 (ATCC CCL 183), MDCK (ATCC CCL 34), ВНК (ATCC CCL-10) и Cf2Th (ATCC CRL 1430).

[0521] В некоторых вариантах осуществления упаковывающая клеточная линия стабильно экспрессирует вирусный белок(и). Например, в некоторых аспектах можно конструировать упаковывающую клеточную линию, содержащую gag, pol, rev и/или другие структурные гены, но без LTR и упаковывающих компонентов. В некоторых вариантах осуществления упаковывающую клеточную линию можно временно трансфицировать молекулами нуклеиновых кислот, кодирующими один или несколько вирусных белков вместе с геномом вирусного вектора, содержащим молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую гетерологичный белок, и/или нуклеиновую кислоту, кодирующую гликопротеин оболочки.

[0522] В некоторых вариантах осуществления вирусные векторы и упаковывающие плазмиды и/или плазмиды-помощники вводят в упаковывающую клеточную линию посредством трансфекции или инфицирования. Упаковывающая клеточная линия продуцирует частицы вирусного вектора, которые содержат геном вирусного вектора. Способы трансфекции или инфицирования являются хорошо известными. Неограничивающие примеры включают способы с фосфатом кальция, DEAE-декстраном и липофекцией, электропорацией и микроинъекцией.

[0523] Когда рекомбинантную плазмиду, и ретровирусный LTR, и упаковывающие последовательности вводят в конкретную клеточную линию (например, посредством преципитации с фосфатом кальция), упаковывающие последовательности могут позволить упаковывание РНК-транскрипта рекомбинантной плазмиды в вирусные частицы, которые затем могут секретироваться в культуральную среду. Затем в некоторых вариантах осуществления среду, содержащую рекомбинантные ретровирусы, собирают, необязательно концентрируют и используют для переноса генов. Например, в некоторых аспектах после совместной трансфекции упаковывающих плазмид и вектора для переноса в упаковывающую клеточную линию, частицы вирусного вектора выделяют из культуральной среды и титруют стандартными способами, используемыми специалистами в данной области.

[0524] В некоторых вариантах осуществления ретровирусный вектор, такой как

лентивирусный вектор, можно продуцировать в упаковывающей клеточной линии, такой как иллюстративная линия клеток НЕК 293Т, посредством введения плазмид для обеспечения образования лентивирусных частиц. В некоторых вариантах осуществления упаковывающую клетку трансфицируют посредством, и/или она содержит полинуклеотид, кодирующий gag и pol, и полинуклеотид, кодирующий рекомбинантный рецептор, такой как рецептор антигена, например, CAR. В некоторых вариантах осуществления упаковывающую клеточную линию необязательно и/или дополнительно трансфицируют посредством и/или она содержит полинуклеотид, кодирующий белок rev. В некоторых вариантах осуществления упаковывающую клеточную линию необязательно и/или дополнительно трансфицируют посредством и/или она содержит полинуклеотид, кодирующий ненативный гликопротеин оболочки, такой как VSV-G. В некоторых таких вариантах осуществления приблизительно через двое суток после трансфекции клеток, например, клеток НЕК 293Т, супернатант клеток содержит рекомбинантные лентивирусные векторы, которые можно выделять и титровать.

[0525] Выделенные и/или продуцированные ретровирусные векторные частицы можно использовать для трансдукции клеток-мишеней с использованием способов, как описано. После попадания в клетки-мишени вирусная РНК подвергается обратной транскрипции, импортируется в ядро и стабильно встраивается в геном хозяина. Через одни или двое суток после встраивания вирусной РНК можно проводить детекцию экспрессии рекомбинантного белка, например, рецептора антигена, такого как CAR.

[0526] В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы вовлекают способы трансдукции клеток посредством приведения в контакт, например, инкубации, композиции клеток, содержащей множество клеток с вирусными частицами. В некоторых вариантах осуществления клетки, подлежащие трансфекции или трансдукции, представляют собой или содержат первичные клетки, полученные от индивидуума, такие как клетки индивидуума, подвергнутые обогащению /или селекции.

[0527] В некоторых вариантах осуществления концентрация клеток композиции, подлежащих трансдукции, составляет от или приблизительно от $1,0 \times 10^5$ клеток/мл до $1,0 \times 10^8$ клеток/мл, как например, по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере или приблизительно $1,0 \times 10^5$ клеток/мл, 5×10^5 клеток/мл, 1×10^6 клеток/мл, 5×10^6 клеток/мл, 1×10^7 клеток/мл, 5×10^7 клеток/мл или 1×10^8 клеток/мл.

[0528] В некоторых вариантах осуществления вирусные частицы предоставляют в определенном соотношении копий частиц вирусного вектора или их инфекционных единиц (ИЕ) и общего количества клеток, подлежащих трансдукции (ИЕ/клетка). Например, в некоторых вариантах осуществления вирусные частицы присутствуют в ходе контактирования в количестве ровно или приблизительно или по меньшей мере ровно или приблизительно 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 или 60 ИЕ частиц вирусного вектора на одну клетку.

[0529] В некоторых вариантах осуществления титр частиц вирусного вектора составляет от или приблизительно от 1×10^6 ИЕ/мл до 1×10^8 ИЕ/мл, например, от или

приблизительно от 5×10^6 ИЕ/мл и 5×10^7 ИЕ/мл, как например, по меньшей мере 6×10^6 ИЕ/мл, 7×10^6 ИЕ/мл, 8×10^6 ИЕ/мл, 9×10^6 ИЕ/мл, 1×10^7 ИЕ/мл, 2×10^7 ИЕ/мл, 3×10^7 ИЕ/мл, 4×10^7 ИЕ/мл или 5×10^7 ИЕ/мл.

[0530] В некоторых вариантах осуществления трансдукцию можно осуществлять с множественностью инфекции (МОИ) менее 100, как например, обычно менее 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5 или менее.

[0531] В некоторых вариантах осуществления способ вовлекает приведение в контакт или инкубацию клеток с вирусными частицами. В некоторых вариантах осуществления приведение в контакт проводят в течение от 30 минут до 72 часов, как например, от 30 минут до 48 часов, от 30 минут до 24 часов или от 1 часа до 24 часов, как например, по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере 30 минут, 1 час, 2 часа, 6 часов, 12 часов, 24 часа, 36 часов или более.

[0532] В некоторых вариантах осуществления приведение в контакт проводят в растворе. В некоторых вариантах осуществления клетки и вирусные частицы приводят в контакт в объеме от или приблизительно от 0,5 мл до 500 мл, как например, от или приблизительно от 0,5 мл до 200 мл, от 0,5 мл до 100 мл, от 0,5 мл до 50 мл, от 0,5 мл до 10 мл, от 0,5 мл до 5 мл, от 5 мл до 500 мл, от 5 мл до 200 мл, от 5 мл до 100 мл, от 5 мл до 50 мл, от 5 мл до 10 мл, от 10 мл до 500 мл, от 10 мл до 200 мл, от 10 мл до 100 мл, от 10 мл до 50 мл, от 50 мл до 500 мл, от 50 мл до 200 мл, от 50 мл до 100 мл, от 100 мл до 500 мл, от 100 мл до 200 мл или от 200 мл до 500 мл.

[0533] В определенных вариантах осуществления исходные клетки обрабатывают, инкубируют или приводят в контакт с частицами, которые содержат связывающие молекулы, которые связывают или распознают рекомбинантный рецептор, который кодируется вирусной ДНК.

[0534] В некоторых вариантах осуществления инкубация клеток с частицами вирусного вектора приводит к или продуцирует конечную композицию, содержащую клетки, трансдуцированные частицами вирусного вектора.

[0535] 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 с фосфатом кальция (например, как описано в Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, N.Y.), слияние протопластов, опосредуемую катионными липосомами трансфекцию; облегченную частицами вольфрама бомбардировку микрочастиц (Johnston, Nature, 346: 776-777 (1990)); и копреципитацию ДНК с фосфатом стронция (Brash et al., Mol. Cell Biol., 7: 2031-2034 (1987)).

[0536] Другие подходы и векторы для переноса нуклеиновых кислот, кодирующих рекомбинантные продукты, представляют собой векторы и подходы, описанные, например, в публикации международной патентной заявки № WO2014055668 и патенте США № 7446190.

[0537] В некоторых вариантах осуществления клетки, например, Т-клетки, можно трансфицировать или трансдуцировать либо в процессе, либо после экспансии, например, нуклеиновой кислотой, кодирующей химерный рецептор антигена (CAR). Эту трансдукцию или трансфекцию для введения гена желаемого рецептора можно проводить, например, с помощью любого подходящего ретровирусного вектора. Затем популяцию генетически модифицированных клеток можно освобождать от первоначального стимула (стимул анти-CD3/анти-CD28, например), а затем стимулировать вторым типом стимула, например, через введенный *de novo* рецептор). Этот второй тип стимула может включать антигенный стимул в форме молекулы пептид/МНС, собственного (связывающего) лиганда введенного способами генной инженерии рецептора (например, природный лиганд CAR) или любого лиганда (такого как антитело), который прямо связывается с каркасом нового рецептора (например, посредством распознавания константных областей в рецепторе). 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*).

[0538] В некоторых случаях можно использовать вектор, который не требует активации клеток, например, Т-клеток. В некоторых таких случаях клетку можно подвергать селекции и/или трансдуцировать перед активацией. Таким образом, клетки можно модифицировать способами инженерии до или после культивирования клеток и в некоторых случаях в то же время или в процессе по меньшей мере части культивирования.

[0539] Среди дополнительных нуклеиновых кислот, например, генов, подлежащих введению, представлены гены, которые повышают эффективность терапии, например, путем обеспечения жизнеспособности и/или функции перенесенных клеток; гены, предоставляющие генетический маркер для селекции и/или оценки клеток, например, для оценки выживаемости или локализации *in vivo*; гены, повышающие безопасность, например, делая клетку чувствительной к отрицательной селекции *in vivo*, как описано Lupton S. D. et al., *Mol. и Cell Biol.*, 11:6 (1991); и Riddell et al., *Human Gene Therapy* 3:319-338 (1992); также см. публикации PCT/US91/08442 и PCT/US94/05601, Lupton et al., в которых описано применение бифункциональных селективных слитых генов, образованных путем слияния доминантного положительного селективного маркера с негативным селективным маркером. См., например, Riddell et al., патент США № 6040177, колонки 14-17.

4. Культивирование, экспансия и составление модифицированных клеток

[0540] В некоторых вариантах осуществления способы получения модифицированных клеток, например, для клеточной терапии в соответствии с любыми из предусматриваемых способов, применений, изделий или композиций, включают одну

или несколько стадий культивирования клеток, например, культивирования клеток в условиях, которые способствуют пролиферации и/или экспансии. В некоторых вариантах осуществления клетки культивируют в условиях, которые способствуют пролиферации и/или экспансии, а затем проводят стадию генной модификации, например, введения рекомбинантного полипептида в клетки посредством трансдукции или трансфекции. В конкретных вариантах осуществления клетки культивируют после инкубации клеток в условиях стимуляции и трансдукции или трансфекции рекомбинантным полинуклеотидом, например, полинуклеотидом, кодирующим рекомбинантный рецептор. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления композицию CAR-положительных Т-клеток, модифицированных посредством трансдукции или трансфекции рекомбинантного полинуклеотида, кодирующего CAR, культивируют в условиях, которые способствуют пролиферации и/или экспансии.

[0541] В определенных вариантах осуществления одна или несколько композиций модифицированных Т-клеток представляют собой или включают две отдельных композиции обогащенных Т-клеток, таких как две отдельных композиции обогащенных Т-клеток, модифицированных посредством полинуклеотида, кодирующего рекомбинантный рецептор, например CAR. В конкретных вариантах осуществления две отдельных композиции обогащенных Т-клеток, например, две отдельных композиции обогащенных Т-клеток, подвергнутых селекции, выделению и/или обогащению из одного и того же биологического образца, культивируют по отдельности в условиях стимуляции, например, после стадии модификации способами генной инженерии, например, введения рекомбинантного полипептида в клетки посредством трансдукции или трансфекции. В определенных вариантах осуществления две отдельных композиции включают композицию обогащенных CD4⁺ Т-клеток, таких как композиция обогащенных CD4⁺ Т-клеток, модифицированных посредством полинуклеотида, кодирующего рекомбинантный рецептор, например CAR. В конкретных вариантах осуществления две отдельных композиции включают композицию обогащенных CD8⁺ Т-клеток, такую как композиция обогащенных CD4⁺ Т-клеток, модифицированных посредством полинуклеотида, кодирующего рекомбинантный рецептор, например CAR. В некоторых вариантах осуществления две отдельных композиции обогащенных CD4⁺ Т-клеток и обогащенных CD8⁺ Т-клеток, такие как композиция обогащенных CD4⁺ Т-клеток и композиция обогащенных CD8⁺ Т-клеток, каждая из которых по отдельности модифицирована посредством полинуклеотида, кодирующего рекомбинантный рецептор, например CAR, культивируют по отдельности, например, в условиях, которые способствуют пролиферации и/или экспансии.

[0542] В некоторых вариантах осуществления культивирование проводят в условиях, которые способствуют пролиферации и/или экспансии. В некоторых вариантах осуществления такие условия могут быть предназначены для индукции пролиферации, экспансии, активации и/или выживания клеток в популяции. В конкретных вариантах осуществления условия стимуляции могут включать одно или несколько из конкретной

среды, температуры, содержания кислорода, содержания диоксида углерода, времени, агентов, например, питательных веществ, аминокислот, антибиотиков, ионов и/или стимулирующих факторов, таких как цитокины, хемокины, антигены, партнеры по связыванию, слитые белки, рекомбинантные растворимые рецепторы и любые другие средства, предназначенные для стимуляции роста, деления и/или экспансии клеток.

[0543] В конкретных вариантах осуществления клетки культивируют в присутствии одного или нескольких цитокинов. В конкретных вариантах осуществления один или несколько цитокинов представляют собой рекомбинантные цитокины. В некоторых вариантах осуществления один или несколько цитокинов представляют собой рекомбинантные цитокины человека. В определенных вариантах осуществления один или несколько цитокинов связываются и/или способны связываться с рецепторами, которые экспрессируются посредством и/или являются эндогенными для Т-клеток. В конкретных вариантах осуществления один или несколько цитокинов, например, рекомбинантный цитокин, представляет собой или включает представителя семейства цитокинов с 4-альфа-спиральным пучком. В некоторых вариантах осуществления представители семейства цитокинов с 4-альфа-спиральным пучком включают, но не ограничиваются ими, интерлейкин-2 (IL-2), интерлейкин-4 (IL-4), интерлейкин-7 (IL-7), интерлейкин-9 (IL-9), интерлейкин 12 (IL-12), интерлейкин 15 (IL-15), гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF) и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF). В некоторых вариантах осуществления один или несколько рекомбинантных цитокинов включают IL-2, IL-7 и/или IL-15. В некоторых вариантах осуществления клетки, например, модифицированные клетки, культивируют в присутствии цитокина, например, рекомбинантного цитокина человека, в концентрации от 1 ИЕ/мл до 2000 ИЕ/мл, от 10 ИЕ/мл до 100 ИЕ/мл, от 50 ИЕ/мл до 200 ИЕ/мл, от 100 ИЕ/мл до 500 ИЕ/мл, от 100 ИЕ/мл до 1000 ИЕ/мл, от 500 ИЕ/мл до 2000 ИЕ/мл, или от 100 ИЕ/мл до 1500 ИЕ/мл.

[0544] В некоторых вариантах осуществления композицию обогащенных Т-клеток, такую как отдельные композиции модифицированных CD4+ Т-клеток и CD8+ Т-клеток, культивируют с рекомбинантным IL-2, например, рекомбинантным IL-2 человека, в концентрации от 2 ИЕ/мл до 500 ИЕ/мл, от 10 ИЕ/мл до 250 ИЕ/мл, от 100 ИЕ/мл до 500 ИЕ/мл, или от 100 ИЕ/мл до 400 ИЕ/мл. В конкретных вариантах осуществления композицию обогащенных Т-клеток культивируют с IL-2 в концентрации ровно или приблизительно 50 ИЕ/мл, 75 ИЕ/мл, 100 ИЕ/мл, 125 ИЕ/мл, 150 ИЕ/мл, 175 ИЕ/мл, 200 ИЕ/мл, 225 ИЕ/мл, 250 ИЕ/мл, 300 ИЕ/мл или 400 ИЕ/мл. В некоторых вариантах осуществления композицию обогащенных Т-клеток культивируют с рекомбинантным IL-2 в концентрации 200 ИЕ/мл. В некоторых вариантах осуществления композиция обогащенных Т-клеток представляет собой композицию обогащенных CD4+ Т-клеток, такую как композиция модифицированных CD4+ Т-клеток. В конкретных вариантах осуществления композиция обогащенных Т-клеток представляет собой композицию обогащенных CD8+ Т-клеток, такую как композиция модифицированных CD8+ Т-клеток.

[0545] В некоторых вариантах осуществления композицию обогащенных Т-клеток, как например, отдельные композиции модифицированных CD4+ Т-клеток и CD8+ Т-клеток, культивируют с ИЛ-7, например, рекомбинантным ИЛ-7 человека, в концентрации от 10 ИЕ/мл до 5000 ИЕ/мл, от 500 ИЕ/мл до 2000 ИЕ/мл, от 600 ИЕ/мл до 1,500 ИЕ/мл, от 500 ИЕ/мл до 2,500 ИЕ/мл, от 750 ИЕ/мл до 1500 ИЕ/мл, или от 1000 ИЕ/мл до 2000 ИЕ/мл. В конкретных вариантах осуществления композицию обогащенных Т-клеток культивируют с ИЛ-7 в концентрации ровно или приблизительно 100 ИЕ/мл, 200 ИЕ/мл, 300 ИЕ/мл, 400 ИЕ/мл, 500 ИЕ/мл, 600 ИЕ/мл, 700 ИЕ/мл, 800 ИЕ/мл, 900 ИЕ/мл, 1000 ИЕ/мл, 1200 ИЕ/мл, 1400 ИЕ/мл или 1600 ИЕ/мл. В некоторых вариантах осуществления клетки культивируют в присутствии рекомбинантного ИЛ-7 в концентрации ровно или приблизительно 1200 ИЕ/мл. В некоторых вариантах осуществления композиция обогащенных Т-клеток представляет собой композицию обогащенных CD4+ Т-клеток, таких как модифицированные CD4+ Т-клетки.

[0546] В некоторых вариантах осуществления композицию обогащенных Т-клеток, как например, отдельные композиции модифицированных CD4+ Т-клеток и CD8+ Т-клеток, культивируют с ИЛ-15, например, рекомбинантным ИЛ-15 человека, в концентрации от 0,1 ИЕ/мл до 200 ИЕ/мл, от 1 ИЕ/мл до 50 ИЕ/мл, от 5 ИЕ/мл до 25 ИЕ/мл, от 25 ИЕ/мл до 50 ИЕ/мл, от 5 ИЕ/мл до 15 ИЕ/мл, или от 10 ИЕ/мл до 00 ИЕ/мл. В конкретных вариантах осуществления композицию обогащенных Т-клеток культивируют с ИЛ-15 в концентрации ровно или приблизительно 1 ИЕ/мл, 2 ИЕ/мл, 3 ИЕ/мл, 4 ИЕ/мл, 5 ИЕ/мл, 6 ИЕ/мл, 7 ИЕ/мл, 8 ИЕ/мл, 9 ИЕ/мл, 10 ИЕ/мл, 11 ИЕ/мл, 12 ИЕ/мл, 13 ИЕ/мл, 14 ИЕ/мл, 15 ИЕ/мл, 20 ИЕ/мл, 25 ИЕ/мл, 30 ИЕ/мл, 40 ИЕ/мл, 50 ИЕ/мл, 100 ИЕ/мл или 200 ИЕ/мл. В конкретных вариантах осуществления композицию обогащенных Т-клеток культивируют с рекомбинантным ИЛ-15 в концентрации 20 ИЕ/мл. В некоторых вариантах осуществления композиция обогащенных Т-клеток представляет собой композицию обогащенных CD4+ Т-клеток, таких как модифицированные CD4+ Т-клетки. В конкретных вариантах осуществления композиция обогащенных Т-клеток представляет собой композицию обогащенных CD8+ Т-клеток, таких как модифицированные CD8+ Т-клетки.

[0547] В конкретных вариантах осуществления композицию обогащенных CD8+ Т-клеток, таких как модифицированные CD8+ Т-клетки, культивируют в присутствии ИЛ-2 и/или ИЛ-15, например, в описанных количествах. В определенных вариантах осуществления композицию обогащенных CD4+ Т-клеток, таких как модифицированные CD4+ Т-клетки, культивируют в присутствии ИЛ-2, ИЛ-7 и/или ИЛ-15, например, в описанных в количествах. В некоторых вариантах осуществления ИЛ-2, ИЛ-7 и/или ИЛ-15 являются рекомбинантными. В определенных вариантах осуществления ИЛ-2, ИЛ-7 и/или ИЛ-15 являются человеческими. В конкретных вариантах осуществления один или несколько цитокинов представляют собой или включают рекомбинантный ИЛ-2, ИЛ-7 и/или ИЛ-15 человека.

[0548] В некоторых вариантах осуществления культивирование проводят в

условиях, которые обычно включают температуру, пригодную для выращивания первичных иммунных клеток, таких как Т-лимфоциты человека, например, по меньшей мере приблизительно 25 градусов Цельсия, как правило по меньшей мере приблизительно 30 градусов, и обычно ровно или приблизительно 37 градусов Цельсия. В некоторых вариантах осуществления композицию обогащенных Т-клеток инкубируют при температуре от 25 до 38°C, например, от 30 до 37°C, например ровно или приблизительно 37°C ± 2°C. В некоторых вариантах осуществления инкубацию проводят в течение некоторого периода времени до тех пор, пока культивирование, например, культивация или экспансия, не приводит к желаемой или пороговой плотности, количеству или дозе клеток. В некоторых вариантах осуществления инкубацию проводят в течение более чем или приблизительно более чем или в течение приблизительно или ровно 24 часов, 48 часов, 72 часов, 96 часов, 5 суток, 6 суток, 7 суток, 8 суток, 9 суток или более.

[0549] В конкретных вариантах осуществления культивирование проводят в закрытой системе. В определенных вариантах осуществления культивирование проводят в закрытой системе в стерильных условиях. В конкретных вариантах осуществления культивирование проводят в той же закрытой системе, в которой проводят одну или несколько стадий предусматриваемых способов. В некоторых вариантах осуществления композицию обогащенных Т-клеток извлекают из закрытой системы и помещают в и/или подсоединяют к биореактору для культивирования. Примеры подходящих биореакторов для культивирования включают, но не ограничиваются ими, GE Xuri W25, GE Xuri W5, Sartorius BioSTAT RM 20 | 50, Finesse SmartRocker Bioreactor Systems и Pall XRS Bioreactor Systems. В некоторых вариантах осуществления биореактор используют для перфузии и/или смешения клеток в ходе по меньшей мере части стадии культивирования.

[0550] В некоторых вариантах осуществления смешение представляет собой или включает качание и/или движение. В некоторых случаях биореактор можно подвергать движению или качанию, что в некоторых аспектах может повышать поступление кислорода. Движение биореактора может включать, но не ограничиваться ими, вращение вокруг горизонтальной оси, вращение вокруг вертикальной оси, качающее движение вокруг сдвинутой или наклоненной горизонтальной оси биореактора, или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере часть инкубации проводят при качании. Скорость качания и угол качания можно корректировать для достижения требуемого перемешивания. В некоторых вариантах осуществления угол качания составляет 20°, 19°, 18°, 17°, 16°, 15°, 14°, 13°, 12°, 11°, 10°, 9°, 8°, 7°, 6°, 5°, 4°, 3°, 2° или 1°. В определенных вариантах осуществления угол качания составляет 6-16°. В других вариантах осуществления угол качания составляет 7-16°. В других вариантах осуществления угол качания составляет 8-12°. В некоторых вариантах осуществления скорость качания составляет 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40 об/мин. В некоторых вариантах осуществления скорость качания составляет от 4 до 12 об/мин, как например, от 4 до 6 об/мин, включительно.

[0551] В некоторых вариантах осуществления биореактор поддерживает температуру на уровне ровно или приблизительно 37°C и уровень CO_2 ровно или приблизительно 5% при стационарном потоке воздуха со скоростью ровно, приблизительно или по меньшей мере 0,01 л/мин, 0,05 л/мин, 0,1 л/мин, 0,2 л/мин, 0,3 л/мин, 0,4 л/мин, 0,5 л/мин, 1,0 л/мин, 1,5 л/мин, или 2,0 л/мин или более 2,0 л/мин. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере часть культивирования проводят с перфузией, например, при скорости 290 мл/сутки, 580 мл/сутки и/или 1160 мл/сутки, например, в зависимости от времени от начала культивирования и/или плотности культивируемых клеток. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере часть экспансии клеточной культуры проводят при качающем движении, например, с углом от 5° до 10° , таким как 6° , при постоянной скорости качания, такой как скорость от 5 до 15 об/мин, как например 6 об/мин или 10 об/мин.

[0552] В некоторых вариантах осуществления способы производства, получения или продуцирования клеток клеточной терапии и/или модифицированных клеток в соответствии с предусматриваемыми способами, применениями или изделиями, могут включать составление клеток, такое как составление генно-модифицированных клеток, полученных посредством стадий обработки до или после инкубации, модификации и культивирования, и/или одной или нескольких других описанных стадий обработки. В некоторых вариантах осуществления одну или несколько стадий обработки, включая составление клеток, можно проводить в закрытой системе. В некоторых случаях одна или несколько стадий (например, проводимых в центрифужной камере и/или закрытой системе) для производства, получения или продуцирования клеток клеточной терапии и/или модифицированных клеток могут включать составление клеток, например, составление генно-модифицированных клеток, полученных посредством стадий трансдукции до или после культивирования, например, культивации и экспансии, и/или одной или нескольких других стадий обработки. В некоторых вариантах осуществления генно-модифицированные клетки составляют в качестве композиций единичной дозированной формы, включающих количество клеток для введения в данной дозе или их часть.

[0553] В некоторых вариантах осуществления дозу клеток, содержащую клетки, модифицированные рекомбинантным рецептором антигена, например CAR или TCR, предоставляют в качестве композиции или состава, такой как фармацевтическая композиция или состав. Такие композиции можно использовать в соответствии с предусматриваемыми способами, например, для лечения заболеваний, состояний и нарушений, или в способах детекции, диагностических и прогностических способах, применениях и изделиях. В некоторых случаях клетки могут быть составлены в количестве для введения дозировки, например, для введения единичной дозировки или введения множества дозровок.

[0554] В некоторых вариантах осуществления клетки могут быть составлены в контейнере, таком как пакет или флакон. В некоторых вариантах осуществления флакон

может представлять собой флакон для инфузий. В некоторых вариантах осуществления флакон содержит единичную дозу модифицированных клеток, например, включающую количество клеток для введения в данной дозе или его часть.

[0555] В некоторых вариантах осуществления клетки составляют в фармацевтически приемлемом буфере, который в некоторых аспектах может включать фармацевтически приемлемый носитель или эксципиент. В некоторых вариантах осуществления обработка включает замену среды на среду или буфер для составления, которые являются фармацевтически приемлемым или желаемыми для введения индивидууму. В некоторых вариантах осуществления стадии обработки могут вовлекать промывание трансдуцированных и/или подвергнутых экспансии клеток для замены клеток в фармацевтически приемлемом буфере, который включает один или несколько необязательных фармацевтически приемлемых носителей или эксципиентов. Примерами таких фармацевтических форм, включая фармацевтически приемлемые носители или эксципиенты, могут быть любые из описанных ниже, совместно с формами, приемлемыми для введения клеток и композиций индивидууму. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит клетки в количествах, эффективных для лечения или предупреждения заболевания или состояния, таких как терапевтически эффективное или профилактически эффективное количество.

[0556] В некоторых вариантах осуществления буфер для составления содержит криоконсервант. В некоторых вариантах осуществления клетки составляют с раствором для криоконсервации, который включает 1,0%-30% раствор DMSO, такой как 5%-20% раствор DMSO или 5%-10% раствор DMSO. В некоторых вариантах осуществления раствор для криоконсервации представляет собой или содержит, например, PBS, содержащий 20% DMSO и 8% сывороточный альбумин человека (HSA), или другую подходящую среду для замораживания клеток. В некоторых вариантах осуществления раствор для криоконсервации представляет собой или содержит, например, по меньшей мере или приблизительно 7,5% DMSO. В некоторых вариантах осуществления стадии обработки могут включать промывание трансдуцированных и/или подвергнутых экспансии клеток для замены клеток в растворе для криоконсервации. В некоторых вариантах осуществления клетки замораживают, например, с использованием криопротекции или криоконсервации в среде и/или растворе с конечной концентрацией ровно или приблизительно 12,5%, 12,0%, 11,5%, 11,0%, 10,5%, 10,0%, 9,5%, 9,0%, 8,5%, 8,0%, 7,5%, 7,0%, 6,5%, 6,0%, 5,5% или 5,0% DMSO, или от 1% до 15%, от 6% до 12%, от 5% до 10% или от 6% до 8% DMSO. В конкретных вариантах осуществления клетки замораживают, например, с использованием криопротекции или криоконсервации, в среде и/или растворе с конечной концентрацией ровно или приблизительно 5,0%, 4,5%, 4,0%, 3,5%, 3,0%, 2,5%, 2,0%, 1,5%, 1,25%, 1,0%, 0,75%, 0,5%, или 0,25% HSA, или от 0,1% до 5%, от 0,25% до 4%, от 0,5% до 2%, или от 1% до 2% HSA.

[0557] В некоторых вариантах осуществления составление проводят с использованием одной или нескольких стадий обработки, включающих промывание,

разбавление или концентрирование клеток, таких как культивируемые или подвергнутые экспансии клетки. В некоторых вариантах осуществления обработка может включать разведение или концентрирование клеток до желаемой концентрации или количества, как например, в композиции единичной дозированной формы, включающей количество клеток для введения в данной дозе или его часть. В некоторых вариантах осуществления стадии обработки могут включать уменьшение объема, чтобы тем самым увеличить концентрацию клеток, если желательно. В некоторых вариантах осуществления стадии обработки могут включать увеличение объема, чтобы тем самым уменьшить концентрацию клеток, если желательно. В некоторых вариантах осуществления обработка включает добавление некоторого объема буфера для составления к трансдуцированным и/или подвергнутым экспансии клеткам. В некоторых вариантах осуществления объем буфера для составления составляет от или приблизительно от 10 мл до 1000 мл, как например, по меньшей мере, или приблизительно по меньшей мере, или приблизительно или ровно 50 мл, 100 мл, 200 мл, 300 мл, 400 мл, 500 мл, 600 мл, 700 мл, 800 мл, 900 мл или 1000 мл.

[0558] В некоторых вариантах осуществления такие стадии обработки для оставления композиции клеток проводят в закрытой системе. Иллюстративные такие стадии обработки можно проводить с использованием центрифужной камеры совместно с одной или несколькими системами или наборами, ассоциированными с системой обработки клеток, такой как центрифужная камера, изготавливаемая и продаваемая Biosafe SA, включая центрифужные камеры для применения с системами обработки клеток Serax® или Serax 2®. Иллюстративная система и способ описаны в международной публикации номер WO2016/073602. В некоторых вариантах осуществления способ включает обеспечение предоставления составленной композиции во внутреннюю полость центрифужной камеры, что приводит к композиции клеток, составленной в буфере для составления, таком как фармацевтически приемлемый буфер, в любом из описанных вариантов осуществления. В некоторых вариантах осуществления составленную композицию предоставляют в контейнере, таком как флаконы емкостей с биомедицинским материалом, описанным в настоящем описании, который в качестве части закрытой системы функционально связан с центрифужной камерой. В некоторых вариантах осуществления емкости с биомедицинским материалом предназначены для встраивания и/или функционального соединения и/или встроены или функционально соединены с закрытой системой или устройством, в котором проводят одну или несколько стадий обработки. В некоторых вариантах осуществления емкость с биомедицинским материалом соединена с системой на линии выхода или в положении выхода. В некоторых случаях, закрытая система соединена с флаконом емкости с биомедицинским материалом на впускной трубке. Иллюстративные закрытые системы для применения с емкостями с биомедицинским материалом, описанными в настоящем описании, включают систему Serax® и Serax® 2.

[0559] В некоторых вариантах осуществления закрытая система, такая как

ассоциирована с центрифужной камерой или системой обработки клеток, включает многоканальный выпускной комплект элементов, содержащий многоканальную систему трубок, соединенных на каждом конце линии трубки с каналом, к которому может быть подсоединен один или несколько контейнеров, для предоставления составленной композиции. В некоторых аспектах, желаемое количество или множество флаконов может быть стерильным образом подсоединено к одному или нескольким, обычно двум или более, как например, по меньшей мере 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более из каналов многоканального выхода. Например, в некоторых вариантах осуществления один или несколько контейнеров, например, емкости с биомедицинским материалом, могут быть соединены с каналами или с менее чем всеми из каналов. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления система может обеспечивать поступление конечной композиции в множество флаконов емкостей с биомедицинским материалом.

[0560] В некоторых аспектах, клетки могут быть предоставлены в один или несколько из множества контейнеров с продуктом, например, флаконов, в количестве для введения дозы, такого как введение единичной дозы или введение множества доз. Например, в некоторых вариантах осуществления флаконы могут содержать количество клеток для введения в данной дозе или его часть. Таким образом, в некоторых аспектах каждый флакон может содержать единичную дозу для введения или может содержать часть желаемой дозы, так что несколько из множества флаконов, как например, два из флаконов или 3 из флаконов, вместе составляют дозу для введения. В некоторых вариантах осуществления дозу для введения составляют 4 флакона вместе.

[0561] Таким образом, контейнеры, например, пакеты или флаконы, как правило, содержат клетки, подлежащие введению, например, одну или несколько их единичных доз. Единичная доза может представлять собой уровень или количество клеток, вводимых индивидууму, или двукратное количество (или более) клеток, подлежащих введению. Она может представлять собой наиболее низкую дозу или наиболее низкую возможную дозу клеток, которая может быть введена индивидууму. В некоторых аспектах предусматриваемые изделия включают один или несколько из множества контейнеров с продуктом.

[0562] В некоторых вариантах осуществления каждый из контейнеров, например, пакетов или флаконов, индивидуально содержит единичную дозу клеток. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления каждый из контейнеров содержит одно и то же или приблизительно или по существу одно и то же количество клеток. В некоторых вариантах осуществления каждая единичная доза содержит ровно, или приблизительно, или по меньшей мере, или по меньшей мере приблизительно 1×10^6 , 2×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , или 1×10^8 модифицированных клеток, тотальных клеток, Т-клеток или РВМС. В некоторых вариантах осуществления каждая единичная доза содержит ровно, или приблизительно, или по меньшей мере, или по меньшей мере приблизительно 1×10^6 , 2×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 или 1×10^8 CAR+ Т-клеток, которые являются CD3+, как например, CD4+ или CD8+, или их жизнеспособной подгруппы. В некоторых вариантах

осуществления объем составленной клеточной композиции в каждом контейнере, например, пакете или флаконе, составляет от ровно или приблизительно 10 мл до ровно или приблизительно 100 мл, как например, ровно или приблизительно или по меньшей мере или приблизительно по меньшей мере 20 мл, 30 мл, 40 мл, 50 мл, 60 мл, 70 мл, 80 мл, 90 мл или 100 мл. В некоторых вариантах осуществления объем составленной композиции клеток в каждом контейнере, например, пакете или флаконе, составляет от ровно или приблизительно 1 мл до ровно или приблизительно 10 мл, как например, от ровно или приблизительно 1 мл до ровно или приблизительно 5 мл. В некоторых вариантах осуществления объем составленной композиции клеток в каждом контейнере, например, пакете или флаконе, составляет от ровно или приблизительно 4 мл до ровно или приблизительно 5 мл. В некоторых вариантах осуществления объем составленной композиции клеток в каждом контейнере, например, пакете или флаконе, составляет или приблизительно составляет 4,4 мл. В некоторых вариантах осуществления объем составленной композиции клеток в каждом контейнере, например, пакете или флаконе, составляет или приблизительно составляет 4,5 мл. В некоторых вариантах осуществления объем составленной композиции клеток в каждом контейнере, например, пакете или флаконе, составляет или приблизительно составляет 4,6 мл. В некоторых вариантах осуществления объем составленной композиции клеток в каждом контейнере, например, пакете или флаконе, составляет или приблизительно составляет 4,7 мл. В некоторых вариантах осуществления объем составленной композиции клеток в каждом контейнере, например, пакете или флаконе, составляет или приблизительно составляет 4,8 мл. В некоторых вариантах осуществления объем составленной композиции клеток в каждом контейнере, например, пакете или флаконе, составляет или приблизительно составляет 4,9 мл. В некоторых вариантах осуществления объем составленной композиции клеток в каждом контейнере, например, пакете или флаконе, составляет или приблизительно составляет 5,0 мл.

[0563] В некоторых вариантах осуществления составленная композиция клеток имеет концентрацию более чем ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем ровно или приблизительно $1,0 \times 10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем ровно или приблизительно $1,5 \times 10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем ровно или приблизительно $2,0 \times 10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем ровно или приблизительно $2,5 \times 10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем ровно или приблизительно $2,6 \times 10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR^+)/CD3+ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем ровно или приблизительно $2,7 \times 10^6$ экспрессирующих

рекомбинантный рецептор (например CAR⁺)/CD3⁺ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем ровно или приблизительно $2,8 \times 10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR⁺)/CD3⁺ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем ровно или приблизительно $2,9 \times 10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR⁺)/CD3⁺ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл более чем ровно или приблизительно $3,0 \times 10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR⁺)/CD3⁺ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем ровно или приблизительно $3,5 \times 10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR⁺)/CD3⁺ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем ровно или приблизительно $4,0 \times 10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR⁺)/CD3⁺ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл, более чем ровно или приблизительно $4,5 \times 10^6$ экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR⁺)/CD3⁺ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл или более чем ровно или приблизительно 5×10^6 экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например CAR⁺)/CD3⁺ клеток или таких жизнеспособных клеток на мл. В некоторых вариантах осуществления CD3⁺ клетки представляют собой CD4⁺ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления CD3⁺ клетки представляют собой CD8⁺ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления CD3⁺ Т-клетки представляют собой CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетки.

[0564] В некоторых вариантах осуществления клетки в контейнере, например, пакете или флаконах, могут быть криоконсервированными. В некоторых вариантах осуществления контейнер, например, флаконы, может храниться в жидком азоте до дальнейшего применения.

[0565] В некоторых вариантах осуществления такие клетки, продуцированные посредством способа, или композиция, содержащую такие клетки, вводят индивидууму для лечения заболевания или состояния, например, в соответствии со способами, применениями и изделиями, описанными в настоящем описании.

III. КОМПОЗИЦИИ И СОСТАВЫ

[0566] В некоторых вариантах осуществления клетки, модифицированные рекомбинантным рецептором антигена, например CAR, для введения индивидууму в соответствии со способами и применениями, описанными в настоящем описании, предоставляют в качестве композиции или состава, такой как фармацевтическая композиция или состав. Такие композиции могут использоваться в соответствии с предусматриваемыми способами или применениями, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, например, для предупреждения или лечения заболеваний, состояний и нарушений, таких как В-клеточная злокачественная опухоль или гематологическая злокачественная опухоль, или в способах детекции, диагностических и прогностических способах.

[0567] Термин "фармацевтический состав" относится к препарату, который имеет такую форму, которая обеспечивает эффективность биологической активности активного

ингредиента, содержащегося в нем, и который не содержит дополнительных компонентов, которые являются неприемлемо токсичными для индивидуума, которому вводят состав.

[0568] "Фармацевтически приемлемый носитель" относится к ингредиенту в фармацевтическом составе, отличному от активного ингредиента, который является нетоксичным для индивидуума. Фармацевтически приемлемый носитель включает, но не ограничивается ими, буфер, эксципиент, стабилизатор или консервант.

[0569] В некоторых аспектах выбор носителя частично определяется конкретной клеткой, или средством и/или способом введения. Таким образом, существует множество подходящих составов. Например, фармацевтическая композиция может содержать консерванты. Подходящие консерванты могут включать, например, метилпарабен, пропилпарабен, бензоат натрия и хлорид бензалкония. В некоторых аспектах используют смесь двух или более консервантов. Консервант или их смесь обычно присутствуют в количестве от приблизительно 0,0001% до приблизительно 2% по массе всей композиции. Носители описаны, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980). Фармацевтически приемлемые носители обычно являются нетоксичными для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях, и они включают, но не ограничиваются ими: буферы, такие как фосфатный, цитратный и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как хлорид октадецилдиметилбензиламмония; хлорид гексаметэтония; хлорид бензалкония; хлорид бензэтония; фенол, бутил или бензиловый спирт; алкилпарабены, такие как метил или пропилпарабен; катехол; резорцинол; циклогексанол; 3-пентанол и м-крезол); низкомолекулярные полипептиды (менее чем приблизительно 10 остатков); белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как EDTA; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (например, комплексы Zn-белок) и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как полиэтиленгликоль (ПЭГ).

[0570] В некоторых аспектах в композиции включены буферные вещества. Подходящие буферные вещества включают, например, лимонную кислоту, цитрат натрия, фосфорную кислоту, фосфат калия и различные другие кислоты и соли. В некоторых аспектах используют смесь двух или более буферных веществ. Буферные вещества и их смеси обычно присутствуют в количестве от приблизительно 0,001% до приблизительно 4% по массе от всей композиции. Способы получения подлежащих введению фармацевтических композиций известны. Иллюстративные способы более подробно описаны, например, в Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins; 21st ed. (May 1, 2005).

[0571] Состав или композиция также может содержать более одного активного ингредиента, пригодного для конкретного показания, заболевания или состояния,

подлежащего предупреждению или лечению с использованием клеток или композиций клеток, где соответствующие виды активности не оказывают неблагоприятного влияния друг на друга. Такие активные ингредиенты в подходящем случае присутствуют в комбинации в количествах, которые являются эффективными для предполагаемого назначения. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно включает другие фармацевтически активные вещества или лекарственные средства, такие как любые из средств комбинированной терапии, описанных в настоящем описании, например, в разделе IV, и химиотерапевтических средств, например, аспарагиназы, бусульфана, карбоплатина, цисплатина, даунорубицина, доксорубицина, фторурацила, гемцитабина, гидроксимочевины, метотрексата, паклитаксела, ритуксимаба, винбластина, винкристина и т.д. В некоторых вариантах осуществления дополнительные средства вводят в форме соли, например, фармацевтически приемлемой соли. Подходящие фармацевтически приемлемые кислотно-аддитивные соли включают соли, образованные из минеральных кислот, таких как хлористоводородная, бромистоводородная, фосфорная, метафосфорная, азотная и серная кислоты, и органических кислот, таких как виннокаменная, уксусная, лимонная, яблочная, молочная, фумаровая, бензойная, гликолевая, глюконовая, янтарная и арилсульфоновая кислоты, например, п-толуолсульфоновая кислота.

[0572] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит средства или клетки в количествах, эффективных для лечения или предупреждения заболевания или состояния, таких как терапевтически эффективное или профилактически эффективное количество. В некоторых вариантах осуществления мониторинг терапевтической или профилактической эффективности проводят путем периодической оценки подвергаемых лечению индивидуумов. Для многократных введений на протяжении нескольких суток или более, в зависимости от состояния, лечение повторяют до тех пор, пока не произойдет желаемое подавление симптомов заболевания. Однако могут быть пригодными другие режимы дозирования, и они могут быть определены. Требуемую дозировку можно доставлять посредством однократного болюсного введения композиции, посредством многократных болюсных введений композиции, или посредством непрерывной инфузии композиции.

[0573] Клетки и/или дополнительные средства можно вводить любым подходящим способом, например, посредством болюсной инфузии, посредством инъекции, например, внутривенных или подкожных инъекций, внутриглазной инъекции, окологлазной инъекции, субретинальной инъекции, интравитреальной инъекции, трансептальной инъекции, субсклеральной инъекции, интрахориоидальной инъекции, интракамеральной инъекции, субконъюнктивальной инъекции, инъекции в субтеноново пространство, ретробульбарной инъекции, околубульбарной инъекции или доставки в заднюю окологсклеральную область. В некоторых вариантах осуществления их вводят посредством парентерального, внутрилегочного и интраназального введения, и, если желательно для местного лечения, посредством введения в очаг повреждения. Парентеральные инфузии

включают внутримышечное, внутривенное, внутриартериальное, внутрибрюшинное или подкожное введение. В некоторых вариантах осуществления данную дозу вводят посредством однократного болюсного введения клеток или средства. В некоторых вариантах осуществления ее вводят посредством многократных болюсных введений клеток или средства, например, на протяжении периода, составляющего не более 3 суток, или посредством непрерывного инфузионного введения клеток или средства.

[0574] Для предупреждения или лечения заболевания подходящая дозировка может зависеть от типа подвергаемого лечению заболевания, типа средства или средств, типа клеток или рекомбинантных рецепторов, тяжести и течения заболевания, введения средства или клеток для профилактических или терапевтических целей, предшествующей терапии, клинического анамнеза индивидуума и ответа на средство или клетки, и мнения лечащего врача. В некоторых вариантах осуществления композиции в подходящем случае вводят индивидууму за один раз или на протяжении серии введений.

[0575] Клетки и/или дополнительные средства можно вводить с использованием стандартных способов введения, составов и/или устройств. Предусматриваются составы и устройства, такие как шприцы и флаконы, для хранения и введения композиций. В некоторых аспектах клетки и/или дополнительные средства вводят с использованием небольшого шприца. Что касается клеток, введение может быть аутологичным или гетерологичным. Например, иммунореактивные клетки или предшественники можно получать от одного индивидуума и вводить тому же индивидууму или другому совместимому индивидууму. Иммунореактивные клетки периферической крови или их потомки (например, происходящие *in vivo*, *ex vivo* или *in vitro*) можно вводить посредством локализованной инъекции, в том числе введения через катетер, системной инъекции, локализованной инъекции, внутривенной инъекции или парентерального введения. При введении терапевтической композиции (например, фармацевтической композиции, содержащей модифицированную способами инженерии иммунореактивную клетку или средство, которое осуществляет лечение или смягчение симптомов нейротоксичности), ее обычно составляют в единичной дозированной инъекционной форме (раствор, суспензия, эмульсия).

[0576] Составы включают составы для перорального, внутривенного, внутрибрюшинного, подкожного, легочного, трансдермального, внутримышечного, интраназального, буккального, сублингвального введения или введения с помощью суппозитория. В некоторых вариантах осуществления средство или популяции клеток вводят парентерально. Термин "парентеральный", как используют в рамках изобретения, включает внутривенное, внутримышечное, подкожное, ректальное, вагинальное и внутрибрюшинное введение. В некоторых вариантах осуществления средство или популяции клеток вводят индивидууму с использованием периферической системной доставки посредством внутривенной, внутрибрюшинной или подкожной инъекции.

[0577] В некоторых вариантах осуществления композиции предоставляют в качестве стерильных жидких препаратов, например, изотонических водных растворов,

суспензий, эмульсий, дисперсий или вязких композиций, которые в некоторых аспектах могут быть забуферены для обеспечения определенного значения pH. Жидкие препараты обычно легче получить, чем гели, другие вязкие композиции и твердые композиции. Кроме того, жидкие композиции в некоторой степени удобнее вводить, особенно посредством инъекции. Вязкие композиции, с другой стороны, можно составлять в пределах подходящего диапазона вязкости для обеспечения более длительных периодов контакта с определенными тканями. Жидкие или вязкие композиции могут включать носители, которые могут представлять собой растворитель или дисперсионную среду, содержащую, например, воду, солевой раствор, фосфатно-солевой буфер, многоатомный спирт (например, глицерин, пропиленгликоль, жидкий полиэтиленгликоль) и подходящие их смеси.

[0578] Стерильные инъекционные растворы можно получать путем включения клеток в растворитель, например, в смеси с подходящим носителем, разбавителем или эксципиентом, таким как стерильная вода, физиологический солевой раствор, глюкоза, декстроза и т.п.

[0579] Составы для применения для введения *in vivo* обычно являются стерильными. Стерильности можно без труда достигать, например, посредством фильтрации через стерильные фильтрационные мембраны.

IV. КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ

[0580] В некоторых вариантах осуществления способов, изделий, применений или композиций, клеточную терапию, например, введение дозы Т-клеток (например, CAR⁺ Т-клеток) проводят у индивидуумов в комбинации с дополнительным терапевтическим средством или терапией, обычно отличной от клеточной терапии или другой клеточной терапии, как например, отличной от терапии CAR⁺ Т-клетками. В некоторых вариантах осуществления клеточную терапию, например, введение дозы генно-модифицированных Т-клеток, таких как CAR⁺ Т-клетки, в предусматриваемых способах или применениях, и/или посредством изделий или композиций, проводят в качестве части комбинированного лечения или комбинированной терапии, например, одновременно, последовательно или поочередно в любом порядке с одним или несколькими дополнительными терапевтическими вмешательствами. В некоторых вариантах осуществления одно или несколько дополнительных терапевтических вмешательств включают любое средство или способ лечения или предупреждения заболевания или состояния, такого как В-клеточная злокачественная опухоль, например, ALL или NHL, и/или любое средство или способ лечения для повышения эффективности, длительности нахождения и/или активности терапии модифицированными клетками.

[0581] В некоторых вариантах осуществления введение дополнительного терапевтического средства или терапию проводят у индивидуумов, которые являются, или вероятно будут, или для которых спрогнозировано, что они будут, плохо отвечать и/или не отвечать, вероятно не будут отвечать и/или согласно прогнозам не будут отвечать или не отвечают в течение определенного времени и/или в определенной степени на лечение

посредством клеточной терапии, например, дозы Т-клеток (например, CAR⁺ Т-клеток). В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство вводят индивидуумам, которые не демонстрируют, или вероятно не будут демонстрировать, или для которых спрогнозировано, что они не будут демонстрировать, полный ответ или общий ответ, например, в пределах 1 месяца, в пределах двух месяцев или в пределах трех месяцев после начала проведения клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство вводят индивидуумам, которые демонстрируют, или вероятно будут демонстрировать, или для которых спрогнозировано, что они будут демонстрировать, прогрессирующее заболевание (PD), например, в пределах 1 месяца, двух месяцев или трех месяцев после проведения клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления индивидуум вероятно или согласно прогнозам не будет демонстрировать ответ или определенный ответ, исходя из множества индивидуумов в сходной ситуации, которых лечат таким образом или лечили ранее посредством клеточной терапии.

[0582] В некоторых вариантах осуществления наблюдают, что индивидуум, который может или который более вероятно будет демонстрировать плохой ответ на клеточную терапию, например, дозу Т-клеток (например, CAR⁺ Т-клеток), включает индивидуума с ALL или NHL, который имеет или идентифицирован как имеющий стабильное или прогрессирующее заболевание (SD/PD) после лечения посредством предшествующей терапии, например, предшествующей терапии химиотерапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство или терапию можно вводить до, вместе или в то же время и/или после начала проведения клеточной терапии, например, введения дозы Т-клеток (например, CAR⁺ Т-клеток).

[0583] В определенных вариантах осуществления обнаруживают, что фармакокинетика (PK) клеточной терапии в крови индивидуумов после проведения клеточной терапии является сходной или по существу не отличается между индивидуумами (например, демонстрирует CR или OR) относительно индивидуумов, которые не отвечают (например, демонстрируют PD) на клеточную терапию. В некоторых вариантах осуществления такое наблюдение указывает на то, что клеточная терапия имела или имеет развернутое действие у индивидуума, но не демонстрирует оптимальную эффективность.

[0584] В некоторых контекстах оптимальная эффективность клеточной терапии может зависеть от способности введенных клеток распознавать и связывать мишень, например, антиген-мишень, для транспортировки, локализации и успешного проникновения в соответствующие области у индивидуума, опухоли и их окружение. В некоторых контекстах оптимальная эффективность может зависеть от способности введенных клеток к активации, экспансии, выполнению различных эффекторных функций, включая цитотоксическое уничтожение и секрецию различных факторов, таких как цитокины, к персистенции, в том числе длительному, к дифференцировке, переходу или вовлечению в перепрограммирование в определенные фенотипические

состояния (такие как состояние длительной памяти, менее дифференцированное состояние и эффекторное состояние), чтобы избежать или уменьшать иммуносупрессивные условия в локальном микроокружении заболевания, для обеспечения эффективных и устойчивых вторичных ответов после устранения и повторного воздействия лиганда-мишени или антигена-мишени, или избегания или уменьшения истощения, анергии, периферической толерантности, терминальной дифференцировки и/или дифференцировки в супрессивное состояние.

[0585] В некоторых аспектах эффективность иммунотерапии, например, Т-клеточной терапии, может ограничиваться иммуносупрессивной активностью или факторами, присутствующими в локальном микроокружении области заболевания или нарушения, например ТМЕ. В некоторых аспектах ТМЕ содержит или продуцирует факторы или условия, которые могут подавлять активность, функцию, пролиферацию, выживание и/или персистенцию Т-клеток, введенных для Т-клеточной терапии.

[0586] В некоторых вариантах осуществления введение дополнительного средства или проведение терапии до, вместе или одновременно и/или после начала проведения клеточной терапии, например, введения дозы Т-клеток (например, CAR⁺ Т-клеток) может приводить к увеличенной активности, эффективности и/или персистенции клеточной терапии и/или улучшению ответов подвергаемого лечению индивидуума. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство для комбинированного лечения или комбинированной терапии усиливает, способствует и/или обеспечивает эффективность и/или безопасность терапевтического эффекта клеточной терапии, например, терапии модифицированными Т-клетками, такими как CAR⁺ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство усиливает или улучшает безопасность, выживание или персистенцию введенных клеток, например, клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, например CAR.

[0587] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство терапии представляет собой антитело или цитотоксическое или терапевтическое средство, например, химиотерапевтическое средство. В некоторых вариантах осуществления одно или несколько дополнительных средств для лечения или терапии представляет собой иммуномодулирующее средство, ингибитор иммунной точки контроля, антагонист или агонист каскада аденозина или рецептора аденозина, и ингибиторы киназ. В некоторых вариантах осуществления комбинированное лечение или комбинированная терапия включает дополнительное лечение, такое как хирургическое лечение, трансплантация и/или лучевая терапия.

[0588] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство выбрано из ингибитора протеинфосфатазы, ингибитора киназы, цитокина, иммуномодулятора или средства, которое уменьшает уровень или активность регуляторной Т-клетки (Treg). В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство повышает безопасность посредством снижения или смягчения неблагоприятных эффектов проведенной клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство может лечить

то же заболевание, состояние или сопутствующее заболевание. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство может облегчать, снижать или устранять один или несколько видов токсичности, неблагоприятных эффектов или побочных эффектов, которые ассоциированы с введением клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток.

[0589] В некоторых вариантах осуществления дополнительная терапия, лечение или средство включает химиотерапию, лучевую терапию, хирургическую операцию, трансплантацию, адоптивную клеточную терапию, антитела, цитотоксические средства, химиотерапевтические средства, цитокины, ингибирующие рост средства, антигормональные средства, ингибиторы киназ, антиангиогенные средства, кардиопротекторы, иммуностимулирующие средства, иммуносупрессоры, ингибиторы иммунной точки контроля, антибиотики, ингибиторы ангиогенеза, модуляторы метаболизма или другие терапевтические средства или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой белок, пептид, нуклеиновую кислоту, низкомолекулярное средство, клетку, токсин, липид, углевод или их комбинации, или любой другой тип терапии, например, лучевую терапию. В некоторых вариантах осуществления дополнительная терапия, средство или способ лечения включает хирургическую операцию, химиотерапию, лучевую терапию, трансплантацию, введение клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор, например, CAR, ингибитор киназы, ингибитор иммунной точки контроля, ингибитор каскада mTOR, иммуносупрессоры, иммуномодуляторы, антитела, иммунодеструктивные средства, антитела и/или их антигенсвязывающие фрагменты, конъюгаты антител, другие антительные способы терапии, цитотоксины, стероиды, цитокины, пептидные вакцины, гормональную терапию, антиметаболиты, модуляторы метаболизма, лекарственные средства, которые ингибируют либо кальций-зависимую фосфатазу кальциневрин, либо киназу p70S6 (FK506), алкилирующие средства, антрациклины, алкалоиды барвинка, ингибиторы протеасом, агонисты G1TR, ингибиторы протеинтирозинфосфатазы, ингибиторы протеинкиназы, онколитический вирус и/или другие типы иммунотерапии. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство или способ лечения представляет собой трансплантацию костного мозга, направленную на T-клетки абляционную терапию с использованием химиотерапевтических средств, таких как флударабин, лучевую терапию внешним пучком (XRT), циклофосфамид и/или антительную терапию.

[0590] В некоторых вариантах осуществления дополнительным средством является ингибитор киназы, например, ингибитор тирозинкиназы Брутона (Btk), например, ибрутиниб. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой антагонист или агонист каскада аденозина или рецептора аденозина. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой иммуномодулятор, такой как талидомид или производное талидомида (например, леналидомид). В некоторых вариантах осуществления дополнительная терапия, средство или способ лечения представляют собой цитотоксическое или химиотерапевтическое

средство, биологическую терапию (например, антитело, например, моноклональные антитела, или клеточную терапию), или ингибитор (например, ингибитор киназы).

[0591] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой химиотерапевтическое средство. Иллюстративные химиотерапевтические средства включают антрациклин (например, доксорубицин, такой как липосомальный доксорубицин); алкалоид барвинка (например, винбластин, винкристин, виндезин, винорелбин); алкилирующее средство (например, циклофосфамид, декарбазин, мелфалан, ифосфамид, темозоломид); антитело против иммунных клеток (например, алемтузамаб, гемтузамаб, ритуксимаб, тозитумомаб); антиметаболит (включая, например, антагонисты фолиевой кислоты, аналоги пиримидинов, аналоги пуринов и ингибиторы аденозиндезаминазы, такие как флударабин); агонист индуцируемого глюкокортикоидами TNFR-родственного белка (GITR); ингибитор протеасом (например, аклациномицин А, глитоксин или бортезомиб); иммуномодулирующее средство, такое как талидомид или производное талидомида (например, леналидомид).

[0592] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой иммуномодулирующее средство. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия включает иммуномодулирующее средство, которое может стимулировать, преумножать и/или иным образом усиливать противоопухолевый иммунный ответ, например противоопухолевый иммунный ответ введенных модифицированных клеток, например, посредством ингибирования иммуносупрессивной передачи сигнала или усиления иммуностимулирующей передачи сигнала. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой пептид, белок или низкомолекулярное соединение. В некоторых вариантах осуществления белок может представлять собой слитый белок или рекомбинантный белок. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство связывается с иммунологической мишенью, такой как рецептор клеточной поверхности, экспрессируемый на иммунных клетках, таких как Т-клетки, В-клетки или антигенпредставляющие клетки. Например, в некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, слитый белок, низкомолекулярное соединение или полипептид. В некоторых вариантах осуществления связывающие молекулы, рекомбинантные рецепторы, клетки и/или композиции вводят в комбинации с дополнительным средством, которое представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, такое как моноклональное антитело.

[0593] В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство блокирует, ингибирует или противодействует компоненту каскада иммунной точки контроля. Иммунная система имеет множество ингибиторных каскадов, которые вовлечены в поддержание толерантности к своему и к модулированию иммунных ответов. Опухоли могут использовать определенные каскады иммунных точек контроля в качестве

основного механизма иммунной резистентности, в частности, против Т-клеток, специфичных к опухолевым антигенам (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264), например, модифицированных клеток, таких как CAR-экспрессирующие клетки. Поскольку многие такие иммунные точки контроля инициируются взаимодействиями лиганд-рецептор, они могут без труда блокироваться антителами против лигандов и/или их рецепторов. В противоположность большинству средств против злокачественной опухоли, ингибиторы точки контроля не обязательно нацелены непосредственно на опухолевые клетки, а вместо этого нацелены на рецепторы лимфоцитов или их лиганды для усиления эндогенной противоопухолевой активности иммунной системы.

[0594] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой иммуномодулирующее средство, которое представляет собой молекулу-антагонист или ингибитор иммунной точки контроля, способный ингибировать или блокировать функцию молекулы или каскад передачи сигнала, вовлекающий молекулу иммунной точки контроля. В некоторых вариантах осуществления молекула или каскад иммунной точки контроля представляет собой PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA-4, LAG-3, TIM3, VISTA, рецептор аденозина 2A (A2AR), или аденозин, или каскад, вовлекающих любой из вышеуказанных. В определенных вариантах осуществления молекулы-антагонисты, блокирующие каскад иммунной точки контроля, такие как низкомолекулярные соединения, ингибиторы нуклеиновых кислот (например, РНК-и) или молекулы антител, становятся перспективными направлениями иммунотерапии злокачественной опухоли и других заболеваний.

[0595] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной точки контроля представляет собой молекулу, которая полностью или частично снижает, ингибирует, препятствует или модулирует один или несколько белков точки контроля. Белки точки контроля регулируют активацию или функцию Т-клеток. Эти белки ответственны за костимулирующие или ингибиторные взаимодействия при Т-клеточных ответах. Белки иммунной точки контроля регулируют и поддерживают толерантность к своему и длительность и амплитуду физиологических иммунных ответов.

[0596] Ингибиторы иммунной точки контроля включают любое средство, которое блокирует или ингибирует на статистически значимом уровне ингибиторные каскады иммунной системы. Такие ингибиторы могут включать низкомолекулярные ингибиторы или могут включать антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые связывают и блокируют или ингибируют рецепторы иммунной точки контроля, лиганды и/или взаимодействие рецептор-лиганд. В некоторых вариантах осуществления модулирование, усиление и/или стимуляция конкретных рецепторов может ослабить компоненты каскады иммунной точки контроля. Иллюстративные молекулы иммунной точки контроля, на которые может быть осуществлено нацеливание для блокирования, ингибирования, модулирования, усиления и/или стимуляции включают, но не ограничиваются ими, PD-1 (CD279), PD-L1 (CD274, B7-H1), PDL2 (CD273, B7-DC), CTLA-4, LAG-3 (CD223), TIM-3, 4-1BB (CD137), 4-1BBL (CD137L), GITR (TNFRSF18, AITR), CD40, OX40 (CD134,

TNFRSF4), CXCR2, ассоциированные с опухолью антигены (ТАА), В7-Н3, В7-Н4, ВТLА, HVEM, GAL9, В7Н3, В7Н4, VISTA, KIR, 2В4 (принадлежит к семейству молекул CD2 и экспрессируется на всех NK, $\gamma\delta$ Т-клетках и CD8⁺ ($\alpha\beta$) Т-клетках памяти), CD160 (также обозначаемый как BY55), CGEN-15049, CEACAM (например, CEACAM-1, CEACAM-3 и/или CEACAM-5), TIGIT, LAIR1, CD160, 2В4, CD80, CD86, В7-Н3 (CD276), В7-Н4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 или CD270), KIR, A2aR, MHC класса I, MHC класса II, GAL9, аденозин и рецептор трансформирующего фактора роста (TGFR; например, TGFR-бета). Ингибиторы иммунной точки контроля включают антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, или другие связывающие белки, которые связывают и блокируют или ингибируют, и/или усиливают или стимулируют активность одной или нескольких из любых указанных молекул.

[0597] Иллюстративные ингибиторы иммунной точки контроля включают тремелимуаб (блокирующее CTLA-4 антитело, также известное как тицилимуаб, CP-675,206), антитело против OX40, моноклональное антитело против PD-L1 (анти-В7-Н1; MEDI4736), МК-3475 (блокатор PD-1), ниволумаб (антитело против PD-1), СТ-011 (антитело против PD-1), моноклональное антитело BY55, AMP224 (антитело против PD-L1), BMS-936559 (антитело против PD-L1), MPLDL3280A (антитело против PD-L1), MSB0010718C (антитело против PD-L1) и ипилимуаб (антитело против CTLA-4, также известное как Yervoy®, MDX-010 и MDX-101). Примеры иммуномодулирующих антител включают, но не ограничиваются ими, Даклизумаб (Зенапакс), Бевацизумаб (Авастин®), Базиликсимаб, Ипилимуаб, Ниволумаб, пембролизумаб, MPDL3280A, Пидилизумаб (СТ-011), МК-3475, BMS-936559, MPDL3280A (Атезолизумаб), тремелимуаб, IMP321, BMS-986016, LAG525, урелумаб, PF-05082566, TRX518, МК-4166, дацетузумаб (SGN-40), лукатумумаб (HCD122), SEA-CD40, CP-870, CP-893, MEDI6469, MEDI6383, MOXR0916, AMP-224, MSB0010718C (Авелумаб), MEDI4736, PDR001, rHIgM12B7, Улокуплумаб, BKT140, Варлилумаб (CDX-1127), ARGX-110, MGA271, лирилумаб (BMS-986015, IPH2101), IPH2201, ARGX-115, Эмактузумаб, CC-90002 и MNRP1685A или их антигенсвязывающий фрагмент. Другие иллюстративные иммуномодуляторы включают, например, афутузумаб (доступный от Roche®); пегфилграстим (Neulasta®); леналидомид (CC-5013, Revlimid®); талидомид (Тгаломид®), актимид (CC4047); и IRX-2 (смесь цитокинов человека, включающая интерлейкин 1, интерлейкин 2 и интерферон-гамма, CAS 951209-71-5, доступная от IRX Therapeutics).

[0598] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое вводят в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, представляет собой средство, которое связывает и/или ингибирует белок запрограммированной клеточной смерти 1 (PD-1). PD-1 представляет собой белок иммунной точки контроля, который экспрессируется в В-клетках, NK-клетках и Т-клетках (Shinohara et al., 1995, Genomics 23:704-6; Blank et al., 2007, Cancer Immunol Immunother 56:739-45; Finger et al., 1997, Gene 197:177-87; Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264). Основная роль PD-1 состоит в ограничении активности Т-клеток в

периферических тканях в ходе воспаления в ответ на инфекцию, а также в ограничении аутоиммунитета. Экспрессия PD-1 индуцируется в активированных Т-клетках и связывание PD-1 с одним из его эндогенных лигандов действует, ингибируя активацию Т-клеток посредством ингибирования стимулирующих киназ. PD-1 также действует, ингибируя "стоп-сигнал" TCR. PD-1 на высоком уровне экспрессируется на клетках Treg и может усиливать их пролиферацию в присутствии лиганда (Pardoll (2012) *Nature Reviews Cancer* 12:252-264). Антитела против PD-1 используют для лечения меланомы, немелкоклеточного рака легкого, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, рака ободочной и прямой кишки, рака головы и шеи, тройного негативного рака молочной железы, лейкоза, лимфомы и почечно-клеточного рака (Topalian et al., 2012, *N Engl J Med* 366:2443-54; Lipson et al., 2013, *Clin Cancer Res* 19:462-8; Berger et al., 2008, *Clin Cancer Res* 14:3044-51; Gildener-Leapman et al., 2013, *Oral Oncol* 49:1089-96; Menzies & Long, 2013, *Ther Adv Med Oncol* 5:278-85). Иллюстративные антитела против PD-1 включают ниволумаб (Opdivo от BMS), пембролизумаб (Keytruda by Merck), пидилизумаб (CT-011 от Cure Tech), ламбролизумаб (MK-3475 от Merck), и AMP-224 (Merck), ниволумаб (также называемый Opdivo, BMS-936558 или MDX1106; Bristol-Myers Squibb), который представляет собой полностью человеческое моноклональное IgG4-антитело, которое специфически блокирует PD-1. Ниволумаб (клон 5C4) и другие моноклональные антитела человека, которые специфически связывают PD-1, описаны в US 8008449 и WO2006/121168. Пидилизумаб (CT-011; Cure Tech) представляет собой гуманизированное моноклональное IgG1k-антитело, которое связывается с PD-1. Пидилизумаб и другие гуманизированные моноклональные антитела против PD-1 описаны в WO2009/101611. Пембролизумаб (ранее известный как ламбролизумаб и также называемый Keytruda, MK03475; Merck) представляет собой гуманизированное моноклональное IgG4-антитело, которое связывается с PD-1. Пембролизумаб и другие гуманизированные антитела против PD-1 описаны в US 8354509 и WO2009/114335. Другие антитела против PD-1 включают, среди прочих, AMP 514 (Amplimmune), например, антитела против PD-1, описанные в US 8609089, US 2010028330, US 20120114649 и/или US 20150210769. AMP-224 (B7-DCIg; Amplimmune; например, описанный в WO2010/027827 и WO2011/066342), представляет собой слитый растворимый рецептор PD-L2-Fc, который блокирует взаимодействие между PD-1 и B7-H1.

[0599] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое вводят в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, представляет собой средство, которое связывает или ингибирует PD-L1 (также известный как CD274 и B7-H1) и/или PD-L2 (также известный как CD273 и B7-DC). PD-L1 и PD-L2 являются лигандами для PD-1, присутствующими на активированных Т-клетках, В-клетках, миелоидных клетках, макрофагах и некоторых типах опухолевых клеток. Противоопухолевая терапия сфокусирована на антителах против PD-L1. Комплекс PD-1 и PD-L1 ингибирует пролиферацию CD8⁺ Т-клеток и снижает иммунный ответ (Topalian et al., 2012, *N Engl J Med* 366:2443-54; Brahmer et al.,

2012, N Eng J Med 366:2455-65). Антитела против PD-L1 используются для лечения немелкоклеточного рака легкого, меланомы, рака ободочной и прямой кишки, почечно-клеточного рака, рака поджелудочной железы, рака желудка, рака яичника, рака молочной железы и гематологических злокачественных опухолей (Brahmer et al., 2012, N Eng J Med 366:2455-65; Ott et al., 2013, Clin Cancer Res 19:5300-9; Radvanyi et al., 2013, Clin Cancer Res 19:5541; Menzies & Long, 2013, Ther Adv Med Oncol 5:278-85; Berger et al., 2008, Clin Cancer Res 14:13044-51). Иллюстративные антитела против PD-L1 включают MDX-1105 (Medarex), MEDI4736 (Medimmune) MPDL3280A (Genentech), BMS-935559 (Bristol-Myers Squibb) и MSB0010718C. MEDI4736 (Medimmune) представляет собой моноклональное антитело человека, которое связывает PD-L1 и ингибирует взаимодействие лиганда с PD-1. MDPL3280A (Genentech/Roche) представляет собой моноклональное IgG1-антитело человека с оптимизированным Fc, которое связывается с PD-L1. MDPL3280A и другие моноклональные антитела человека к PD-L1 описаны в патенте США № 7943743 и публикации США № 20120039906. Другие связывающие PD-L1 агенты включают YW243.55.S70 (см. WO2010/077634) и MDX-1105 (также обозначаемое как BMS-936559, и, например, связывающие PD-L1 агенты, описанные в WO2007/005874).

[0600] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое вводят в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, представляет собой средство, которое является ингибитором ассоциированного с цитотоксическими Т-лимфоцитами антигена (CTLA-4), также известного как CD152, или связывает CTLA-4. CTLA-4 является коингибиторной молекулой, которая выполняет функцию регуляции активации Т-клеток. CTLA-4 является представителем суперсемейства иммуноглобулинов, который экспрессируется исключительно на Т-клетках. CTLA-4 действует, ингибируя активацию Т-клеток, и сообщалось, что он ингибирует активность хелперных Т-клеток и усиливает иммуносупрессивную активность регуляторных Т-клеток. Хотя точный механизм действия CTLA-4 еще исследуется, было предположено, что он ингибирует активацию Т-клеток посредством конкурентного вытеснения CD28 из связывания с CD80 и CD86, а также активной доставки ингибиторных сигналов к Т-клеткам (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264). Антитела против CTLA-4 используют в клинических испытаниях для лечения меланомы, рака предстательной железы, мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого (Robert & Ghiringhelli, 2009, Oncologist 14:848-61; Ott et al., 2013, Clin Cancer Res 19:5300; Weber, 2007, Oncologist 12:864-72; Wada et al., 2013, J Transl Med 11:89). Существенным признаком средства против CTLA-4 является кинетика противоопухолевого эффекта с лаг-периодом вплоть до 6 месяцев после первоначального лечения, требуемого для физиологического ответа. В некоторых случаях, опухоли могут фактически увеличиваться в размере после начала лечения перед тем, как наблюдается ответ (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264). Иллюстративные антитела против CTLA-4 включают ипилимумаб (Bristol-Myers Squibb) и тремелимумаб (Pfizer). Ипилимумаб недавно получил одобрение FDA для лечения метастазирующей

меланомы (Wada et al., 2013, J Transl Med 11:89).

[0601] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое вводят в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, представляет собой средство, которое связывает и/или ингибирует ген 3 активации лимфоцитов (LAG-3), также известный как CD223. LAG-3 является другим белком иммунной точки контроля. LAG-3 ассоциирован с ингибированием активности лимфоцитов и в некоторых случаях индукцией анергии лимфоцитов. LAG-3 экспрессируется на различных клетках иммунной системы, включая В-клетки, NK-клетки и дендритные клетки. LAG-3 является природным лигандом рецептора МНС класса II, который экспрессируется по существу на инфильтрирующих меланому Т-клетках, включая клетки, наделенные мощной иммуносупрессивной активностью. Иллюстративные антитела против LAG-3 включают BMS-986016 (Bristol-Myers Squibb), который представляет собой моноклональное антитело, которое нацелено на LAG-3. IMP701 (Immutep) представляет собой антитело-антагонист LAG-3 и IMP731 (Immutep и GlaxoSmithKline) представляет собой истощающее антитело против LAG-3. Другие ингибиторы LAG-3 включают IMP321 (Immutep), который представляет собой рекомбинантный слитый белок растворимой части LAG-3 и Ig, который связывается с молекулами МНС класса II и активирует антигенпредставляющие клетки (АРС). Другие антитела описаны, например, в WO2010/019570 и US 2015/0259420.

[0602] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое вводят в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, представляет собой средство, которое связывает и/или ингибирует белок 3 с Т-клеточным иммуноглобулиновым доменом и муциновым доменом (TIM-3). Было показано, что TIM-3, первоначально идентифицированный на активированных Th1-клетках, является негативным регулятором иммунного ответа. Блокада TIM-3 способствует опосредуемому Т-клетками противоопухолевому иммунитету и имеет противоопухолевую активность в ряде моделей опухолей на мышах. Комбинации блокады TIM-3 с другими иммунотерапевтическими средствами, такими как TSR-042, антитела против CD137 и другие, могут быть аддитивными или синергическими в отношении повышения противоопухолевых эффектов. Экспрессия TIM-3 ассоциирована с рядом различных типов опухолей, включая меланому, NSCLC и рак почки, и, кроме того, было показано, что экспрессия внутриопухолевого TIM-3 коррелирует с плохим прогнозом среди ряда типов опухолей, включая NSCLC, рак шейки матки и рак желудка. Блокада TIM-3 также представляет интерес в отношении способствования повышению иммунитета к ряду хронических вирусных заболеваний. Также было показано, что TIM-3 взаимодействует с рядом лигандов, включая галектин-9, фосфатидилсерин и HMGB1, хотя в настоящее время неясно, какие из них, если какие-либо из них, имеют отношение к регуляции противоопухолевых ответов. В некоторых вариантах осуществления антитела, фрагменты антител, низкомолекулярные соединения или пептидные ингибиторы, которые нацелены на TIM-3, могут связываться с IgV-доменом TIM-3, ингибируя взаимодействие с

его лигандами. Иллюстративные антитела и пептиды, которые ингибируют TIM-3, описаны в US 2015/0218274, WO2013/006490 и US 2010/0247521. Другие антитела против TIM-3 включают гуманизированные версии RMT3-23 (Ngiow et al., 2011, Cancer Res, 71:3540-3551) и клон 8B.2C12 (Monney et al., 2002, Nature, 415:536-541). Биспецифические антитела, которые ингибируют TIM-3 и PD-1, описаны в US 2013/0156774.

[0603] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое вводят в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, представляет собой средство, которое является ингибитором CEACAM (например, ингибитор CEACAM-1, CEACAM-3 и/или CEACAM-5). В некоторых вариантах осуществления ингибитор CEACAM представляет собой молекулу антитела против CEACAM. Иллюстративные антитела против CEACAM-1 описаны в WO 2010/125571, WO 2013/082366 WO 2014/059251 и WO 2014/022332, например, моноклональное антитело 34B1, 26H7 и 5F4; или его рекомбинантная форма, как описано, например, в US 2004/0047858, US 7132255 и WO 99/052552. В некоторых вариантах осуществления антитело против CEACAM связывается с CEACAM-5, как описано, например, в Zheng et al. PLoS One. (2011) 6(6): e21146), или перекрестно реагирует с CEACAM-1 и CEACAM-5, как описано, например, в WO 2013/054331 и US 2014/0271618.

[0604] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое вводят в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, представляет собой средство, которое связывает и/или ингибирует 4-1BB, также известное как CD137. 4-1BB представляет собой трансмембранный гликопротеин, принадлежащий суперсемейству TNFR. Рецепторы 4-1BB присутствуют на активированных Т-клетках и В-клетках, и моноцитах. Иллюстративным антителом против 4-1BB является урелумаб (BMS-663513), который обладает потенциальной иммуностимулирующей и антинеопластической активностью.

[0605] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое вводят в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, представляет собой средство, которое связывает и/или ингибирует представитель 4 суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли (TNFRSF4), также известный как OX40 и CD134. TNFRSF4 является другим представителем суперсемейства TNFR. OX40 не экспрессируется конститутивно на покоящихся наивных Т-клетках и выступает в качестве вторичной костимулирующей молекулы иммунной точки контроля. Иллюстративные антитела против OX40 представляют собой MEDI6469 и MOXR0916 (RG7888, Genentech).

[0606] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое вводят в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, представляет собой средство или молекулу, которые уменьшают популяцию регуляторных Т-клеток (Treg). Способы, которые уменьшают количество (например, истощают) Treg-клеток известны и включают, например,

истощение CD25, введение циклофосфида и модулирование функции гена, родственного семейству индуцируемого глюкокортикоидами TNFR (GITR). GITR является представителем суперсемейства TNFR, уровень которого повышен на активированных Т-клетках, которые усиливают иммунную систему. Уменьшение количества Treg-клеток у индивидуума перед аферезом или перед введением модифицированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток, может уменьшать количество нежелательных иммунных клеток (например, Treg) в микроокружении опухоли и снижать риск рецидива у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает молекулу, нацеленную на GITR и/или модулирующую функции GITR, такую как агонист GITR и/или антитело против GITR, которое истощает регуляторные Т-клетки (Treg). В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает циклофосфамид. В некоторых вариантах осуществления связывающую GITR молекулу и/или молекулу, модулирующую функцию GITR (например, агонист GITR и/или истощающие Treg антитела против GITR) вводят до введения модифицированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток. Например, в некоторых вариантах осуществления агонист GITR можно вводить до афереза клеток. В некоторых вариантах осуществления циклофосфамид вводят индивидууму до введения (например, инфузии или реинфузии) модифицированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток, или до афереза клеток. В некоторых вариантах осуществления циклофосфамид и антитело против GITR вводят индивидууму до введения (например, инфузии или реинфузии) модифицированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток, или до афереза клеток.

[0607] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое вводят в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, представляет собой средство, которое является агонистом GITR. Иллюстративные агонисты GITR включают, например, слитые белки GITR и антитела против GITR (например, двухвалентные антитела против GITR), например, такие как слитый белок GITR, описанный в патенте США № 6111090, патенте Европы № 090505В 1, патенте США № 8586023, публикациях РСТ № WO 2010/003118 и 2011/090754, или антитело против GITR, описанное, например, в патенте США № 7025962, патенте Европы № 1947183В 1, патенте США № 7812135, патенте США № 8388967, патенте США № 8591886, патенте Европы № EP 1866339, публикации РСТ № WO 2011/028683, публикации РСТ № WO 2013/039954, публикации РСТ № WO2005/007190, публикации РСТ № WO 2007/133822, публикации РСТ № WO2005/055808, публикации РСТ № WO 99/40196, публикации РСТ № WO 2001/03720, публикации РСТ № WO99/20758, публикации РСТ № WO2006/083289, публикации РСТ № WO 2005/115451, патенте США № 7618632, и публикации РСТ № WO 2011/051726. Иллюстративное антитело против GITR представляет собой TRX518.

[0608] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое вводят в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми

изделиями или композициями, повышает инфильтрацию опухоли или трансмиграцию введенных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток. Например, в некоторых вариантах осуществления дополнительное средство стимулирует CD40, такое как CD40L, например, рекомбинантные CD40L человека. Кластер дифференцировки 40 (CD40) также является представителем суперсемейства TNFR. CD40 представляет собой костимулирующий белок, встречающийся на антигенпредставляющих клетках, и он опосредует широкое множество иммунных и воспалительных ответов. CD40 также экспрессируется на некоторых злокачественных опухолях, где он стимулирует пролиферацию. Иллюстративными антителами против CD40 являются дацетумаб (SGN-40), лукатумумаб (Novartis, антагонист), SEA-CD40 (Seattle Genetics) и CP-870.893. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое усиливает инфильтрацию опухоли, включает ингибитор тирозинкиназы сунитиниб, гепараназу и/или рецепторы хемокинов, такие как CCR2, CCR4 и CCR7.

[0609] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое вводят в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, представляет собой иммуномодулирующее средство, которое является структурным или функциональным аналогом или производным талидомида и/или ингибитора убиквитинлигазы E3. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство связывается с цереблонеом (CRBN). В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство связывается с комплексом CRBN-убиквитинлигаза E3. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство связывается с CRBN и комплексом CRBN-убиквитинлигаза E3. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство повышает экспрессию белка или гена CRBN. В некоторых аспектах CRBN является субстратным адаптором для убиквитинлигазы $CRL4^{CRBN}$ E3, и модулирует специфичность фермента. В некоторых вариантах осуществления связывание с CRB или комплексом CRBN-убиквитинлигаза E3 ингибирует активность убиквитинлигазы E3. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство индуцирует убиквитинилирование IKZF1 (Ikaros) и IKZF3 (Aiolos) и/или индуцирует деградацию IKZF1 (Ikaros) и IKZF3 (Aiolos). В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство индуцирует убиквитинилирование кazeинкиназы 1A1 (CK1 α) посредством убиквитинлигазы $CRL4^{CRBN}$ E3. В некоторых вариантах осуществления убиквитинилирование CK1 α приводит к деградации CK1 α .

[0610] В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой ингибитор фактора транскрипции Ikaros (IKZF1). В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство усиливает убиквитинилирование Ikaros. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство усиливает деградацию Ikaros. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство снижает экспрессию белка или гена Ikaros. В некоторых вариантах осуществления введение иммуномодулирующего средства

вызывает снижение уровней белка Ikaros.

[0611] В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой ингибитор фактора транскрипции Aiolos (IKZF3). В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство усиливает убиквитинилирование Aiolos. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство усиливает деградацию Aiolos. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство подавляет экспрессию белка или гена Aiolos. В некоторых вариантах осуществления введение иммуномодулирующего средства вызывает снижение уровней белка Aiolos.

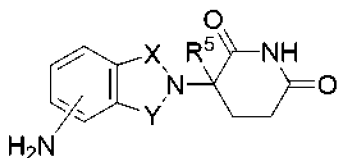
[0612] В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой ингибитор факторов транскрипции как Ikaros (IKZF1), так и Aiolos (IKZF3). В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство усиливает убиквитинилирование как Ikaros, так и Aiolos. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство усиливает деградацию как Ikaros, так и Aiolos. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство усиливает убиквитинилирование и деградацию как Ikaros, так и Aiolos. В некоторых вариантах осуществления введение иммуномодулирующего средства вызывает снижение как уровней белка Aiolos, так и уровней белка Ikaros.

[0613] В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство является селективным цитокиновым ингибиторным лекарственным средством (SelCID). В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство ингибирует активность фосфодиэстеразы-4 (PDE4). В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство подавляет ферментативную активность фосфатаз CDC25. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство изменяет внутриклеточный транспорт фосфатаз CDC25.

[0614] В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой талидомид (2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1H-изоиндол-1,3(2H)-дион) или аналог или производное талидомида. В определенных вариантах осуществления производное талидомида включает структурные варианты талидомида, которые обладают сходной биологической активностью. Иллюстративные производные талидомида включают, но не ограничиваются ими леналидомид (REVLIMMUNOMODULATING COMPOUND™; Celgene Corporation), помалидомид (также известный как АСТIMMUNOMODULATING COMPOUND™ или POMALYST™ (Celgene Corporation)), CC-1088, CDC-501 и CDC-801, и соединения, описанные в патентах США № 5712291; 7320991 и 8716315; заявке США № 2016/0313300; и публикациях PCT № WO 2002/068414 и WO 2008/154252.

[0615] В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой 1-оксо- и 1,3-диоксо-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)изоиндолины, замещенные посредством амина в бензокольце, как описано в патенте США № 5635517 который включен в настоящее описание посредством ссылки.

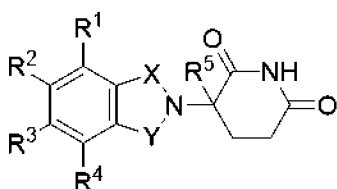
[0616] В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой соединение следующей формулы:



где один из X и Y представляет собой $-C(O)-$, а другой из X и Y представляет собой $-C(O)-$ или $-CH_2-$, и R^5 представляет собой водород или низший алкил, или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой $-C(O)-$ и Y представляет собой $-CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления как X, так и Y, представляют собой $-C(O)-$. В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой водород. В других вариантах осуществления R^5 представляет собой метил.

[0617] В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее соединение представляет собой соединение, которое принадлежит к классу замещенных 2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)фтал-иммуномодулирующих соединений и замещенных 2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоиндолов, таких как соединения, описанные в патентах США № 6281230; 6316471; 6335349 и 6476052, и международной патентной заявке № PCT/US97/13375 (международная публикация № WO 98/03502), каждая из которых включена в настоящее описание посредством ссылки.

[0618] В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой соединение следующей формулы:



где

один из X и Y представляет собой $-C(O)-$ и другой из X и Y представляет собой $-C(O)-$ или $-CH_2-$;

(1) каждый из R^1 , R^2 , R^3 и R^4 независимо представляет собой галоген, алкил из 1-4 атомов углерода, или алкокси из 1-4 атомов углерода, или

(2) один из R^1 , R^3 , R^4 и R^5 представляет собой $-NHR^a$ а другой из R^1 , R^2 , R^3 и R^4 представляет собой водород, где R^a представляет собой водород или алкил из 1-8 атомов углерода;

R^5 представляет собой водород или алкил из 1-8 атомов углерода, бензил или галоген;

при условии, что R^5 отличен от водорода, если X и Y представляют собой $-C(O)-$, и (i) каждый из R^1 , R^2 , R^3 и R^4 представляет собой фтор; или (ii) один из R^1 , R^2 , R^3 и R^4 представляет собой амино;

или его фармацевтически приемлемую соль.

[0619] В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой соединение, которое принадлежит к классу изоиндол-иммуномодулирующих соединений, описанных в патенте США № 7091353, публикации патента США № 2003/0045552, и международной заявке № PCT/USOI/50401 (международная публикация № WO02/059106), каждая из которых включена в настоящее описание посредством ссылки. Например, в некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой [2-(2,6-диоксо-пиперидин-3-ил)-1,3-диоксо-2,3-дигидро-1H-изоиндол-4-илметил]амид; трет-бутиловый эфир (2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1,3-диоксо-2,3-дигидро-1H-изоиндол-4-илметил)карбаминовой кислоты; 4-(аминометил)-2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-изоиндолин-1,3-дион; N-(2-(2,6-диоксо-пиперидин-3-ил)-1,3-диоксо-2,3-дигидро-1H-изоиндол-4-илметил)ацетамид; N-{(2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)метил}циклопропилкарбоксамид; 2-хлор-N-{(2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)метил}ацетамид; N-(2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)-3-пиридилкарбоксамид; 3-{1-оксо-4-(бензиламино)изоиндолин-2-ил}пиперидин-2,6-дион; 2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-4-(бензиламино)изоиндолин-1,3-дион; N-{(2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)метил}пропанамид; N-{(2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)метил}-3-пиридилкарбоксамид; N-{(2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)метил}гептанамид; N-{(2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)метил}-2-фурилкарбоксамид; {N-(2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)карбамоил}метилацетат; N-(2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)пентанамид; N-(2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)-2-тиенилкарбоксамид; N-{[2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил]метил}(бутиламино)карбоксамид; N-{[2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил]метил}(октиламино)карбоксамид; или N-{[2-(2,6-диоксо(3-пиперидил))-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил]метил}(бензиламино)карбоксамид.

[0620] В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой соединение, которое принадлежит к классу изоиндол-иммуномодулирующих соединений, описанных в публикациях патентных заявок США № 2002/0045643, международной публикации № WO 98/54170, и патенте США № 6395754, каждый из которых включен в настоящее описание посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой тетразамещенные 2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1-оксоизоиндолины, описанные в патенте США № 5798368, который включен в настоящее описание посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой 1-оксо- и 1,3-диоксо-2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)изоиндолины, описанные в патенте США № 6403613, который включен в настоящее описание посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой 1-оксо- или 1,3-диоксоизоиндолин, замещенный в 4 или 5 положении кольца индолина,

как описано в патенте США № 6380239 и патенте США № 7244759, оба из которых включены в настоящее описание посредством ссылок.

[0621] В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой 2-(4-амино-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил)-4-карбамоилмасляную кислоту или 4-(4-амино-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил)-4-карбамоилмасляную кислоту. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее соединение представляет собой 4-карбамоил-4-{4-[(фуран-2-ил-метил)-амино]-1,3-диоксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил}масляную кислоту, 4-карбамоил-2-{4-[(фуран-2-ил-метил)амино]-1,3-диоксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил}масляную кислоту, 2-{4-[(фуран-2-илметил)амино]-1,3-диоксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил}-4-фенилкарбамоилмасляную кислоту, или 2-{4-[(фуран-2-илметил)амино]-1,3-диоксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил}пентандиовую кислоту.

[0622] В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой изоиндолин-1-он или изоиндолин-1,3-дион, замещенные в 2 положении посредством 2,6-диоксо-3-гидроксипиперидин-5-ила, как описано в патенте США № 6458810, который включен в настоящее описание посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее соединение представляет собой 3-(5-амино-2-метил-4-оксо-4Н-хиназолин-3-ил)-пиперидин-2,6-дион или его энантиомер или смесь энантиомеров; или их фармацевтически приемлемую соль, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее соединение представляет собой 3-[4-(4-морфолин-4-илметилбензилокси)-1-оксо-1,3-дигидроизоиндол-2-ил]пиперидин-2,6-дион.

[0623] В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство является таким, как описано в Oshima, K. et al., *Nihon Rinsho.*, 72(6):1130-5 (2014); Millrine, D. et al., *Trends Mol Med.*, 23(4):348-364 (2017); и Collins, et al., *Biochem J.*, 474(7):1127-1147 (2017).

[0624] В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой леналидомид, помалидомид, авадомид, стереоизомер леналидомида, помалидомида, авадомида или их фармацевтически приемлемую соль, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее соединение представляет собой леналидомид, стереоизомер леналидомида или их фармацевтически приемлемую соль, сольват, гидрат, сокристалл, клатрат или полиморф. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее соединение представляет собой леналидомид или ((RS)-3-(4-амино-1-оксо-1,3-дигидро-2Н-изоиндол-2-ил)пиперидин-2,6-дион).

[0625] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает лекарственные средства на основе талидомида или их аналоги и/или производные, такие как леналидомид, помалидомид или апремиласт. См., например, Bertilaccio et al., *Blood* (2013) 122:4171, Otahal et al., *Oncoimmunology* (2016) 5(4):e1115940; Fecteau et al., *Blood* (2014) 124(10):1637-1644 и Kuramitsu et al., *Cancer Gene Therapy* (2015) 22:487-495). Леналидомид ((RS)-3-(4-амино-1-оксо-1,3-дигидро-2Н-изоиндол-2-ил)пиперидин-2,6-

дион; также известный как Revlimid) представляет собой синтетическое производное талидомида и имеет множество иммуномодулирующих эффектов, в том числе усиление формирования иммунных синапсов между Т-клетками и антигенпредставляющими клетками (APC). Например, в некоторых случаях, леналидомид модулирует Т-клеточные ответы и приводит к повышению продуцирования интерлейкина (IL)-2 в CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетках, индуцирует сдвиг ответов Т-хелперов (Th) с Th2 на Th1, ингибирует экспансию регуляторной подгруппы Т-клеток (Treg) и улучшает функционирование иммунологических синапсов при фолликулярной лимфоме и хроническом лимфоцитарном лейкозе (CLL) (Otahal et al., *Oncoimmunology* (2016) 5(4):e1115940). Леналидомид также имеет прямую туморицидную активность у пациентов с множественной миеломой (ММ) и прямо и непрямо модулирует выживание опухолевых клеток CLL посредством воздействия на поддерживающие клетки, такие как подобные клеткам-нянькам клетки, встречающиеся в микроокружении лимфоидных тканей. Леналидомид также может усиливать пролиферацию Т-клеток и продуцирование интерферона- γ в ответ на активацию Т-клеток через связывание CD3 или опосредуемую дендритными клетками активацию. Леналидомид также может индуцировать экспрессию злокачественными В-клетками более высоких уровней иммуностимулирующих молекул, таких как CD80, CD86, HLA-DR, CD95 и CD40 (Fecteau et al., *Blood* (2014) 124(10):1637-1644). В некоторых вариантах осуществления леналидомид вводят в дозировке от приблизительно 1 мг до приблизительно 20 мг в сутки, например, от приблизительно 1 мг до приблизительно 10 мг, от приблизительно 2,5 мг до приблизительно 7,5 мг, от приблизительно 5 мг до приблизительно 15 мг, как например, приблизительно 5 мг, 10 мг, 15 мг или 20 мг в сутки. В некоторых вариантах осуществления леналидомид вводят в дозе приблизительно от 10 мкг/кг до 5 мг/кг, например, от приблизительно 100 мкг/кг до приблизительно 2 мг/кг, от приблизительно 200 мкг/кг до приблизительно 1 мг/кг, от приблизительно 400 мкг/кг до приблизительно 600 мкг/кг, как например, приблизительно 500 мкг/кг.

[0626] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое вводят в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, представляет собой ингибитор В-клеток. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой один или несколько ингибиторов В-клеток, выбранных из ингибиторов CD10, CD19, CD20, CD22, CD34, CD123, CD79a, CD79b, CD179b, FLT-3 или ROR1, или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления ингибитор В-клеток представляет собой антитело (например, моноспецифическое или биспецифическое антитело) или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой модифицированную клетку, экспрессирующую рекомбинантные рецепторы, которые нацелены на В-клеточные мишени, например, CD10, CD19, CD20, CD22, CD34, CD123, CD79a, CD79b, CD179b, FLT-3 или ROR1.

[0627] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое

вводят в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, представляет собой ингибитор CD20, например, антитело против CD20 (например, моно- или биспецифическое антитело против CD20) или его фрагмент. Иллюстративные антитела против CD20 включают, но не ограничиваются ими, ритуксимаб, офатумумаб, окрелизумаб (также известный как GA101 или RO5072759), велтузумаб, обинутузумаб, TRU-015 (Trubion Pharmaceuticals), окаратузумаб (также известный как AME-133v или окаратузумаб) и Pro131921 (Genentech). См., например, Lim et al. *Haematologica*. (2010) 95(1):135-43. В некоторых вариантах осуществления антитело против CD20 включает ритуксимаб. Ритуксимаб представляет собой химерное моноклональное IgG1-антитело каппа мыши/человека, которое связывается с CD20 и вызывает цитолиз экспрессирующей CD20 клетки. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает ритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор CD20 является низкомолекулярным.

[0628] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое вводят в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, представляет собой ингибитор CD22, например, антитело против CD22 (например, моно- или биспецифическое антитело против CD22) или его фрагмент. Иллюстративные антитела против CD22 включают эпратузумаб и RFB4. В некоторых вариантах осуществления ингибитор CD22 является низкомолекулярным. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой моноспецифическое антитело, необязательно конъюгированное со вторым средством, таким как химиотерапевтическое средство. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой конъюгат моноклональное антитело против CD22-ММАЕ (например, DCDT2980S). В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой scFv антитела против CD22, например, scFv антитела RFB4. В некоторых вариантах осуществления scFv слит со всем или фрагментом экзотоксина-A *Pseudomonas* (например, BL22). В некоторых вариантах осуществления scFv слит со всем или фрагментом (например, фрагментом массой 38 кДа) экзотоксина-A *Pseudomonas* (например, моксетумомаб пасудотокс). В некоторых вариантах осуществления антитело против CD22 представляет собой биспецифическое антитело против CD19/CD22, необязательно конъюгированное с токсином. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело против CD22 содержит биспецифическую часть против CD19/CD22 (например, два лиганда scFv, распознающих CD19 и CD22 человека), необязательно связанную со всем или частью дифтерийного токсина (DT), например, первыми 389 аминокислотами дифтерийного токсина (DT), DT 390, например, направляемого лигандом токсина, такого как DT2219ARL). В некоторых вариантах осуществления биспецифическая часть (например, против CD19/против CD22) связана с токсином, таким как дегликозилированная А-цепь рицина (например, Combotox).

[0629] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое вводят в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми

изделиями или композициями, представляет собой цитокин или представляет собой средство, которое индуцирует повышенную экспрессию цитокина в микроокружении опухоли. Цитокины имеют важные функции, связанные с экспансией Т-клеток, дифференцировкой, выживаемостью и гомеостазом. Цитокины, которые можно вводить индивидууму, которому проводят комбинированную терапию в предусматриваемых способах и применениях, рекомбинантных рецепторах, клетках и/или композициях, описанных в настоящем описании, включают один или несколько из IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-18 и IL-21. В некоторых вариантах осуществления вводимый цитокин представляет собой IL-7, IL-15 или IL-21, или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления введение цитокина индивидууму, который имеет субоптимальный ответ на введение модифицированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток, повышает эффективность и/или противоопухолевую активность введенных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток.

[0630] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое вводят в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, представляет собой цитокин, такой как белок, который действует на другую клетку в качестве внутриклеточных медиаторов. Примерами таких цитокинов являются лимфокины, монокины и традиционные полипептидные гормоны. Цитокины включают гормоны роста, такие как гормон роста человека, N-метионил-гормон роста человека и бычий гормон роста; паратиреоидный гормон; тироксин; инсулин; проинсулин; релаксин; прорелаксин; гликопротеиновые гормоны, такие как фолликулостимулирующий гормон (FSH), тиреостимулирующий гормон (TSH) и лютеинизирующий гормон (LH); фактор роста печени; фибробластный фактор роста; пролактин; плацентарный лактоген; фактор некроза опухоли-альфа и -бета; мюллерово ингибиторное вещество; ассоциированный с гонадотропином мыши пептид; ингибин; активин; сосудисто-эндотелиальный фактор роста; интегрин; тромбопоэтин (TPO); факторы роста нервов, такие как NGF-бета; тромбоцитарный фактор роста; трансформирующие факторы роста (TGF), такие как TGF-альфа и TGF-бета; инсулиноподобный фактор роста-I и -II; эритропоэтин (EPO); остеоиндуктивные факторы; интерфероны, такие как интерферон-альфа, бета и гамма; колониестимулирующие факторы (CSF), такие как макрофагальный CSF (M-CSF); гранулоцитарно-макрофагальный CSF (GM-CSF); и гранулоцитарный CSF (G-CSF); интерлейкины (IL), такие как IL-1, IL-1-альфа, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12; IL-15, фактор некроза опухоли, такой как TNF-альфа или TNF-бета; и другие полипептидные факторы, включая LIF и kit-лиганд (KL). Как используют в рамках изобретения, термин "цитокин" включает белки из природных источников или из рекомбинантной клеточной культуры, и биологически активные эквиваленты цитокинов с нативной последовательностью. Например, иммуномодулирующее средство представляет собой цитокин, и цитокин представляет собой IL-4, TNF- α , GM-CSF или IL-2.

[0631] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое

вводят в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, включает полипептид интерлейкина-15 (IL-15), полипептид рецептора-альфа интерлейкина-15 (IL-15R α), или их комбинацию, например, hetIL-15 (Admune Therapeutics, LLC). hetIL-15 представляет собой гетеродимерный нековалентный комплекс IL-15 и IL-15R α . hetIL-15 описан, например, в U.S. 8124084, U.S. 2012/0177598, U.S. 2009/0082299, U.S. 2012/0141413 и U.S. 2011/0081311. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство может содержать один или несколько цитокинов. Например, интерлейкин может включать инъекцию лейкоцитарного интерлейкина (Multikine), которая представляет собой комбинацию природных цитокинов.

[0632] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое вводят в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, представляет собой модулятор уровней аденозина и/или компонент каскада аденозина. Аденозин может выполнять функцию иммуномодулирующего средства в организме. Например, аденозин и некоторые аналоги аденозина, которые неселективно активируют подтипы рецепторов аденозина, снижают продуцирование нейтрофилами воспалительных окислительных продуктов (Cronstein et al., *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 451:291, 1985; Roberts et al., *Biochem. J.*, 227:669, 1985; Schrier et al., *J. Immunol.* 137:3284, 1986; Cronstein et al., *Clinical Immunol. Immunopath.* 42:76, 1987). В некоторых случаях концентрация внеклеточного аденозина или аналогов аденозина может возрастать в определенной среде, например, в микроокружении опухоли (TME). В некоторых случаях, передача сигнала аденозина или аналога аденозина зависит от гипоксии или факторов, вовлеченных в гипоксию или ее регуляцию, например, индуцируемого гипоксией фактора (HIF). В некоторых вариантах осуществления повышение передачи сигнала аденозина может повышать уровень внутриклеточного cAMP и cAMP-зависимой протеинкиназы, что приводит к ингибированию продуцирования цитокинов и может приводить к синтезу иммуносупрессивных молекул и развитию Treg (Sitkovsky et al., *Cancer Immunol Res* (2014) 2(7):598-605). В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство может снижать или обращать вспять иммуносупрессивные эффекты аденозина, аналогов аденозина и/или передачи сигнала аденозина. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство может снижать или обращать вспять запускаемую гипоксией A2-аденозинергическую иммуносупрессию Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство выбрано из антагонистов аденозиновых рецепторов, деградирующих внеклеточный аденозин средств, ингибиторов образования аденозина посредством эктоферментов CD39/CD73, и ингибиторов передачи сигнала гипоксия-HIF-1 α . В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой антагонист или агонист рецепторов аденозина.

[0633] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое вводят в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми

изделиями или композициями, представляет собой средство, которое ингибирует активность и/или количество рецептора аденозина. Конкретные варианты осуществления предусматривают, что ингибирование или снижение уровня внеклеточного аденозина или рецептора аденозина посредством ингибитора внеклеточного аденозина (такого как средство, которое препятствует образованию, осуществляет деградацию, делает неактивным и/или снижает уровень внеклеточного аденозина), и/или ингибитора рецептора аденозина (такого как антагонист рецептора аденозина) может усиливать иммунный ответ, такой как опосредуемый макрофагами, нейтрофилами, гранулоцитами, дендритными клетками, Т- и/или В-клетками ответ. Кроме того, ингибиторы опосредуемого Gs-белком сАМР-зависимого внутриклеточного каскада и ингибиторы запускаемых рецепторами аденозина опосредуемых Gi-белком внутриклеточных каскадов также могут повышать острое или хроническое воспаление.

[0634] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое вводят в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, представляет собой антагонист или агонист рецептора аденозина, например, антагонист или агонист одного или нескольких из рецепторов аденозина A2a, A2b, A1 и A3. A1 и A3 ингибируют, и A2a и A2b стимулируют, соответственно, активность аденилатциклазы. Определенные рецепторы аденозина, такие как A2a, A2b и A3, могут подавлять или снижать иммунный ответ в ходе воспаления. Таким образом, антагонизм иммуносупрессивных рецепторов аденозина может усиливать, способствовать или повышать иммунный ответ, например, иммунный ответ введенных клеток, например, CAR-экспрессирующих Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство ингибирует продуцирование внеклеточного аденозина и запускаемую аденозином передачу сигнала через рецепторы аденозина. Например, усиление иммунного ответа, локальное воспаление в ткани и направленное разрушение ткани могут усиливаться посредством ингибирования или снижения вызывающей продукцию аденозина локальной гипоксии ткани; посредством деградации (или инактивации) накопленного внеклеточного аденозина; посредством предупреждения или снижения экспрессии рецепторов аденозина на иммунных клетках; и/или посредством ингибирования/антагонизма передачи сигнала аденозиновыми лигандами через рецепторы аденозина.

[0635] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое вводят в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, представляет собой антагонист рецептора аденозина. В некоторых вариантах осуществления антагонист представляет собой низкомолекулярное или химическое соединение рецептора аденозина, такого как рецептор A2a, A2b или A3. В некоторых вариантах осуществления антагонист представляет собой пептид или пептидомиметик, который связывает рецептор аденозина, но не запускает зависимый от Gi-белка внутриклеточный каскад. Примеры таких антагонистов описаны в патентах США № 5565566; 5545627, 5981524; 5861405; 6066642; 6326390; 5670501; 6117998;

6232297; 5786360; 5424297; 6313131, 5504090; и 6322771.

[0636] В некоторых вариантах осуществления дополнительным средством является антагонист рецептора A2 (A2R), такой как антагонист A2a. Иллюстративные антагонисты A2R включают, но не ограничиваются ими, KW6002 (истрадефилин), SCH58261, кофеин, параксантин, 3,7-диметил-1-пропаргилксантин (DMPX), 8-(м-хлорстирил)кофеин (CSC), MSX-2, MSX-3, MSX-4, CGS-15943, ZM-241385, SCH-442416, преладенант, випаденант (BII014), V2006, ST-1535, SYN-115, PSB-1115, ZM241365, FSPTP, и ингибиторную нуклеиновую кислоту, нацеленную на экспрессию A2R, например, миРНК или кшРНК, или любые антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые нацелены на A2R. В некоторых вариантах осуществления дополнительным средством является антагонист A2R, описанный, например, в Ohta et al., Proc Natl Acad Sci U S A (2006) 103:13132-13137; Jin et al., Cancer Res. (2010) 70(6):2245-2255; Leone et al., Computational and Structural Biotechnology Journal (2015) 13:265-272; Beavis et al., Proc Natl Acad Sci U S A (2013) 110:14711-14716; и Pinna, A., Expert Opin Investig Drug (2009) 18:1619-1631; Sitkovsky et al., Cancer Immunol Res (2014) 2(7):598-605; US 8080554; US 8716301; US 20140056922; WO2008/147482; US 8883500; US 20140377240; WO02/055083; US 7141575; US 7405219; US 8883500; US 8450329 и US 8987279).

[0637] В конкретных вариантах осуществления антагонист рецептора аденозина представляет собой антисмысловую молекулу, ингибиторную молекулу нуклеиновой кислоты (например, малая ингибиторная РНК (миРНК)) или каталитическую молекулу нуклеиновой кислоты (например, рибозим), которые специфически связывают мРНК, кодирующую рецептор аденозина. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая молекула, ингибиторная молекула нуклеиновой кислоты или каталитическая молекула нуклеиновой кислоты связывает нуклеиновые кислоты, кодирующие A2a, A2b или A3. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая молекула, ингибиторная молекула нуклеиновой кислоты или каталитическая нуклеиновая кислота нацелена на биохимические каскады ниже рецептора аденозина. Например, антисмысловая молекула или каталитическая нуклеиновая кислота может ингибировать фермент, вовлеченный в зависимый от Gs-белка или Gi-белка внутриклеточный каскад. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает доминантно-негативную мутантную форму рецептора аденозина, такую как A2a, A2b или A3.

[0638] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое вводят в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, представляет собой средство, которое ингибирует внеклеточный аденозин. Средства, которые включают внеклеточный аденозин, включают средства, которые делают внеклеточный аденозин нефункциональным (или снижают такую функцию), такие как вещество, которое модифицирует структуру аденозина, ингибируя способность аденозина к передаче сигнала через рецепторы аденозина. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой внеклеточный образующий аденозин или деградирующий аденозин фермент, его

модифицированную форму или его модулятор. Например, в некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой фермент (например, аденозиндезаминаза) или другую каталитическую молекулу, которая селективно связывает и разрушает аденозин, тем самым устраняя или значительно снижая способность эндогенно образовавшегося аденозина передавать сигнал через рецепторы аденозина и завершать воспаление.

[0639] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой аденозиндезаминазу (ADA) или ее модифицированную форму, например, рекомбинантную ADA и/или полиэтиленгликоль-модифицированную ADA (ADA-ПЭГ), которая может ингибировать локальное накопление в ткани внеклеточного аденозина. ADA-ПЭГ используется для лечения пациентов с ADA SCID (Hershfield (1995) *Hum Mutat.* 5:107). В некоторых вариантах осуществления средство, которое ингибирует внеклеточный аденозин, включает средства, которые препятствуют или снижают образование внеклеточного аденозина, и/или препятствуют или снижают накопление внеклеточного аденозина, тем самым устраняя или существенно снижая иммуносупрессивные эффекты аденозина. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство специфически ингибирует ферменты и белки, которые вовлечены в регуляцию синтеза и/или секреции провоспалительных молекул, включая модуляторы ядерных факторов транскрипции. Подавление экспрессии рецептора аденозина или экспрессии зависимо от Gs-белка или Gi-белка внутриклеточного каскада или зависимо от cAMP внутриклеточного каскада может приводить к повышению/усилению иммунного ответа.

[0640] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство может быть нацелено на эктоферменты, которые образуют или продуцируют внеклеточный аденозин. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство нацелено на эктоферменты CD39 и CD73, которые функционируют тандемно, образуя внеклеточный аденозин. CD39 (также называемый эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролазой) конвертирует внеклеточный АТФ (или АДФ) в 5'AMP. Затем CD73 (также называют 5'-нуклеотидазой) конвертирует 5'AMP в аденозин. Активность CD39 обратима под действием NDP-киназы и аденилаткиназы, в то время как активность CD73 необратима. CD39 и CD73 экспрессируются на стромальных клетках опухоли, включая эндотелиальные клетки и Treg, а также на многих злокачественных клетках. Например, экспрессия CD39 и CD73 на эндотелиальных клетках увеличивается в гипоксических условиях микроокружения опухоли. Гипоксия опухоли может быть результатом недостаточного кровоснабжения и нарушенной организации сосудов опухоли, снижающих доставку кислорода (Carroll and Ashcroft (2005), *Expert. Rev. Mol. Med.* 7(6):1-16). Гипоксия также ингибирует аденилаткиназу (АК), которая конвертирует аденозин в АМР, что приводит к очень высокой внеклеточной концентрации аденозина. Таким образом, аденозин высвобождается в высоких концентрациях в ответ на гипоксию, которая представляет собой состояние, которое часто возникает в микроокружении

опухоли (TME), в солидных опухолях или вокруг них. В некоторых вариантах осуществления дополнительным средством является одно или несколько из антитела против CD39 или его антигенсвязывающего фрагмента, антитела против CD73 или его антигенсвязывающего фрагмента, например, MEDI9447 или TY/23, α - β -метиленаденозиндифосфата (ADP), ARL 67156, POM-3, IPH52 (см., например, Allard et al. Clin Cancer Res (2013) 19(20):5626-5635; Hausler et al., Am J Transl Res (2014) 6(2):129-139; Zhang, B., Cancer Res. (2010) 70(16):6407-6411).

[0641] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство, которое вводят в соответствии с предусматриваемыми способами, и/или предусматриваемыми изделиями или композициями, представляет собой химиотерапевтическое средство (иногда называемое цитотоксическим средством). В конкретных вариантах осуществления химиотерапевтическое средство представляет собой любое средство, о котором известно, что оно является эффективным для лечения, предупреждения или облегчения гиперпролиферативных нарушений, таких как злокачественная опухоль. Химиотерапевтические средства включают, но не ограничиваются ими, низкомолекулярные соединения, синтетические лекарственные средства, пептиды, полипептиды, белки, нуклеиновые кислоты (например, ДНК- и РНК-полинуклеотиды, включая, но не ограничиваясь ими, антисмысловые нуклеотидные последовательности, тройные спирали и нуклеотидные последовательности, кодирующие биологически активные белки, полипептиды или пептиды), антитела, синтетические или натуральные неорганические молекулы, миметики и синтетические или натуральные органические молекулы. В конкретных вариантах осуществления химиотерапевтические лекарственные средства включают алкилирующие средства, антрациклины, средства, нарушающие цитоскелет (таксаны), эпотилоны, ингибиторы деацетилазы гистонов, ингибиторы топоизомеразы, ингибиторы топоизомеразы II, ингибиторы киназы, нуклеотидные аналоги и аналоги предшественников, пептидные антибиотики, средства на основе платины и алкалоиды барвинка и производные.

[0642] Химиотерапевтические средства могут включать, но не ограничиваются ими, абареликс, альдеслейкин, алемтузумаб, алитретиноин, аллопуринол, алтретамин, амифостин, анастрозол, триоксид мышьяка, аспарагиназу, БЦЖ живую, бевацизумаб, бексаротен, блеомицин, бортезомиб, бусульфан, калустерон, камптотецин, капецитабин, карбоплатин, кармустин, целекоксиб, цетуксимаб, хлорамбуцил, цинакальцет, цисплатин, кладрибин, циклофосфамид, цитарабин, дакарбазин, дактиномицин, дарбэпоэтин альфа, даунорубицин, денилейкин дифтитокс, дексразоксан, доцетаксел, доксорубицин, дромостанолон, раствор Эллиота В, эпирубицин, эпоэтин-альфа, эстрамустин, этопозид, экземестан, филграстим, флоксуридин, флударабин, фторурацил, фулвестрант, гемцитабин, гемтузумаб озагомицин, гефитиниб, гозерелин, гидроксимочевина, ибритутомаб тиуксетан, идарубицин, ифосфамид, иматиниб, интерферон альфа-2а, интерферон альфа-2b, иринотекан, лектрозол, лейковорин, левамизол, ломустин, меклорэтамин, магестрол, мелфалан, меркаптопурин, месну, метотрексат, метоксален,

метилпреднизолон, митомицин С, митотан, митоксантрон, нандролон, нофетумомаб, облимерсен, опрелвекин, оксалиплатин, паклитаксел, памидронат, пегадемазу, пегаспаргазу, пегфилграстим, пеметрексед, пентостатин, пипоброман, пликамицин, полифепросан, порфимер, прокарбазин, хинакрин, расбуриказу, ритуксимаб, сарграмостим, стрептозоцин, тальк, тамоксифен, тарцеву, темозоломид, тенипозид, тестолактон, тиогуанин, тиотепа, топотекан, торемифен, тозитумомаб, трастузумаб, третиноин, урацил мустард, валрубицин, винбластин, винкристин, винорелбин и золедронат.

[0643] В некоторых вариантах осуществления дополнительным средством является ингибитор передачи сигнала индицируемым гипоксией фактором 1 альфа (HIF-1 α). Иллюстративные ингибиторы HIF-1 α включают дигоксин, акрифлавин, сиртуин-7 и ганетеспиб.

[0644] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает ингибитор протеинтирозинфосфатазы, например, ингибитор протеинтирозинфосфатазы, описанный в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления ингибитор протеинтирозинфосфатазы представляет собой ингибитор SHP-1, например, ингибитор SHP-1, описанный в настоящем описании, например, такой как стибоглюконат натрия. В некоторых вариантах осуществления ингибитор протеинтирозинфосфатазы представляет собой ингибитор SHP-2, например, ингибитор SHP-2, описанный в настоящем описании.

[0645] В некоторых вариантах осуществления дополнительным средством является ингибитор киназы. Ингибиторы киназ, такие как ингибитор CDK4-киназы, ингибитор ВТК-киназы, ингибитор MNK-киназы или ингибитор DGK-киназы, могут регулировать конститутивно активные каскады выживания, которые существуют в опухолевых клетках, и/или модулировать функцию иммунных клеток. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой ингибитор тирозинкиназы Брутона (ВТК), например, ибрутиниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой ингибитор фосфатидилинозитол-4,5-бифосфат 3-киназы (PI3K). В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой ингибитор CDK4, например, ингибитор CDK4/6. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой ингибитор mTOR, например, такой как рапамицин, аналог рапамицина, OSI-027. Ингибитор mTOR может представлять собой, например, ингибитор mTORC1 и/или ингибитор mTORC2, например, ингибитор mTORC1 и/или ингибитор mTORC2. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой ингибитор MNK, или двойной ингибитор PI3K/mTOR. В некоторых вариантах осуществления другие иллюстративные ингибиторы киназ включают ингибитор АКТ перифозин, ингибитор mTOR темсиролимус, ингибиторы Src-киназы дасатиниб и фостаматиниб, ингибиторы JAK2 пакритиниб и руксолитиниб, ингибиторы PKC β энзастаурин и бриостатин, и ингибитор ААК алисертиб.

[0646] В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой ингибитор ВТК, выбранный из ибрутиниба (PCI- 32765); GDC-0834; RN-486; CGI-

560; CGI-1764; HM-71224; CC-292; ONO-4059; CNX-774 и LFM-A13. В некоторых вариантах осуществления ингибитор ВТК не снижает или не ингибирует киназную активность индуцируемой интерлейкином-2 киназы (ИТК), и он выбран из GDC-0834; RN-486; CGI-560; CGI-1764; HM-71224; CC-292; ONO-4059; CNX-774 и LFM-A13.

[0647] В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой ингибитор ВТК, например, ибрутиниб (1-[(3R)-3-[4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил]пиперидин-1-ил]проп-2-ен-1-он; также известный как PCI-32765). В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой ингибитор ВТК, например, ибрутиниб (PCI-32765), и ибрутиниб вводят в дозе приблизительно 250 мг, 300 мг, 350 мг, 400 мг, 420 мг, 440 мг, 460 мг, 480 мг, 500 мг, 520 мг, 540 мг, 560 мг, 580 мг, 600 мг (например, 250 мг, 420 мг или 560 мг) каждые сутки в течение некоторого периода времени, например, каждые сутки в течение курса из 21 суток, или каждые сутки в течение курса из 28 суток. В некоторых вариантах осуществления проводят 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или более курсов введения ибрутиниба. В некоторых вариантах осуществления ингибитор ВТК представляет собой ингибитор ВТК, описанный в международной заявке WO 2015/079417.

[0648] В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы представляет собой ингибитор PI3K. PI3K является центральным для каскада PI3K/Akt/mTOR, вовлеченного в регуляцию клеточного цикла и выживание клеток лимфомы. Иллюстративный ингибитор PI3K включает иделалисиб (ингибитор PI3K δ). В некоторых вариантах осуществления дополнительным средством является иделалисиб и ритуксимаб.

[0649] В некоторых вариантах осуществления дополнительным средством является ингибитор мишени рапамицина у млекопитающих (mTOR). В некоторых вариантах осуществления ингибитором киназы является ингибитор mTOR, выбранный из темсиролимуса; ридафороллимуса (также известный как AP23573 и MK8669); эверолимуса (RAD001); рапамицина (AY22989); симапимода; AZD8055; PF04691502; SF1126 и XL765. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой ингибитор митоген-активируемой протеинкиназы (MAPK), такой как вемурафениб, дабрафениб и траметиниб.

[0650] В некоторых вариантах осуществления дополнительным средством является средство, которое регулирует проапоптотические и антиапоптотические белки. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает ингибитор В-клеточной лимфомы 2 (BCL-2) (например, венетоклакс, также называемый АВТ-199 или GDC-0199; или АВТ-737). Венетоклакс представляет собой низкомолекулярное соединение (4-(4-{[2-(4-хлорфенил)-4,4-диметил-1-циклогексен-1-ил]метил}-1-пиперазинил)-N-({3-нитро-4-[(тетрагидро-2H-пиран-4-илметил)амино]фенил}сульфонил)-2-(1H-пирроло[2,3-b]пиридин-5-илоокси)бензамид), которое ингибирует антиапоптотический белок BCL-2. Другие средства, которые модулируют про- или антиапоптотический белок, включают ингибитор BCL-2 АВТ-737, навитоклакс (АВТ-263); миРНК против Mcl-1 или ингибитор Mcl-1 ретиноид N-(4-гидроксифенил)ретинамид

(4-HPR) для максимальной эффективности. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство обеспечивает проапоптотические стимулы, такое как рекомбинантный родственный фактору некроза опухоли индуцирующий апоптоз лиганд (TRAIL), который может активировать каскад апоптоза посредством связывания с рецепторами смерти DR-4 и DR-5 для TRAIL на поверхности опухолевых клеток, или антитела-агонисты TRAIL-R2.

[0651] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает цитотоксическое средство, например, CPX-351 (Celator Pharmaceuticals), цитарабин, даунорубин, восароксин (Sunesis Pharmaceuticals), сапацитабин (Cyclacel Pharmaceuticals), идарубин или митоксантрон. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает гипометилирующее средство, например, ингибитор ДНК-метилтрансферазы, например, азацидин или децитабин.

[0652] В другом варианте осуществления дополнительная терапия представляет собой трансплантацию, например, трансплантацию аллогенных стволовых клеток.

[0653] В некоторых вариантах осуществления дополнительная терапия представляет собой лимфодеплецию. В некоторых вариантах осуществления лимфодеплецию проводят у индивидуума, например, до введения модифицированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток. В некоторых вариантах осуществления лимфодеплеция включает введение одного или несколько из мелфалана, цитоксана, циклофосамида и флударабина. В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтическую лимфодеплецию проводят у индивидуума до, одновременно или после введения (например, инфузии) модифицированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток. В одном примере химиотерапевтическую лимфодеплецию проводят у индивидуума до введения модифицированных клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток.

[0654] В некоторых вариантах осуществления дополнительным средством является онколитический вирус. В некоторых вариантах осуществления онколитические вирусы способны селективно реплицироваться в злокачественных клетках и запускать их гибель или замедление их роста. В некоторых случаях, онколитические вирусы не имеют эффекта или имеют минимальный эффект на незлокачественные клетки. Онколитический вирус включает, но не ограничивается ими, онколитический аденовирус, онколитические вирусы простого герпеса, онколитический ретровирус, онколитический парвовирус, онколитический вирус коровьей оспы, онколитический вирус Синдбис, онколитический вирус гриппа или онколитический РНК-вирус (например, онколитический реовирус, онколитический вирус болезни Ньюкасла (NDV), онколитический вирус кори или онколитический вирус везикулярного стоматита (VSV)).

[0655] Другие иллюстративные комбинированные способы лечения, терапии и/или средства включают противоваллергические средства, противорвотные средства, обезболивающие средства и вспомогательные способы терапии. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает цитопротекторы, такие как

нейропротекторы, ловушки свободных радикалов, кардиопротекторы, нейтрализаторы экстравазации антрациклина и питательные вещества.

[0656] В некоторых вариантах осуществления антители, используемое в качестве дополнительного средства, конъюгировано или иным образом связано с терапевтическим средством, например, химиотерапевтическим средством (например, цитоксан, флударабин, ингибитор деацетилазы гистонов, деметилирующее средство, пептидная вакцина, противоопухолевый антибиотик, ингибитор тирозинкиназы, алкилирующее средство, средство, направленное против микротрубочек, или антимиотическое средство), противоаллергическое средство, средство против тошноты (или противорвотное), болеутоляющее средство или цитопротектор, описанные в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство представляет собой конъюгат антители-лекарственное средство.

[0657] Любое из дополнительных средств, описанных в настоящем описании, можно получать и вводить в качестве комбинированной терапии, описанной для предусматриваемых способов, применений, изделий или композиций, таких как фармацевтические композиции, содержащие один или несколько агентов комбинированной терапии и фармацевтически приемлемый носитель, такой как любой из описанных в настоящем описании фармацевтически приемлемых носителей. В некоторых вариантах осуществления комбинированную терапию в предусматриваемых способах, применениях, изделиях или композициях можно проводить одновременно, совместно или последовательно, в любом порядке с дополнительными средствами, терапией или лечением, где такое введение обеспечивает терапевтически эффективные уровни средств в организме индивидуума. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство можно вводить совместно с комбинированной терапией в предусматриваемых способах, применениях, изделиях или композициях, например, в качестве части одной и той же фармацевтической композиции или с использованием одного и того же способа доставки. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство вводят одновременно с клеточной терапией, например, дозой модифицированных Т-клеток (например, CAR⁺ Т-клеток), но в отдельных композициях. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство инкубируют с модифицированной клеткой, например, CAR-экспрессирующими клетками, перед введением клеток.

[0658] В некоторых примерах одно или несколько дополнительных средств вводят после или до проведения клеточной терапии, например, введения дозы модифицированных Т-клеток (например, CAR⁺ Т-клеток), с определенным периодом времени между ними. В некоторых примерах период времени составляет 1 сутки, 2 суток, 3 суток, 4 суток, 5 суток, 6 суток, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 1 месяц, 2 месяца или 3 месяца. В некоторых примерах одно или несколько дополнительных средств вводят несколько раз. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство вводят до клеточной терапии, например, дозы модифицированных Т-клеток (CAR⁺ Т-клеток) в предусматриваемых способах, применениях, изделиях или композициях, за две недели, 12

дней, 10 дней, 8 дней, одну неделю, 6 дней, 5 дней, 4 дня, 3 дня, 2 дня или 1 день до введения. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство вводят после клеточной терапии, например, дозы модифицированных Т-клеток (например, CAR⁺ Т-клеток) в предусматриваемых способах, применениях, изделиях или композициях, например, через две недели, 12 дней, 10 дней, 8 дней, одну неделю, 6 дней, 5 дней, 4 дня, 3 дня, 2 дня или 1 день после введения.

[0659] Доза дополнительного средства может представлять собой любое терапевтически эффективное количество, например, любую дозу, описанную в настоящем описании, и подходящая дозировка дополнительного средства может зависеть от типа В-клеточной злокачественной опухоли или гематологической злокачественной опухоли, подвергаемой лечению, типа, дозы и/или частоты введения клеток и/или композиции, возраста индивидуума, массы тела индивидуума, тяжести и течения заболевания, предшествующей терапии, клинического анамнеза пациента и ответа на клеточную терапию, например, дозы модифицированных Т-клеток (CAR⁺ Т-клеток), и мнения лечащего врача.

V. ИЗДЕЛИЯ И НАБОРЫ

[0660] Также предусматриваются изделия и наборы, содержащие модифицированные клетки, экспрессирующие рекомбинантный рецептор (например, CAR), или композиции, содержащие такие клетки, и необязательно инструкции по применению, например, инструкции по введению в соответствии с предусматриваемыми способами и применениями.

[0661] В некоторых вариантах осуществления предусматриваются изделия и/или наборы, которые включают композицию, содержащую терапевтически эффективное количество модифицированных клеток, описанных в настоящем описании, и инструкции по введению индивидууму для лечения В-клеточной злокачественной опухоли или гематологической злокачественной опухоли. В некоторых вариантах осуществления в инструкциях могут быть указаны некоторые или все из элементов способов и применений, описанных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления в инструкциях приведены конкретные инструкции по введению клеток для клеточной терапии, например, дозы, расписание, выбор и/или идентификация индивидуумов для введения и условия введения. В некоторых вариантах осуществления изделия и/или наборы, кроме того, включают одно или несколько дополнительных средств для терапии, например, лимфодеплеции и/или комбинированной терапии, таких как любые из описанных в настоящем описании средств, и необязательно дополнительно включают инструкции по введению дополнительного средства для терапии. В некоторых вариантах осуществления изделия и/или наборы дополнительно включают средство лимфодеплеции, и необязательно дополнительно включают инструкции по проведению лимфодеплеции. В некоторых вариантах осуществления инструкции могут быть включены в качестве ярлыка или вкладыша в упаковку, прилагаемых к композициям для введения.

[0662] В некоторых вариантах осуществления в инструкциях указаны критерии

выбора или идентификации индивидуумов для терапии. В некоторых вариантах осуществления индивидуумы включают любых индивидуумов, описанных в настоящем описании, для проведения терапии, таких как индивидуумы, описанные в разделе I.A настоящего описания. В некоторых вариантах осуществления такие критерии включают индивидуумов, имеющих В-клеточную злокачественную опухоль или гематологическую злокачественную опухоль. В некоторых вариантах осуществления такие критерии включают индивидуумов, имеющих В-клеточный острый лимфобластный лейкоз (В-ALL). В некоторых вариантах осуществления такие критерии включают индивидуумов, имеющих В-клеточную неходжкинскую лимфому (В-NHL) и/или любые ее подтипы, включая диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (DLBCL), лимфому Беркитта (BL) или первичную медиастинальную крупноклеточную В-клеточную лимфому (PMBCL).

[0663] В некоторых вариантах осуществления в инструкциях указан возраст индивидуума для введения клеток, например, CAR-экспрессирующих клеток. В некоторых вариантах осуществления в инструкциях указано введение индивидуумам в возрасте 25 лет или менее. В некоторых вариантах осуществления в инструкциях указано введение индивидуумам младше 18 лет. В некоторых вариантах осуществления в инструкциях указано введение педиатрическим индивидуумам или молодым взрослым индивидуумам.

[0664] В некоторых вариантах осуществления в инструкциях указано лечение индивидуума, имеющего рецидив после ремиссии после лечения посредством или ставшего рефрактерного к одному или нескольким предшествующим способам терапии; или индивидуума, имеющего рецидив или рефрактерного (R/R) к одному или нескольким предшествующим способам терапии, например, одной или нескольким линиям стандартной терапии. В некоторых вариантах осуществления в инструкциях указано лечение конкретной группы или подгруппы индивидуумов, таких как педиатрические индивидуумы, идентифицированные как имеющие В-клеточную злокачественную опухоль, которая стала R/R в отношении стандартной терапии. В некоторых вариантах осуществления индивидуумы могут иметь риск заболевания высокого риска, такого как В-клеточная злокачественная опухоль, которая является агрессивной и/или имеет плохой прогноз, или которая стала R/R в отношении стандартной терапии. В некоторых вариантах осуществления в инструкциях указано лечение индивидуумов, имеющих R/R В-ALL, R/R В-NHL или В-ALL, которые имеют минимальное остаточное заболевание (MRD+ В-ALL). В некоторых вариантах осуществления индивидуум имеет R/R DLBCL, R/R BL или R/R PMBCL. В некоторых вариантах осуществления индивидуумы или популяция, подлежащие лечению, включают индивидуумов, имеющих плохой показатель общего состояния. В некоторых аспектах популяция, подлежащая лечению, включает, например, индивидуумов, имеющих показатель общего состояния Восточной кооперативной онкологической группы (ECOG), который составляет 0-2. В других аспектах любого из вариантов осуществления индивидуумы, подвергаемые лечению, включают

индивидуумов с ECOG 0-1 или не включают индивидуумов с ECOG2. В некоторых вариантах осуществления любых из вариантов осуществления у индивидуумов, подвергаемых лечению, оказались неуспешными один или несколько, или два или более предшествующих способов терапии.

[0665] В некоторых вариантах осуществления в инструкциях указан уровень, количество или доза вводимых клеток, или количество или объем композиции, содержащей подлежащие введению модифицированные клетки. В некоторых аспектах в инструкциях указаны дозы в соответствии со способами и применениями, описанными в настоящем описании, например, как описано в разделе I.B настоящего описания. Например, в некоторых вариантах осуществления доза, указанная в инструкциях, включает дозу, которая основана на массе тела индивидуума. В некоторых вариантах осуществления доза, указанная в инструкциях, включает дозу, которая является фиксированной дозой или постоянной дозой. В некоторых вариантах осуществления в инструкциях указано введение нескольких доз.

[0666] В некоторых вариантах осуществления изделие или набор содержит контейнер, необязательно флакон, содержащий множество CD4⁺ CAR⁺ Т-клеток, и контейнер, необязательно флакон, содержащий множество CD8⁺ CAR⁺ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления изделие или набор содержит контейнер, необязательно флакон, содержащий множество CD4⁺ CAR⁺ Т-клеток и, кроме того, содержит, в том же контейнере, множество CD8⁺ CAR⁺ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления вместе с клетками включен криопротектор. В некоторых аспектах контейнер представляет собой пакет.

[0667] В некоторых вариантах осуществления контейнер, такой как флакон, содержит достаточное количество клеток, такое как достаточное количество CAR-экспрессирующих Т-клеток (например, CD4⁺ CAR⁺ Т-клеток или CD8⁺ CAR⁺ Т-клеток, или и тех, и других), для дозы, вводимой в соответствии со способами и применениями, описанными в настоящем описании, например, как описано в разделе I.B настоящего описания. В некоторых вариантах осуществления контейнер, такой как флакон, содержит более чем или приблизительно более чем 10×10^6 Т-клеток или CAR⁺ Т-клеток, более чем или приблизительно более чем 15×10^6 Т-клеток или CAR⁺ Т-клеток, более чем или приблизительно более чем 25×10^6 Т-клеток или CAR⁺ Т-клеток.

[0668] В некоторых аспектах флакон содержит от приблизительно 10×10^6 клеток/мл до приблизительно 70×10^6 клеток/мл, от приблизительно 10×10^6 клеток/мл до приблизительно 50×10^6 клеток/мл, от приблизительно 10×10^6 клеток/мл до приблизительно 25×10^6 клеток/мл, от приблизительно 10×10^6 клеток/мл до приблизительно 15×10^6 клеток/мл, от 15×10^6 клеток/мл до приблизительно 70×10^6 клеток/мл, от приблизительно 15×10^6 клеток/мл до приблизительно 50×10^6 клеток/мл, от приблизительно 15×10^6 клеток/мл до приблизительно 25×10^6 клеток/мл, от приблизительно 25×10^6 клеток/мл до приблизительно 70×10^6 клеток/мл, от приблизительно 25×10^6 клеток/мл до приблизительно 50×10^6 клеток/мл, и от

приблизительно 50×10^6 клеток/мл до приблизительно 70×10^6 клеток/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация Т-клеток в композиции в контейнере составляет более чем ровно или приблизительно 5×10^6 клеток/мл, или составляет или приблизительно составляет 5×10^6 клеток/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация Т-клеток в композиции в контейнере составляет более чем ровно или приблизительно 10×10^6 клеток/мл, или составляет или приблизительно составляет 10×10^6 клеток/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация Т-клеток в композиции в контейнере составляет более чем или приблизительно более чем 15×10^6 клеток/мл, или составляет или приблизительно составляет 15×10^6 клеток/мл. В некоторых аспектах концентрация клеток в контейнере представляет собой концентрацию жизнеспособных клеток в контейнере.

[0669] В некоторых вариантах осуществления множество флаконов, или множество клеток, или единичная доза клеток, предназначенных для введения, в совокупности, содержит определенный уровень, количество или дозу клеток, такие как любые дозы в соответствии со способами и применениями, описанными в настоящем описании, например, как описано в разделе I.B настоящего описания. В некоторых аспектах изделие содержит одну или несколько единичных доз $CD4^+$ и/или $CD8^+$ клеток или клеток $CD4^+$ рецептор⁺ и/или клеток $CD8^+$ рецептор⁺ (например, $CD4^+$ CAR⁺ клеток и/или $CD8^+$ CAR⁺ клеток). В некоторых вариантах осуществления единичная доза содержит от ровно или приблизительно 1×10^7 до ровно или приблизительно 2×10^8 CAR⁺ Т-клеток, от ровно или приблизительно 5×10^7 до ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR⁺ Т-клеток, ровно или приблизительно 5×10^7 CAR⁺ Т-клеток, ровно или приблизительно 1×10^8 CAR⁺ Т-клеток, или ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR⁺ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления информация в изделии указывает на введение одной или несколько единичных доз и/или объем, соответствующий такой одной или множеству единичных доз. В некоторых вариантах осуществления каждый флакон, или множество флаконов, или множество клеток, или единичная доза клеток, предназначенных для введения, в совокупности, содержит уровень, количество или дозу клеток, определенные на основе массы тела индивидуума, вплоть до максимального (или предельного) количества или уровня клеток. В некоторых вариантах осуществления каждый флакон или множество флаконов, или множество клеток, или единичная доза клеток, предназначенных для введения, в совокупности, содержит постоянное количество, уровень или дозу клеток, или фиксированное количество, уровень или дозу клеток, так что доза клеток не связана с или не основана на площади поверхности тела или массе тела индивидуума. В некоторых вариантах осуществления единичная доза клеток представляет собой или содержит количество или уровень клеток, таких как модифицированные Т-клетки, которое может быть введено индивидууму или пациенту в однократной дозе.

[0670] В некоторых вариантах осуществления в инструкциях может быть указан режим дозирования и расписание введения. Например, в некоторых вариантах осуществления в инструкциях может быть указано введение индивидууму множества доз,

например, двух или более доз, клеток. В некоторых вариантах осуществления в инструкциях указано расписание введения множества доз, например, вторую дозу вводят приблизительно через 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 суток после первой дозы; и/или размер дозировки каждой дозы.

[0671] В некоторых вариантах осуществления изделие или набор содержит множество $CD4^+$ CAR+ Т-клеток и инструкции по введению индивидууму, имеющему заболевание или состояние, всех или части множества $CD4^+$ Т-клеток и, кроме того, введению $CD8^+$ CAR+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления в инструкциях указано введение $CD4^+$ Т-клеток до введения $CD8^+$ -клеток. В некоторых случаях в инструкциях указано введение $CD8^+$ Т-клеток перед введением $CD4^+$ -клеток. В некоторых вариантах осуществления изделие или набор содержит множество $CD8^+$ CAR+ Т-клеток и инструкции по введению индивидууму, имеющему заболевание или состояние, всех или части $CD8^+$ Т-клеток и $CD4^+$ CAR+ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления в инструкциях указан режим дозирования и расписание введения клеток.

[0672] В некоторых аспектах в инструкциях указано введение всех или части $CD4^+$ Т-клеток и всех или части $CD8^+$ Т-клеток с интервалом от 0 до 12 часов, с интервалом от 0 до 6 часов или с интервалом от 0 до 2 часов. В некоторых случаях в инструкциях указано введение $CD4^+$ Т-клеток и $CD8^+$ Т-клеток с интервалом не более 2 часов, не более 1 часа, не более 30 минут, не более 15 минут, не более 10 минут или не более 5 минут.

[0673] В некоторых вариантах осуществления в инструкциях указана доза или количество клеток, или тип(ы) клеток, и/или соотношение типов клеток, например, отдельных популяций или подтипов, такое как соотношение $CD4^+$ и $CD8^+$. В некоторых вариантах осуществления популяции или подтипы клеток, представляют собой популяции или подтипы клеток, таких как $CD8^+$ и $CD4^+$ Т-клетки. Например, в некоторых вариантах осуществления в инструкциях указано, что клетки вводят в или в пределах допустимого диапазона конечных соотношений множества популяций или подтипов клеток, таких как $CD4^+$ и $CD8^+$ клетки или подтипы, от ровно или приблизительно 5:1 до ровно или приблизительно 5:1 (или от более чем приблизительно 1:5 до менее чем приблизительно 5:1), или от ровно или приблизительно 1:3 до ровно или приблизительно 3:1 (или от более чем приблизительно 1:3 до менее чем приблизительно 3:1), как например, от ровно или приблизительно 2:1 до ровно или приблизительно 1:5 (или от более чем приблизительно 1:5 до менее чем приблизительно 2:1, как например, ровно или приблизительно 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 допустимое отклонение находится в пределах приблизительно 1%, приблизительно 2%, приблизительно 3%, приблизительно 4% приблизительно 5%, приблизительно 10%, приблизительно 15%, приблизительно 20%, приблизительно 25%, приблизительно 30%, приблизительно 35%, приблизительно 40%, приблизительно 45%, приблизительно 50% от желаемого соотношения, включая любую величину между этими диапазонами.

[0674] В некоторых вариантах осуществления изделия и/или наборы дополнительно включают одно или несколько дополнительных средств терапии, например, лимфодеплеции и/или комбинированной терапии, как описано в настоящем описании, и необязательно инструкции по введению дополнительных средств. В некоторых примерах изделия могут дополнительно содержать одно или несколько терапевтических средств. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство представляет собой иммуномодулирующее средство, цитотоксическое средство, средство против злокачественной опухоли или средство лучевой терапии.

[0675] Изделия и/или наборы могут включать контейнер и ярлык или вкладыш в упаковку, на контейнере или прилагаемые к контейнеру. Подходящие контейнеры включают, например, бутылки, флаконы, шприцы, мешки для в/в растворов и т.д. Контейнеры могут быть изготовлены из различных материалов, таких как стекло или пластмасса. В некоторых вариантах осуществления контейнер содержит композицию, которая сама по себе или в комбинации с другой композицией является эффективной для лечения, предупреждения и/или диагностики состояния. В некоторых вариантах осуществления контейнер имеет отверстие для стерильного доступа. Иллюстративные контейнеры включают мешки для внутривенных растворов, флаконы, включая флаконы с пробками, проницаемыми для иглы для инъекций, или бутылки или флаконы для перорального введения средств. На ярлыке или вкладыше в упаковку может быть указано, что композицию используют для лечения заболевания или состояния. Изделие может включать (а) первый контейнер с содержащейся в нем композицией, где композиция включает модифицированные клетки, содержащие рекомбинантный рецептор; и (b) второй контейнер с содержащейся в нем композицией, где композиция включает второе средство. В некоторых вариантах осуществления изделие может включать (а) первый контейнер с первой содержащейся в нем композицией, где композиция включает подтип модифицированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор; и (b) второй контейнер с композицией, содержащейся в нем, где композиция включает отличающийся подтип модифицированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор. Изделие, кроме того, может включать вкладыш в упаковку, на котором указано, что композиции можно использовать для лечения конкретного состояния. Альтернативно или дополнительно, изделие, кроме того, может включать другой или тот же контейнер, содержащий фармацевтически приемлемый буфер. Кроме того, он может включать другие материалы, такие как другие буферы, разбавители, фильтры, иглы и/или шприцы.

VI. ОПРЕДЕЛЕНИЯ

[0676] Если не определено иначе, все термины данной области, обозначения и другие технические и научные термины или терминология, используемые в настоящем описании, имеют то же значение, которое обычно подразумевает специалист в области, к которой относится заявленное изобретение. В некоторых случаях термины с широко известным значением определены в настоящем описании для ясности и/или простоты отсылки, и включение таких определений в настоящее описание не следует обязательно

истолковывать как существенное отличие от того, что хорошо известно в данной области.

[0677] Термины "полипептид" и "белок" используют взаимозаменяемо для указания на полимер из аминокислотных остатков, и он не ограничивается минимальной длиной. Полипептиды, включающие предусматриваемые рецепторы и другие полипептиды, например, линкеры или пептиды, могут включать аминокислотные остатки, включающие природные и/или неприродные аминокислотные остатки. Также термины включают модификации полипептида после экспрессии, например, гликозилирование, сиалирование, ацетилирование и фосфорилирование. В некоторых аспектах полипептиды могут содержать модификации в отношении нативной или природной последовательности при условии, что белок сохраняет требуемую активность. Эти модификации могут быть намеренными, например, посредством сайт-направленного мутагенеза, или могут быть случайными, например, посредством мутаций в хозяевах, которые продуцируют белки, или ошибок вследствие ПЦР-амплификации.

[0678] Как используют в рамках изобретения, "индивидуумом" является млекопитающее, такое как человек или другое животное и, как правило, им является человек. В некоторых вариантах осуществления индивидуум, например, пациент, которому вводят средство или средства, клетки, клеточные популяции или композиции, представляет собой млекопитающее, как правило, примата, такого как человек. В некоторых вариантах осуществления приматом является мартышка или человекообразная обезьяна. Индивидуумом может быть мужчина или женщина, и он может иметь любой подходящий возраст, в том числе, младенческий, детский, подростковый, взрослый и пожилой. В некоторых вариантах осуществления индивидуумом является не являющееся приматом млекопитающее, такое как грызун.

[0679] Как используют в рамках изобретения, "лечение" (и его грамматические варианты, такие как "лечить" или "лечащий"), относится к полному или частичному смягчению или уменьшению заболевания, или состояния, или нарушения, или симптома, или неблагоприятного эффекта или исхода, или фенотипа, ассоциированного с ним. Желаемые эффекты лечения включают, но не ограничиваются ими, предупреждение возникновения или рецидива заболевания, смягчение симптомов, уменьшение каких-либо прямых или непрямых патологических последствий заболевания, предупреждение метастазов, уменьшение скорости прогрессирования заболевания, смягчение или облегчение болезненного состояния, и ремиссию или улучшение прогноза. Термины не подразумевают полное излечение от заболевания или полное устранение какого-либо симптома или эффекта(ов) в отношении всех симптомов или исходов.

[0680] Как используют в рамках изобретения, "замедление развития заболевания" означает отсрочивание, препятствование, замедление, торможение, стабилизацию, подавление и/или задерживание развития заболевания (такого как злокачественная опухоль). Это отсрочивание может иметь различную длительность в зависимости от анамнеза заболевания и/или подвергаемого лечению индивидуума. В некоторых вариантах осуществления достаточное или значительное отсрочивание может, в

сущности, охватывать предупреждение, так что у индивидуума не развивается заболевание. Например, может отсрочиваться поздняя стадия злокачественной опухоли, такая как развитие метастазов.

[0681] "Предупреждение", как используют в рамках изобретения, включает обеспечение профилактики в отношении возникновения или рецидива заболевания у индивидуума, который может быть предрасположен к заболеванию, но у которого заболевание еще не диагностировано. В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые и композиции используют для замедления развития заболевания или для замедления прогрессирования заболевания.

[0682] Как используют в рамках изобретения, "подавлять" функцию или активность означает снижать функцию или активность по сравнению с в остальном теми же условиями за исключением представляющего интерес состояния или параметра или альтернативно по сравнению с другим состоянием. Например, клетки, которые подавляют рост опухоли, снижают скорость роста опухоли по сравнению со скоростью роста опухоли в отсутствие клеток.

[0683] "Эффективное количество" средства, например, фармацевтического состава, клеток или композиции в контексте введения относится к количеству, эффективному, в дозировках/количествах и на протяжении периодов времени, необходимых для достижения желаемого результата, такого как терапевтический или профилактический результат.

[0684] "Терапевтически эффективное количество" средства, например, фармацевтического состава или клеток, относится к количеству, эффективному, в дозировках и в течение периодов времени, необходимых для достижения требуемого 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 масса тела индивидуума, вводимые популяции клеток. В некоторых вариантах осуществления предусматриваемые способы и применения вовлекают введение клеток и/или композиций в эффективных количествах, например, терапевтически эффективных количествах.

[0685] "Профилактически эффективное количество" относится к количеству, эффективному, в дозировках и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого профилактического результата. Обычно, но не обязательно, поскольку профилактическую дозу используют у индивидуума до или на ранней стадии заболевания, профилактически эффективное количество является меньшим, чем терапевтически эффективное количество. В контексте снижения опухолевой нагрузки, профилактически эффективное количество в некоторых аспектах превышает терапевтически эффективное количество.

[0686] Термин "приблизительно", как используют в рамках изобретения, относится к обычному диапазону погрешности для соответствующей величины, хорошо известному

специалисту в данной области техники. Указание "приблизительно" величины или параметра в настоящем описании включает (и описывает) варианты осуществления, которые относятся к самой этой величине или параметру.

[0687] Как используют в рамках изобретения, форма единственного числа включает множественное число упоминаемых объектов, если контекст явно не указывает на иное. Например, форма единственного числа означает "по меньшей мере один" или "один или несколько".

[0688] На протяжении настоящего описания различные аспекты заявленного изобретения представлены в формате диапазона. Следует понимать, что описание в формате диапазона предоставлено только для удобства и краткости, и его не следует истолковывать как строгое ограничение объема заявленного изобретения. Таким образом, описание диапазона следует понимать как конкретное описание всех возможных поддиапазонов, а также отдельных числовых величин в этом диапазоне. Например, когда предоставлен диапазон величин, понятно, что каждая входящая в него величина между верхней и нижней границами этого диапазона и любая другая указанная или входящая в этот указанный диапазон величина охватывается заявленным изобретением. Верхние и нижние пределы этих меньших диапазонов могут быть независимо включены в меньшие диапазоны, и также охватываются заявленным изобретением за исключением какого-либо конкретно исключенного предела в указанном диапазоне. Когда указанный диапазон включает один или оба из пределов, заявленное изобретение также включает любой или оба из этих включенных пределов. Это применимо независимо от ширины диапазона.

[0689] Как используют в рамках изобретения, композиция относится к любой смеси двух или более продуктов, веществ или соединений, включая клетки. Она может представлять собой раствор, суспензию, жидкость, порошок, пасту, водную композицию, неводную композицию или любую их комбинацию.

[0690] Как используют в рамках изобретения, "обогащение" при указании на один или несколько конкретных типов клеток или клеточных популяций, относится к увеличению количества или процента типа или популяции клеток, например, по сравнению с общим количеством клеток в композиции или объемом композиции, или относительно других типов клеток, например, посредством позитивной селекции на основе маркеров, экспрессируемых или клеткой, или посредством негативной селекции на основе маркера, не присутствующего на клеточной популяции или клетке, подлежащей истощению. Этот термин не требует полного удаления других клеток, типов клеток или популяций из композиции и не требует, чтобы клетки, обогащенные таким образом, присутствовали на уровне или даже близко к 100% в обогащенной композиции.

[0691] Как используют в рамках изобретения, указание на то, что клетка или популяция клеток является "положительной" по конкретному маркеру, относится к поддающемуся обнаружению присутствию на или в клетке конкретного маркера, как правило, маркера клеточной поверхности. При указании на маркер клеточной поверхности, термин относится к наличию поверхностной экспрессии, выявляемой

посредством проточной цитометрии, например, посредством окрашивания антителом, которое специфически связывается с маркером, и обнаружения такого антитела, где окрашивание поддается обнаружению посредством проточной цитометрии на уровне, существенно превышающем окрашивание, выявляемое при выполнении той же методики с контролем того же изотипа или контроля Fluorescence Minus One (FMO) в условиях, в остальном идентичных, и/или на уровне, по существу сходном с уровнем для клетки, о которой известно, что она является положительной в отношении маркера, и/или на уровне, существенно превышающем уровень для клетки, о которой известно, что она является отрицательной в отношении маркера.

[0692] Как используют в рамках изобретения, указание на то, что клетка или популяция клеток является "отрицательной" в отношении конкретного маркера, к отсутствию существенного поддающегося обнаружению присутствия на или в клетке конкретного маркера, как правило, маркера поверхности. При указании на маркер клеточной поверхности, термин относится к отсутствию поверхностной экспрессии, выявляемой посредством проточной цитометрии, например, посредством окрашивания антителом, которое специфически связывается с маркером, и обнаружения указанного антитела, где окрашивание не выявляется посредством проточной цитометрии на уровне, существенно превышающем окрашивание, выявляемое при выполнении той же методики с контролем того же изотипа или контроля Fluorescence Minus One (FMO) в условиях, в остальном идентичных, и/или на уровне, существенно более низком, чем уровень для клетки, о которой известно, что она является положительной по маркеру, и/или на уровне, по существу сходном с уровнем для клетки, о которой известно, что она является отрицательной по маркеру.

[0693] Термин "вектор", как используют в рамках изобретения, относится к молекуле нуклеиновой кислоты, способной к увеличению в количестве другой нуклеиновой кислоты, с которой она связана. Термин включает вектор в качестве самореплицирующейся структуры нуклеиновой кислоты, а также вектор, встраивающийся в геном клетки-хозяина, в которую его вводят. Определенные векторы способны направлять экспрессию нуклеиновых кислот, с которыми они функционально связаны. Такие векторы называют в настоящем описании "экспрессирующими векторами".

VII. ИЛЛЮСТРАТИВНЫЕ ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

[0694] К предусматриваемым вариантам осуществления относятся следующие:

1. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее Т-клеток в композиции, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг) и его возраст составляет менее 18 лет, от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела

индивидуума; и

(ii) если масса тела индивидуума составляет 100 килограммов (кг) или более и возраст составляет от 18 до 25 лет, включительно, от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

2. Способ согласно варианту осуществления 1, где, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

3. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее Т-клеток в композиции, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг) и его возраст составляет менее 18 лет, от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и

(ii) если масса тела индивидуума составляет 100 килограммов (кг) или более и возраст составляет от 18 до 25 лет, включительно, от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

4. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-3, где, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

5. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте менее 18 лет Т-клеток в композиции, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и

(ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

6. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте менее 18 лет Т-клеток в композиции, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и

(ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

7. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1, 2 и 5, где, если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до 1×10^6 CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума.

8. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-7, где, если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до 1×10^6 CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума.

9. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1, 2 и 5, где, если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

10. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-6 и 9, где, если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

11. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее Т-клеток в композиции, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; или

(ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

12. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее Т-клеток в композиции, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; или

(ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

13. Способ согласно варианту осуществления 11, где, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

14. Способ согласно любому из вариантов осуществления 11-13, где, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

15. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1, 2, 5, 7, 9, 11 и 13, где, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

16. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1, 2, 5, 7, 9, 11 и 13, где, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,15 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

17. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1, 2, 5, 7, 9, 11 и 13, где, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,3 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

18. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-14, где, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

19. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-14, где, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы

тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

20. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-14, где, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

21. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1, 2, 5, 7, 9, 11 и 13, где, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

22. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-14, где, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

23. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1, 2, 5, 7, 9, 11, 13 и 21, где, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

24. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1, 2, 5, 7, 9, 11, 13 и 21, где, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

25. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1, 2, 5, 7, 9, 11, 13 и 21, где, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

26. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-14, 21 и 22, где, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

27. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-14, 21 и 22, где, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

28. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-14, 21 и 22, где, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

29. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-28, где масса тела

индивидуума составляет по меньшей мере ровно или приблизительно 6 кг.

30. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-28, где масса тела индивидуума составляет по меньшей мере ровно или приблизительно 12 кг.

31. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее и с массой тела 12 кг или более Т-клеток в композиции, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, ровно или приблизительно $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; и

(ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

32. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее и с массой тела 12 кг или более Т-клеток в композиции, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, ровно или приблизительно $0,15 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; и

(ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

33. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее и с массой тела 12 кг или более Т-клеток в композиции, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, ровно или приблизительно $0,3 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; и

(ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

34. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее и с массой тела 12 кг или более Т-клеток в композиции, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или

приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; и

(ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

35. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее и с массой тела 12 кг или более Т-клеток в композиции, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, ровно или приблизительно $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; и

(ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

36. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее и с массой тела 12 кг или более Т-клеток в композиции, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, ровно или приблизительно 1×10^6 CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно 1×10^8 CAR+ Т-клеток в целом; и

(ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно 1×10^8 CAR+ Т-клеток.

37. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее и с массой тела 6 кг или более Т-клеток в композиции, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, ровно или приблизительно 1×10^6 CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно 1×10^8 CAR+ Т-клеток в целом; и

(ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

38. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте менее 18 лет и с массой тела 12 кг или более композиции, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена против CD19 (CAR), где композицию вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно до $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-

клеток в целом.

39. Способ согласно варианту осуществления 38, где композицию вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

40. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте менее 18 лет и с массой тела 12 кг или более композиции, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена против CD19 (CAR), где композицию вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

41. Способ согласно любому из вариантов осуществления 38-40, где композицию вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

42. Способ согласно варианту осуществления 38 или варианту осуществления 39, где композицию вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

43. Способ согласно варианту осуществления 38 или варианту осуществления 39, где композицию вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,15 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

44. Способ согласно варианту осуществления 38 или варианту осуществления 39, где композицию вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,3 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

45. Способ согласно любому из вариантов осуществления 38-41, где композицию вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

46. Способ согласно любому из вариантов осуществления 38-41, где композицию вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

47. Способ согласно любому из вариантов осуществления 38-41, где композицию вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или

приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

48. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-47, где вводят общий объем Т-клеток в композиции по меньшей мере 0,05 мл в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл.

49. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-48, где вводят общий объем Т-клеток в композиции по меньшей мере 0,5 мл в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл.

50. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее Т-клеток в композиции, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом, в объеме по меньшей мере 0,5 мл; и

(ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

51. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее Т-клеток в композиции, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно 1×10^8 CAR+ Т-клеток в целом, в объеме по меньшей мере 0,5 мл; и

(ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

52. Способ согласно варианту осуществления 48, где общий объем вводимой Т-клеток в композиции составляет по меньшей мере 0,05 мл.

53. Способ согласно варианту осуществления 48 или варианту осуществления 52, где общий объем вводимой Т-клеток в композиции составляет по меньшей мере 0,1 мл.

54. Способ согласно любому из вариантов осуществления 48-53, где общий объем вводимой композиции Т-клеток составляет по меньшей мере 1,0 мл.

55. Способ согласно любому из вариантов осуществления 48-54, где концентрация Т-клеток в композиции составляет более чем ровно или приблизительно 5×10^6 клеток/мл, или составляет или приблизительно составляет 5×10^6 клеток/мл

56. Способ согласно любому из вариантов осуществления 48-55, где концентрация Т-клеток в композиции составляет более чем ровно или приблизительно 10×10^6 клеток/мл,

или составляет или приблизительно составляет 10×10^6 клеток/мл.

57. Способ согласно любому из вариантов осуществления 48-56, где концентрация Т-клеток в композиции составляет более чем или приблизительно более чем 15×10^6 клеток/мл, или составляет или приблизительно составляет 15×10^6 клеток/мл.

58. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-57, где композиция Т-клеток содержит $CD4^+$ и $CD8^+$ CAR+ Т-клетки.

59. Способ согласно варианту осуществления 58, где композиция содержит первую композицию, содержащую одни из $CD4^+$ Т-клеток и $CD8^+$ Т-клеток, и вторую композицию, содержащую другие из $CD4^+$ Т-клеток и $CD8^+$ Т-клеток.

60. Способ согласно варианту осуществления 59, где первую композицию и вторую композицию вводят по отдельности.

61. Способ согласно варианту осуществления 59 или варианту осуществления 60, где первую композицию и вторую композицию вводят одновременно.

62. Способ согласно варианту осуществления 59 или варианту осуществления 60, где первую композицию и вторую композицию вводят последовательно в любом порядке.

63. Способ согласно любому из вариантов осуществления 59-62, где первая композиция содержит $CD4^+$ CAR+ Т-клетки, а вторая композиция содержит $CD8^+$ Т-клетки.

64. Способ согласно любому из вариантов осуществления 59-63, где первая композиция содержит $CD8^+$ CAR+ Т-клетки и вторая композиция содержит $CD4^+$ CAR+ Т-клетки.

65. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-64, где вводимое количество композиции Т-клеток содержит определенное соотношение $CD4^+$ CAR+ Т-клеток и $CD8^+$ CAR+ Т-клеток и/или $CD4^+$ Т-клеток и $CD8^+$ Т-клеток, которое равно или приблизительно равно 1:1 или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1.

66. Способ согласно любому из вариантов осуществления 59-65, где:

$CD4^+$ CAR+ Т-клетки в одной из первой и второй композиций и $CD8^+$ CAR+ Т-клетки в другой из первой и второй композиций присутствуют в определенном соотношении, которое составляет или приблизительно составляет 1:1, или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1; и/или

$CD4^+$ CAR+ Т-клетки и $CD8^+$ CAR+ Т-клетки, вводимые в первой и второй композициях, присутствуют в заданном соотношении, которое составляет или приблизительно составляет 1:1, или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1.

67. Способ согласно варианту осуществления 65 или варианту осуществления 66, где определенное соотношение составляет или приблизительно составляет 1:1.

68. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-67, где В-клеточная злокачественная опухоль представляет собой лимфому или лейкоз.

69. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-68, где В-клеточная злокачественная опухоль представляет собой В-клеточный острый лимфобластный лейкоз

(B-ALL).

70. Способ согласно варианту осуществления 69, где B-ALL является положительным по минимальной резидуальной болезни (MRD+).

71. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-70, где В-клеточная злокачественная опухоль представляет собой В-клеточную неходжкинскую лимфому (B-NHL).

72. Способ согласно варианту осуществления 71, где B-NHL представляет собой диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (DLBCL), первичную медиастинальную крупноклеточную В-клеточную лимфому (PMBCL) или лимфому Беркитта.

73. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-72, где В-клеточная злокачественная опухоль является рецидивирующей и/или рефрактерной.

74. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-73, где перед введением индивидуума подвергают прекондиционированию посредством лимфодеплеции, включающей введение флударабина и/или циклофосфамида.

75. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-74, дополнительно включающий непосредственно перед введением проведение лимфодеплеции у индивидуума, включающей введение флударабина и/или циклофосфамида.

76. Способ согласно варианту осуществления 74 или варианту осуществления 75, где лимфодеплеция включает введение циклофосфамида в дозе приблизительно 200-400 мг/м², необязательно ровно или приблизительно 300 мг/м², включительно, и/или флударабина в дозе приблизительно 20-40 мг/м², необязательно 30 мг/м², каждые сутки в течение 2-4 суток, необязательно в течение 3 суток.

77. Способ согласно любому из вариантов осуществления 74-76, где лимфодеплеция включает введение циклофосфамида в дозе приблизительно 300 мг/м² каждые сутки в течение 3 суток и флударабина в дозе приблизительно 30 мг/м² каждые сутки в течение 3 суток.

78. Способ согласно любому из вариантов осуществления 74-77, где циклофосфамид и флударабин вводят одновременно.

79. Способ согласно любому из вариантов осуществления 74-78, где циклофосфамид и флударабин вводят внутривенно.

80. Способ согласно любому из вариантов осуществления 74-79, где лимфодеплецию проводят за 2-7 суток до введения композиции Т-клеток.

81. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-80, где индивидуумом является человек.

82. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-81, где CAR содержит scFv, специфичный к CD19 человека, трансмембранный домен, цитоплазматический сигнальный домен, происходящий из костимулирующей молекулы, которая необязательно представляет собой или содержит 4-1BB человека, и цитоплазматический сигнальный домен, происходящий из первичной сигнальной ITAM-содержащей молекулы, которая

необязательно представляет собой или содержит сигнальный домен CD3-зета человека, и где CAR необязательно дополнительно содержит спейсер между трансмембранным доменом и scFv.

83. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-82, где CAR содержит, в указанном порядке, scFv, специфичный к CD19 человека, трансмембранный домен, цитоплазматический сигнальный домен, происходящий из костимулирующей молекулы, которая необязательно представляет собой или содержит сигнальный домен 4-1BB человека, и цитоплазматический сигнальный домен, происходящий из сигнальной ITAM-содержащей молекулы, которая необязательно представляет собой сигнальный домен CD3-зета человека.

84. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-83, где CAR содержит, в указанном порядке, scFv, специфичный к CD19 человека, спейсер, трансмембранный домен, цитоплазматический сигнальный домен, происходящий из костимулирующей молекулы, которая необязательно представляет собой сигнальный домен 4-1BB человека, и цитоплазматический сигнальный домен, происходящий из первичной сигнальной ITAM-содержащей молекулы, которая необязательно представляет собой или содержит сигнальный домен CD3-зета человека.

85. Способ согласно любому из вариантов осуществления 82-84, где спейсер представляет собой полипептидный спейсер, который содержит или состоит из всей или части шарнирной области иммуноглобулина или ее модифицированной версии, необязательно шарнирной области IgG4 или ее модифицированной версии.

86. Способ согласно варианту осуществления 85, где спейсер имеет длину приблизительно 15 аминокислот или менее и не содержит внеклеточную область CD28 или внеклеточную область CD8.

87. Способ согласно варианту осуществления 85 или вариант осуществления 86, где спейсер имеет длину ровно или приблизительно 12 аминокислот.

88. Способ согласно любому из вариантов осуществления 82-87, где:

спейсер имеет или состоит из последовательности SEQ ID NO: 1, последовательности, кодируемой SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, или варианта любой из вышеуказанных, обладающего по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичностью с ними; и/или

спейсер включает или состоит из формулы X_1PPX_2P , где X_1 представляет собой глицин, цистеин или аргинин и X_2 представляет собой цистеин или треонин.

89. Способ согласно любому из вариантов осуществления 82-88, где костимулирующий домен содержит SEQ ID NO: 12 или ее вариант, обладающий по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичностью с ней.

90. Способ согласно любому из вариантов осуществления 82-89, где первичный сигнальный домен содержит SEQ ID NO: 13, 14 или 15, обладающие по меньшей мере

85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичностью последовательности с ними.

91. Способ согласно любому из вариантов осуществления 82-90, где:

scFv содержит переменную область легкой цепи (V_L), содержащую последовательность CDRL1 RASQDISKYLN (SEQ ID NO: 35), последовательность CDRL2 SRLHSGV (SEQ ID NO: 36) и последовательность CDRL3 GNTLPYTFG (SEQ ID NO: 37), и переменную область тяжелой цепи (V_H), содержащую последовательность CDRH1 DYGVVS (SEQ ID NO: 38), последовательность CDRH2 VIWGSETTYNSALKS (SEQ ID NO: 39) и последовательность CDRH3 YAMDYWG (SEQ ID NO: 40); или

scFv содержит V_L , содержащую последовательность CDRL1 FMC63, последовательность CDRL2 FMC63, последовательность CDRL3 FMC63, и V_H , содержащую последовательность CDRH1 FMC63, последовательность CDRH2 FMC63 и последовательность CDRH3 FMC63.

92. Способ согласно любому из вариантов осуществления 82-91, где scFv содержит V_H , указанную в SEQ ID NO: 41, и V_L , указанную в SEQ ID NO: 42.

93. Способ согласно варианту осуществления 91 или варианту осуществления 92, где V_H и V_L разделены гибким линкером, необязательно где гибкий линкер представляет собой или содержит последовательность, указанную в SEQ ID NO: 24.

94. Способ согласно любому из вариантов осуществления 82-93, где scFv представляет собой или содержит последовательность, указанную в SEQ ID NO: 43.

95. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-94, где Т-клетки представляют собой первичные Т-клетки, полученные от индивидуума.

96. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-95, где Т-клетки являются аутологичными для индивидуума.

97. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-96, где перед введением композиции индивидуума идентифицируют или индивидуум идентифицирован как имеющий клетки, экспрессирующие CD19.

98. Способ согласно варианту осуществления 97, где детекцию экспрессии CD19 проводят посредством проточной цитометрии в периферической крови или костном мозге, и/или посредством иммуногистохимии биоптата костного мозга.

99. Способ согласно любому из вариантов осуществления 69, 70 и 73-98, где индивидуум имеет В-ALL, который представляет собой любой из следующих: первый или последующий рецидив в костном мозге, любой рецидив в костном мозге после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT); первичный рефрактерный, необязательно после 2 или более отдельных индукционных режимов; рефрактерный к химиотерапии, необязательно после 1 курса химиотерапии от рецидивирующего лейкоза; или не подходящий для аллогенной HSCT.

100. Способ согласно любому из вариантов осуществления 71-98, где индивидуум имеет В-NHL, при которой существует поддающееся определению заболевание после 1 или более линий химиотерапии, оказалась неуспешной HSCT, или которая является не

подходящей для HSCT.

101. Изделие, содержащее композицию для клеточной терапии, или одну из множества композиций клеточной терапии, содержащую Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена против CD19 (CAR), и инструкции по проведению клеточной терапии, где в инструкции указано введение композиции Т-клеток в соответствии со способами согласно любому из вариантов осуществления 1-100.

VIII. ПРИМЕРЫ

[0695] Следующие примеры включены только для иллюстративных целей и не предназначены для ограничения объема изобретения.

Пример 1: Введение клеток, экспрессирующих CAR против CD19, педиатрическим индивидуумам с рецидивирующим и рефрактерным В-клеточным острым лимфобластным лейкозом (B-ALL) и В-клеточной неходжкинской лимфомой (NHL)

[0696] Композиции Т-клеток, содержащие экспрессирующие CAR против CD19 Т-клетки, получают от индивидуумов, подлежащих лечению, в возрасте 25 лет или менее, в некоторых случаях менее 18 лет, с рецидивирующим или рефрактерным (r/r) В-клеточным острым лимфобластным лейкозом (B-ALL) или рецидивирующей или рефрактерной (r/r) В-клеточной неходжкинской лимфомой (NHL).

[0697] Индивидуумы с r/r B-ALL имеют морфологические признаки заболевания в костном мозге (5% или более лимфобластов по морфологии), и любое из следующих: первый или последующий рецидив в костном мозге; любой рецидив в костном мозге после аллогенной трансплантации стволовых гемопоэтических стволовых клеток (HSCT); являются первично рефрактерными, например, не достигшими полного ответа (CR) или полного ответа с неполным восстановлением количества клеток (CRi) после двух (2) или более отдельных индукционных режимов (или рефрактерными к химиотерапии, т.е. не достигшими CR/CRi после 1 курса стандартной химиотерапии против рецидивирующего лейкоза); или являются не подходящими для аллогенной HSCT.

[0698] В одной группе индивидуумы с B-ALL имеют менее 5% лимфобластов по морфологии и/или минимальную остаточную болезнь (MRD+) при определении посредством валидированного анализа, с частотой 1×10^{-4} или более в клетках костного мозга после двух линий терапии.

[0699] Индивидуумы с положительным по филадельфийской хромосоме ALL являются подходящими для включения, если у них оказалась непереносимой или неуспешной одна или несколько линий терапии ингибитором тирозинкиназы (TKI), или если терапия TKI противопоказана.

[0700] В одной группе индивидуумы с r/r B-NHL имеют поддающееся определению заболевание после одной или нескольких линий химиотерапии, и/или у них оказалась неуспешной HSCT, или они являются не подходящими для HSCT. Индивидуумы с r/r B-NHL включают индивидуумов с диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомой (DLBCL); с лимфомой Беркитта (BL) или с первичной

медиастинальной крупноклеточной В-клеточной лимфомой (PMBCL).

[0701] Подвергнутые лечению индивидуумы имеют признаки экспрессии CD19 при определении посредством проточной цитометрии (в периферической крови или костном мозге) или иммуногистохимии (биоптат костного мозга); им не проводили предшествующую терапию CAR Т-клетками или другими генно-модифицированными Т-клетками; и/или, если после проведения предшествующей нацеленной на CD19 терапии, они имеют положительное по CD19 заболевание, подтвержденное после завершения предшествующей нацеленной на CD19 терапии.

[0702] Композиции Т-клеток получают из образцов, полученных при лейкоферезе, которые получают от индивидуумов посредством процесса, включающего обогащение на основе иммуноаффинности CD8⁺ и CD4⁺ клеток, соответственно. Клетки обогащенных композиций активируют по отдельности и подвергают лентивирусной трансдукции вектором, кодирующим CAR против CD19. CAR против CD19 содержит scFv против CD19, происходящий из антитела мыши (вариабельная область, происходящая из FMC63), происходящий из иммуноглобулина спейсер, трансмембранный домен, происходящий из CD28, костимулирующую область, происходящую из 4-1BB, и внутриклеточный сигнальный домен CD3-зета. Трансдуцированные популяции по отдельности инкубируют в присутствии стимулирующих реагентов для клеточной экспансии. Подвергнутые экспансии CD8⁺ и CD4⁺ клетки составляют и криоконсервируют по отдельности и хранят.

[0703] Перед введением CAR-экспрессирующих Т-клеток (d=0), индивидуумам проводят введение 30 мг/м² флударабина каждые сутки в течение 3 суток и 300 мг/м² циклофосфида каждые сутки в течение 3 суток. Композиции криоконсервированных Т-клеток размораживают перед внутривенным введением. Аутологичные Т-клетки, экспрессирующие CAR против CD19, вводят через 2-7 суток после лимфодеплеции в качестве композиции с определенным составом посредством введения по отдельности индивидууму композиции CD4⁺ CAR-экспрессирующих Т-клеток и композиции CD8⁺ CAR экспрессирующих Т-клеток, вводимых в заданном соотношении 1:1.

[0704] В одной группе индивидуумов возраст индивидуумов составляет восемнадцать (18) лет или менее и масса тела индивидуумов составляет двенадцать (12) килограммов или более. Индивидуумам вводят композицию Т-клеток (посредством введения по отдельности композиции CAR-экспрессирующих CD4⁺ и CAR-экспрессирующих CD8⁺ Т-клеток) в целевой дозе 0,5×10⁶ CAR-экспрессирующих Т-клеток на килограмм массы тела индивидуума с максимальной целевой дозой 0,5×10⁸ тотальных CAR-экспрессирующих Т-клеток.

[0705] В некоторых группах индивидуумов возраст индивидуумов составляет (18) лет или менее и масса тела составляет шесть (6) килограммов или более. В одной группе таким индивидуумам вводят композицию Т-клеток (посредством введения по отдельности композиций CAR-экспрессирующих CD4⁺ и CAR-экспрессирующих CD8⁺ Т-клеток) в целевой дозе 1,0×10⁶ CAR-экспрессирующ Т-клеток на килограмм с максимальной дозой

$1,0 \times 10^8$ тотальных CAR-экспрессирующих Т-клеток.

[0706] в группе индивидуумов в возрасте от восемнадцати (18) до двадцати пяти (25) лет, включительно, индивидуумам вводят композицию Т-клеток (посредством введения по отдельности композиций CAR-экспрессирующих CD4+ и CAR-экспрессирующих CD8+ Т-клеток) в дозе либо $0,5 \times 10^8$, либо $1,0 \times 10^8$ тотальных CAR-экспрессирующих Т-клеток.

[0707] В одной группе индивидуумам вводят композицию Т-клеток в целевой дозе $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т клеток/кг с максимальной дозой 5×10^6 CAR+ Т-клеток. В некоторых случаях доза у этих индивидуумов может быть повышена до $0,1 \times 10^6$ CAR+ Т клеток/кг, если индивидуум не имеет ответа и токсичности, приблизительно через 28 суток после введения CAR+ Т-клеток, и если ему предварительно проводят химиотерапевтическую лимфодеплецию (LDC). В одной группе индивидуумам вводят композицию Т-клеток в целевой дозе $0,15 \times 10^6$ CAR+ Т клеток/кг с максимальной дозой 15×10^6 CAR+ Т-клеток. В одной группе индивидуумам вводят композицию Т-клеток в целевой дозе $0,3 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг с максимальной дозой 30×10^6 CAR+ Т-клеток. В одной группе индивидуумам вводят композицию Т-клеток в целевой дозе $0,50 \times 10^6$ CAR+ Т клеток/кг с максимальной дозой 50×10^6 CAR+ Т-клеток. В одной группе индивидуумам вводят композицию Т-клеток в целевой дозе $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т клеток/кг с максимальной дозой 75×10^6 CAR+ Т-клеток.

[0708] Ответ на лечение оценивают на основе морфологических критериев для костного мозга и крови, данных физикального обследования, а также различных лабораторных оценок. В некоторых группах ограничивающую дозу токсичность (DLT) оценивают приблизительно через 28 суток после введения CAR-экспрессирующих Т-клеток. Также оценивают наличие или отсутствие возникших после начала лечения нежелательных явлений (TEAE). Исход также можно оценивать, например, посредством оценки общей частоты ответа (ORR); частоты ответов, негативных в отношении минимальной резидуальной болезни (MRD); длительности ответа (DOR); выживаемости без рецидива (RFS); выживаемости без прогрессирования (PFS); бессобытийной выживаемости (EFS); общей выживаемости (OS); частоты ответа в отношении MRD; и частоты трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT) после ответа на инфузию CAR Т-клеток. Индивидуумов также оценивают в отношении фармакокинетики (PK) Т-клеток с CAR против CD19, включая максимальную концентрацию (C_{max}); время до максимальной концентрации (T_{max}) и площадь под кривой (AUC) для CAR+ Т-клеток в образцах (таких как образцы крови или опухоли) от индивидуума, например, взятых в различные моменты времени после введения. В некоторых группах общую частоту ответа (ORR), включая индивидуумов, достигших полного ответа (CR) или полного ответа с неполным восстановлением формулы крови (CRi), оценивают приблизительно через 28 суток после введения CAR-экспрессирующих Т-клеток и подтверждают приблизительно через 56 суток после введения CAR-экспрессирующих Т-клеток. В некоторых группах частоту ответов, негативных в отношении минимальной резидуальной болезни (MRD),

оценивают приблизительно через 28 суток после введения CAR-экспрессирующих Т-клеток и подтверждают приблизительно через 56 суток после введения CAR-экспрессирующих Т-клеток. В некоторых случаях частоту ответа в отношении MRD можно определять из доли индивидуумов, достигших CR или CRi без обнаружения MRD в костном мозге (например, <0,01% посредством валидированного анализа).

Пример 2: Способы получения терапевтических композиций CD4+ и CD8+ клеток, экспрессирующих CAR против CD19

[0709] Модифицированные CD4+ Т-клетки и модифицированные CD8+ Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена против CD19 (CAR), получали из Т-клеток от педиатрических индивидуумов в возрасте младше 18 лет. Композицию модифицированных Т-клеток с CAR против CD19 вводили индивидууму в соответствии со способом введения, описанным в примере 1.

А. Способ получения терапевтических клеточных композиций

[0710] Модифицированные CD4+ Т-клетки и модифицированные CD8+ Т-клетки, все из которых экспрессировали один и тот же химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, получали способом, вовлекающим воздействие на обогащенные CD4+ и обогащенные CD8+ клеточные популяции, по отдельности, стадий обработки. CD4+ и CD8+ клетки по отдельности отбирали из мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) человека, которые были получены посредством лейкофереза от двух (2) человек в возрасте младше 18, получая отдельные обогащенные CD4+ и обогащенные CD8+ клеточные композиции, которые затем подвергали криоконсервации. Затем CD4+ и CD8+ композиции размораживали и по отдельности подвергали стадиям стимуляции, трансдукции и экспансии.

[0711] Размороженные CD4+ и CD8+ клетки по отдельности стимулировали в присутствии парамагнитных покрытых полистиролом гранул, связанных с антителами против CD3 и против CD28 в соотношении гранул и клеток 1:1. Стимуляцию проводили в среде, содержащей рекомбинантный IL-2 человека, рекомбинантный IL-15 человека и N-ацетилцистеин (NAC). Среда CD4+ клеток также включала рекомбинантный IL-7 человека.

[0712] После стимуляции стимулирующим средством против CD3/против CD28, CD4+ и CD8+ клетки по отдельности трансдуцировали лентивирусным вектором, кодирующим один и тот же CAR против CD19. CAR содержал scFv против CD19, происходящий из антитела мыши (вариабельная область, происходящая из FMC63), иммуноглобулиновый спейсер, трансмембранный домен, происходящий из CD28, костимулирующую область, происходящую из 4-1BB, и внутриклеточный сигнальный домен CD3-зета. Вектор также кодировал укороченный EGFR (EGFRt), который служил в качестве суррогатного маркера экспрессии CAR, который был соединен с конструкцией CAR посредством последовательности T2A. Клетки трансдуцировали в присутствии 10 мкг/мл сульфата протамина.

[0713] После трансдукции гранулы извлекали из клеточных композиций под

действием магнитного поля. Затем композиции CD4+ и CD8+ клеток по отдельности культивировали для экспансии при непрерывном перемешивании и подаче кислорода посредством биореактора (Xuri W25 Bioreactor). К среде добавляли полоксамер. Обе клеточных композиции культивировали в присутствии IL-2 и IL-15. Среда CD4+ клеток также включала IL-7. Каждые из CD4+ и CD8+ клеток культивировали перед сбором до 4-кратной экспансии. Через одни сутки после достижения порогового уровня клетки из каждой композиции по отдельности собирали, составляли и криоконсервировали. Иллюстративный способ обобщенно представлен в таблице E1.

Таблица E1: Обобщенное представление иллюстративного способа получения CD4+ и CD8+ CAR-T-клеток

Стадия	CD4+ клетки	CD8+ клетки
Стимуляция (сутки 1-2)	- гранулы, конъюгированные с антителом против CD3/CD28 - соотношение гранул и клеток 1:1 - среда: IL-2, IL-7, IL-15 и NAC	- гранулы, конъюгированные с антителом против CD3/CD28 - соотношение гранул и клеток 1:1 - среда: IL-2, IL-15 и NAC
Трансдукция (сутки 2-5)	- адъювант трансдукции (например, 10 мкг/мл протамина сульфата)	- адъювант трансдукции (например, 10 мкг/мл протамина сульфата)
Удаление гранул (сутки 5*)	- удаление магнитных гранул	- удаление магнитных гранул
Экспансия (сутки 5* - сбор)	- качающий биореактор и/или непрерывное перемешивание - среда: IL-2, IL-7, IL15 и полоксамер	- качающий биореактор и/или непрерывное перемешивание - среда: IL-2, IL15 и полоксамер

*Приблизительно

В. Признаки клеточных фенотипов для полученной терапевтической клеточной композиции

[0714] Экспрессию маркеров клеточной поверхности, ассоциированных с конкретными подтипами Т-клеток, включая рецептор С-С хемокинов 7 типа (CCR7), CD27 и CD45RA в двух (2) терапевтических клеточных композициях, полученных, как описано выше, от индивидуумов в возрасте менее 18, оценивали посредством проточной цитометрии. Также оценивали поверхностные уровни экспрессии CD3, CD4, CD8 CD28, и укороченного рецептора, использованного в качестве суррогатного маркера для экспрессии CAR; присутствие активированной каспазы 3 оценивали в качестве показателя апоптотических клеток.

[0715] Среди CD8+ CAR+ клеток в полученных клеточных композициях более 90% клеток были CCR7+, более 85% клеток были CD27+, более 55% клеток были CCR7+CD45RA+, и более 75% клеток были CD28+CD27+, что согласуется с наблюдением высокого процента менее дифференцированных подобных наивным клеток в композиции модифицированных CD8+CAR+ клеток. Среди CD4+ CAR+ клеток в полученных клеточных композициях более 75% клеток были CCR7+, более 75% клеток были CD27+, более 40% клеток были CCR7+CD45RA+, и более 70% клеток были CD28+CD27+, что согласуется с наблюдением высокого процента менее дифференцированных подобных наивным клеток в композиции модифицированных CD4+CAR+ клеток. Среди CD3+CD8+ Т-клеток в композиции менее 10% клеток были положительными по активной каспазе 3 (что указывает на апоптотические клетки) и среди CD3+CD4+ Т-клеток в композиции менее 25% клеток были положительными по активной каспазе 3.

[0716] Результаты согласуются с наблюдением, что терапевтические клеточные композиции, полученные от педиатрических индивидуумов с использованием способа, описанного выше, демонстрировали фенотипические маркеры, ассоциированные с менее дифференцированными подобными наивным подтипами и низким процентом апоптотических клеток. Без связи с теорией, высокий процент менее дифференцированных подобных наивным Т-клеток в композициях модифицированных CD4+ CAR+ и CD8+CAR+ Т-клеток служит в поддержку того, что введение более низкой дозы клеток, такой как доза только $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т клеток/кг, может быть осуществимой для педиатрических индивидуумов.

Пример 3: Введение различных доз экспрессирующих CAR против CD19 педиатрическим индивидуумам с рецидивирующим и рефрактерным В-клеточным острым лимфобластным лейкозом (B-ALL) и В-клеточной неходжкинской лимфомой (NHL)

[0717] Т-клеточные композиции, содержащие Т-клетки, экспрессирующие CAR против CD19, от педиатрических индивидуумов с рецидивирующим или рефрактерным (r/r) В-клеточным острым лимфобластным лейкозом (B-ALL) или рецидивирующей или рефрактерной (r/r) В-клеточной неходжкинской лимфомой (NHL) с использованием способа, описанного в примере 2. Индивидуумы включают педиатрических индивидуумов с CD19-положительным рецидивирующим/рефрактерным (r/r) В-клеточным острым лимфобластным лейкозом (B-ALL) и В-клеточной неходжкинской лимфомой (B-NHL) (включая диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (DLBCL), лимфому Беркитта (BL) или первичную медиастинальную крупноклеточную В-клеточную лимфому (PMBCL)) у педиатрических индивидуумов.

[0718] Одна группа индивидуумов включает индивидуумов в возрасте младше 18 лет с CD19+ B-ALL, который рецидивировал/стал рефрактерным после 1 или более линий химиотерапии, рецидивировал после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT), или которые в ином случае являются не подходящими для HSCT.

[0719] Одна группа индивидуумов включает индивидуумов в возрасте 25 лет или

менее с CD19+ B-ALL или B-NHL, которые являются r/r после 1 или более линий химиотерапии, рецидивировали после HSCT, или которые в ином случае являются не подходящими для HSCT. Для индивидуумов в возрасте младше 18 лет индивидуумы включают индивидуумов с r/r B-ALL; положительным по минимальной резидуальной болезни (MRD+) B-ALL; и r/r B-NHL (DLBCL, BL или PMBCL). Для индивидуумов в возрасте от 18 до 25 лет или менее включены индивидуумы с B-ALL. Необходимо, чтобы масса тела индивидуумов составляла 6 кг или более. Включены индивидуумы с B-NHL с вторичным вовлечением центральной нервной системы (ЦНС).

[0720] В одной группе индивидуумы имеют r/r B-ALL с морфологическими признаками заболевания в костном мозге (5% или более лимфобластов по морфологии) и любое из следующих: первый или последующий рецидив в костном мозге; любой рецидив в костном мозге после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT); первичное рефрактерное заболевание, например, не достижение полного ответа (CR) или полного ответа с неполным восстановлением формулы крови (CRi) после (2) или более отдельных индукционных режимов (или химиорефрактерное, такое как не достижение CR/CRi после 1 курса стандартной химиотерапии рецидивирующего лейкоза); или не подходящая для аллогенной HSCT. Индивидуум является пригодным независимо от статуса MRD в этой группе.

[0721] В одной группе индивидуумы имеют MRD+ B-ALL с менее 5% лимфобластов по морфологии и/или положительный по минимальной резидуальной болезни (MRD+) при определении посредством валидированного анализа, с частотой 1×10^{-4} или более в клетках костного мозга после двух линий терапии. В некоторых случаях необязательная переходная химиотерапия может преобразовывать r/r B-ALL в MRD+ или MRD- B-ALL.

[0722] В одной группе индивидуумы имеют r/r B-NHL с поддающимся определению заболеванием после одной или нескольких линий химиотерапии, и/или у них оказалась неуспешной HSCT или они являются не подходящими для HSCT. Индивидуумы с r/r B-NHL включают индивидуумов с диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомой (DLBCL); с лимфомой Беркитта (BL); или с первичной медиастинальной крупноклеточной В-клеточной лимфомой (PMBCL).

[0723] Индивидуумы с положительным по филадельфийской хромосоме ALL являются пригодными, если они не переносят или у них оказалась неуспешной одна или несколько линий терапии ингибиторами тирозинкиназ (TKI), или если терапия TKI противопоказана.

[0724] Подвергнутые лечению индивидуумы имеют признаки экспрессии CD19 при определении посредством проточной цитометрии (в периферической крови или костном мозге) или иммуногистохимии (биоптат костного мозга). Если индивидуумам ранее проводили направленную на CD19 терапию, индивидуумы должны иметь подтвержденное положительное по CD19 заболевание после завершения предшествующей направленной на CD19 терапии.

[0725] Индивидуумам не проводили предшествующую терапию CAR Т-клетками или терапию другими генно-модифицированными Т-клетками, или не имели активного заболевания ЦНС или значительного неврологического нарушения.

[0726] Перед введением CAR-экспрессирующих Т-клеток ($d=0$) индивидуумам вводят 30 мг/м^2 флударабина каждые сутки в течение 3 суток и 300 мг/м^2 циклофосфида каждые сутки в течение 3 суток. Композиции криоконсервированных Т-клеток размораживают перед внутривенным введением. Аутологичные экспрессирующие CAR против CD19 Т-клетки вводят через от двух до семи суток после лимфодеплеции в качестве клеточной композиции с определенным составом посредством введения индивидууму по отдельности композиции CD4+ CAR-экспрессирующих Т-клеток и композиции CD8+ CAR-экспрессирующих Т-клеток в целевом соотношении 1:1.

[0727] Композиции Т-клеток получают из образцов, полученных посредством лейкофереза, взятых от индивидуумов посредством процесса, включающего обогащение на основе иммуноаффинности CD8+ и CD4+ клеток и модификацию для экспрессии CAR против CD19, в основном, как описано в примере 2. Модифицированные CD8+ и CD4+ клетки составляют и криоконсервируют по отдельности и хранят.

[0728] В одной группе индивидуумам вводят композицию Т-клеток в целевой дозе $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т клеток/кг с максимальной дозой 5×10^6 CAR+ Т-клеток. В некоторых случаях этим индивидуумам можно проводить химиотерапевтическую лимфодеплецию (LDC), за которой следует дополнительная доза $0,1 \times 10^6$ CAR+ Т клеток/кг (с максимальной дозой 10×10^6 CAR+ Т-клеток), если индивидуум не имеет ответа и токсичности, приблизительно через 28 суток после введения CAR+ Т-клеток. В одной группе индивидуумам вводят композицию Т-клеток в целевой дозе $0,15 \times 10^6$ CAR+ Т клеток/кг, с максимальной дозой 15×10^6 CAR+ Т-клеток. В одной группе индивидуумам вводят композицию Т-клеток в целевой дозе $0,3 \times 10^6$ CAR+ Т клеток/кг, с максимальной дозой 30×10^6 CAR+ Т-клеток. В одной группе индивидуумам вводят композицию Т-клеток в целевой дозе $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т клеток/кг, с максимальной дозой 50×10^6 CAR+ Т-клеток. В одной группе индивидуумам вводят композицию Т-клеток в целевой дозе $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т клеток/кг, с максимальной дозой 75×10^6 CAR+ Т-клеток. Максимальная доза в каждом случае эквивалентна дозе для массы тела 100 кг.

[0729] Ответ на лечение оценивают на основе морфологических критериев для костного мозга и крови, данных физикального обследования, а также различных лабораторных оценок. В некоторых группах ограничивающую дозу токсичность (DLT) оценивают приблизительно через 28 суток после введения CAR-экспрессирующих Т-клеток. В некоторых группах оценивают общую частоту ответа (ORR), включая индивидуумов, достигших полного ответа (CR) или полного ответа с неполным восстановлением формулы крови (CRi) приблизительно через 28 суток после введения CAR-экспрессирующих Т-клеток, и подтверждают приблизительно через 56 суток после введения CAR-экспрессирующих Т-клеток. В некоторых группах оценивают частота негативных в отношении минимальной резидуальной болезни (MRD) ответов

приблизительно через 28 суток после введения CAR-экспрессирующих Т-клеток и подтверждают приблизительно через 56 суток после введения CAR-экспрессирующих Т-клеток. В некоторых случаях, частоту MRD-негативных случаев можно определять из доли индивидуумов с ответом MRD-. В некоторых группах оценивают общую частоту ответа (ORR), включая индивидуумов, достигших полного ответа (CR) или частичного ответа (PR) приблизительно через 28 суток после введения CAR-экспрессирующих Т-клеток.

[0730] Также оценивают наличие или отсутствие возникших после начала лечения нежелательных явлений (TEAE). Исход также можно оценивать, например, посредством оценки общей частоты ответа (ORR); частоты ответов, негативных в отношении минимальной резидуальной болезни (MRD); длительности ответа (DOR); выживаемости без рецидива (RFS); выживаемости без прогрессирования (PFS); бессобытийной выживаемости (EFS); общей выживаемости (OS); частоты ответа в отношении MRD; и частоты трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT) после ответа на инфузию CAR-экспрессирующих Т-клеток. В некоторых случаях оценивают процент индивидуумов с r/r B-ALL, которые достигают CR или CRi без обнаружения MRD в костном мозге (BM) (<0,01% посредством валидированного анализа) в течение 24 месяцев после введения CAR-экспрессирующих клеток. Индивидуумов также оценивают в отношении фармакокинетики (PK) Т-клеток с CAR против CD19, включая максимальную концентрацию (C_{max}); время до максимальной концентрации (T_{max}) и площадь под кривой (AUC) для CAR+ Т-клеток в образцах (таких как образцы крови или опухоли) от индивидуума, например, взятых в различные моменты времени после введения.

[0731] Настоящее изобретение не предназначено для ограничения конкретных описанных вариантов осуществления, которые предоставлены, например, для иллюстрации различных аспектов изобретения. Различные модификации композиций и способов, описанных в настоящем описании, станут очевидными из описания и идей, описанных в настоящем описании. Такие варианты можно применять на практике без отклонения от истинного объема и сущности изобретения, и подразумевается, что они входят в объем настоящего изобретения.

Последовательности

#	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ	АННОТАЦИЯ
1	ESKYGPPCPCP	Спейсер (шарнирная область IgG4) (а.к.)
2	GAATCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCCTTGCC СТ	Спейсер (шарнирная область IgG4) (нт)

3	ESKYGPPCPPCPGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSLGK	Шарнирная область- спейсер CH3
4	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT PPVLDSGFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSLGK	Шарнирная область- спейсер CH2-CH3
5	RWPESPKAQASSVPTAQQAEGSLAKATTAPATTR NTGRGGEEKKKEKEKEEQEERETKTPECPSHTQPL GVYLLTPAVQDLWLRDKATFTCFVVGSDLKDAHL TWEVAGKVPTGGVEEGLLERHSNGSQSHSRLTLP RSLWNAGTSVTCTLNHPQLPPQRLMALREPAAP VKLSLNLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPNILLMW LEDQREVNTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVP APPSPQATYTCVVSHEDSRTLLNASRSLEVSIVTD H	IgD-шарнирная область-Fc
6	LEGGGEGRGSLLTCGDVEENPGPR	T2A искусственная
7	MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPRKVCNGIGIGEFKDS LSINATNIKHFKNCTSSISGDLHILPVAFRGDSFTHTP PLDPQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAFE NLEIIRGRKQHGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISD GDVIISGNKNLCYANTINWKKLFGTSGQKTKIISNR GENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRN VSRGRECVDKCNLLEGEPRFVENSECIQCHPECLP QAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCFAGV MGENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPG LEGCPNTPKIPSIATGMVGAALLLLLVVALGIGLFM	tEGFR искусственная

8	FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (аминокислоты 153-179 последовательности с номером доступа № P10747) Homo sapiens
9	IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPGPS KPFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (аминокислоты 114-179 последовательности с номером доступа № P10747) Homo sapiens
10	RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRD FAAYRS	CD28 (аминокислоты 180-220 P10747) Homo sapiens
11	RSKRSRGGHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPR DFAAYRS	CD28 (LL на GG) Homo sapiens
12	KRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEE EGGCEL	4-1BB (аминокислоты 214-255 Q07011.1) Homo sapiens
13	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDV LDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTY DALHMQALPPR	CD3-зета Homo sapiens
14	RVKFSRSAEPPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDV LDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTY DALHMQALPPR	CD3-зета Homo sapiens
15	RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDV LDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTY DALHMQALPPR	CD3-зета Homo sapiens

16	RKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFKNCTSISGDLH ILPVAFRGDSFTHTPPLDPQELDILKTVKEITGFLLIQ AWPENRTDLHAFENLEIIRGRTKQHGQFSLAVVSL NITSLGLRSLKEISDGDVIISGNKNLCYANTINWKK LFGTSGQKTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGC WGPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCNLLEGEPREFV ENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYI DGPHCVKTCPAGVMGENNTLVWKYADAGHVCHL CHPNCTYGCTGPGLEGCPNGPKIPSIATGMVGALL LLLVVALGIGLFM	tEGFR искусственная
17	EGRGSLLTCDVEENPGP	T2A Искусственная
18	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A
19	ATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A
20	QCTNYALLKLAGDVESNPGP	E2A
21	VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP	F2A
22	PGGG-(SGGGG)5-P-, где P представляет собой пролин, G представляет собой глицин и S представляет собой серин	Линкер
23	GSADDAKKDAAKKDGKS	Линкер
24	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	Линкер

25	gacatccagatgaccagaccactccagcctgagcggcagcctgggcgacc gggtgaccatcagctgccgggcccagccaggacatcagcaagtacctgaactgg taccagcagaagcccgacggcaccgtcaagctgctgatctaccacaccagccg gctgcacagcggcgtgccagccggtttagcggcagcggctccggcaccgac tacagcctgaccatctccaacctggaacaggaagatcggcacctactttggc agcagggcaacacactgcctacacctttggcggcgggaacaaagctggaaatc accggcagcacctccggcagcggcaagcctggcagcggcgagggcagcac caagggcgaggtgaagctgcaggaaagcggccctggcctggtggcccccag ccagagcctgagcgtgacctgcaccgtgagcggcgtgagcctgcccgaactac ggcgtgagctggatccggcagccccaggaagggcctggaatggctgggc gtgatctggggcagcagaccactactacaacagcggcctgaagagccggct gaccatcatcaaggacaacagcaagagccaggtgttctgaagatgaacagcc tgcagaccgacgacaccgccatctactactgcgccaagcactactactacggcg gcagctacgccatggactactggggccagggcaccagcgtgaccgtgagcag c	Последовательность, кодирующая scFv
26	X ₁ PPX ₂ P X ₁ представляет собой глицин, цистеин или аргинин X ₂ представляет собой цистеин или треонин	Шарнирная область
27	Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro	Шарнирная область
28	Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro	Шарнирная область
29	ELKTPLGDTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCD TPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCP	Шарнирная область
30	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro	Шарнирная область
31	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	Шарнирная область
32	Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	Шарнирная область
33	Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	Шарнирная область
34	Glu Val Val Val Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	Шарнирная область
35	RASQDISKYLN	CDR L1
36	SRLHSGV	CDR L2
37	GNTLPYTFG	CDR L3
38	DYGVS	CDR H1
39	VIWGSETTYYNNSALKS	CDR H2

40	YAMDYWG	CDR H3
41	EVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYYN SALKSRLTIK DNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSY AMDYWGQGTSVTVSS	V _H
42	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYL N WY QQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYS LTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEIT	V _L
43	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYL N WY QQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYS LTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEITGS TSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQSL SV TCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSE TTYYN SALKSRLTIK DNSKSQVFLKMNSLQTDDT AIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSS	scFv
44	KASQNVGTNVA	CDR L1
45	SATYRNS	CDR L2
46	QQYNRYPYT	CDR L3
47	SYWMN	CDR H1
48	QIYPGDGDTNYNGKFKG	CDR H2
49	KTISSVDFYFDY	CDR H3
50	EVKLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMN WVKQRPGQGLEWIGQIYPGDGDTNYNGKFKGQAT LTADKSSSTAYMQLSGLTSEDSAVYFCARKTISSV V DFYFDYWGQGTTVTVSS	V _H
51	DIELTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVA WYQQKPGQSPKPLIYSATYRNSGVPDRFTGSGSGT DFTLTITNVQSKDLADYFCQQYNRYPYTSGGGTKL EIKR	V _L
52	GGGGSGGGGSGGGGS	Линкер

53	EVKLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMN WVKQRPGQGLEWIGQIYPGDGDTNYNGKFKGQAT LTADKSSSTAYMQLSGLTSEDSAVYFCARKTISSVV DFYFDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDI ELTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAWY QQKPGQSPKPLIYSATYRNSGVPDRFTGSGSGTDFT LTITNVQSKDLADYFCQQYNRYPYTSGGGGTKLEIK R	scFv
54	HYYYGGSYAMDY	CDR H3
55	HTSRLHS	CDR L2
56	QQGNTLPYT	CDR L3
57	ACACGGCCTCGTGTATTACTGT	Праймер IGH
58	ACCTGAGGAGACGGTGACC	Праймер IGH

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг) и его возраст составляет менее 18 лет, от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и

(ii) если масса тела индивидуума составляет 100 килограммов (кг) или более и возраст составляет от 18 до 25 лет, включительно, от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

2. Способ по п.1, где:

(i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг) и его возраст составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и

(ii) если масса тела индивидуума составляет 100 килограммов (кг) или более и возраст составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

3. Способ по п.1, где:

(i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг) и его возраст составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и

(ii) если масса тела индивидуума составляет 100 килограммов (кг) или более и возраст составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

4. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте менее 18 лет композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и

(ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), от

или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

5. Способ по п.4, где:

(i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и

(ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

6. Способ по любому из пп.1-5, где:

(i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и

(ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

7. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте менее 18 лет композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и

(ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

8. Способ по п.7, где, если индивидуум не имеет ответа и у него не развивается токсичность ровно или приблизительно через 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34 или 35 суток после введения композиции Т-клеток; дополнительно включающий введение индивидууму дополнительной дозы композиции Т-клеток в количестве, выбранном из:

(i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,1 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и

(ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,1 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

9. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте менее 18 лет композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в

количестве, выбранном из следующих:

(i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,15 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и

(ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

10. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте менее 18 лет композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,3 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и

(ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

11. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте менее 18 лет композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и

(ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

12. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте менее 18 лет композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и

(ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

13. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте менее 18 лет композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если масса тела индивидуума составляет менее 100 килограммов (кг), ровно или приблизительно $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума; и

(ii) если масса тела индивидуума составляет 100 или более килограммов (кг), ровно

или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

14. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; и

(ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

15. Способ по п.14, где:

(i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; и

(ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

16. Способ по п.14, где:

(i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; и

(ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

17. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

18. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в

возрасте 25 лет или менее и с массой тела 12 кг или более композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом; и

(ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

19. Способ по любому из пп.1-38, где, если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток до или приблизительно до $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

20. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте младше 18 лет и с массой тела 6 кг или более композиции, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена против CD19 (CAR), где композицию вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

21. Способ по любому из пп.1-20, где, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве от или приблизительно от $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

22. Способ по любому из пп.1-21, где, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

23. Способ по п.22, где, если индивидуум не имеет ответа и у него не развивается токсичность ровно или приблизительно через 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34 или 35 суток после введения композиции Т-клеток; он дополнительно включает введение индивидууму дополнительной дозы композиции Т-клеток, где, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, дополнительную дозу композиции Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,1 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,1 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

24. Способ по любому из пп.1-21, где, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,15 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не

превышая ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

25. Способ по любому из пп.1-21, где, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,3 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

26. Способ по любому из пп.1-21, где, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

27. Способ по любому из пп.1-21, где, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

28. Способ по любому из пп.1-21, где, если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, композицию Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

29. Способ по любому из пп.1-21, где композицию вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $1,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

30. Способ по любому из пп.1-21, где композицию вводят в количестве, которое составляет ровно или приблизительно $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума до или приблизительно до $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

31. Способ по любому из пп.1-21 и 30, где композицию вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,05 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

32. Способ по п.31, где, если индивидуум не имеет ответа и у него не развивается токсичность ровно или приблизительно через 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34 или 35 суток после введения композиции Т-клеток; он дополнительно включает введение индивидууму дополнительной дозы композиции Т-клеток, где дополнительную дозу композиции Т-клеток вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,1 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,1 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

33. Способ по любому из пп.1-21 и 30, где композицию вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,15 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$

CAR+ Т-клеток в целом.

34. Способ по любому из пп.1-21 и 30, где композицию вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,3 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

35. Способ по любому из пп.1-21 и 30, где композицию вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,5 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

36. Способ по любому из пп.1-21 и 30, где композицию вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $0,75 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

37. Способ по любому из пп.1-21 и 30, где композицию вводят в количестве, которое составляет по меньшей мере ровно или приблизительно $1,0 \times 10^6$ CAR+ Т-клеток/кг массы тела индивидуума, но не превышая ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом.

38. Способ по любому из пп.1-37, где масса тела индивидуума составляет по меньшей мере ровно или приблизительно 6 кг.

39. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом, в объеме по меньшей мере 0,1 мл; и

(ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, менее чем ровно или приблизительно $1,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

40. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом, в объеме по меньшей мере 0,1 мл; и

(ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,05 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

41. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-

клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом, в объеме по меньшей мере 0,1 мл; и

(ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,15 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

42. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом, в объеме по меньшей мере 0,1 мл; и

(ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,3 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

43. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом, в объеме по меньшей мере 0,1 мл; и

(ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

44. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом, в объеме по меньшей мере 0,1 мл; и

(ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,75 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

45. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-

клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток в целом, в объеме по меньшей мере 0,5 мл; и

(ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $0,5 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

46. Способ лечения индивидуума, имеющего или предположительно имеющего В-клеточную злокачественную опухоль, причем способ включает введение индивидууму в возрасте 25 лет или менее композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR) против CD19, в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл, где композицию Т-клеток вводят в количестве, выбранном из следующих:

(i) если возраст индивидуума составляет менее 18 лет, количество, не превышающее ровно или приблизительно 1×10^8 CAR+ Т-клеток в целом, в объеме по меньшей мере 0,5 мл; и

(ii) если возраст индивидуума составляет от 18 до 25 лет, включительно, ровно или приблизительно $1,0 \times 10^8$ CAR+ Т-клеток.

47. Способ по любому из пп.1-46, где вводят общий объем по меньшей мере ровно или приблизительно 0,05 мл композиции Т-клеток.

48. Способ по любому из пп.1-46, где вводят общий объем по меньшей мере ровно или приблизительно 0,1 мл композиции Т-клеток.

49. Способ по любому из пп.1-46, где вводят общий объем по меньшей мере ровно или приблизительно 0,5 мл композиции Т-клеток.

50. Способ по любому из пп.1-46, где вводят общий объем по меньшей мере ровно или приблизительно 1 мл композиции Т-клеток.

51. Способ по любому из пп.1-50, где концентрация Т-клеток составляет ровно или более $2,5 \times 10^6$ клеток/мл.

52. Способ по любому из пп.1-51, где вводят общий объем композиции Т-клеток по меньшей мере ровно или приблизительно 0,1 мл в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл.

53. Способ по любому из пп.1-51, где вводят общий объем композиции Т-клеток по меньшей мере ровно или приблизительно 0,5 мл в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл.

54. Способ по любому из пп.1-51, где вводят общий объем композиции Т-клеток по меньшей мере ровно или приблизительно 1 мл в концентрации ровно или более чем $2,5 \times 10^6$ клеток/мл.

55. Способ по любому из пп.1-54, где композиция Т-клеток содержит $CD4^+$ и $CD8^+$ CAR+ Т-клетки.

56. Способ по п.55, где композиция содержит первую композицию, содержащую одно из $CD4^+$ Т-клеток и $CD8^+$ Т-клеток, и вторую композицию, содержащую другое из $CD4^+$ Т-клеток и $CD8^+$ Т-клеток.

57. Способ по п.56, где первую композицию и вторую композицию вводят по отдельности.

58. Способ по п.56 или п.57, где первую композицию и вторую композицию вводят одновременно.

59. Способ по п.56 или п.57, где первую композицию и вторую композицию вводят последовательно в любом порядке.

60. Способ по любому из пп.56-59, где первая композиция содержит $CD4^+$ CAR+ Т-клетки и вторая композиция содержит $CD8^+$ CAR+ Т-клетки.

61. Способ по любому из пп.56-59, где первая композиция содержит $CD8^+$ CAR+ Т-клетки и вторая композиция содержит $CD4^+$ CAR+ Т-клетки.

62. Способ по любому из пп.56-61, где количество вводимой композиции Т-клеток включает заданное соотношение $CD4^+$ CAR+ Т-клеток и $CD8^+$ CAR+ Т-клеток и/или $CD4^+$ Т-клеток и $CD8^+$ Т-клеток, которое равно или приблизительно равно 1:1 или составляет от приблизительно 1:3 до приблизительно 3:1.

63. Способ по п.62, где заданное соотношение составляет или приблизительно составляет 1:1.

64. Способ по любому из пп.1-63, где В-клеточная злокачественная опухоль представляет собой лимфому или лейкоз.

65. Способ по любому из пп.1-64, где В-клеточная злокачественная опухоль является рецидивирующей и/или рефрактерной.

66. Способ по любому из пп.1-65, где В-клеточная злокачественная опухоль представляет собой В-клеточный острый лимфобластный лейкоз (В-ALL), необязательно $CD19^+$ В-ALL.

67. Способ по любому из пп.1-66, где В-клеточная злокачественная опухоль представляет собой рецидивирующий или рефрактерный (r/r) В-клеточный острый лимфобластный лейкоз (В-ALL).

68. Способ по п.67, где индивидуум с r/r В-ALL имеет морфологические признаки заболевания в костном мозге, необязательно где индивидуум имеет 5% или более лимфобластов по морфологии.

69. Способ по любому из пп.66-68, где индивидуум имеет В-ALL, включающий любое из следующих: первый или последующий рецидив в костном мозге, любой рецидив в костном мозге после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT); первичное рефрактерное заболевание, необязательно не достигающее полного ответа (CR) или полного ответа с неполным восстановлением формулы крови (CRi), необязательно после 2 или более отдельных индукционных режимов; рефрактерный к

химиотерапии, необязательно не достигающий CR/Cri, необязательно после 1 курса химиотерапии против рецидивирующего лейкоза; или не подходящий для аллогенной HSCT.

70. Способ по п.66 или п.69, где В-ALL является положительным по минимальной резидуальной болезни (MRD⁺).

71. Способ по любому из пп.66, 69 или 70, где индивидуум с В-ALL имеет менее 5% лимфобластов по морфологии и/или положительное по минимальной резидуальной болезни (MRD⁺) заболевание при определении посредством валидированного анализа с частотой 1×10^{-4} или более в клетках костного мозга после двух линий терапии.

72. Способ по любому из пп.1-71, где индивидуум имеет положительный по филадельфийской хромосоме ALL, и он не переносит или у него оказалась неуспешной одна или несколько линий терапии ингибитором тирозинкиназы (TKI), или терапия TKI ему противопоказана.

73. Способ по любому из пп.1-65, где В-клеточная злокачественная опухоль представляет собой В-клеточную неходжкинскую лимфому (В-NHL), необязательно CD19+ В-NHL.

74. Способ по п.73, где В-клеточная злокачественная опухоль представляет собой рецидивирующую или рефрактерную (r/r) В-клеточную неходжкинскую лимфому (В-NHL).

75. Способ по п.73 или п.74, где индивидуум имеет В-NHL, при которой существует поддающееся определению заболевание после 1 или нескольких линий химиотерапии, оказалась неуспешной HSCT или индивидуум является не подходящим для HSCT.

76. Способ по любому из пп.73-75, где В-NHL представляет собой диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (DLBCL), первичную медиастинальную крупноклеточную В-клеточную лимфому (PMBCL) или лимфому Беркитта (BL).

77. Способ по любому из пп.1-76, где перед введением композиции индивидуум имеет или идентифицирован как имеющий клетки, экспрессирующие CD19.

78. Способ по п.77, где детекцию экспрессии CD19 проводят посредством проточной цитометрии, необязательно в периферической крови или костном мозге, и/или посредством иммуногистохимии, необязательно, биоптата костного мозга.

79. Способ по любому из пп.1-78, где индивидууму не проводили предшествующую клеточную терапию, которая включает введение композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие CAR.

80. Способ по любому из пп.1-78, где индивидууму проводили предшествующую клеточную терапию, которая включает введение композиции Т-клеток, содержащей Т-клетки, экспрессирующие CAR.

81. Способ по любому из пп.1-80, где индивидууму проводили предшествующую терапию, нацеленную на CD19, необязательно где индивидуум имеет или идентифицирован как имеющий клетки, экспрессирующие CD19, или имеющий CD19-

положительное заболевание после завершения предшествующей терапии, нацеленной на CD19.

82. Способ по любому из пп.1-81, где перед введением индивидуума подвергают прекондиционированию посредством лимфодеплеции, включающей введение флударабина и/или циклофосфамида.

83. Способ по любому из пп.1-82, дополнительно включающий, непосредственно перед введением, проведение лимфодеплеции у индивидуума, включающей введение флударабина и/или циклофосфамида.

84. Способ по п.82 или п.83, где лимфодеплеция включает введение циклофосфамида в дозе приблизительно $200-400 \text{ мг/м}^2$, необязательно ровно или приблизительно 300 мг/м^2 , включительно, и/или флударабина в дозе приблизительно $20-40 \text{ мг/м}^2$, необязательно 30 мг/м^2 , каждые сутки в течение 2-4 суток, необязательно в течение 3 суток.

85. Способ по любому из пп.82-84, где лимфодеплеция включает введение циклофосфамида в дозе приблизительно 300 мг/м^2 каждые сутки в течение 3 суток и флударабина в дозе приблизительно 30 мг/м^2 каждые сутки в течение 3 суток.

86. Способ по любому из пп.82-85, где циклофосфамид и флударабин вводят одновременно.

87. Способ по любому из пп.82-86, где лимфодеплецию проводят за 2-7 суток до введения композиции Т-клеток.

88. Способ по любому из пп.1-87, где индивидуумом является человек.

89. Способ по любому из пп.1-88, где CAR содержит scFv, специфичный к CD19 человека, трансмембранный домен, цитоплазматический сигнальный домен, происходящий из костимулирующей молекулы, которая необязательно представляет собой или содержит 4-1BB человека, и цитоплазматический сигнальный домен, происходящий из первичной сигнальной ITAM-содержащей молекулы, которая необязательно представляет собой или содержит сигнальный домен CD3-зета человека, и где CAR необязательно дополнительно содержит спейсер между трансмембранным доменом и scFv.

90. Способ по любому из пп.1-89, где CAR содержит, в указанном порядке, scFv, специфичный к CD19 человека, трансмембранный домен, цитоплазматический сигнальный домен, происходящий из костимулирующей молекулы, которая необязательно представляет собой или содержит сигнальный домен 4-1BB человека, и цитоплазматический сигнальный домен, происходящий из первичной сигнальной ITAM-содержащей молекулы, которая необязательно представляет собой или содержит сигнальный домен CD3-зета человека.

91. Способ по п.89 или п.90, где спейсер представляет собой полипептидный спейсер, который содержит или состоит из всей или части шарнирной области иммуноглобулина или ее модифицированной версии, необязательно шарнирной области IgG4 или ее модифицированной версии.

92. Способ по любому из пп.89-91, где длина спейсера составляет приблизительно 15 аминокислот или менее, необязательно ровно или приблизительно 12 аминокислот.

93. Способ по любому из пп.89-92, где:

спейсер содержит или состоит из последовательности SEQ ID NO: 1, последовательности, кодируемой SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, или варианта любой из вышеуказанной, обладающего по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичностью последовательности с ними; и/или

спейсер включает формулу X_1PPX_2P , где X_1 представляет собой глицин, цистеин или аргинин и X_2 представляет собой цистеин или треонин.

94. Способ по любому из пп.89-93, где цитоплазматический сигнальный домен, происходящий из костимулирующей молекулы, содержит SEQ ID NO: 12 или ее вариант, обладающий по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичностью последовательности с ней.

95. Способ по любому из пп.89-94, где цитоплазматический сигнальный домен, происходящий из первичной сигнальной ITAM-содержащей молекулы, содержит SEQ ID NO: 13, 14 или 15 или обладает по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичностью с ними.

96. Способ по любому из пп.89-95, где:

scFv содержит переменную область легкой цепи (V_L), содержащую последовательность CDRL1 RASQDISKYLN (SEQ ID NO: 35), последовательность CDRL2 SRLHSGV (SEQ ID NO: 36) и последовательность CDRL3 GNTLPYTFG (SEQ ID NO: 37), и переменную область тяжелой цепи (V_H), содержащую последовательность CDRH1 DYGVVS (SEQ ID NO: 38), последовательность CDRH2 VIWGSETTYNSALKS (SEQ ID NO: 39) и последовательность CDRH3 YAMDYWG (SEQ ID NO: 40); или

scFv содержит V_L , содержащую последовательность CDRL1 FMC63, последовательность CDRL2 FMC63, последовательность CDRL3 FMC63, и V_H , содержащую последовательность CDRH1 FMC63, последовательность CDRH2 FMC63 и последовательность CDRH3 FMC63.

97. Способ по любому из пп.89-96, где scFv содержит V_H , указанную в SEQ ID NO: 41, и V_L , указанную в SEQ ID NO: 42.

98. Способ по п.96 или п.97, где V_H и V_L разделены гибким линкером, необязательно где гибкий линкер представляет собой или содержит последовательность, указанную в SEQ ID NO: 24.

99. Способ по любому из пп.89-98, где scFv представляет собой или содержит последовательность, указанную в SEQ ID NO: 43.

100. Способ по любому из пп.1-99, где по меньшей мере ровно или приблизительно 35%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более CAR-экспрессирующих Т-клеток, CAR-экспрессирующих CD4+ Т-клеток или CAR-экспрессирующих CD8+ Т-клеток в композиции имеют поверхность,

положительную по CCR7, CD27, CD45RA и/или CD28.

101. Способ по любому из пп.1-100, где по меньшей мере ровно или приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более CAR-экспрессирующих Т-клеток, CAR-экспрессирующих CD4+ Т-клеток или CAR-экспрессирующих CD8+ Т-клеток в композиции имеют поверхность, положительную по CCR7.

102. Способ по любому из пп.1-101, где по меньшей мере ровно или приблизительно 35%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более CAR-экспрессирующих Т-клеток, CAR-экспрессирующих CD4+ Т-клеток или CAR-экспрессирующих CD8+ Т-клеток в композиции имеют поверхность, положительную по CCR7 и CD45RA.

103. Способ по любому из пп.1-102, где по меньшей мере ровно или приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более CAR-экспрессирующих Т-клеток, CAR-экспрессирующих CD4+ Т-клеток или CAR-экспрессирующих CD8+ Т-клеток в композиции имеют поверхность, положительную по CD27.

104. Способ по любому из пп.1-103, где по меньшей мере ровно или приблизительно 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более CAR-экспрессирующих Т-клеток, CAR-экспрессирующих CD4+ Т-клеток или CAR-экспрессирующих CD8+ Т-клеток в композиции имеют поверхность, положительную по CD27 и CD28.

105. Способ по любому из пп.1-104, где по меньшей мере ровно или приблизительно 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более CAR-экспрессирующих Т-клеток, CAR-экспрессирующих CD4+ Т-клеток или CAR-экспрессирующих CD8+ Т-клеток в композиции являются отрицательными по активной каспазе 3.

106. Способ по любому из пп.1-105, где Т-клетки представляют собой первичные Т-клетки, полученные от индивидуума.

107. Способ по любому из пп.1-106, где Т-клетки являются аутологичными для индивидуума.

108. Изделие, содержащее композицию для клеточной терапии или одну из нескольких композиций для клеточной терапии, содержащих Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена против CD19 (CAR), и инструкции по проведению клеточной терапии, где в инструкциях описано введение композиции Т-клеток согласно способам по любому из пп.1-107.

По доверенности