

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202490557 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.10.22

(22) Дата подачи заявки
2022.08.31

(51) Int. Cl. *A61K 31/573* (2006.01)
A61K 31/00 (2006.01)
A61K 35/17 (2015.01)
C12N 5/0783 (2010.01)
A61K 31/661 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)
A61P 31/18 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)

(54) ПОПУЛЯЦИЯ ЛИМФОЦИТОВ И СПОСОБЫ ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ

(31) 63/239,566

(32) 2021.09.01

(33) US

(86) PCT/US2022/042147

(87) WO 2023/034377 2023.03.09

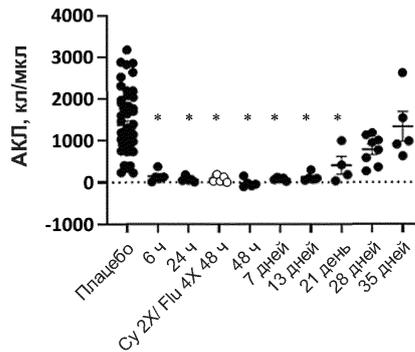
(71) Заявитель:
АВМ БИОТЕХНОЛОДЖИ, ЛЛС (US)

(72) Изобретатель:
Дейшер Тереза, Маккей Скот Уэйн,
Паргасарати Вайшнави, Захид Юмна
(US)

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

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

АКЛ минус НК и НКТ после АVM0703



A1

202490557

202490557

A1

ПОПУЛЯЦИЯ ЛИМФОЦИТОВ И СПОСОБЫ ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ

Область техники

5 [01] Настоящее изобретение относится к новым популяциям лимфоцитов, способам их получения и их применению в лечении заболеваний. Более конкретно, настоящее изобретение относится к способам получения новых популяций клеток, подобных естественным киллерным Т-клеткам (НКТ-подобных клеток) с применением высоких доз глюкокортикоидов, агонистов глюкокортикоидных рецепторов и модулирующих
10 ICAM3 агентов.

Уровень техники

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

[03] В международной патентной заявке PCT/US2019/054395 (опубликованной как
25 WO2020/072713) авторы настоящего изобретения также описали применение высоких концентраций глюкокортикоидов для достижения лимфодеплеции лимфоцитов периферической крови, по существу не влияющее на количество других клеток. В указанной заявке авторы сообщали, что высокие концентрации глюкокортикоидов могут обеспечивать деплецию лимфоцитов периферической крови, включая, например,
30 деплецию специфических островковых аутореактивных Т-клеток, ответственных за аутоиммунитет при диабете, при сохранении нейтрофилов, тромбоцитов, эритроцитов и стволовых клеток (как ГСК, так и МСК). Авторы предложили глюкокортикоиды в качестве немиелоаблативной схемы, которая может обеспечивать безопасную иммунологическую перезагрузку с эффективностью, сопоставимой с химиотерапией.

[04] Сокращение применения цитотоксической химиотерапии представляет собой первоочередную задачу Национального онкологического института. Карциномы, часто называемые солидными опухолями, составляют 80–90% от общего числа случаев рака, но при этом они оказались сложными мишенями для разрабатываемых новых методов терапии рака. Продемонстрирована выраженная успешность Т-клеточной терапии на основе химерных антигенных рецепторов (CAR) при лечении экспрессирующего CD-19 В-клеточного острого лимфоцитарного лейкоза. Однако имеется ряд препятствий, ограничивающих применение CAR-Т-клеточной терапии при солидных опухолях: неэффективная миграция в опухоль, а также иммуносупрессивное микроокружение солидных опухолей ограничивают эффективность Т-клеток. Кроме того, CAR-Т-клеточная терапия была ассоциирована с серьезными нежелательными явлениями, в том числе с синдромом высвобождения цитокинов (СВЦ), нейроотеклом и болезнью «трансплантат против хозяина» (БТПХ). Кроме того, CAR-Т-терапия не является излечивающей, при ее применении до 50% субъектов испытывают рецидив в течение 12 месяцев даже при негативном статусе минимального остаточного заболевания (Nie et al, 2020). Предварительное лечение, или предварительное кондиционирование («прекондиционирование») перед инфузией CAR-Т ассоциировано с продленной выживаемостью, и, хотя прекондиционирование с применением более высокодозной химиотерапии ассоциировано с лучшими результатами, оно также характеризуется наиболее серьезной токсичностью. Биспецифические CAR-Т-продукты, разработанные для снижения частоты рецидивирования, которое, как полагают, обусловлено либо ускользанием опухоли за счет утраченной экспрессии CAR-Т-нацеливаемого антигена, либо гетерогенной экспрессией антигена в опухоли, по-видимому, не более эффективны, чем CAR-Т первого поколения (Gill et al, 2021). Для устранения этих ограничений CAR-Т исследования в данной области техники смещаются в сторону клеточных продуктов, происходящих из естественных киллерных клеток (NK), CAR NK/NKT-клеток и гамма-дельта-Т-клеток ($\gamma\delta$ -Т).

[05] Естественные киллерные Т-клетки (NKT) представляют собой гетерогенную группу Т-клеток, которые одновременно обладают свойствами Т-клеток и естественных киллерных (NK) клеток. В отличие от обычных Т-клеток, NKT являются функционально зрелыми, когда покидают тимус, и примированы для быстрого продуцирования цитокинов. NKT могут непосредственно убивать экспрессирующие CD1d раковые клетки и макрофаги микроокружения опухоли, быстро продуцировать и

высвободить иммуноактивирующие цитокины, такие как ИФН-гамма и ИЛ-4, и активировать другие иммунные клетки, такие как дендритные клетки (ДК), НК-клетки, а также В- и Т-лимфоциты. В клинической практике инвариантные NKT (iNKT) применяли для борьбы с разнообразными видами рака: путем инъекций «аутологичных активированных в культуре iNKT», путем введения нагруженных альфа-Gal-Cer (активатор NKT) дендритных клеток или моноцитов для активации эндогенных NKT или путем введения активирующих NKT антител или лигандов, таких как KRN7000, синтетический аналог альфа-Gal-Cer.

5
10
15
20
[06] Однако ни один из указанных способов, применявшихся для индукции продуцирования iNKT, не продемонстрировал эффективности у пациентов с раком; уровни iNKT у пациентов с раком снижены, и клинические испытания не оправдали ожиданий. Аналогичные низкие уровни iNKT наблюдаются у пожилых людей (см. источник: Tarazona *et al*, 2003, который включен в настоящий документ полностью посредством ссылки). Применение «аутологичных активированных в культуре NKT» при меланоме было эффективным у 3 из 9 пациентов, причем исход был прямо ассоциирован с количеством инфильтрирующих опухоль NKT (источники: Wolf *et al*, 2018, и Nair *et al*, 2017, включенные в настоящий документ полностью посредством ссылки). Указанный подход, однако, также был ограничен малыми количествами NKT у пациентов с раком, а также пластичностью iNKT в отношении переключения между продуцирующим ИФН-гамма типом 1 и продуцирующим ИЛ-4 стимулирующим опухоли типом 2.

25
30
[07] При лечении рака ингибиторы киназ (КИ) хорошо переносятся по сравнению со стандартной цитотоксической химиотерапией. Тем не менее, с ингибиторами киназ (ИК) все же ассоциирована значимая токсичность, в том числе утомляемость, гипертензия, сыпь, нарушение заживления ран, миелосупрессия и диарея, а также аномалии функции щитовидной железы, метаболизма костей, линейного роста, функции половых желез, развития плода, функции надпочечников и метаболизма глюкозы. Многим пациентам требуется снижение дозы из-за токсичности ИК, которые необходимо принимать постоянно (источник: Lodisch *et al*, 2013, включенный в настоящий документ полностью посредством ссылки). Кроме того, часто встречается устойчивость к ИК, и она развивается со временем в ходе лечения (источник: Bhullar 2018, включенный в настоящий документ полностью посредством ссылки).

[08] Несмотря на усилия, направленные на снижение токсичности, ассоциированной с лечением рака, нагрузка на физическое здоровье и медицинские расходы, связанные с

указанной токсичностью, остаются серьезной проблемой. Например, до 41% пациентов с раком крови решают прекратить прием новых ингибиторов киназ/ протеасом или биологических средств из-за физической токсичности и финансового бремени, ассоциированных с указанными лекарственными средствами (источники:

5 Mato 2018, Kadri 2017, Mato 2016 и Barrett 2010, каждый из которых включен в настоящий документ полностью посредством ссылки).

[09] Т-клетки – тип лимфоцитов, играющий ключевую роль в иммунном ответе. Т-клетки отличаются от других типов лимфоцитов присутствием Т-клеточных рецепторов на поверхности. Т-клеточные рецепторы (TCR) отвечают за распознавание 10 фрагментов антигена, связанных с молекулами главного комплекса гистосовместимости (ГКГС), и представляют собой гетеродимеры из двух разных белковых цепей. У человека в 95% Т-клеток TCR состоит из цепи альфа (α) и цепи бета (β) (кодируемых TRA и TRB, соответственно), тогда как в 5% Т-клеток TCR состоит из цепей гамма и дельта (γ/δ) (кодируемых TRG и TRD, соответственно). 15 Указанное соотношение меняется в состоянии болезни (такой как лейкоз).

[10] В отличие от рестриктированных по ГКГС альфа-бета-Т-клеток гамма-дельта-Т-клеткам не требуются процессинг антигенов и презентация пептидных эпитопов на главном комплексе гистосовместимости (ГКГС) для активации, хотя некоторые распознают молекулы ГКГС класса Ib. Некоторые гамма-дельта-Т-клетки распознают 20 маркеры клеточного стресса, которые возникают в результате инфекции или туморогенеза. Считается, что гамма-дельта-Т-клетки также играют роль в распознавании липидных антигенов.

[11] Гамма-дельта-Т-клетки демонстрируют значительную функциональную пластичность после распознавания инфицированных /трансформированных клеток за 25 счет продуцирования цитокинов (ИФН- γ , ФНО- α , ИЛ-17) и хемокинов (RANTES, IP-10, лимфотактин), цитолиза инфицированных или трансформированных целевых клеток (перфорин, гранзимы, TRAIL) и взаимодействия с другими клетками. Было показано, что гамма-дельта-Т-клетки способны распознавать и лизировать 30 разнообразные виды рака неограниченным по ГКГС образом, осуществлять защитную функцию при инфекционном заболевании, и ассоциированы с прогрессированием и прогнозом при различных инфекционных заболеваниях (Gogoi et al, 2013; Pauza et al, 2018; Zheng et al, 2012; Dong et al, 2018; Zhao et al 2018; все указанные источники включены в настоящий документ полностью посредством ссылки). Некоторые гамма-дельта-Т-клетки могут также вести себя как антигенпрезентирующие клетки в

определенных обстоятельствах (Himoudi et al, 2012). Гамма-дельта-T-клетки, соответственно, представляют значительный интерес для развития иммунотерапии.

- - -

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

Краткое описание изобретения

[013] Настоящее изобретение основано на неожиданном открытии того, что, хотя высокие дозы глюкокортикоидов вызывают лимфодеплецию многих типов лимфоцитов периферической крови у нестимулированных субъектов, они также индуцируют продуцирование / активацию / мобилизацию новой популяции клеток, подобных естественным киллерным T-клеткам (НКТ-подобных клеток). Наряду со свойствами известных НКТ-клеток, указанная новая популяция НКТ-подобных клеток способна прямо захватывать раковые клетки, расширяя таким образом потенциал высоких концентраций глюкокортикоидов в качестве терапевтического лечения солидного рака. Эти клетки представляют собой клетки с высоким содержанием CD3 (CD3 high) и CD49b+, происходят из популяции CD3 high CD49b-, и могут характеризоваться паттерном экспрессируемых ими поверхностных белков, как более подробно описано в тексте настоящего документа.

[014] У уже стимулированных субъектов, таких как субъекты с раком, аутоиммунным заболеванием или инфекционным заболеванием, высокие дозы глюкокортикоидов деплетируют пораженные заболеванием/ раковые лимфоциты при сохранении нормальных лимфоцитов. Не ограничиваясь какой-либо теорией, авторы настоящего изобретения предполагают, что лимфодеплеция у нестимулированных субъектов, но не у субъектов с раком, происходит из-за того, что НКТ-подобные клетки, индуцируемые / мобилизуемые глюкокортикоидами в высоких дозах, экспрессируют TCR гамма-дельта, который распознает фосфоантигены, уровень экспрессии которых в 100–1000 раз выше на клетках в состоянии стресса, или они селективно экспрессируются на клетках в состоянии стресса, к которым относятся в том числе раковые клетки, аутореактивные лимфоциты и инфицированные клетки. У нестимулированных

субъектов в среде без патогенов / заболеваний нет клеток в состоянии стресса для распознавания НКТ-подобными клетками, и в отсутствие клеток в состоянии стресса НКТ-подобные клетки могут распознавать и деплетировать нормальные лимфоциты.

5 [015] Авторы настоящего изобретения также обнаружили, что после введения высоких доз молекулы глюкокортикоида могут связывать и блокировать молекулы межклеточной адгезии, такие как ICAM3. Указанное связывание является кооперативным; первый Ig-домен ICAM3 могут связывать до 26 молекул. ICAM3 экспрессируется на значимых уровнях на таких клетках, как лимфоциты, моноциты и нейтрофилы, а также на таких типах раковых клеток, как клетки меланомы и
10 остеосаркомы. Молекулярное моделирование взаимодействия между дексаметазоном и ICAM3 подтверждает их взаимодействие посредством низкоаффинных водородных связей. Не ограничиваясь какой-либо теорией, авторы настоящего изобретения предполагают, что индукция и/или мобилизация новых НКТ-подобных клеток согласно настоящему изобретению может происходить посредством этих
15 взаимодействий за счет низкоаффинных водородных связей между ICAM3 и глюкокортикоидами, агонистами глюкокортикоидных рецепторов и модулирующими ICAM3 агентами, такими как описанные более подробно в тексте настоящего документа.

[016] Соответственно, согласно первому аспекту настоящего изобретения предложен
20 способ получения популяции естественных киллерных Т-клеток (НКТ-подобных клеток), который включает введение субъекту модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента (который может представлять собой глюкокортикоид, такой как дексаметазон) в дозе, эквивалентной по меньшей мере приблизительно 6 мг/кг ЭДЧ («эквивалентная доза для человека») основания
25 дексаметазона, причем модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент или модулирующий ICAM3 агент индуцирует и/или мобилизует популяцию НКТ-подобных клеток у указанного субъекта.

[017] НКТ-подобные клетки согласно настоящему изобретению демонстрируют
30 новый паттерн экспрессии маркеров. В частности, НКТ-подобные клетки, продуцируемые / мобилизованные способами, описанными в настоящем документе, экспрессируют CD56 и TCR гамма/дельта ($\gamma\delta$ TCR), а также инвариантный TCR (iTCR). Таким образом, согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция НКТ-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта и iTCR. НКТ-подобные

клетки, полученные / мобилизованные способами, описанными в настоящем документе, также экспрессируют CD16 и NKp44, которые являются маркерами активированных клеток. Таким образом, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD16 и NKp44. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16 и NKp44. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 и/или TCR альфа/бета; и/или не экспрессируют: CD4. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR альфа/бета, CD34 и/или ICAM3; и/или не экспрессируют CD4.

[018] Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта и iTCR. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки экспрессируют CD16 и NKp44. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16 и NKp44. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR и TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44 и TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD8, CD14 и CD19. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD8, CD14, CD19 и TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD19 и CD45. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD19, CD45 и TCR альфа/бета.

[019] Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97,

- 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта и iTCR. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD16 и NKp44.
- 5 популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16 и NKp44. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR и TCR альфа/бета.
- 10 Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44 и TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD8, CD14 и CD19.
- 15 Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD8, CD14, CD19 и TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD19 и CD45.
- 20 Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD19, CD45 и TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 и TCR альфа/бета.
- 25
- 30 **[020]** Согласно некоторым вариантам реализации указанные NKT-подобные клетки не экспрессируют CD4. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток не экспрессируют CD4.

- [021]** Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки по настоящему изобретению могут экспрессировать CD3. Согласно некоторым таким вариантам реализации NKT-подобные клетки по настоящему изобретению могут представлять собой клетки CD3+ с тусклым свечением (CD3+/dim). Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки по настоящему изобретению могут экспрессировать CD8. Согласно некоторым таким вариантам реализации NKT-подобные клетки по настоящему изобретению могут представлять собой клетки CD8+/dim. NKT-подобные клетки могут быть описаны как: CD3+/dim и/или CD8+/dim.
- 5
- 10 NKT-подобные клетки могут быть описаны как имеющие указанные свойства у ранее не стимулированных субъектов. NKT-подобные клетки могут быть описаны как имеющие указанные свойства при наличии опухоли / рака или аутоиммунитета. Уровни экспрессии клеточных маркеров могут быть определены относительно среднего уровня экспрессии в популяции референсных NKT-подобных клеток,
- 15
- происходящих из общего источника, которые не были приведены в контакт с модулирующим глюкокортикоидный рецептор (ГР) агентом или модулирующим ICAM3 агентом. Экспрессия указанных маркеров может быть измерена с помощью проточной цитометрии, например, проведенной с применением оборудования, реагентов и/или условий, описанных в настоящем документе (по отдельности или в
- 20 комбинации).
- [022]** Указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент или модулирующий ICAM3 агент может представлять собой глюкокортикоид. Согласно некоторым вариантам реализации указанный глюкокортикоид выбран из группы, состоящей из: дексаметазона, гидрокортизона, метилпреднизолон, преднизона,
- 25 преднизолон, преднилизон, кортизон, будесонид, бетаметазон, флуметазон и беклометазон.
- [023]** Согласно предпочтительным вариантам реализации указанный глюкокортикоид выбран из группы, состоящей из: дексаметазон, бетаметазон и метилпреднизон (предпочтительно представляет собой дексаметазон или бетаметазон).
- 30 **[024]** Согласно некоторым вариантам реализации указанный глюкокортикоид выбран из группы, состоящей из основания дексаметазон, дексаметазон натрия фосфат, дексаметазон гемисукцинат, дексаметазон натрия сукцинат, дексаметазон сукцинат, дексаметазон изоникотинат, дексаметазон-21-ацетат, дексаметазон фосфат, дексаметазон-21-фосфат, дексаметазон тебутат, дексаметазон-17-валерат,

- дексаметазона ацетата моногидрата, дексаметазона пивалата, дексаметазона пальмитата, дексаметазон-21-пальмитата, дексаметазона дипропионата, дексаметазона пропионата, безводного дексаметазона ацетата, дексаметазон-21-фенилпропионата, дексаметазон-21-сульфобензоата, дексаметазона гемисульфата, дексаметазона
- 5 сульфата, дексаметазонбелоксила, дексаметазоновой кислоты, дексаметазона ацефурата, дексаметазона карбоксимида, дексаметазона ципецилата, динатриевой соли дексаметазон-21-фосфата, дексаметазона мезилата, дексаметазона линолеата, дексаметазона глюкозида, дексаметазона глюкуронида, дексаметазона йодацетата, дексаметазона оксетанона, карбоксиметилтиодексаметазона, дексаметазон-
- 10 бисэтоксимов, дексаметазон-эпоксида, дексаметазонлинолелаидата, дексаметазона метилортовалерата, дексаметазона спермина, 6-гидроксидексаметазона, дексаметазона трибутилацетата, дексаметазон-аспарагиновой кислоты, дексаметазонгалактопиранозы, дексаметазона гидрохлорида, гидроксидексаметазона, карбоксидексаметазона, дезоксидексаметазона, дексаметазона бутазона, дексаметазона циклодекстрина,
- 15 дигидродексаметазона, оксодексаметазона, пропионилоксидексаметазона, дексаметазона галактозида, дексаметазона изоникотината, дексаметазона натрия гидрофосфата, альдегида дексаметазона, дексаметазона пивалата, дексаметазона тридецилата, дексаметазона кротоната, дексаметазона метансульфоната, дексаметазона бутилацетата, дегидродексаметазона, простого изотиоцианат-этилового тиоэфира
- 20 дексаметазона, дексаметазона бромацетата, дексаметазона гемиглютарата, дезоксидексаметазона, дексаметазона хлорамбуцилата, дексаметазона мелфаланата, формилоксидексаметазона, дексаметазона бутирата, дексаметазона лаурата, дексаметазона ацетата, и любого комбинированного лечения, которое включает какую-либо форму дексаметазона.
- 25 **[025]** Согласно некоторым вариантам реализации указанный глюкокортикоид представляет собой дексаметазон, который может представлять собой дексаметазона натрия фосфат.
- [026]** В способы согласно настоящему изобретению может входить введение конкретной дозы глюкокортикоида. Согласно некоторым вариантам реализации
- 30 глюкокортикоид вводят в дозе, эквивалентной приблизительно:
- ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) 6–12 мг/кг основания дексаметазона;

- ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере 6 мг/кг основания дексаметазона;
 - ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере 12 мг/кг основания дексаметазона;
- 5
- ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере 15 мг/кг основания дексаметазона;
 - ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере 18 мг/кг основания дексаметазона;
- 10
- ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере 21 мг/кг основания дексаметазона;
 - ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере 24 мг/кг основания дексаметазона;
 - ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) до 45 мг/кг основания дексаметазона.
- 15
- Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации указанный глюкокортикоид вводят в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека), составляющей по меньшей мере приблизительно 18 мг/кг основания дексаметазона. Согласно некоторым другим предпочтительным вариантам реализации указанный глюкокортикоид вводят в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека),
- 20
- составляющей по меньшей мере приблизительно 6–18 мг/кг основания дексаметазона. Согласно некоторым другим предпочтительным вариантам реализации указанный глюкокортикоид вводят в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека), составляющей по меньшей мере приблизительно 15–18 мг/кг основания дексаметазона.
- [027]** Согласно некоторым вариантам реализации глюкокортикоид вводят в дозе,
- 25
- эквивалентной приблизительно:
- ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) дексаметазона фосфата 6–12 мг/кг;
 - ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) дексаметазона фосфата по меньшей мере 6 мг/кг;
 - ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере 12 мг/кг дексаметазона фосфата;
- 30
- ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере 15 мг/кг дексаметазона фосфата;

- ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере 18 мг/кг дексаметазона фосфата;
 - ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) дексаметазона фосфата по меньшей мере 21 мг/кг;
- 5
- ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере 24 мг/кг дексаметазона фосфата;
 - ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) до 45 мг/кг дексаметазона фосфата.

Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации указанный

10 глюкокортикоид вводят в дозе, эквивалентной по меньшей мере приблизительно 18 мг/кг ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) дексаметазона фосфата. Согласно некоторым другим предпочтительным вариантам реализации указанный

15 глюкокортикоид вводят в дозе, эквивалентной по меньшей мере приблизительно 6–18 мг/кг ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) дексаметазона фосфата. Согласно некоторым другим предпочтительным вариантам реализации указанный

20 глюкокортикоид вводят в дозе, эквивалентной по меньшей мере приблизительно 15–18 мг/кг ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) дексаметазона фосфата.

[028] Доза глюкокортикоида может быть определена как эквивалентная доза для человека (ЭДЧ) дексаметазона со значением в мг/кг, в диапазоне значений в мг/кг,

25 который ограничен двумя из значений в мг/кг, выбранных из приведенных выше. Например, доза глюкокортикоида может быть определена как ЭДЧ дексаметазона 6–45 мг/кг. Согласно другому примеру доза глюкокортикоида может быть определена как ЭДЧ дексаметазона 12–24 мг/кг.

[029] Указанный глюкокортикоид может вводиться в виде разовой острой дозы, или в

25 виде суммарной дозы, которую вводят за период, составляющий приблизительно 72 часа. Кроме того, указанный способ может включать введение одной или более дополнительных доз глюкокортикоида. Согласно некоторым вариантам реализации одну или более дополнительных доз вводят: через 24–120 часов после предшествующего введения глюкокортикоида; через 24–48 часов после

30 предшествующего введения глюкокортикоида; через 72–120 часов после предшествующего введения глюкокортикоида; каждые 24, 48, 72, 96, 120, 144 или 168 часов после первого введения глюкокортикоида; один раз еженедельно после первого введения глюкокортикоида; один раз в две недели после первого введения

глюкокортикоида; один раз в месяц после первого введения глюкокортикоида; или два раза в неделю после первого введения глюкокортикоида.

[030] Раскрытые способы могут включать стадии активации НКТ-подобных клеток по настоящему изобретению. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации указанные способы могут дополнительно включать этап введения субъекту активатора НКТ-клеток, активатора Т-клеток и/или активатора НК-клеток. Указанный активатор НКТ-клеток может быть выбран из группы, состоящей из: альфа-GalCer, сульфатида или активирующего НКТ антитела. Указанный активатор НКТ-клеток может представлять собой нагруженные альфа-GalCer дендритные клетки или моноциты. Указанный активатор Т-клеток может быть выбран из группы, состоящей из: золедроната, мевастатина или активирующего Т-клетки антитела. Активатор НК-клеток может быть выбран из группы, состоящей из: ИЛ-2, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-18, ИЛ-21 или активирующего НК-клетки антитела. Указанные активатор НКТ-клеток, активатор Т-клеток и/или активатор НК-клеток могут вводиться в пределах 1–48 часов или приблизительно через 1–48 часов после введения глюкокортикоида.

[031] Согласно некоторым вариантам реализации субъект представляет собой человека. Согласно некоторым вариантам реализации субъект представляет собой субъекта-млекопитающее с гуманизированной иммунной системой, например, мышь с иммунной системой человека (HIS). Предпочтительно субъект представляет собой человека.

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

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

рака печени; рака мочевого пузыря; гепатомы; рака молочной железы; рака толстой кишки; рака прямой кишки; рака ободочной и прямой кишки; карциномы эндометрия или матки; карциномы слюнной железы; рака почки или ренального рака; рака предстательной железы; рака вульвы; рака щитовидной железы; карциномы печени; 5 анальной карциномы; карциномы полового члена; и рака головы и шеи.

[034] НКТ-подобные клетки согласно настоящему изобретению могут лечить рак путем инфильтрации опухоли. НКТ-подобные клетки согласно настоящему изобретению могут лечить рак путем высвобождения иммуноактивирующих цитокинов. НКТ-подобные клетки согласно настоящему изобретению могут лечить 10 рак, захватывая и убивая раковые клетки. НКТ-подобные клетки согласно настоящему изобретению могут лечить рак, способствуя инфильтрации опухоли другими иммунными клетками. НКТ-подобные клетки согласно настоящему изобретению могут лечить рак путем CD1d-направленного апоптоза. НКТ-подобные клетки согласно настоящему изобретению могут лечить рак посредством некроза опухоли. 15 НКТ-подобные клетки согласно настоящему изобретению могут лечить рак, распознавая высокие уровни фосфоантигенов, продуцируемых опухолевыми клетками, путем экспрессии T-клеточного рецептора гамма-дельта на НКТ-подобных клетках согласно настоящему изобретению. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены способы обеспечения некроза 20 опухоли путем индукции, мобилизации или введения НКТ-подобных клеток согласно настоящему изобретению. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены способы обеспечения CD1d-направленного апоптоза раковых клеток путем индукции, мобилизации или введения НКТ-подобных клеток согласно настоящему изобретению. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего 25 изобретения предложены способы захвата и/или киллинга раковых клеток с применением НКТ-подобных клеток согласно настоящему изобретению. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены способы активации фосфоантигенами раковых клеток экспрессирующих гамма-дельта НКТ-подобных клеток, которые затем распознают и убивают раковые клетки посредством 30 НК-рецептора (рецепторов) на НКТ-подобных клетках.

[035] Согласно вариантам реализации, когда субъект имеет, предположительно имеет (или у него было диагностировано) аутоиммунное заболевание, указанное аутоиммунное заболевание может представлять собой рассеянный склероз, системный склероз, амиотрофический боковой склероз, сахарный диабет 1 типа (T1D),

склеродермию, пузырчатку или волчанку. Согласно вариантам реализации, когда субъект имеет, предположительно имеет (или у него было диагностировано) инфекционное заболевание, указанное инфекционное заболевание может представлять собой ВИЧ, герпес, гепатит или папилломавирус человека. Согласно некоторым вариантам реализации указанное инфекционное заболевание представляет собой ВИЧ. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации указанное инфекционное заболевание может представлять собой COVID-19 (коронавирус 2019; заболевание, вызываемое коронавирусом 2 тяжелого острого респираторного синдрома, SARS-CoV-2).

5
10 **[036]** Способы согласно настоящему изобретению могут включать этапы выделения и/или размножения. Например, указанный способ может включать этап выделения популяции НКТ-подобных клеток от субъекта или из образца, происходящего от субъекта. Необязательно этап выделения может быть проведен по меньшей мере через 48 часов после введения глюкокортикоида; через 48 часов – 13 дней после введения
15 глюкокортикоида; или через 6–48 часов после введения глюкокортикоида. Согласно некоторым вариантам реализации (таким как варианты реализации, когда субъект имеет рак, инфекционное заболевание или микробиологическое заболевание; или аутоиммунное заболевание) этап выделения НКТ-подобных клеток может быть проведен в пределах 3 часов после введения глюкокортикоида, и предпочтительно в
20 пределах 1 часа после введения глюкокортикоида. Согласно некоторым вариантам реализации этап выделения может быть проведен через 30-60 минут после введения глюкокортикоида.

[037] Образец может быть выбран из группы, состоящей из: крови, плазмы, биоптата опухоли или извлеченной хирургическим путем опухоли, костного мозга, печени,
25 биоптата селезенки, и жировой или адипозной ткани. Согласно некоторым вариантам реализации указанные способы дополнительно включают этап размножения выделенных НКТ-подобных клеток. Согласно некоторым вариантам реализации указанный способ включает этап активации выделенных НКТ-подобных клеток активатором НКТ-клеток, активатором Т-клеток и/или активатором НК-клеток.
30 Указанный активатор НКТ-клеток, активатор Т-клеток и/или активатор НК-клеток может соответствовать описанию в настоящем документе.

[038] Выделенные НКТ-подобные клетки согласно настоящему изобретению могут быть дополнительно доконструированы, например, путем трансфекции указанных клеток нуклеиновой кислотой. Соответственно, согласно некоторым вариантам

реализации указанный способ дополнительно включает этап введения нуклеиновой кислоты, кодирующей белок, в выделенные НКТ-подобные клетки, и культивирования указанных клеток в условиях, облегчающих экспрессию указанного белка. Указанный белок может представлять собой один или более из: Т-клеточного рецептора (TCR),

5 химерного антигенного рецептора (CAR), «разделенного, универсального и программируемого» («split, universal and programmable») CAR (SUPRA-CAR).

Указанный CAR и/или TCR содержит антигенсвязывающий домен, который связывается с антигеном, выбранным из группы, состоящей из: CD19, CD20, CD22, GD2, CD133, рЭФР, GPC3, КЭА, MUC1, мезотелина, ИЛ-13R, ПСМА, ROR1, CAIX, Her2.

10 [039] НКТ-подобные клетки согласно настоящему изобретению находят применение в медицине. Например, выделенные НКТ-клетки согласно настоящему изобретению могут применяться в медицинских целях, например, в лечении рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания (также называемого

15 микробиологическим заболеванием) у субъекта. Согласно указанным вариантам реализации способ может включать введение терапевтически эффективной дозы НКТ-подобных клеток, выделенных посредством способов согласно описанию в настоящем документе, субъекту, страдающему одним из вышеупомянутых заболеваний. Согласно некоторым вариантам реализации субъект, которому вводят выделенные НКТ-

20 подобные клетки, представляет собой того же субъекта, из организма которого выделили указанные НКТ-подобные клетки. Как вариант, субъект, которому вводят выделенные НКТ-подобные клетки, представляет собой субъекта, отличного от того, из организма которого выделили указанные НКТ-подобные клетки.

[040] НКТ-подобные клетки вводят субъекту способом, выбранным из группы, состоящей из: внутривенной инъекции, внутрибрюшинной инъекции, внутрилимфатической инъекции, интратекальной инъекции, инъекции в спинномозговую жидкость (СМЖ), прямой инъекции в опухоль, а также в виде геля, наносимого на солидную опухоль или возле нее.

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

[042] Настоящее изобретение также охватывает применение дексаметазона или другого глюкокортикоида для индукции популяции НКТ-подобных клеток, причем

указанную популяцию НКТ-клеток индуцируют способом, соответствующим любому из пунктов 101–148.

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

[044] Также предложены индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, которые происходят из НКТ-подобных клеток согласно настоящему изобретению. Соответственно, согласно одному аспекту настоящего изобретения предложен способ получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК), который включает перепрограммирование НКТ-подобных клеток, выделенных способом согласно описанию в настоящем документе, для получения иПСК.

Перепрограммирование может включать введение одной или более нуклеиновых кислот, кодирующих Oct3/4, Klf4, Sox2 и С-мус, в НКТ-подобные клетки. Указанная нуклеиновая кислота может представлять собой ДНК (например, экспрессионную ДНК-кассету) или молекулу РНК. Перепрограммирование может дополнительно включать введение одной или более экспрессионных кассет, кодирующих одно или более из: Sox1, Sox3, Sox15, Klf1, Klf2, Klf5, L-мус, N-мус, Nanog и/или LIN28, в НКТ-подобные клетки. Перепрограммирование может дополнительно включать введение одной или более из: мРНК, кодирующей Sox1, Sox3, Sox15, Klf1, Klf2, Klf5, L-мус, N-мус, Nanog и/или LIN28, в НКТ-подобные клетки. Указанные иПСК могут затем быть индуцированы для дифференцировки, например, в НКТ-подобные клетки или в линию НКТ-клеток.

[045] Согласно настоящему изобретению также предложена выделенная клетка, подобная естественной киллерной Т-клетке (НКТ-подобная клетка) или популяция НКТ-подобных клеток, полученных способом согласно описанию в настоящем документе. Соответственно, НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению могут быть определены исходя из их профиля экспрессии (или профилей экспрессии), который может (или которые могут) соответствовать описанию в тексте настоящего документа. Например, согласно настоящему изобретению предложена выделенная клетка, подобная естественной киллерной Т-клетке (НКТ-подобная клетка), характеризующаяся тем, что указанная клетка экспрессирует CD56, TCR гамма/дельта и iTCR, и необязательно экспрессирует одно или более из CD16, NKp44, CD3, CD8,

CD14, CD19, CD45 и/или TCR альфа/бета; и/или не экспрессирует: CD4. Выделенная NKT-подобная клетка может быть получена от не имеющего заболевания субъекта.

[046] В настоящем изобретении также предложена выделенная популяция клеток, подобных естественным киллерным Т-клеткам (NKT-подобных клеток). Выделенная популяция NKT-подобных клеток может быть определена исходя из их профиля экспрессии (или профилей экспрессии), который может (или которые могут) соответствовать описанию в тексте настоящего документа. Например, выделенная популяция NKT-подобных клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта и iTCR, и/или экспрессируют один или более из CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 и/или TCR альфа/бета; и/или не экспрессируют: CD4.

[047] Согласно настоящему изобретению предложен глюкокортикоид для применения в способе лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания (также называемого микробиологическим заболеванием) у субъекта, при

этом указанный способ включает введение глюкокортикоида субъекту в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) приблизительно 6–45 мг/кг дексаметазона, причем указанный глюкокортикоид индуцирует / активирует / мобилизует популяцию NKT-подобных клеток по настоящему изобретению согласно определению в настоящем документе. Например, согласно настоящему изобретению

предложен глюкокортикоид для применения в способе индукции некроза опухоли, вызывающем инфильтрацию опухоли, высвобождающем иммуноактивирующие цитокины, обеспечивающем захват и киллинг опухолевых клеток, способствующем инфильтрации опухоли другими иммунными клетками и/или вызывающем CD1d-направленный апоптоз у пациента с раком, при этом указанный способ включает введение глюкокортикоида субъекту в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека)

приблизительно 6–45 мг/кг дексаметазона для индукции популяции NKT-подобных клеток по настоящему изобретению согласно определению в настоящем документе.

Например, согласно настоящему изобретению предложен глюкокортикоид для применения в способе индукции некроза опухоли, вызывающем инфильтрацию

опухоли, высвобождающем иммуноактивирующие цитокины, обеспечивающем захват и киллинг опухолевых клеток, способствующем инфильтрации опухоли другими иммунными клетками и/или вызывающем CD1d-направленный апоптоз у пациента с раком, при этом указанный способ включает введение глюкокортикоида пациенту в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) приблизительно 6–45

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

Краткое описание чертежей

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

[049] **Фиг. 1.** Острая высокая доза дексаметазона уменьшает количество лимфоцитов у ранее не стимулированных мышей. Абсолютные количества лимфоцитов (АКЛ за вычетом НК- и НКТ-клеток), измеренные в общем анализе крови (кл/мкл = абсолютные количества, полученные с помощью ОАК) через 6 часов, 24 часа, 48 часов, 7 дней, 13 дней и 21 день после введения высокой дозы дексаметазона (ЭДЧ 18 мг/кг дексаметазона фосфата (ДФ)), значительно снижены по сравнению с плацебо. Через 6 и 48 часов после введения наблюдается почти полная лимфоабляция, причем этот эффект сопоставим с достигаемым при стандартной химиотерапии Су/Flu (ЭДЧ 13 мг/кг циклофосфида и ЭДЧ 0,8 мг/кг флударабина).

[050] **Фиг. 2.** Острая высокая доза дексаметазона снижает количества В-лимфоцитов у ранее не стимулированных мышей. Количество В-лимфоцитов, измеренные в общем анализе крови (кл/мкл = абсолютные количества, полученные с помощью ОАК) через 6 часов, 24 часа, 48 часов, 7 дней, 13 дней и 21 день после введения высокой дозы дексаметазона (ЭДЧ 18 мг/кг ДФ), значительно снижены по сравнению с плацебо.

Лимфоаблативный эффект в отношении В-лимфоцитов сопоставим с достигаемым при стандартной химиотерапии Су/Flu (ЭДЧ 13 мг/кг циклофосфида и ЭДЧ 0,8 мг/кг флударабина).

[051] **Фиг. 3.** Острая высокая доза дексаметазона уменьшает количества моноцитов у ранее не стимулированных мышей. Количество моноцитов, измеренные в общем

анализе крови (кл/мкл = абсолютные количества, полученные с помощью ОАК) через 6 часов, 24 часа и 48 часов после введения высокой дозы дексаметазона (ЭДЧ 18 мг/кг ДФ), значимо снижены по сравнению с плацебо. Аблативный эффект в отношении моноцитов превосходит достигаемый при стандартной химиотерапии Су/Flu (ЭДЧ 13 мг/кг циклофосамида и ЭДЧ 0,8 мг/кг флударабина).

[052] Фиг. 4. Острая высокая доза дексаметазона уменьшает количество нейтрофилов у ранее не стимулированных мышей. Количества нейтрофилов, измеренные в общем анализе крови (кл/мкл = абсолютные количества, полученные с помощью ОАК) через 6 часов, 24 часа и 48 часов после введения высокой дозы дексаметазона (ЭДЧ 18 мг/кг ДФ), значимо снижены по сравнению с плацебо.

[053] Фиг. 5. Острая высокая доза дексаметазона не затрагивает тромбоциты мыши. Острая высокая доза дексаметазона (ЭДЧ 18 мг/кг ДФ) не влияет на количества тромбоцитов, измеренные в общем анализе крови (кл/мкл = абсолютные количества, полученные с помощью ОАК). Острая высокая доза дексаметазона, соответственно, устраняет необходимость трансфузии и обеспечивает более безопасную, нетоксичную альтернативу химиотерапевтическим схемам. Тромбоциты экспрессируют глюкокортикоидные рецепторы (ГР), и, таким образом, отсутствие эффекта в отношении тромбоцитов предполагает независимый от глюкокортикоидных рецепторов механизм действия.

[054] Фиг. 6. Острая высокая доза дексаметазона не затрагивает гематопозитические стволовые клетки. Показано количество живых гематопозитических стволовых клеток, измеренное в точках времени через 6 часов – 35 дней после лечения ранее не стимулированных мышей либо плацебо, либо острой высокой дозой дексаметазона. Острая высокая доза дексаметазона (ЭДЧ 18 мг/кг ДФ) значимо не изменяет число живых гематопозитических стволовых клеток. Немиелоаблативная схема, представленная острой высокой дозой дексаметазона, может, соответственно, устранять необходимость трансфузии стволовых клеток для восстановления гематопозеза после перезагрузки иммунитета.

[055] Фиг. 7. Острая высокая доза дексаметазона индуцирует положительную регуляцию НКТ (фиг. 7) и продуцирование новой популяции НКТ-клеток (AVM-НКТ). Общие количества НКТ-клеток, измеренные в общем анализе крови (кл/мкл = абсолютные количества, полученные с помощью ОАК) через 6 часов и 24 часа после введения высокой дозы дексаметазона (ЭДЧ 18 X мг/кг ДФ), снижены по сравнению с плацебо. Неожиданным образом, через 48 часов после введения высокой дозы

дексаметазона общие количества НКТ-клеток, измеренные в ходе общего анализа крови, увеличивались, после чего постепенно снижались в течение примерно 13 дней после введения высокой дозы дексаметазона. При проведении стандартной химиотерапии Су/Flu (ЭДЧ 13 мг/кг циклофосфамида и ЭДЧ 0,8 мг/кг флударабина) не

5 наблюдалось такого увеличения количества НКТ-клеток через 48 часов после лечения.

[056] Фиг. 8. После введения высокой дозы дексаметазона в периферической крови могут быть идентифицированы две популяции НКТ. При исследовании периферической крови с помощью проточной цитометрии после введения острой высокой дозы дексаметазона идентифицировано две популяции НКТ-клеток: НКТ-клетки, определенные как CD3^{med}CD49b⁺ (CD56 у человека), соответствующие ранее описанным НКТ-клеткам (центральный прямоугольный гейт); и новая популяция НКТ-клеток, определенная как CD3^{high}CD49b⁺ (CD56 у человека; AVM-НКТ-клетки; центральный правый прямоугольный гейт). AVM-НКТ-клетки представляют собой клетки CD49b⁺ (CD56 у человека) и CD3⁺ с очень ярким свечением по сравнению с известными НКТ-клетками, которые экспрессируют CD3, со средней интенсивностью флуоресценции (MFI) на 0,5–1 log ниже, чем у AVM-НКТ.

10
15

[057] Фиг. 9. Временная динамика положительной регуляции AVM-НКТ.

Количественное определение AVM-НКТ-клеток на мл крови с применением ОАК и результатов проточной цитометрии. AVM-НКТ-клетки обнаруживаются в крови не стимулированных ранее мышей между 48 часами – 13 днями после лечения одной высокой дозой дексаметазона (ЭДЧ 18,1 мг/кг ДФ п/о); * = статистически значимо.

20

[058] Фиг. 10А. Изменения в окружении опухоли А20, индуцированные лечением высокими дозами дексаметазона (ЭДЧ 18 мг/кг ДФ). Через 48 часов очевиден усиленный некроз в опухолях у мышей, получавших высокие дозы дексаметазона, по сравнению с мышами, получавшими плацебо.

25

[059] Фиг. 10В. AVM-НКТ-клетки обеспечивают максимальную абляцию лимфомы А20, имплантированной мышам в боковые области, в течение 3 часов после введения 18 мг/кг ЭДЧ дексаметазона фосфата (фиг. слева), в то время как максимальная эрадикация метастазов А20 в кровь и тимус наблюдается через 24 часа после дозирования (средняя часть фигуры), а максимальная эрадикация метастазов А20 в костный мозг наблюдается через 48 часов после дозирования (фиг. справа). Мышам инокулировали 2×10^6 клеток лимфомы А20 в 100 мкл ФСБ, смешанного со 100 мкл охлажденного матригеля (Matrigel), в боковую область. Через три часа, 24 и 48 часов мышей умерщвляли, брали опухоли, кровь, костный мозг и тимус, и готовили

30

суспензии отдельных клеток для проточно-цитометрической детекции живых клеток A20.

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

[061] Фиг. 12. Диаграммы рассеяния CD45/CD56 для пациента с остеоартритом, получавшим лечение 3–6 мг/кг ДНФ. Были идентифицированы AVM-NKT-клетки (выделены прямоугольником) и, как и в случае мышей, они положительны по CD45 с тусклым свечением (CD45 dim) и CD56 с очень ярким свечением (CD56 very bright) (CD49b у мышей).

[062] Фиг. 13. Данные проточной цитометрии для здорового донора крови и пациента с раком предстательной железы через 1 час и 3 часа после введения 6 мг/кг AVM0703. У пациента с раком предстательной железы обнаруживается наличие новой популяции клеток CD45dim CD56bright (заключена в окружность) через 1 час после инфузии. Эти данные показывают, что у пациентов-людей происходит мобилизация клеток, соответствующих AVM-NKT-клеткам, идентифицированным у мышей.

[063] Фиг. 14. Результаты проточной цитометрии для лизированной цельной крови от пациента, получавшего лечение AVM0703, демонстрирующие двойные положительные клетки $\gamma\delta$ TCR+ и i TCR+ в гейте живых клеток CD56+. Клетки CD56+ показаны на диаграмме рассеяния для $\gamma\delta$ TCR и i TCR (слева): 51% клеток CD56+ положительны как по $\gamma\delta$ TCR, так и по i TCR. Затем оценивали экспрессию CD16 и NKp44 в квадранте $\gamma\delta$ TCR+ i TCR+ (AVM_NKT) (справа). CD16 и NKp46 экспрессировались почти на 100% AVM_NKT-клеток, что указывает на активированное состояние.

[064] Фиг. 15. Диаграмма рассеяния 101-001 по размерам (FSC) и структурной сложности (SSC) AVM_NKT-клеток. Через один час после инфузии 6 мг/кг AVM0703 (ДФ) внутривенно в течение одного часа, брали цельную кровь и отправляли в условиях комнатной температуре в AVM Biotechnology. Кровь окрашивали панелью антител в течение 15 минут в темноте при комнатной температуре. Лизис эритроцитов проводили путем добавления 1 мл 1X лизирующего раствора BD FACS (BD Bioscience), разбавленного водой MilliQ, в течение 10 минут в темноте при комнатной температуре. Образцы промывали 2 мл 1X DPBS CMF (Фосфатно-солевой буфер Дульбекко без кальция и магния, Gibco) и ресуспендировали в 300 мкл 1X DPBS CMF перед добавлением 5 мкл 7AAD (Biolegend) в каждый образец для определения

живых/мертвых клеток, и инкубировали в течение 5 минут в темноте при комнатной температуре. Отбирали 250 мкл образца для сбора данных на проточном цитометре Macsquant 16 (Miltenyi, сер. №40150). Живые лейкоциты гейтировали по клеткам CD56+, коэкспрессирующим TCR гамма-дельта и инвариантный TCR; они отмечены красным на диаграммах прямого и бокового рассеяния. Меченые красным клетки находятся в пределах диаграмм прямого или бокового рассеяния, там, куда, как известно, попадают крупные гранулярные клетки, такие как нейтрофилы и крупные гранулярные лимфоциты.

[065] Фиг. 16. Данные проточной цитометрии для клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+invTCR+ пациента 101-001. Верхняя левая диаграмма рассеяния: до инфузии; верхняя правая диаграмма рассеяния: через 1 час после инфузии; нижняя левая диаграмма рассеяния: день 3 после инфузии; нижняя правая диаграмма рассеяния: день 14 после инфузии. Обработку цельной крови проводили согласно описанию для фиг. 15; сбор данных образцов выполняли на проточном цитометре Macsquant 16 (Miltenyi, сер. №40150). Живые лейкоциты гейтировали по клеткам CD56+, и затем эти CD56+ клетки транслировали в диаграмму рассеяния, отражающую окрашивание TCR гамма-дельта в сравнении с инвариантным TCR. Клетки, экспрессирующие CD56, TCR гамма-дельта и инвариантный TCR, находятся в верхнем правом квадранте каждой диаграммы рассеяния. Этот пациент продемонстрировал значительное количество клеток CD56+gdTCR+invTCR+ (79 клеток на микролитр крови) через 14 дней после инфузии AVM0703 в дозе 6 мг/кг.

[066] Фиг. 17. Данные проточной цитометрии для клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+invTCR+ пациента 103-002. Верхняя левая диаграмма рассеяния: до инфузии; верхняя правая диаграмма рассеяния: через 1 час после инфузии; нижняя левая диаграмма рассеяния: день 3 после инфузии; нижняя правая диаграмма рассеяния: день 14 после инфузии. Обработку цельной крови проводили согласно описанию для фиг. 15; сбор данных образцов выполняли на проточном цитометре Macsquant 16 (Miltenyi, сер. №40150). Живые лейкоциты гейтировали по клеткам CD56+, и затем эти CD56+ клетки транслировали в диаграмму рассеяния, отражающую окрашивание TCR гамма-дельта в сравнении с инвариантным TCR. Клетки, экспрессирующие CD56, TCR гамма-дельта и инвариантный TCR, находятся в верхнем правом квадранте каждой диаграммы рассеяния. У этого пациента имелись исходные данные о циркулирующих клетках CD56+gdTCR+invTCR+ (89 клеток на микролитр), что согласуется с наблюдениями для мышей-носителей опухолей, о том, что среда опухоли может индуцировать и

мобилизовать эти NKT-подобные клетки. Через три дня после введения дозы 6 мг/кг эти клетки CD56+ gdTCR+ invTCR+ достигали циркулирующих уровней, составляющих 366 клеток на микролитр.

5 [067] **Фиг. 18.** Данные проточной цитометрии для клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+invTCR+ пациента 103-005. Верхняя левая диаграмма рассеяния: до инфузии; верхняя правая диаграмма рассеяния: через 1 час после инфузии; нижняя: день 3 после инфузии. Обработку цельной крови проводили согласно описанию для фиг. 15; сбор данных образцов выполняли на проточном цитометре Macsquant 16 (Miltenyi, сер. №40150). Живые лейкоциты гейтировали по клеткам CD56+, и затем эти CD56+ клетки

10 транслировали в диаграмму рассеяния, отражающую окрашивание TCR гамма-дельта в сравнении с инвариантным TCR. Клетки, экспрессирующие CD56, TCR гамма-дельта и инвариантный TCR, находятся в верхнем правом квадранте каждой диаграммы рассеяния. Через один час после инфузии 9 мг/кг исходные клетки CD56+gdTCR+invTCR+ (347 клеток на микролитр) значительно снижались до 22

15 клеток на микролитр, что свидетельствует об активации и хоминге в опухоль циркулирующих клеток в ответ на 9 мг/кг ДФ, что согласуется с клиническими наблюдениями за эффектом «вспышки» опухоли у этого пациента и согласуется с наблюдениями для мышей с лимфомой A20, что среда опухоли может индуцировать продукцию этих NKT-подобных клеток, но для оптимальной активации клеток и

20 запуска их хоминга в опухоль и эрадикации опухолевых клеток требуется фосфат дексаметазона или другой глюкокортикоид.

[068] **Фиг. 19.** Данные проточной цитометрии для 1-й инфузии клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+invTCR+ у пациента 108-001. Верхняя левая диаграмма рассеяния: до инфузии; верхняя правая диаграмма рассеяния: через 1 час после инфузии; нижняя:

25 день 3 после инфузии. Обработку цельной крови проводили согласно описанию для фиг. 15; сбор данных образцов выполняли на проточном цитометре Macsquant 16 (Miltenyi, сер. №40150). Живые лейкоциты гейтировали по клеткам CD56+, и затем эти CD56+ клетки транслировали в диаграмму рассеяния, отражающую окрашивание TCR гамма-дельта в сравнении с инвариантным TCR. Клетки, экспрессирующие CD56, TCR

30 гамма-дельта и инвариантный TCR, находятся в верхнем правом квадранте каждой диаграммы рассеяния. Через один час после инфузии 9 мг/кг AVM0703 количество CD56+gdTCR+iTCR+ клеток в крови увеличивалось примерно в 20 раз относительно исходного уровня (от 5,8 до 112 клеток/мкл) и оставалось повышенным на 3 день (36

клеток/мкл). У этого пациента наблюдался значимый клинический ответ с восстановлением зрения на 3 день после инфузии AVM0703.

[069] Фиг. 20. Данные проточной цитометрии для клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+invTCR+ пациента 108-003. Верхняя левая диаграмма рассеяния: до инфузии; верхняя правая диаграмма рассеяния: через 1 час после инфузии; нижняя левая диаграмма рассеяния: день 3 после инфузии; нижняя правая диаграмма рассеяния: день 14 после инфузии. Обработку цельной крови проводили согласно описанию на фиг. 15; сбор данных образцов выполняли на проточном цитометре Macsquant 16 (Miltenyi, сер. №40150). Живые лейкоциты гейтировали по клеткам CD56+, и затем эти CD56+ клетки транслировали в диаграмму рассеяния, отражающую окрашивание TCR гамма-дельта в сравнении с инвариантным TCR. Клетки, экспрессирующие CD56, TCR гамма-дельта и инвариантный TCR, находятся в верхнем правом квадранте каждой диаграммы рассеяния. Количество клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+invTCR+ увеличивалось с течением времени от 24 клеток на микролитр крови на исходном уровне до 94 клеток на микролитр через 14 дней после инфузии 12 мг/кг. У этого пациента наблюдалась реакция «вспышки» опухоли и резко выраженный хоминг иммунных клеток в шейные лимфатические узлы, которые представляли собой сайт заболевания, и симптомы фарингита, которые потребовали госпитализации на 14 день. Клинический ответ у этого пациента и детекция с помощью проточной цитометрии клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+invTCR+ согласуются с преимущественным хомингом этих клеток в опухолевые сайты.

[070] Фиг. 21. Данные проточной цитометрии для клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+invTCR+ пациента 108-004. Верхняя левая диаграмма рассеяния: до инфузии; верхняя правая диаграмма рассеяния: через 1 час после инфузии; нижняя диаграмма: день 3 после инфузии. Обработку цельной крови проводили согласно описанию на фиг. 15; сбор данных образцов выполняли на проточном цитометре Macsquant 16 (Miltenyi, сер. №40150). Живые лейкоциты гейтировали по клеткам CD56+, и затем эти CD56+ клетки транслировали в диаграмму рассеяния, отражающую окрашивание TCR гамма-дельта в сравнении с инвариантным TCR. Клетки, экспрессирующие CD56, TCR гамма-дельта и инвариантный TCR, находятся в верхнем правом квадранте каждой диаграммы рассеяния. У пациента 108-004 клетки CD56+ $\gamma\delta$ TCR+invTCR+ не были обнаружены ни в одной из точек времени, и он является единственным пациентом, получавшим острую высокую дозу ЛП в дозе 6 мг/кг или выше, у которого отсутствовал

клинический ответ на лечение, что согласуется с противоопухолевой активностью, опосредованной индукцией и мобилизацией этих NKT-подобных клеток.

5 [071] **Фиг. 22.** Данные проточной цитометрии для клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+invTCR+ пациента 108-002. Верхняя левая диаграмма рассеяния: до инфузии; верхняя правая диаграмма рассеяния: через 1 час после инфузии; нижняя левая диаграмма рассеяния: день 3 после инфузии; нижняя правая диаграмма рассеяния: день 14 после инфузии. Обработку цельной крови проводили согласно описанию для фиг. 15; сбор данных образцов выполняли на проточном цитометре Macsquant 16 (Miltenyi, сер. №40150). Живые лейкоциты гейтировали по клеткам CD56+, и затем эти CD56+ клетки

10 транслировали в диаграмму рассеяния, отражающую окрашивание TCR гамма-дельта в сравнении с инвариантным TCR. Клетки, экспрессирующие CD56 и TCR гамма-дельта и инвариантный TCR, находятся в верхнем правом квадранте каждой диаграммы рассеяния.

15 [072] **Фиг. 23A–C.** Диаграммы рассеяния биспецифических $\gamma\delta$ TCR+invTCR+ клеток CD56+ от предположительно здоровых доноров крови. Показаны диаграммы рассеяния клеток $\gamma\delta$ TCR+iTCR+ из общего пула CD56+ лейкоцитов для 12 здоровых доноров крови. Обработку цельной крови проводили согласно описанию на фиг. 15; сбор данных образцов выполняли на проточном цитометре Macsquant 16 (Miltenyi, сер. №40150). Живые лейкоциты гейтировали по клеткам CD56+, и затем эти CD56+ клетки

20 транслировали в диаграмму рассеяния, отражающую окрашивание TCR гамма-дельта в сравнении с инвариантным TCR. Клетки, экспрессирующие CD56, TCR гамма-дельта и инвариантный TCR, находятся в верхнем правом квадранте каждой диаграммы рассеяния. У некоторых «здоровых» доноров крови имеются циркулирующие уровни клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+invTCR+, в отличие от нестимулированных мышей, которые

25 никогда не имеют этих клеток. Нестимулированных мышей содержат в условиях, по существу свободных от патогенов, и у них отсутствуют инфекции, в то время как «здоровые» доноры крови не живут в таких условиях и могут иметь бессимптомную или недиагностированную инфекцию, или аутоиммунное заболевание, или рак, индуцировавшие экспрессию этих NKT-подобных клеток.

30 [073] **Фиг. 24.** AVM0703 индуцирует мобилизацию $\gamma\delta$ TCR+invTCR+ биспецифических клеток CD56+ в кровь гуманизированных мышей. AVM0703 индуцирует CD56+TCR $\gamma\delta$ + (12% клеток hCD45+), которые являются клетками CD16+, что указывает на активированное состояние (мышь 10 Taconic NOG-EXL). Лейкоциты мыши гейтировали на живой популяции (LIVE), а затем на клетках CD45+ человека.

Клетки CD45^{dim} человека (фиг. сверху слева, выделены синим цветом и обведены в круг), идентифицированные в других экспериментах как популяция, содержащая новые AVM-NKT-клетки, транслируют на диаграмму рассеяния CD56 и gdTCR (фиг. сверху справа). Клетки CD56⁺gdTCR⁺ находятся в правом верхнем квадранте. Почти все клетки CD45^{dim} человека, окрашенные синим цветом, находятся в верхнем правом квадранте CD56⁺gdTCR⁺. Затем клетки CD45^{dim}, CD56⁺, gdTCR⁺ человека идентифицируют синим цветом на гистограммах средней интенсивности флуоресценции (MFI) для экспрессии CD8 (фиг. снизу слева) и CD16 (фиг. снизу справа). Более 80% клеток являются положительными по CD8, что указывает на тип цитотоксических клеток, и по CD16, что указывает на тип активированных клеток.

[074] Фиг. 25. ЭДЧ >18 мг/кг AVM0703 индуцирует биспецифическую мобилизацию иммунных клеток в 2–12% клеток hCD45⁺ (верхние фигуры: мышь M5 – 5,14%; нижние фигуры: мышь M7 – 2,37%; гуманизированные мыши CRL-NCG). Лейкоциты гейтируют по живым клеткам (LIVE), а затем клеткам CD45⁺ человека, после чего транслируют на диаграмму рассеяния для экспрессии CD56 и gdTCR (фигуры слева). Клетки hCD45⁺, CD56⁺, gdTCR⁺ находятся в верхнем правом квадранте и отмечены красным цветом. Клетки CD45⁺CD56⁺gdTCR⁺ человека затем транслируют на гистограмму, отражающую MFI для инвариантного TCR (фигуры справа). Более 97% этих клеток также экспрессируют инвариантный TCR.

[075] Фиг. 26. ЭДЧ >18 мг/кг AVM0703 индуцирует биспецифическую мобилизацию иммунных клеток в 2–12% клеток hCD45⁺ (верхние фигуры: мышь M1 – 3,35%; нижние фигуры: мышь M3 – 4,13%; гуманизированные мыши CRL-NCG). Лейкоциты гейтируют по живым клеткам (LIVE), а затем по клеткам CD45⁺ человека, после чего транслируют на диаграмму рассеяния для экспрессии CD56 и gdTCR (фигуры слева). Клетки hCD45⁺, CD56⁺, gdTCR⁺ находятся в верхнем правом квадранте и отмечены красным цветом. Клетки CD45⁺CD56⁺gdTCR⁺ человека затем транслируют на гистограмму, отражающую MFI для инвариантного TCR (фигуры справа). Более 97% этих клеток также экспрессируют инвариантный TCR.

[076] Фиг. 27. AVM0703 индуцирует биспецифические $\gamma\delta$ TCR⁺invTCR⁺ активированные клетки CD56⁺ костного мозга у гуманизированных мышей. Получавшие ЭДЧ >18 мг/кг AVM0703 гуманизированные мыши имеют биспецифические иммунные клетки в костном мозге, 0,3–8,5% клеток hCD45⁺ (верхние фигуры: мышь M90; нижние фигуры: мышь M88; гуманизированные мыши Taconic-NOG-EXL). Около 90% биспецифических клеток $\gamma\delta$ TCR⁺invTCR⁺

представляют собой клетки CD16+, что указывает на активированное состояние. На верхней левой фигуре iTCD представляет собой iTCR. Клетки костного мозга гейтируют по живым клеткам (LIVE), а затем клетки CD45+ человека, экспрессирующие CD56, транслируют в диаграмму рассеяния для экспрессии gdTCR и invTCR (фигуры слева). Клетки CD45+CD56+gdTCR+invTCR+ человека затем транслируют на гистограмму, отражающую MFI для CD16 (фигуры справа). Около 90% этих клеток экспрессируют CD16, что указывает на активированное состояние.

[077] Фиг. 28. AVM0703 индуцирует биспецифические $\gamma\delta$ TCR+invTCR+ активированные клетки CD56+ костного мозга у гуманизированных мышей.

Получавшие ЭДЧ >18 мг/кг AVM0703 гуманизированные мыши имеют биспецифические иммунные клетки в костном мозге, 0,3–8,5% клеток hCD45+ (верхние фигуры: мышь M5; нижние фигуры: мышь M7; гуманизированные мыши CRL-NCG). Около 90% биспецифических клеток $\gamma\delta$ TCR+invTCR+ представляют собой клетки CD16+, что указывает на активированное состояние. Клетки костного мозга гейтируют по живым клеткам (LIVE), а затем клетки CD45+ человека, экспрессирующие CD56, транслируют в диаграмму рассеяния для экспрессии gdTCR и invTCR (фигуры слева). Клетки CD45+CD56+gdTCR+invTCR+ человека затем транслируют на гистограмму, отражающую MFI для CD16 (фигуры справа). Около 90% этих клеток экспрессируют CD16, что указывает на активированное состояние.

[078] Фиг. 29. AVM0703 индуцирует продуцирование миелоидных клеток у гуманизированных мышей. Показаны данные для двух мышей, получавших плацебо (верхние графики), и одной мыши, получавшей AVM0703 (нижний график), после первой дозы AVM0703 или плацебо – сверху слева: мышь M12, получавшая плацебо; сверху справа: мышь M90, получавшая плацебо; снизу: мышь M88, получавшая 32 мг/кг AVM0703. Показаны диаграммы прямого и бокового рассеяния; лимфоциты на диаграмме рассеяния обведены кругами. У гуманизированных мышей, получавших плацебо (верхние графики), наблюдались нерегулярные нелимфоцитарные клетки, при этом отсутствовала какая-либо отчетливая популяция. У дозированной AVM0703 мыши (нижний график) имеются признаки отчетливой нелимфоцитарной популяции клеток с более высоким боковым рассеянием, чем популяция лимфоцитов, после первой дозы. Повторное дозирование, как показано на фигуре 30, дополнительно индуцирует эту нелимфоцитарную популяцию, которая характеризуется сигналом прямого и бокового рассеяния, аналогичным сигналам, ожидаемым для миелоидных клеток и крупных гранулированных лимфоцитов.

[079] Фиг. 30. AVM0703 индуцирует продуцирование миелоидных клеток у гуманизированных мышей. Показаны данные для двух мышей, получавших плацебо (верхние графики), и одной мыши, получавшей AVM0703 (нижний график), после второй дозы AVM0703 или плацебо – сверху слева: мышь M12, получавшая плацебо; сверху справа: мышь M90, получавшая плацебо; нижняя: мышь M88, получавшая 32 мг/кг AVM0703. Повторное дозирование дополнительно индуцирует у мыши, получавшей AVM0703, популяцию нелимфоцитарных клеток, имеющую сигнал прямого и бокового рассеяния, аналогичный сигналам, ожидаемым для миелоидных клеток и крупных гранулированных лимфоцитов

[080] Фиг. 31. Гуманизированные мыши имеют в основном человеческие лимфоидные клетки. У получавшей плацебо мыши M12 после первой дозы лимфоциты в основном представляют собой CD45+ человека (верхний график), а немногочисленные миелоидные клетки в основном представляют собой mCD45+ (нижний график). Прямые и боковые диаграммы рассеяния показаны для мыши, получавшей плацебо, и они демонстрируют, что у гуманизированных мышей лимфоциты в основном представляют собой CD45+ человека (отмечены зеленым цветом на верхнем графике), а немногочисленные миелоидные клетки в основном представляют собой mCD45+ (отмечены красным цветом на нижнем графике).

[081] Фиг. 32. Дозирование AVM0703 индуцирует продуцирование миелоидных клеток у гуманизированных мышей. Плацебо, M12: лимфоциты мыши составляют 13% от общего количества лейкоцитов мыши (сверху слева); лимфоциты человека составляют 60% от общего количества лейкоцитов человека (сверху справа); общее количество лимфоцитов составляет 45% от общего количества лейкоцитов.

[082] Фиг. 33. Дозирование AVM0703 индуцирует продукцию миелоидных клеток у гуманизированных мышей. Плацебо, M90: лимфоциты мыши составляют только 12,5% от общего количества лейкоцитов; лимфоциты человека составляют 31,5% от общего количества лейкоцитов человека; общее количество лимфоцитов составляет 30% от общего количества лейкоцитов.

[083] Фиг. 34. Дозирование AVM0703 индуцирует продукцию миелоидных клеток у гуманизированных мышей. M88 AVM0703: лимфоциты мыши составляют только 5,7% от общего количества лейкоцитов; лимфоциты человека составляют 58% от общего количества лейкоцитов человека; общее количество лимфоцитов составляет 32% от общего количества лейкоцитов. Данные на этой фигуре иллюстрируют, что после введения дозы AVM0703 по сравнению с получавшими плацебо

гуманизированными мышами общая популяция лимфоцитов снижается с приблизительно 45% всех лейкоцитов до приблизительно 32% всех лейкоцитов.

Индукция продуцирования миелоидных клеток снижает процент лейкоцитов, которые являются лимфоидными клетками.

5 **[084] Фиг. 35.** Дозирование AVM0703 индуцирует продукцию миелоидных клеток у гуманизированных мышей. M01 AVM0703: лимфоциты мыши составляют только 6,7% от общего количества лейкоцитов; лимфоциты человека составляют 67% от общего количества лейкоцитов человека; общее количество лимфоцитов составляет 35% от общего количества лейкоцитов. Данные на этой фигуре иллюстрируют, что
10 после введения дозы AVM0703 по сравнению с получавшими плацебо гуманизированными мышами общая популяция лимфоцитов снижается с приблизительно 45% всех лейкоцитов до приблизительно 35% всех лейкоцитов.

Индукция продуцирования миелоидных клеток снижает процент лейкоцитов, которые являются лимфоидными клетками.

15 **[085] Фиг. 36.** Дозирование AVM0703 индуцирует продукцию миелоидных клеток у гуманизированных мышей. M03 AVM0703: лимфоциты мыши составляют только 23,7% от общего количества лейкоцитов; лимфоциты человека составляют 47% от общего количества лейкоцитов человека; общее количество лимфоцитов составляет 40% от общего количества лейкоцитов. Данные на этой фигуре иллюстрируют, что
20 после дозирования AVM0703 по сравнению с гуманизированными мышами, получавшими плацебо, общая популяция лимфоцитов снижается с приблизительно 45% всех лейкоцитов до приблизительно 40% всех лейкоцитов. Индукция
25 продуцирования миелоидных клеток снижает процент лейкоцитов, которые являются лимфоидными клетками.

30 **[086] Фиг. 37.** Дозирование AVM0703 индуцирует продукцию миелоидных клеток у гуманизированных мышей. M05 AVM0703: лимфоциты мыши составляют только 2,0% от общего количества лейкоцитов; лимфоциты человека составляют 50,1% от общего количества лейкоцитов человека; общее количество лимфоцитов составляет 20,9% от общего количества лейкоцитов. Данные на этой фигуре иллюстрируют, что
30 после дозирования AVM0703 по сравнению с получавшими плацебо гуманизированными мышами общая популяция лимфоцитов снижается с приблизительно 45% всех лейкоцитов до приблизительно 21% всех лейкоцитов.
Индукция продуцирования миелоидных клеток снижает процент лейкоцитов, которые являются лимфоидными клетками.

[087] Фиг. 38. Дозирование AVM0703 индуцирует продукцию миелоидных клеток у гуманизированных мышей. M07 AVM0703: лимфоциты мыши составляют только 20,4% от общего количества лейкоцитов; лимфоциты человека составляют 58,2% от общего количества лейкоцитов человека; общее количество лимфоцитов составляет

5

[088] Фиг. 39. Дозирование AVM0703 индуцирует продукцию миелоидных клеток у гуманизированных мышей. M10 AVM0703: лимфоциты мыши составляют только 5,2% от общего количества лейкоцитов; лимфоциты человека составляют 37,5% от общего количества лейкоцитов человека; общее количество лимфоцитов составляет

10

28,1% от общего количества лейкоцитов. Данные на этой фигуре иллюстрируют, что после введения дозы AVM0703 по сравнению с получавшими плацебо гуманизированными мышами общая популяция лимфоцитов снижается с

15

[089] Фиг. 40. АСТ AVM-NKT-клетки от мышей, получавших AVM0703, значительно снижали общее количество живых клеток MOPC315 в опухолях (сверху слева) и селезенках (сверху справа) мышей, предварительно кондиционированных AVM0703. Предварительное кондиционирование AVM0703 с последующим АСТ также показало тенденции к снижению уровня MOPC315 в крови (снизу слева) и костном мозге (снизу справа). Показано распределение живых клеток MOPC315 для различных групп в подкожной опухоли (сверху слева), селезенке (сверху справа), костном мозге (снизу слева) и крови (снизу справа) у мышей Balb/c,

20

проанализированное после обработки одиночных клеток и проточной цитометрии

25

(CD138+CD4+). Группы реципиентных клеток (n=8) предварительно кондиционировали 18 мг/кг ЭДЧ AVM0703 (через желудочный зонд) за 48 часов до адоптивного переноса клеток (АСТ). 49 нестимулированным мышам-донорам balb/c вводили перорально дозы 45 мг/кг AVM0703 для индуцирования биспецифических $\gamma\delta$ TCR+ invTCR+ NKT-подобных клеток для АСТ, а 8 нестимулированным мышам balb/c вводили перорально плацебо за 96 часов до АСТ (каждой мышке вводили 3,3 миллиона спленоцитов В/В; объединяли спленоциты от мышей, получавших AVM0703 или плацебо, соответственно). Первая часть названия группы обозначает

30

предварительно кондиционированную («preconditioned», PC) акцепторную группу, а вторая часть указывает на источник донорских клеток, мышей, получавших AVM0703

или плацебо (например, AVM18 PC – AVM АСТ представляет собой группу, предварительно кондиционированную 18 мг/кг AVM0703 за 48 часов до АСТ и получившую в/в инъекцию спленоцитов от мышей, дозированных 1x45 мг/кг за 96 часов до сбора спленоцитов). Всех мышей умерщвляли примерно через 18 часов после

5 АСТ. Средний объем опухоли при предварительном кондиционировании составлял ~130 мм³. (*) P<0,05 (критерий Крускала-Уоллиса – сравнение групп с группой «Плацебо PC – Плацебо АСТ»). АСТ-клетки от мышей, получавших AVM0703, значительно снижали общее количество живых клеток МОРС315 в опухолях и селезенках мышей, предварительно кондиционированных AVM0703. Кроме того, хотя

10 это снижение не было статистически значимым, при предварительном кондиционировании AVM0703 с последующим АСТ клеток мышей, получавших плацебо, наблюдалась тенденция к снижению количества живых клеток МОРС315, как и ожидалось исходя из способности предварительного кондиционирования AVM0703 индуцировать/мобилизовать эндогенные биспецифические НКТ-подобные клетки у

15 мышей, которым инокулировали МОРС315. Несмотря на то, что результаты не были статистически значимыми, при предварительном кондиционировании AVM0703 с последующим АСТ также наблюдалась тенденция к снижению содержания живых МОРС315 в крови и костном мозге.

[090] **Фиг. 41.** Пациент 103-007 (мантийноклеточная лимфома). Абсолютное

20 количество лимфоцитов (АЧЛ), демонстрирующее снижение количества лимфоцитов AVM0703, наблюдалось только у одного пациента с исходным лимфоцитозом.

[091] **Фиг. 42.** У пациента 103-007 количества моноцитов, тромбоцитов, гематокритов и эритроцитов не снижались после дозирования AVM0703.

[092] **Фиг. 43.** Кривая концентрация-эффект для дексаметазона *ex vivo/in vitro*,

25 демонстрирующая отсутствие активации ГКР в концентрациях, эквивалентных супрафармакологическим дозам. Цельную кровь (WB) и спленоциты (SPL) мышей инкубировали в течение 6 часов с увеличением концентраций основания дексаметазона, а затем определяли количество клеток (WB) или апоптоз (SPL) с помощью анализа ОАК (WB) или проточной цитометрии (SPL) после совместного

30 окрашивания на живые/мертвые клетки с использованием Viability™ (Miltenyi Biotec) и красителя eBioscience™ Calcein AM Viability Dye (Invitrogen, ThermoFisher Scientific).

Подробное описание изобретения

[093] Настоящее изобретение относится к способам получения / активации / мобилизации популяции клеток, подобных естественным киллерным Т-клеткам (NKT-подобных клеток), выделенным NKT-подобным клеткам или выделенным популяциям NKT-подобных клеток, полученных такими способами; и к способам лечения, в которых NKT-подобные клетки индуцируют у субъекта или вводят субъекту.

Настоящее изобретение основано на открытии его авторов, заключающемся в способности высоких доз модулирующего глюкокортикоидный рецептор агента, такого как глюкокортикоид дексаметазон, индуцировать продуцирование и мобилизацию клетки, подобной естественным киллерным $\gamma\delta$ Т-клеткам (CD56+ $\gamma\delta$ TCR+), которая также экспрессирует инвариантный TCR (iTCR+). Эти вновь открытые клетки и популяции этих клеток упоминаются в настоящем документе как клетки, подобные естественным киллерным Т-клеткам (NKT-подобные клетки), но также могут называться, например, естественными киллерными Т-клетками (NKT-клетками), CD56+ $\gamma\delta$ TCR + iTCR+ NKT-клетками или AVM-NKT-клетками.

В настоящей заявке термин «популяция клеток» может относиться к совокупности или группе клеток, обладающих сходными свойствами, например, к совокупности или группе из множества клеток, обладающих характерным паттерном экспрессии поверхностных белков. Например, популяция клеток может относиться к группе или совокупности клеток, все из которых экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта и iTCR.

[094] В настоящем документе «мобилизовать» такие клетки может означать: способствовать движению указанных клеток из лимфоидных органов / тканей (например, тимуса и селезенки) в циркуляторную систему (откуда они могут затем двигаться в другие сайты, например, опухолевые сайты). Описанные способы могут включать несколько перечисленных выше аспектов. Например, способ по настоящему изобретению может индуцировать продуцирование популяции NKT-подобных клеток согласно описанию в настоящем документе в тимусе, и/или селезенке, и/или костном мозге, и мобилизовать популяцию NKT-подобных клеток согласно описанию в настоящем документе из тимуса, и/или селезенки, и/или костного мозга.

[095] Согласно описанию в настоящем документе, способы получения популяции NKT-подобных клеток включают введение субъекту модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента. Модулирующий ICAM3 агент может активировать сигнализацию через ICAM3 или вызывать шеддинг ICAM3, что вызывает индуцирование NKT-подобных клеток у субъекта. Указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент или

модулирующий ICAM3 агент индуцирует популяцию NKT-подобных клеток у указанного субъекта. Модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент или модулирующий ICAM3 агент может мобилизовать популяцию NKT-подобных клеток у указанного субъекта.

5 [096] Также предложены выделенные популяции NKT-подобных клеток и выделенные NKT-подобные клетки, которые могут быть получены описанными способами.

[097] Описанные NKT-подобные клетки могут характеризоваться паттерном поверхностных белков, которые они экспрессируют. Согласно некоторым вариантам реализации описанные NKT-подобные клетки могут экспрессировать CD56, TCR
10 гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR альфа/бета, CD34 и/или ICAM3. Согласно некоторым вариантам реализации описанные NKT-подобные клетки могут экспрессировать CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 и/или TCR альфа/бета. Согласно некоторым
15 вариантам реализации описанные NKT-клетки могут не экспрессировать CD4.

[098] Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки экспрессируют TCR гамма/дельта и iTCR. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта и iTCR. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки экспрессируют CD45, TCR
20 гамма/дельта и iTCR. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки экспрессируют CD45, CD56, TCR гамма/дельта и iTCR.

[099] Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки экспрессируют CD16. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки экспрессируют TCR гамма/дельта, iTCR и CD16. Согласно некоторым
25 вариантам реализации NKT-подобные клетки экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR и CD16. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки экспрессируют CD45, TCR гамма/дельта, iTCR и CD16. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки экспрессируют CD45, CD56, TCR гамма/дельта, iTCR и CD16.

30 [0100] Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки экспрессируют CD16 и NKp44. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки экспрессируют TCR гамма/дельта, iTCR и CD16. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16 и NKp44. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-

iTCR, CD16, CD34 и ICAM3. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, CD34, ICAM3 и NKp44.

5 [0103] Согласно вариантам реализации настоящего изобретения, относящимся к популяциям описанных NKT-подобных клеток, популяция NKT-подобных клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют маркеры или комбинации маркеров, описанные выше.

10 [0104] Таким образом, согласно вариантам реализации настоящего изобретения, относящимся к популяциям описанных NKT-подобных клеток, популяция NKT-подобных клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR альфа/бета, CD34 и/или ICAM3. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям раскрытых NKT-подобных клеток, указанная популяция NKT-подобных клеток может характеризоваться тем, что по

15 меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 и/или TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных клеток не экспрессируют CD4.

20 [0105] Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют TCR гамма/дельта и iTCR. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют

25 CD56, TCR гамма/дельта и iTCR. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD45, TCR гамма/дельта и iTCR. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD45, CD56, TCR гамма/дельта и iTCR.

30

[0106] Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных клеток экспрессируют CD16. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по

60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD45, TCR гамма/дельта, iTCR и TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD45, CD56, TCR гамма/дельта, iTCR и TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD45, CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, TCR альфа/бета и CD16. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD45, CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, TCR альфа/бета, CD16 и NKp44.

[0109] Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44 и TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD19 и CD45. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD19, CD45 и TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD8, CD14 и CD19. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD8, CD14, CD19 и TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD45, CD56, TCR гамма/дельта и iTCR. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD45, CD56, TCR гамма/дельта, iTCR и TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется

тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD45, CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, TCR альфа/бета и CD8. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR и CD8. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD8 и CD3. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, CD34 и ICAM3. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, CD34, ICAM3 и NKp44.

5

10

15 **[0110]** Экспрессия поверхностных белков на клетках может быть легко определена с применением методик, хорошо известных специалисту – например, методик твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), активируемой магнитным полем сортировки клеток (MACS) или проточной цитометрии. В проточной цитометрии используются свойства света, рассеиваемого клетками, связанными с флуоресцентно-мечеными антителами, для идентификации клеток, экспрессирующих представляющие интерес поверхностные белки. Проточная цитометрия позволяет определить не только то, экспрессирует ли клетка представляющий интерес белок, но и может показывать количество белка, экспрессируемое клетками, на основании интенсивности флуоресценции. В данных проточно-цитометрического анализа и в настоящем документе: «+» (или «положительный») указывает на экспрессию определенного поверхностного белка; «-» (или «отрицательный») указывает на отсутствие экспрессии определенного поверхностного белка; и «+/-» указывает на бимодальную экспрессию определенного поверхностного белка. Такие выражения, как «bright» («яркие»/«с ярким свечением», иногда – «с высоким уровнем» или «+++»), «dim» («тусклые», «с тусклым свечением», иногда – «с низким уровнем») и «moderate» («с умеренным свечением»), используют для указания на относительное количество конкретного клеточного поверхностного белка.

20

25

30

CD3

[0111] CD3 (кластер дифференцировки 3) представляет собой Т-клеточный корецептор, который помогает активировать цитотоксические Т-клетки (необученные CD8⁺ Т-клетки) и хелперные Т-клетки (необученные CD4⁺ Т-клетки). Поскольку CD3 необходим для активации Т-клеток, нацеленные на него лекарственные средства (например, моноклональные антитела), исследуют в качестве иммуносупрессивной терапии (например, отеликсизумаб) при диабете 1 типа и других аутоиммунных заболеваниях. НКТ-подобные клетки согласно настоящему изобретению перестают экспрессировать CD3 после активации (известное явление активации Т-клеток – см., например, Valle et al, J Immunol. 2015 Mar 1; 194(5): 2117-27); соответственно, интенсивность флуоресценции CD3 (например, то, являются ли клетки тусклыми (CD3⁺/dim) или яркими (CD3⁺/bright)) может зависеть от того, активированы клетки или нет.

[0112] Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению экспрессируют CD3. Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-клетки по настоящему изобретению представляют собой клетки CD3⁺/dim. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям НКТ-подобных клеток по настоящему изобретению, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных НКТ-подобных клеток могут экспрессировать CD3. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных НКТ-подобных клеток могут представлять собой клетки CD3⁺/dim. Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-клетки по настоящему изобретению представляют собой клетки CD3⁺/bright. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных НКТ-подобных клеток могут представлять собой клетки CD3⁺/bright.

CD4

[0113] CD4 (кластер дифференцировки 4) представляет собой гликопротеин, обнаруживаемый на поверхности иммунных клеток, за исключением Т-хелперных клеток и моноцитов. CD4 представляет собой корецептор Т-клеточного рецептора (TCR), которому он помогает взаимодействовать с антигенпрезентирующими клетками для индуцируемой антигенами активации Т-клеток. Перекрестное связывание CD4 может индуцировать Т-клеточный апоптоз через путь Fas-лиганда.

[0114] Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению не экспрессируют CD4. Согласно вариантам реализации,

относящимся к популяциям НКТ-подобных клеток по настоящему изобретению, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных НКТ-подобных клеток могут не экспрессировать CD4.

CD8

- 5 [0115] CD8 (кластер дифференцировки 8) представляет собой трансмембранный гликопротеин, который служит в качестве корецептора Т-клеточного рецептора (TCR). В основном он экспрессируется на поверхности цитотоксических Т-клеток, однако также экспрессируется на естественных киллерных клетках. На Т-клетках он играет роль во взаимодействии Т-клетки с антигеном и в Т-клеточной сигнализации.
- 10 [0116] Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению экспрессируют CD8. Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению представляют собой клетки CD8+/dim. Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению представляют собой CD8+/moderate. Согласно некоторым
- 15 вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению представляют собой CD8+/bright. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям НКТ-подобных клеток по настоящему изобретению, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных НКТ-подобных клеток могут экспрессировать CD8. Согласно некоторым вариантам реализации по
- 20 меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных НКТ-подобных клеток могут представлять собой клетки CD8+/dim. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных НКТ-подобных клеток могут представлять собой
- 25 клетки CD8+/moderate. Согласно некоторым вариантам реализации по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных НКТ-подобных клеток могут представлять собой клетки CD8+/bright.

CD14

- [0117] CD14 (кластер дифференцировки 14) представляет собой белок, экспрессируемый преимущественно макрофагами как часть врожденной иммунной
- 30 системы. Он помогает детектировать бактерии в организме путем связывания липополисахарида и был первым описанным рецептором распознавания паттернов.
- [0118] Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению экспрессируют CD14. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям НКТ-подобных клеток по настоящему изобретению, по

меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных НКТ-подобных клеток могут экспрессировать CD14.

CD19

5 [0119] CD19 (кластер дифференцировки 19; также известный как антиген CD19 В-лимфоцитов, поверхностный антиген В-лимфоцитов В4, поверхностный антиген Leu-12 Т-клеток; и CVID3) представляет собой трансмембранный белок, экспрессируемый во всех клетках В-линии. В В-клетках человека он действует в качестве адаптерного белка для рекрутирования цитоплазматических сигнальных белков в клеточную мембрану, а также работает в комплексе CD19/CD21 для снижения порога для

10 сигнальных путей В-клеточного рецептора.

[0120] Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению экспрессируют CD19. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям НКТ-подобных клеток по настоящему изобретению, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных

15 НКТ-подобных клеток могут экспрессировать CD19.

CD34

[0121] CD34 (кластер дифференцировки 34) представляет собой гликопротеин клеточной поверхности, который функционирует как фактор межклеточной адгезии и необходим для проникновения Т-клеток в лимфатические узлы. Клетки,

20 экспрессирующие CD34, обычно обнаруживаются в пуповине и костном мозге в виде гематопозитических клеток или среди эндотелиальных клеток-предшественников, эндотелиальных клеток кровеносных сосудов, но не лимфатических (за исключением плевральных лимфатических узлов), тучных клеток, субпопуляции дендритных клеток (которые являются отрицательными по фактору XIIIa) в интерстиции и вокруг

25 придаточных тканей дермы кожи, а также клеток опухолей мягких тканей.

[0122] Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению экспрессируют CD34. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям НКТ-подобных клеток по настоящему изобретению, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных

30 НКТ-подобных клеток могут экспрессировать CD34.

CD45

[0123] CD45 (кластер дифференцировки 45; также известен как протеиновая тирозинфосфатаза, рецепторный тип; PTPRC) представляет собой важнейший регулятор сигнализации Т-клеточных и В-клеточных антигенных рецепторов, и

является маркером всех лейкоцитов. Экспрессия CD45 имеет важнейшее значение для активации Т-клеток через TCR. CD45 может представлять собой рецептор CD26.

[0124] Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению экспрессируют CD45. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям НКТ-подобных клеток по настоящему изобретению, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных НКТ-подобных клеток могут экспрессировать CD45.

[0125] CD45 может быть представлен любой изоформой CD45, такой как CD45RA, CD45RO и/или CD45RABC (также известной как CD45R; также известной как B220).

10 CD56

[0126] CD56 (кластер дифференцировки 56; также известен как молекула адгезии нервных клеток, NCAM) представляет собой гликопротеин гомофильного связывания, экспрессируемый на поверхности нейронов, глии и скелетных мышц. Экспрессия CD56 ассоциирована с естественными киллерными клетками.

15 **[0127]** Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению экспрессируют CD56. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям НКТ-подобных клеток по настоящему изобретению, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных НКТ-подобных клеток могут экспрессировать CD56.

20 ICAM3

[0128] ICAM-3 («Intercellular Adhesion Molecule 3»: молекула 3 межклеточной адгезии; также известна как CD50) экспрессируется лимфоцитами, моноцитами, эозинофилами и нейтрофилами (а также на бронхиолах, клетках лимфомы и в некоторых меланомах, саркомах и в других раковых клетках).

25 **[0129]** Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению экспрессируют ICAM3. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям НКТ-подобных клеток по настоящему изобретению, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных НКТ-подобных клеток могут экспрессировать ICAM3.

30 **[0130]**

Главный комплекс гистосовместимости; ГКГС

[0131] ГКГС был открыт Gorer и Snell с коллегами в 1936 году. В ходе их экспериментов с трансплантацией кожи у мышей было обнаружено, что распознавание

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

[0132] Классические молекулы ГКГС класса I экспрессируются в большинстве тканей и нековалентно связываются с b2-микрोगлобулином для презентации процессированных внутриклеточно пептидных антигенов (которые имеют длину 8–11 аминокислот) Т-клеточным рецепторам специфических CD8+ Т-клеток, индуцируя их активацию и/или цитотоксичность (источник: Shiina *et al* 2016, включенный в настоящий документ полностью посредством ссылки). Процессированные пептиды могут происходить из собственного протеома клетки или из чужеродных внутриклеточных патогенов. Зрелые дендритные клетки используют систему ГКГС класса I для презентации пептидов, происходящих из антигенов, захваченных путем эндоцитоза. Указанный процесс, называемый перекрестной презентацией, играет критически важную роль в инициации ответов специфических CD8+ Т-лимфоцитов в периферических лимфоидных органах (Shiina *et al*). Кроме того, классические белки ГКГС класса I могут функционировать в качестве лигандов для иммуноглобулиноподобных рецепторов киллерных клеток, которые регулируют цитотоксическую активность цитотоксических Т-клеток и естественных киллерных клеток, и иммуноглобулиноподобных рецепторов лейкоцитов, экспрессируемых на миеломоноцитах и лейкоцитах других линий. В отличие от классических антигенов класса I классические антигены класса II образуют гетеродимерные структуры, специализирующиеся на презентации экзогенных пептидов (длиной 15–25 аминокислот) на поверхности лимфоидных клеток хелперным CD4+ Т-лимфоцитам иммунной системы. Экспрессия генов класса II в основном ограничена лимфоидными клетками, такими как В-клетки, моноциты, макрофаги, эндотелиальные клетки,

дендритные клетки и активированные Т-клетки. Белки ГКГС класса II идентифицируют как HLA-DR, HLA-DP и HLA-DQ. Гены ГКГС класса II включают HLA-DRA1, HLA-DQA1, HLA-DPA1, кодирующие α -цепь; и HLA-DRB1, HLA-DRB3, HLA-DRB4, HLA-DRB5 (HLA-DRB3/4/5), HLA-DQB1 и HLA-DPB1, кодирующие β -цепь. HLA-DRA1 образует гетеродимер с HLA-DRB1 или HLA-DRB3/4/5 (Nakamura *et al*). Аналогичным образом, HLA-DQA1 и HLA-DPA1 также связаны с HLA-DQB1 и HLA-DPB1, соответственно. HLA-DR подразделяют на 5 групп, включающих DR1, DR51, DR52, DR53 и DR8 в зависимости от группы антигена. Обе группы, DR1 и DR8, состоят только из DRB1 в качестве экспрессируемого гена. С другой стороны, группы DR51, DR52 и DR53 содержат общий DRB1, и дополнительно включают в качестве экспрессируемых генов, соответственно, DRB5, DRB3 и DRB4, которые предположительно образуются из гена DRB1 путем дубликации гена (Nakamura *et al*).

[0133] Гены обоих классических классов, класса I и класса II, часто высокополиморфны, предположительно, для сохранения межиндивидуальной вариабельности антигенпрезентирующей способности, а также содействия защите и выживанию вида под давлением естественного отбора при воздействии различных инфекционных агентов. Неклассические антигены класса I и класса II, хотя и аналогичны по структуре их классическим эквивалентам класса I или класса II, обычно значительно менее полиморфны, имеют вариабельную или ограниченную тканевую экспрессию и функции, которые часто явно отличаются от функций классических антигенов класса I или класса II. Кроме того, некоторые гены неклассических ГКГС класса I локализованы вне ГКГС (Shiina *et al*).

[0134] Локусы комплекса HLA (такие как HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR, HLA-DQ и HLA-DP) содержат множество полиморфизмов, поэтому комбинаций (гаплотипов) существует чрезвычайно много. Однако ГКГС демонстрирует выраженное неравновесное сцепление, представленное возникновением неслучайной ассоциации аллелей во множестве локусов. Указанное неравновесное сцепление в области ГКГС часто приводит к специфической комбинации для каждого локуса ГКГС. Если два генетических полиморфизма находятся на одной хромосоме, указанные два полиморфизма классифицируют как сцепленные (Nakamura *et al*). Если генетическая рекомбинация произошла обычным биологическим путем, полиморфизмы в отдельных сайтах не могут быть определены как сцепленные. Однако неравновесное сцепление представляет собой состояние, когда полиморфизм определенного гена может быть предсказан с крайне высокой вероятностью на основании информации о

полиморфизме в отдаленном сайте. В случае ГКГС генные локусы сконцентрированы в узкой области хромосомы 6, так что рекомбинация между каждым из генов менее вероятна. Соответственно, такие гены, как HLA-A, HLA-B, HLA-C и HLA-DRB1, часто наследуются в состоянии неравновесного сцепления. По мере прогресса анализа

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

[0135] У человека гены классических ГКГС класса I играют важнейшую роль при отторжении трансплантатов органов и при болезни «трансплантат против хозяина» после трансплантации гематопоэтических стволовых клеток. Были обнаружены разнообразные связи между молекулами HLA класса I и многочисленными
15 аутоиммунными заболеваниями, а также инфекционными заболеваниями и нежелательными реакциями на лекарственные средства. Помимо важнейшей роли в осуществлении адаптивных иммунных ответов, продемонстрирована роль генов ГКГС класса I на различных этапах размножения, таких как сохранение беременности, выбор партнера для спаривания и распознавание родственников. Также ГКГС считается
20 системой, предназначенной в первую очередь для полового отбора и предотвращения инбридинга, гистосовместимость при этом играет второстепенную роль. Продукты генов ГКГС класса I также оказывают влияние на развитие и пластичность центральной нервной системы, взаимодействия нервных клеток, синаптические функции и поведение, специализацию полушарий головного мозга, и неврологические
25 и психиатрические расстройства. Соответственно, область ГКГС класса I человека является одной из наиболее разноплановых и важных в биомедицинском смысле геномных областей. (Shiina *et al*).

TCR гамма/дельта

30 [0136] Т-клеточный рецептор гамма-дельта (TCR гамма/дельта; TCR $\gamma\delta$) представляет собой Т-клеточный рецептор, который состоит из одной цепи γ (гамма) и одной цепи δ (дельта). Экспрессирующие TCR гамма/дельта Т-клетки (гамма-дельта-Т-клетки) являются важными распознающими клетками для липидных антигенов, экспрессируемых раковыми клетками, а также клетками в состоянии стресса, такими

как раковые клетки, инфицированные микроорганизмами и вирусами клетки и аутореактивные лимфоциты. Гамма-дельта-Т-клетки демонстрируют ряд характеристик, которые определяют их место на границе между более эволюционно примитивной врожденной иммунной системой, позволяющей реализовать быстрый благоприятный ответ на различные чужеродные агенты, и адаптивной иммунной системой, где В- и Т-клетки координируют более медленный, но высокоспецифичный в отношении антигенов иммунный ответ, который приводит к длительной памяти, срабатывающей при последующих стимуляциях тем же антигеном. Гамма-дельта-Т-клетки могут рассматриваться как компонент адаптивного иммунитета, поскольку они обеспечивают реаранжировку генов TCR, обеспечивая разнообразие J-сегментов, и могут развиваться в клетки с фенотипом клеток памяти.

[0137] Наиболее распространенный вариант гамма-дельта у человека представлен вариантом V-гамма-9/V-дельта-2 в крови, тогда как гамма-дельта-Т-клетки V-дельта-1 типа в опухолях были ассоциированы с прогнозом. Также был описан вариант V-дельта-3 и V-дельта-2-негативный вариант после инфекции CMV, снижавший риск рака. В отличие от рестриктированных по ГКГС альфа-бета-Т-клеток, гамма-дельта-Т-клеткам не требуется процессинг антигенов и ГКГС-презентация пептидных эпитопов, хотя некоторые из них способны распознавать ГКГС класса Ib. Следовательно, опухолевые клетки не могут избежать детекции за счет понижающей регуляции ГКГС, и гамма-дельта-Т-клетки, соответственно, также имеют равный потенциал для киллинга опухолей с низкой мутационной нагрузкой, и эти клетки с меньшей вероятностью влияют проблемы, связанные с резистентностью. Также была показана максимальная корреляция инфильтрации опухоли гамма-дельта-Т-клетками с выживаемостью и меньшей частотой развития болезни «трансплантат против хозяина». Хоминг гамма-дельта-Т-клеток в различные ткани для детекции опухолей происходит естественным образом, и они более предпочтительны для аллогенной терапии, чем альфа-бета-Т-клетки.

[0138] Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению экспрессируют TCR гамма/дельта. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям НКТ-подобных клеток по настоящему изобретению, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных НКТ-подобных клеток могут экспрессировать TCR гамма/дельта. Указанные НКТ-подобные клетки могут экспрессировать TCR гамма/дельта, который содержит дельта-цепь дельта 1 ($\delta 1$), дельта 2 ($\delta 2$), дельта 3 ($\delta 3$) или дельта 5 ($\delta 5$).

Таким образом, НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению могут быть положительными по дельта 1, или дельта 2, или дельта 3, или дельта 5. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям НКТ-подобных клеток по настоящему изобретению, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных НКТ-подобных клеток могут быть положительными по дельта 1, или дельта 2, или дельта 3, или дельта 5.

Инвариантный TCR (iTTCR)

[0139] Инвариантный TCR (iTTCR) представляет собой высококонсервативный инвариантный рецептор, который у человека состоит из цепи V α 24-J α 18, соединенной с цепью V β 11, а у мыши состоит из цепи V α 14-J α 18, которая преимущественно образует пару с цепями V β 2, V β 7 или V β 8.2. iTTCR экспрессируется инвариантными естественными киллерными Т-клетками (iNKТ), уникальными Т-лимфоцитами врожденного типа, которые обладают характеристиками как обычных Т-клеток, так и естественных киллерных клеток. Эти клетки непосредственно убивают опухолевые клетки и трансактивируют противоопухолевые функции дендритных клеток (ДК), естественных киллерных (NK) клеток и Т- и В-клеток. Активация клеток iNKТ обычно требует вовлечения iTTCR с помощью CD1d, представляющего гликолипидные антигены.

[0140] Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению экспрессируют iTTCR. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям НКТ-подобных клеток по настоящему изобретению, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных НКТ-подобных клеток могут экспрессировать iTTCR.

TCR-альфа/бета

[0141] Т-клеточный рецептор альфа-бета (TCR альфа/бета; TCR $\alpha\beta$) представляет собой преобладающий гетеродимер TCR, который состоит из одной α - (альфа) цепи и одной β - (бета) цепи.

[0142] Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению могут экспрессировать TCR альфа/бета. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям НКТ-подобных клеток по настоящему изобретению, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% НКТ-подобных клеток могут экспрессировать TCR альфа/бета.

CD16

[0143] CD16 (кластер дифференцировки 16; также известный как FcγRIII) представляет собой трансмембранный белок, присутствующий на активированных естественных киллерных клетках, и маркер активации клеток.

5 [0144] Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки по настоящему изобретению могут экспрессировать CD16. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям NKT-подобных клеток по настоящему изобретению, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных NKT-подобных клеток могут экспрессировать CD16.

NKp44

10 [0145] NKp44 (также известный как кластер дифференцировки 336, рецептор 2, запускающий естественную цитотоксичность) представляет собой рецептор клеточной поверхности, селективно экспрессируемый на активированных NK-клетках, и маркер активации клеток.

15 [0146] Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки по настоящему изобретению экспрессируют NKp44. Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям NKT-подобных клеток по настоящему изобретению, по меньшей мере 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных NKT-подобных клеток могут экспрессировать NKp44.

20 [0147] NKT-подобные клетки по настоящему изобретению могут экспрессировать CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 и/или TCR альфа/бета. NKT-подобные клетки по настоящему изобретению могут не экспрессировать CD4. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации NKT-подобные клетки по настоящему изобретению экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта и iTCR. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации NKT-подобные клетки по настоящему изобретению экспрессируют CD16 и NKp44.

25 Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации NKT-подобные клетки по настоящему изобретению экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16 и NKp44. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации NKT-подобные клетки по настоящему изобретению экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR и TCR альфа/бета. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации NKT-подобные клетки по настоящему изобретению экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44 и TCR альфа/бета.

30 Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки по настоящему изобретению экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16 и NKp44, и один

или более из CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 и/или TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации NKT-подобные клетки по настоящему изобретению экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44 и TCR альфа/бета; и одно или более из CD3, CD8, CD14, CD19 и/или CD45.

5 [0148] Согласно некоторым конкретным предпочтительным вариантам реализации NKT-подобные клетки по настоящему изобретению экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта и/или iTCR.

[0149] Согласно вариантам реализации, относящимся к популяциям NKT-подобных клеток по настоящему изобретению, указанная популяция NKT-подобных клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных NKT-клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 и/или TCR альфа/бета. Согласно некоторым таким вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных NKT-подобных клеток не экспрессируют: CD4. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных NKT-подобных клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта и iTCR. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% NKT-подобных клеток экспрессируют CD16 и NKp44. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных NKT-подобных клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16 и NKp44. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных NKT-подобных клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR и TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных NKT-подобных клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44 и TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных NKT-подобных клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта,

iTCR, CD16 и NKp44, и один или более из CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 и/или TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных NKT-подобных клеток экспрессируют CD56, TCR

5 гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44 и TCR альфа/бета и один или более из CD3, CD8, CD14, CD19 и/или CD45.

[0150] Согласно некоторым конкретным предпочтительным вариантам реализации указанная популяция NKT-подобных клеток может характеризоваться тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% указанных NKT-подобных клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта и iTCR.

10

Гамма-дельта-T-клетки

[0151] Характеристики маркеров поверхности гамма-дельта-T клеток могут включать (не ограничиваясь перечисленными): CD3, CD4, CD8, CD69, CD56, CD27, CD40, CD40L, CD45RA, CD45, CD83, CD16, CD16a, CD16b, ICOS, CD161, Fas,

15 CLEC7A/дектин-1, FasL, E-кадгерин, ИЛ-18R-альфа, ИЛ-23R, NKG2D/CD314, NKG2E, окклюдин, TKR2, TRAIL, TCR-Vg9, TCR-Vd2, TCR-Vd1, TCR-Vd3, TCR-пан-g/d,

NKG2D, моноклональные антитела к рецепторам хемокинов CCR5, CCR6, CCR7, CXCR3, CXCR4 или CXCR5, или их комбинации. Характеристики поверхностных маркеров NKT-подобных клеток по настоящему изобретению могут включать одно

20 или более из перечисленного. Гамма-дельта-T-клетки могут секретировать (в том числе, но не ограничиваясь перечисленным) CCL2/JE/МСР-1, CXCL13/BLC/BCA-1, бета-дефензин 2, бета-дефензин 3, альфа-дефензин 1, ЭФР, KGF/ФРФ-7, ФРФ-10, ГМ-КСФ, гранулизин, гранзим А, гранзим В, ИФН-гамма, ИФР-I/ИФР-1, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-12/ИЛ-23 р40, ИЛ-12 р70, ИЛ-13, ИЛ-17/ИЛ-17А, ИЛ-22,

25 комплекс ИЛ-6/ ИЛ-6R-альфа, LAP (ТФР-бета 1), ТФР-бета и/или ФНО-альфа. NKT-подобные клетки согласно настоящему изобретению могут секретировать что-либо одно или более из перечисленного.

[0152] NKT-подобные клетки и популяции NKT-подобных клеток по настоящему изобретению могут характеризоваться тем, что эти клетки экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта и iTCR. Хотя клетки, которые экспрессируют как TCR гамма/дельта, так и iTCR, могут быть получены искусственно (например, путем трансдукции iTCR в положительные по TCR гамма/дельта клетки), насколько известно авторам, они ранее не были описаны как встречающиеся в природе (то есть без рекомбинантного введения

30

одного или обоих из этих рецепторов). Таким образом, НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению уникальны тем, что они встречаются в природе, продуцируются и/или мобилизуются у субъектов после введения высоких доз глюкокортикоидов. То есть НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению

5 уникальны тем, что они экспрессируют как TCR гамма/дельта, так и iTCR, не требуя рекомбинантной экспрессии одного или обоих из них – и благоприятным образом лишены недостатков, связанных с использованием полученных искусственно

10 клеточных линий $\gamma\delta$ TCR/iTCR. Таким образом, выделенные НКТ-подобные клетки и популяции НКТ-подобных клеток по настоящему изобретению могут быть описаны как встречающиеся в природе. Клетки и популяции клеток по настоящему

15 изобретению не были трансфицированы, трансдуцированы или иным образом генетически модифицированы для экспрессии TCR гамма/дельта. Клетки и популяции клеток по настоящему изобретению не были модифицированы путем введения нуклеиновой кислоты, кодирующей TCR гамма/дельта, в клетку или клетки. Клетки и

20 популяции клеток по настоящему изобретению не были трансфицированы, трансдуцированы или иным образом генетически модифицированы для экспрессии iTCR. Клетки и популяции клеток по настоящему изобретению не были модифицированы путем введения нуклеиновой кислоты, кодирующей iTCR, в клетку или клетки. Согласно некоторым вариантам реализации клетки и популяции клеток по настоящему изобретению могут не быть трансфицированы, трансдуцированы или

25 иным образом генетически модифицированы для экспрессии TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации клетки и популяции клеток по настоящему изобретению могут не быть модифицированы путем введения в клетку или клетки нуклеиновой кислоты, кодирующей TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам

30 реализации клетки и популяции клеток по настоящему изобретению могут не быть трансфицированы, трансдуцированы или иным образом генетически модифицированы для экспрессии CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, НКp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR альфа/бета, CD34 и/или ICAM3. Согласно некоторым вариантам реализации клетки и популяции клеток по настоящему изобретению могут не быть модифицированы путем введения нуклеиновой кислоты, кодирующей CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16,

5 NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR альфа/бета, CD34 и/или ICAM3, в указанную клетку или клетки. Согласно некоторым вариантам реализации клетки и популяции клеток по настоящему изобретению могут не быть модифицированы путем введения нуклеиновой кислоты, кодирующей CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16,

10 NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 и/или TCR альфа/бета, в указанную клетку или клетки. Согласно некоторым вариантам реализации клетки и популяции клеток по настоящему изобретению могут не быть трансфицированы, трансдуцированы или иным образом генетически модифицированы для экспрессии CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR альфа/бета, CD34 или

15 ICAM3. Согласно некоторым вариантам реализации клетки и популяции клеток по настоящему изобретению могут не быть трансфицированы, трансдуцированы или иным образом генетически модифицированы для экспрессии CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 или TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации клетки и популяции клеток по настоящему изобретению могут не быть модифицированы путем введения нуклеиновой кислоты, кодирующей CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR альфа/бета, CD34 или ICAM3 в указанную клетку или клетки. Согласно некоторым вариантам реализации клетки и популяции клеток по настоящему изобретению могут не быть модифицированы путем введения в клетку или клетки

20 нуклеиновой кислоты, кодирующей CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 или TCR альфа/бета. Согласно некоторым вариантам реализации клетки и популяции клеток по настоящему изобретению могут быть выделены от субъекта. Субъект может представлять собой субъекта согласно определению в тексте настоящего документа. Согласно некоторым вариантам реализации клетки и популяции клеток по настоящему изобретению могут быть выделены из организма субъекта, у которого они были индуцированы / мобилизованы.

25 Согласно некоторым вариантам реализации клетки и популяции клеток по настоящему изобретению могут быть выделены из организма субъекта, у которого они были индуцированы / мобилизованы после введения указанному субъекту глюкокортикоида.

30 Согласно некоторым вариантам реализации клетки и популяции клеток по настоящему изобретению могут быть выделены из организма субъекта, у которого они были индуцированы / мобилизованы с помощью способа, описанного в тексте настоящего документа. Согласно некоторым вариантам реализации клетки и популяции клеток по

настоящему изобретению могут быть получены и выделены способом, описанным в тексте настоящего документа.

[0153] Модулирующие ICAM3 агенты в контексте настоящего описания представляют собой агенты, которые связывают ICAM3 и способствуют индукции и/или мобилизации NKT-подобных клеток согласно настоящему изобретению.

Модулирующие ICAM3 агенты, которые связывают ICAM3, могут, как вариант, называться ICAM3-связывающими молекулами, ICAM3-связывающими агентами и т.д.

Модулирующий ICAM3 агент может представлять собой антагонист ICAM3 / ингибитор ICAM3, или может представлять собой агонист / активатор ICAM3.

[0154] Такие модулирующие ICAM3 агенты могут включать, например, антитела против ICAM3, выработанные против ICAM3 или его части, низкомолекулярные модуляторы ICAM3 (такие как активаторы или ингибиторы ICAM3) и пептидные агенты / белки, которые связывают ICAM3. Подходящие способы идентификации

модулирующих ICAM3 агентов хорошо известны специалистам в данной области техники – например, антитела против ICAM3 могут быть идентифицированы способом, который может включать приведение в контакт библиотеки молекул антител и эпитопа ICAM3, и выбор одной или более специфических молекул антител из библиотеки, способных связывать указанный эпитоп. Как вариант, указанные антитела

могут быть идентифицированы с применением конкурентного анализа связывания, задействующего известные антитела против ICAM3, с определением конкуренции, например, с помощью ИФА ELISA или проточной цитометрии. Аналогичным образом, низкомолекулярные модуляторы ICAM3 могут быть идентифицированы с применением рутинных скрининговых экспериментов, таких как анализы связывания радиолигандов и функциональные анализы.

[0155] Как уже было описано выше, авторы настоящего изобретения обнаружили неожиданную способность модулирующих глюкокортикоидные рецепторы агентов (таких как дексаметазон и другие глюкокортикоиды) связывать ICAM3 и оказывать модулирующее действие на ICAM3. Соответственно, согласно некоторым вариантам

реализации указанный модулирующий ICAM3 агент может представлять собой модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент. Согласно некоторым вариантам реализации указанный модулирующий ICAM3 агент может представлять собой глюкокортикоид, например, дексаметазон или бетаметазон. Модулирующий ICAM3 агент может представлять собой молекулу, которая связывается с той же

областью ICAM3, что и глюкокортикоиды, такие как дексаметазон. Модулирующий ICAM3 агент может представлять собой молекулу, которая связывается с ICAM3 посредством взаимодействия с остатками SER31 и/или MET49 в ICAM3.

- 5 Модулирующий ICAM3 агент может представлять собой молекулу, которая связывается с ICAM3 посредством взаимодействия с остатками THR38, LEU40, LEU56, VAL59 и/или ILE65 в ICAM3. Указанный модулирующий ICAM3 агент может представлять собой молекулу, которая связывается с ICAM3 посредством взаимодействия с остатками PHE21, VAL22, GLU32, LYS33, TRP51 и/или ALA52 в ICAM3. Модулирующий ICAM3 агент может представлять собой молекулу, которая связывается с ICAM3 посредством взаимодействия с остатками SER25, ASN23, GLU37, PHE54 и/или GLN75 в ICAM3. Модулирующий ICAM3 агент может представлять собой молекулу, которая связывается с ICAM3 посредством взаимодействия с остатками PHE21, VAL22, ASN23, SER25, SER31, GLU32, LYS33, GLU37, THR38, LEU40, MET49, TRP51, ALA52, PHE54, LEU56, VAL59, ILE65 и/или GLN75 в ICAM3.
- 10 Модулирующий ICAM3 агент может представлять собой любую молекулу, такую как антитело к ICAM3, низкомолекулярный модулятор ICAM3 (включая активаторы и ингибиторы ICAM3) или пептидный агент / белок, который связывает ICAM3, который конкурирует с глюкокортикоидом, таким как дексаметазон, за связывание с ICAM3. Модулирующий ICAM3 агент может представлять собой антитело к ICAM3, например,
- 20 ICR 8.1 или его гуманизованную версию. Специалисту известны подходящие методики, с помощью которых может быть определено связывание с одной и той же областью ICAM3 – например, с помощью молекулярного моделирования или анализов конкурентного связывания.

[0156] В настоящем документе термин «модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент» включает глюкокортикоиды, агонисты глюкокортикоидных рецепторов, и любое соединение, которое связывается с глюкокортикоидным рецептором.

- Модулирующие глюкокортикоидные рецепторы (ГР) агенты, такие как глюкокортикоиды, оказывают эффекты и через мембранные ГР, и через цитоплазматические ГР, которые активируют или репрессируют экспрессию генов.
- 30 Некоторые из желательных лимфодеплетивных эффектов глюкокортикоидов и модулирующих ГР агентов предположительно опосредованы, наряду с их геномными эффектами, мембранными ГР или другими негеномными эффектами. Были описаны разнообразные эффекты глюкокортикоидов в отношении уровней лимфоцитов, в зависимости от концентрации введенного глюкокортикоида и продолжительности

лечения. В общем случае, в низких дозах, обычно применяемых для хронической терапии, глюкокортикоиды, как было описано, перераспределяют лимфоциты из периферической крови в костный мозг, в умеренных дозах глюкокортикоиды, как было описано, вызывают лейкоцитоз, предположительно представляющий собой

5 перераспределение лейкоцитов из костного мозга, селезенки и тимуса в периферическую кровь, а в высоких дозах глюкокортикоиды оказывают лимфотоксическое действие на лимфоциты, запуская апоптоз и некроптоз.

Продолжительность эффекта также зависит от уровня дозы, например, в источнике Fauci *et al* (1976) сообщается, что однократная пероральная доза дексаметазона 0,24 мг/кг на 80% супрессирует Т- и В-лимфоциты периферической крови, при этом восстановление начинается через 12 часов, с достижением нормальных уровней через 24 часа. Авторы настоящего изобретения ранее продемонстрировали (в международной патентной РСТ-заявке/US2019/054395), что острые пероральные дозы дексаметазона 3 мг/кг или более необходимы для снижения количества Т- и В-клеток периферической крови через 24–48 часов после введения, с возвращением к базовым уровням приблизительно через 5–14 дней после дозирования.

15 **[0157]** Модулирующие глюкокортикоидные рецепторы (ГР) агенты, которые могут применяться в описанных способах, включают, например, селективные модуляторы глюкокортикоидных рецепторов (SEGRM) и селективные агонисты глюкокортикоидных рецепторов (SEGRA). Глюкокортикоиды, селективные модуляторы глюкокортикоидных рецепторов и селективные агонисты глюкокортикоидных рецепторов (SEGRA), которые могут применены в описанных способах, хорошо известны специалистам в данной области техники.

20 **[0158]** Некоторые такие глюкокортикоиды включают, не ограничиваясь перечисленными, дексаметазон, дексаметазон-содержащие агенты, гидрокортизон, метилпреднизон, преднизон, кортикон, будесонид, бетаметазон и беклометазон. Другие глюкокортикоиды включают преднизолон, мометазона фуруат, триамцинолона ацетонид и метилпреднизолон.

30 **[0159]** Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент может представлять собой глюкокортикоид. Согласно некоторым таким вариантам реализации указанный глюкокортикоид может быть выбран из группы, состоящей из: дексаметазона, гидрокортизона, метилпреднизолон, преднизона, преднизолон, преднилидена, кортизона, будесонида, бетаметазона, флуметазона и беклометазона.

Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации указанный глюкокортикоид может быть выбран из группы, состоящей из: дексаметазона, бетаметазона и метилпреднизона. Согласно некоторым конкретным предпочтительным вариантам реализации указанный глюкокортикоид может представлять собой дексаметазон или бетаметазон.

[0160] Согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов указанный глюкокортикоид может быть выбран из группы, состоящей из: основания дексаметазона, дексаметазона натрия фосфата, дексаметазона гемисукцината, дексаметазона натрия сукцината, дексаметазона сукцината, дексаметазона изоникотината, дексаметазон-21-ацетата, дексаметазона фосфата, дексаметазон-21-фосфата, дексаметазона тебутата, дексаметазон-17-валерата, дексаметазона ацетата моногидрата, дексаметазона пивалата, дексаметазона пальмитата, дексаметазон-21-пальмитата, дексаметазона дипропионата, дексаметазона пропионата, безводного дексаметазона ацетата, дексаметазон-21-фенилпропионат, дексаметазон-21-сульфобензоата, дексаметазона гемисульфата, дексаметазона сульфата, дексаметазонбелоксила, дексаметазоновой кислоты, дексаметазона ацефурата, дексаметазона карбоксимида, дексаметазона ципецилата, динатриевой соли дексаметазон-21-фосфата, дексаметазона мезилата, дексаметазона линолеата, дексаметазона глюкозида, дексаметазона глюкуронида, дексаметазона йодацетата, дексаметазона оксетанона, карбоксиметилтиодексаметазона, дексаметазон-бисэтоксимов, дексаметазон-эпоксида, дексаметазонлинолелаидата, дексаметазона метилортовалерата, дексаметазона спермина, 6-гидроксидексаметазона, дексаметазона трибутилацетата, дексаметазон-аспарагиновой кислоты, дексаметазонгалактопиранозы, дексаметазона гидрохлорида, гидроксидексаметазона, карбоксидексаметазона, дезоксидексаметазона, дексаметазона бугазона, дексаметазона циклодекстрина, дигидродексаметазона, оксодексаметазона, пропионилоксидексаметазона, дексаметазона галактозида, дексаметазона изоникотината, дексаметазона натрия гидрофосфата, альдегида дексаметазона, дексаметазона пивалата, дексаметазона тридецилата, дексаметазона кротоната, дексаметазона метансульфоната, дексаметазона бутилацетата, дегидродексаметазона, простого изотиоцианат-этилового тиоэфира дексаметазона, дексаметазона бромацетата, дексаметазона гемиглютарата, дезоксидексаметазона, дексаметазона хлорамбуцилата, дексаметазона мелфаланата, формилоксидексаметазона, дексаметазона бутирата, дексаметазона лаурата, дексаметазона ацетата, и любого комбинированного лечения, которое включает форму

дексаметазона. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации указанный глюкокортикоид может представлять собой основание дексаметазона или дексаметазона натрия фосфат.

[0161] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения

5 модулирующий глюкокортикоидный рецептор агент может не представлять собой один или более из указанных выше агентов.

[0162] Согласно описанным здесь способам модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент или модулирующий ICAM3 агент вводят в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере приблизительно 6 мг/кг

10 основания дексаметазона, или в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере приблизительно 6 мг/кг дексаметазона фосфата.

[0163] Эквивалентные дозы другого глюкокортикоида или модулирующего глюкокортикоидный рецептор агента могут быть легко и просто рассчитаны с

15 применением открытых алгоритмов для конверсии доз кортикоидов, предпочтительно <http://www.medcalc.com>. Например, 3–12 мг/кг дексаметазона при пересчете дают 19–

75 мг/кг преднизона. Поскольку биологическое время полужизни преднизона составляет приблизительно 20 часов, а биологическое время полужизни дексаметазона

составляет приблизительно 36–54 часов, преднизон нужно вводить в дозах от 19 до 75 мг/кг каждые 24 часа для эквивалентного биологического дозирования. Более

20 конкретно, доза дексаметазона 12 мг/кг соответствует дозе преднизолонa 75 мг/кг, что требует многократного дозирования с введением от приблизительно двух до

приблизительно трех доз каждые 24 часа. Доза бетаметазона 10 мг/кг соответствует приблизительно 12 мг/кг дексаметазона и имеет фармакодинамическое

(биологическое) время полужизни, аналогичное времени полужизни дексаметазона.

25 **[0164]** Дозы дексаметазона в примерах в настоящем документе указаны в виде

эквивалентных доз для человека (ЭДЧ). Способы вычисления эквивалентной дозы для человека (ЭДЧ) известны в данной области техники. Например, Центр экспертизы и

изучения лекарственных средств (CDER) FDA в 2005 г. выпустил широко цитируемый методический документ (Министерство здравоохранения США, CDER, 2005), где в

30 таблице 1 на стр. 7 приведен принятый алгоритм перевода доз для животных в ЭДЧ на основании площади поверхности тела (общепринятый способ экстраполяции доз для разных видов). Таблица 1 воспроизведена ниже в качестве справочной информации.

Специалисту в данной области техники понятно, что исходя из дозы для животного в

мг/кг, как описано ниже, легко вычислить ЭДЧ с применением стандартных коэффициентов пересчета, приведенных в правых столбцах таблицы 1:

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

Вид	Для пересчета дозы для животного в мг/кг в дозу в мг/м ² , умножить на k _m	Варианты пересчета дозы для животного в мг/кг в ЭДЧ ^a в мг/кг:	
		Разделить дозу для животного на:	Умножить дозу для животного на:
Человек	37	---	---
Ребенок (20 кг) ^b	25	---	---
Мышь	3	12,3	0,08
Хомяк	5	7,4	0,13
Крыса	6	6,2	0,16
Хорек	7	5,3	0,19
Морская свинка	8	4,6	0,22
Кролик	12	3,1	0,32
Собака	20	1,8	0,54
Приматы:			
Нечеловекообразные обезьяны ^c	12	3,1	0,32
Игрунки	6	6,2	0,16
Беличья обезьяна	7	5,3	0,19
Павиан	20	1,8	0,54
Микросвинья	27	1,4	0,73
Минисвинья	35	1,1	0,95

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

ЭДЧ = доза для животного в мг/кг × (масса тела животного в кг/масса тела человека в кг)^{0,33}.

^b Указанное значение k_m предложено исключительно в качестве референсного примера, поскольку здоровые дети редко бывают добровольцами в исследованиях фазы 1.

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

15 [0165] Согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент или модулирующий ICAM3 агент вводят в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере приблизительно 12 мг/кг основания дексаметазона или фосфата дексаметазона. Согласно другим предпочтительным вариантам реализации

указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент вводят в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере приблизительно 15 мг/кг или приблизительно 18 мг/кг основания дексаметазона или дексаметазона фосфата. Согласно другим предпочтительным вариантам реализации

5 указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент вводят в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере приблизительно 21 мг/кг или по меньшей мере приблизительно 24 мг/кг основания дексаметазона или фосфата дексаметазона. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР)

10 агент вводят в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) приблизительно 12 мг/кг основания дексаметазона или дексаметазона фосфата, ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) приблизительно 15 мг/кг основания дексаметазона или дексаметазона фосфата, или ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) приблизительно 18 мг/кг основания дексаметазона или дексаметазона фосфата, или

15 ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) приблизительно 21 мг/кг основания дексаметазона или дексаметазона фосфата, или ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) приблизительно 24 мг/кг основания дексаметазона или дексаметазона фосфата, или ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) приблизительно 30 мг/кг основания дексаметазона или дексаметазона фосфата, или ЭДЧ (эквивалентная доза для человека)

20 приблизительно 45 мг/кг основания дексаметазона или дексаметазона фосфата.
[0166] Согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент или модулирующий ICAM3 агент вводят в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере приблизительно 6-45 мг/кг дексаметазона основания или дексаметазона фосфата;

25 ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере приблизительно 15-24 мг/кг дексаметазона основания или дексаметазона фосфата; ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере приблизительно 6-12 мг/кг дексаметазона основания или дексаметазона фосфата; ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере приблизительно 6–18 мг/кг основания дексаметазона или фосфата дексаметазона, или

30 ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере приблизительно 12–15 мг/кг основания дексаметазона или фосфата дексаметазона; или ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере приблизительно 18–30 мг/кг основания дексаметазона или фосфата дексаметазона; или ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере приблизительно 15–18 мг/кг основания дексаметазона или фосфата

дексаметазона. Согласно вариантам реализации, в которых инфекционное заболевание представляет собой заболевание, являющееся результатом инфекции коронавирусом, например, COVID-19, указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент может предпочтительно вводиться в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентная
5 доза для человека) приблизительно 18–30 мг/кг основания дексаметазона или дексаметазона фосфата.

[0167] Согласно описанным здесь способам указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент или модулирующий ICAM3 агент может вводиться в виде разовой острой дозы, или в виде суммарной дозы, вводимой на
10 протяжении периода, равного приблизительно 24, 48 или 72 часам. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент вводят в виде разовой острой дозы. Согласно другим предпочтительным вариантам реализации указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент вводят в виде суммарной дозы за период,
15 составляющий приблизительно 72 часа.

[0168] Согласно некоторым вариантам реализации, в которых субъект имеет, предположительно имеет, или у него было диагностировано инфекционное заболевание, такое как заболевание , являющееся результатом инфекции коронавирусом (таким как COVID-19), модулирующий глюкокортикоидный рецептор
20 агент (который может предпочтительно представлять собой дексаметазон или бетаметазон) может вводиться в виде раствора в водной среде. Согласно некоторым таким вариантам реализации указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор агент может быть предоставлен в концентрации, эквивалентной приблизительно 24 мг/мл дексаметазона фосфата (20 мг/мл основания дексаметазона; 26,2 мг/мл
25 дексаметазона натрия фосфата), и может вводиться путем внутривенной (в/в) инфузии за период, составляющий приблизительно 1–2 часа, в конечной целевой дозе, равной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) приблизительно 18–30 мг/кг основания дексаметазона. Согласно другим вариантам реализации указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор агент может быть предоставлен в виде таблеток
30 дексаметазона, растворяемых в апельсиновом соке или лимонной кислоте (рН 3,3–4,2) и вводимых перорально или через желудочный зонд в конечной целевой дозе, равной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) приблизительно 18–30 мг/кг основания дексаметазона.

[0169] Согласно некоторым вариантам реализации способов по настоящему изобретению указанные способы могут включать этап введения субъекту одной или более дополнительных доз модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента.

5 **[0170]** В указанном контексте одну или более доз вводят дополнительно после первой или предшествующей дозы модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента, и они могут, соответственно, называться последующими дозами, или второй, третьей, четвертой дозой и т.д. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации указанная одна или более дополнительных доз может вводиться приблизительно через 24, 48, 72, 96, 120, 144 или 168 часов после предыдущей дозы (введения). Согласно некоторым вариантам реализации указанная одна или более дополнительных доз может вводиться приблизительно каждые 24, 48, 72, 96, 120, 144 или 168 часов после предыдущей дозы (введения). Согласно некоторым другим вариантам реализации указанная одна или более дополнительных доз может
10 вводиться один раз еженедельно, один раз в две недели, один раз в три недели, или один раз в месяц после предыдущей дозы (введения). Согласно некоторым другим вариантам реализации указанная одна или более дополнительных доз может вводиться два раза в неделю после предыдущей дозы (введения).

[0171] Согласно некоторым вариантам реализации указанная одна или более
20 дополнительных доз может вводиться в период приблизительно от 24 часов до 168 часов после предыдущей дозы (введения). Согласно другим вариантам реализации указанная одна или более дополнительных доз может вводиться в период приблизительно от 24 часов до 120 часов, приблизительно от 24 часов до 72 часов, или приблизительно от 24 часов до 48 часов после предыдущей дозы (введения).

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

[0172] Согласно некоторым вариантам реализации следующую дозу вводят через 7 дней после начальной дозы. Согласно некоторым вариантам реализации следующую

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

5 **[0173]** Согласно некоторым вариантам реализации, в которых субъект имеет или предположительно имеет Т-клеточную лимфому, или у него была диагностирована Т-клеточная лимфома, указанная одна или более дополнительных доз может вводиться каждые 21 день, или каждые 14 дней, или каждые 5–7 дней на протяжении периода времени, который может быть определен лечащим врачом.

10 **[0174]** Согласно некоторым вариантам реализации, в которых субъект имеет, предположительно имеет В-клеточную лимфому, или у него была диагностирована В-клеточная лимфома, указанная одна или более дополнительных доз может вводиться каждые 21 день, или каждые 14 дней, или каждые 5–7 дней на протяжении периода времени, который может быть определен лечащим врачом.

15 **[0175]** Согласно некоторым вариантам реализации способов по настоящему изобретению указанные способы могут дополнительно включать этап введения активатора НКТ-клеток, активатора Т-клеток и/или активатора НК-клеток субъекту.

20 **[0176]** В настоящем документе термин «активатор НКТ-клеток» включает любой агент или молекулу, запускающую активацию НКТ-клеток. Активация НКТ-клеток ассоциирована с положительной регуляцией маркеров активации, и цитокинов и хемокинов Th1 и Th2. Активаторы НКТ-клеток, которые могут быть использованы в описанных способах, хорошо известны специалистам в данной области техники.

25 **[0177]** Некоторые такие активаторы НКТ-клеток включают, не ограничиваясь перечисленными, адипокины, лептин, адипонектин, апелин, хемерин, MCP-1, PAI-1, RBP4, висфатин, оментин, васпин, програнулин, STRP-4, цитокины, ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ИЛ-1RA, ИЛ-18, ИЛ-33, ИЛ-36 α , ИЛ-36 β , ИЛ-36 γ , ИЛ-36RA, ИЛ-37, ИЛ-38, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-7, ИЛ-9, ИЛ-15, ИЛ-21, ИФН- α , ИФН- β , ИФН- δ , ИФН- ϵ , ИФН- κ , ИФН- τ , ИФН- ω , ИФН- γ , ИФН- λ 1, ИФН- λ 2, ИФН- λ 3, ИФН- λ 4, ИЛ-6, ИЛ-11, ИЛ-31, CLCF1, CNTF, лептин, LIF, OSM, ИЛ-12, ИЛ-17A, ИЛ-17B, ИЛ-17C, ИЛ-17D, ИЛ-17E, ИЛ-17F, 4-1BBL, BAFF, CD40LG, CD70, CD95L/CD178, EDA-A1, LTA/ФНО- β , ФНО- α , ФНО TNFSF4, ФНО TNFSF8, ФНО TNFSF10, ФНО TNFSF11, ФНО TNFSF12, ФНО TNFSF13, ФНО TNFSF15, ТФР- β 1, ТФР- β 2, ТФР- β 3, ИЛ-13, Г-КСФ, ГМ-КСФ, КСФ-1, хемокины, CXCL1-CXCL17, CC, CCL1-CCL28, CX3CL1, XCL1, XCL2, миокины, BDNF, декорин, иризин, миостатин, мионектин, остеоонектин, простагландины, PGI2, PGD2, PGE2, PGF2 α , простамины, простаинид I2, простаинид D2, простаинид E2, простаинид F2 α , вирокины, факторы роста, адреномедуллин, ангиопоэтин, аутокринный

фактор подвижности, костные морфогенетические белки, цилиарный нейротрофический фактор, фактор ингибирования лейкоза, М-КСФ, ЭФР, эфрин А1-А5, эфрин В1-В3, эритропоэтин, ФРФ-1 – ФРФ-23, эмбриональный бычий соматотропин, GDNF, нейротурин, персефин, артемин, фактор

- 5 роста/дифференцировки-9, фактор роста гепатоцитов, гепатоцитарный фактор роста, инсулин, инсулиноподобный фактор роста 1-2, фактор роста кератиноцитов, стимулирующий миграцию фактор, стимулирующий макрофаги белок, нейрегулин 1–4, нейротрофин 3-4, фактор роста нервов, плацентарный фактор роста, тромбоцитарный фактор роста, реналазу, фактор роста Т-клеток, ТФР- α , ТФР- β , ФРЭС,
- 10 сигнальный путь Wnt, антитело против NKG2D или его лиганд MICA (связанную с цепью ГКГС класса I последовательность A), активацию DNAM-1, активацию 4-1BB, ингибитор PD-1, активаторы NKT, α -галактозилцерамид, α -глюкуронозилцерамид, α -галактуронилцерамид, α -галактозилдиацилглицерин, фосфатидилинозитол-манозидазу, α -глюкозилдиацилглицерин, холестерин- α -глюкозид, β -галактозилцерамид,
- 15 изоглоботригексозилцерамид, дисиаialogанглиозид, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилинозитол, фосфатидилхолин, экстракт домашней пыли, GSL-1, NKp44L, ULBP, происходящие из патогенов молекулярные структуры, PAMP, ЛПС, происходящую из патогена РНК, происходящую из патогена ДНК, вирусные лиганды, синтетический α -галактозилцерамид, KRN7000, PBS44, PBS57,
- 20 противовоспалительные ИЛ-10, ИЛ-19, ИЛ-20, ИЛ-22, ИЛ-24, ИЛ-28А, ИЛ-28В, ИЛ-29.

[0178] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанный активатор NKT-клеток может не представлять собой один или более из указанных выше агентов.

- 25 **[0179]** После активации NKT-клетки экспрессируют NKp44, снижают экспрессию CD3 и CD49b и экспрессируют ИЛ-10, ТФР- β , ИФН-гамма, ИЛ-4 и ряд цитокинов Th1 и Th2, рестриктированную по классу I человека ассоциированную с Т-клетками молекулу (CRTAM), CCL3/MIP1a, CCL4/MIP1h и CCL5/Rantes и XCL1/лимфотактин, гранзим, CD45RO+ CD62L+, CD25, ИЛ-2R-бета, GM-КСФ, ИЛ-2, ИЛ-13, ФНО-альфа,
- 30 ИЛ-17, ИЛ-21, CD44, CD69 и ИЛ-22. Кроме того, в окружении опухоли NKT-клетки организуются в ряды, которые движутся в направлении опухолевых клеток со всех сторон.

[0180] Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации описанных здесь способов активатор NKT-клеток может быть выбран из группы, состоящей из:

альфа-GalCer (альфа-галактозилцерамид; α -GalCer), сульфатида (3-О-сульфогалактозилцерамид; SM4; сульфатированный галактоцереброзид) или активирующего НКТ антитела, или может представлять собой перфорин, оксид азота, ИЛ-2, интерфероны альфа и гамма, ТФР-бета, ФНО-альфа, ФНО-бета, Г-КСФ, ФРЭС, ФРФ-18, ИЛ-17, CXCL5, CXCR2, CXCR5, CCR4-CCL17/22, CCR8-CCL1, CCR10-CCL28 и CXCR3-CCL9/10/11, CCL5, CXCR9, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CXCL9 или CXCL10, индуцируемые интерфероном (ИФН) γ хемокины CXCL9, CXCL10 и CXCL11, CCL5 и CXCL9, CCR5, ИЛ-32, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-10, ИЛ-18, Г-КСФ, М-КСФ, MCP-1, MCP-3, IP-10, MIG или MIP-1 α . Согласно некоторым другим предпочтительным вариантам реализации описанных здесь способов активатор НКТ-клеток может представлять собой нагруженные альфа-GalCer дендритные клетки или моноциты.

[0181] В настоящем документе термин «активатор Т-клеток» включает любой агент или любую молекулу, запускающую активацию Т-клеток. Т-клетки могут быть активированы путем взаимодействия TCR с антигенным пептидом и ГКГС, и через не являющиеся антигенспецифическими костимуляторы (такие как цитокин интерлейкин 1). Активация Т-клеток ассоциирована с повышенным продуцированием цитокинов и хемокинов, индукцией созревания дендритных клеток, рекрутингом макрофагов и повышенной цитолитической активностью. Активация гамма-дельта-Т-клеток может также быть ассоциирована с повышенным продуцированием факторов роста, которые поддерживают целостность эпидермиса (таких как ИФР-1, ФРЭС и ФРФ-2), а также презентацией антигена альфа-бета-Т-клеткам. Активация Т-клеток может также быть ассоциирована с изменениями в паттерне экспрессии поверхностных маркеров. В случае гамма-дельта-Т-клеток этот паттерн может включать один или более из следующих маркерных фенотипов: CD5⁻, CD4⁻/CD8⁻ (дважды отрицательные), CD3⁺, CD69, CD56, CD27, CD45RA⁺, CD45, TCR-V γ 9⁺, TCR-Vd2⁺, TCR-Vd1⁺ и/или TCR-Vd3⁺. Активаторы Т-клеток, которые могут быть использованы в описанных способах, хорошо известных специалистам в данной области техники.

[0182] Некоторые такие активаторы Т-клеток включают, не ограничиваясь перечисленными, адипокины, лептин, адипонектин, апелин, хемерин, MCP-1, PAI-1, RBP4, висфатин, оментин, васпин, програнулин, STRP-4, цитокины, ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ИЛ-1RA, ИЛ-18, ИЛ-33, ИЛ-36 α , ИЛ-36 β , ИЛ-36 γ , ИЛ-36RA, ИЛ-37, ИЛ-38, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-7, ИЛ-9, ИЛ-15, ИЛ-21, ИФН- α , ИФН- β , ИФН- δ , ИФН- ϵ , ИФН- κ , ИФН- τ , ИФН- ω , ИФН- γ , ИФН- λ 1, ИФН- λ 2, ИФН- λ 3, ИФН- λ 4, ИЛ-6, ИЛ-11, ИЛ-31, CLCF1, CNTF,

лептин, LIF, OSM, ИЛ-12, ИЛ-17А, ИЛ-17В, ИЛ-17С, ИЛ-17D, ИЛ-17Е, ИЛ-17F, 4-1BBL, BAFF, CD40LG, CD70, CD95L/CD178, EDA-A1, LTA/ФНО-β, ФНО-α, ФНО TNFSF4, ФНО TNFSF8, ФНО TNFSF10, ФНО TNFSF11, ФНО TNFSF12, ФНО TNFSF13, ФНО TNFSF15, ТФР-β1, ТФР-β2, ТФР-β3, ИЛ-13, Г-КСФ, ГМ-КСФ, КСФ-1.

5 хемокины, CXCL1-CXCL17, СС, CCL1-CCL28, CX3CL1, XCL1, XCL2, миокины, BDNF, декорин, иризин, миостатин, мионектин, остеоонектин, простагландины, PGI2, PGD2, PGE2, PGF2α, простамиды, простагмид I2, простагмид D2, простагмид E2, простагмид F2α, вирокины, факторы роста, адреномедуллин, ангиопоэтин, аутокринный фактор подвижности, костные морфогенетические белки, цилиарный

10 нейротрофический фактор, фактор ингибирования лейкоза, М-КСФ, ЭФР, эфрин А1-А5, эфрин В1-В3, эритропоэтин, ФРФ-1 – ФРФ-23, эмбриональный бычий соматотропин, GDNF, нейротурин, персефин, артемин, фактор роста/дифференцировки 9, фактор роста гепатоцитов, гепатоцитарный фактор роста, инсулин, инсулиноподобный фактор роста 1-2, фактор роста кератиноцитов, стимулирующий

15 миграцию фактор, стимулирующий макрофаги белок, нейрегулин 1–4, нейротрофин 3-4, фактор роста нервов, плацентарный фактор роста, тромбоцитарный фактор роста, реналазу, фактор роста Т-клеток, ТФР-α, ТФР-β, ФРЭС, сигнальный путь Wnt, активаторы НКТ, α-галактозилцерамид, α-глюкуронозилцерамид, α-галактуронилцерамид, α-галактозилдиацилглицерин, фосфатидилинозитол-манозидазу,

20 α-глюкозилдиацилглицерин, холестерин-α-глюкозид, β-галактозилцерамид, изоглоботригексозилцерамид, дисиаialogанглиозид, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилинозитол, фосфатидилхолин, экстракт домашней пыли, GSL-1, НКр44L, ULBP, происходящие из патогенов молекулярные структуры, PAMP, ЛПС, происходящую из патогена РНК, происходящую из патогена ДНК, вирусные лиганды,

25 синтетический α-галактозилцерамид, KRN7000, PBS44, PBS57, противовоспалительные ИЛ-10, ИЛ-19, ИЛ-20, ИЛ-22, ИЛ-24, ИЛ-28А, ИЛ-28В, ИЛ-29.

[0183] Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации описанных здесь способов активатор Т-клеток может быть выбран из группы, состоящей из:

30 золедроната, мевастатина или активирующего Т-клетки антитела.

[0184] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения активатор Т-клеток может не представлять собой один или более из указанных выше агентов.

[0185] В настоящем документе термин «активатор НК-клеток» включает любой агент или молекулу, запускающую активацию НК-клеток.

[0186] Некоторые такие активаторы NK-клеток включают, не ограничиваясь перечисленными, адипокины, лептин, адипонектин, апелин, хемерин, MCP-1, PAI-1, RBP4, висфатин, оментин, васпин, програнулин, STRP-4, цитокины, ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ИЛ-1RA, ИЛ-18, ИЛ-33, ИЛ-36 α , ИЛ-36 β , ИЛ-36 γ , ИЛ-36RA, ИЛ-37, ИЛ-38, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-7, ИЛ-9, ИЛ-15, ИЛ-21, ИФН- α , ИФН- β , ИФН- δ , ИФН- ϵ , ИФН- κ , ИФН- τ , ИФН- ω , ИФН- γ , ИФН- λ 1, ИФН- λ 2, ИФН- λ 3, ИФН- λ 4, ИЛ-6, ИЛ-11, ИЛ-31, CLCF1, CNTF, лептин, LIF, OSM, ИЛ-12, ИЛ-17A, ИЛ-17B, ИЛ-17C, ИЛ-17D, ИЛ-17E, ИЛ-17F, 4-1BBL, BAFF, CD40LG, CD70, CD95L/CD178, EDA-A1, LTA/ФНО- β , ФНО- α , ФНО TNFSF4, ФНО TNFSF8, ФНО TNFSF10, ФНО TNFSF11, ФНО TNFSF12, ФНО TNFSF13, ФНО TNFSF15, ТФР- β 1, ТФР- β 2, ТФР- β 3, ИЛ-13, Г-КСФ, ГМ-КСФ, КСФ-1, хемокины, CXCL1-CXCL17, CC, CCL1-CCL28, CX3CL1, XCL1, XCL2, миокины, BDNF, декорин, иризин, миостатин, мионектин, остеоонектин, простагландины, PGI₂, PGD₂, PGE₂, PGF_{2 α} , простамиды, простагландин I₂, простагландин D₂, простагландин E₂, простагландин F_{2 α} , вирокины, факторы роста, адреномедуллин, ангиопоэтин, аутокринный фактор подвижности, костные морфогенетические белки, цилиарный нейротрофический фактор, фактор ингибирования лейкоза, М-КСФ, ЭФР, эфрин А1-А5, эфрин В1-В3, эритропоэтин, ФРФ-1 – ФРФ-23, эмбриональный бычий соматотропин, GDNF, нейротурин, персефин, артемин, фактор роста/дифференцировки 9, фактор роста гепатоцитов, гепатоцитарный фактор роста, инсулин, инсулиноподобный фактор роста 1-2, фактор роста кератиноцитов, стимулирующий миграцию фактор, стимулирующий макрофаги белок, нейрегулин 1–4, нейротрофин 3-4, фактор роста нервов, плацентарный фактор роста, тромбоцитарный фактор роста, реналазу, фактор роста Т-клеток, ТФР- α , ТФР- β , ФРЭС, сигнальный путь Wnt, активаторы NKT, α -галактозилцерамид, α -глюкуронозилцерамид, α -галактуронилцерамид, α -галактозилдиацилглицерин, фосфатидилинозитол-манозидазу, α -глюкозилдиацилглицерин, холестерин- α -глюкозид, β -галактозилцерамид, изоглоботригексозилцерамид, дисиалоганглиозид, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилинозитол, фосфатидилхолин, экстракт домашней пыли, GSL-1, NKp44L, ULBP, происходящие из патогенов молекулярные структуры, PAMP, ЛПС, происходящую из патогена РНК, происходящую из патогена ДНК, вирусные лиганды, синтетический α -галактозилцерамид, KRN7000, PBS44, PBS57, противовоспалительные ИЛ-10, ИЛ-19, ИЛ-20, ИЛ-22, ИЛ-24, ИЛ-28A, ИЛ-28B, ИЛ-29.

[0187] Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации способов по настоящему изобретению активатор НК-клеток может быть выбран из группы, состоящей из: ИЛ-2, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-18, ИЛ-21 или активирующего НК-клетки антитела.

5 [0188] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения активатор НК-клеток может не представлять собой один или более из указанных выше агентов.

[0189] Согласно некоторым вариантам реализации способов по настоящему изобретению активатор НКТ-клеток, активатор Т-клеток и/или активатор НК-клеток может вводиться в пределах 1, 3, 24, 48, 72, 96, 120, 144 или 168 часов после введения дозы модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации активатор НКТ-клеток, активатор Т-клеток и/или активатор НК-клеток может вводиться в пределах 1, 3 или 48 часов или приблизительно через 1, 3 или 48 часов после введения дозы модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента. Согласно некоторым конкретным предпочтительным вариантам реализации активатор НКТ-клеток, активатор Т-клеток и/или активатор НК-клеток может вводиться в пределах 1, 3 или 48 часов или приблизительно через 1, 3 или 48 часов после введения дозы глюкокортикоида.

[0190] Термины «субъект» и «пациент» используются в настоящем документе взаимозаменяемо, и относятся к человеку или животному. Согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов субъект может представлять собой млекопитающее. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации субъект может представлять собой человека любого пола или расы. Согласно некоторым вариантам реализации человек представляет собой взрослого человека.

25 Согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов субъект может представлять собой здорового субъекта, такого как здоровый взрослый субъект-человек. В указанном контексте здоровый субъект представляет собой субъекта, который не поражен заболеванием. Предпочтительно субъект представляет собой человека или млекопитающее с гуманизированной иммунной системой, такое как мышь с иммунной системой человека (HIS). Наиболее предпочтительно субъект является человеком.

30 [0191] Согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов субъект может иметь, предположительно иметь, или у него может быть диагностировано заболевание, выбранное из группы, состоящей из: рака, аутоиммунного заболевания

или инфекционного заболевания (также называемого микробиологическим заболеванием).

- [0192]** В настоящем документе «рак» относится к заболеванию, характеризующемуся неконтролируемым ростом аберрантных клеток. Раковые клетки могут
- 5 распространяться локально или через кровоток и лимфатическую систему в другие части организма. Примеры различных видов рака описаны в настоящем документе и включают, не ограничиваясь перечисленными, рак молочной железы, рак
- предстательной железы, рак яичника, рак шейки матки, рак кожи, рак поджелудочной железы, рак ободочной и прямой кишки, рак почек, рак печени, рак головного мозга,
- 10 лимфому, лейкоз, рак легкого и т.п. Термины «опухоль» и «рак» используются в настоящем документе взаимозаменяемо, например, оба термина охватывают солидные и жидкие, например, диффузные или циркулирующие опухоли. В настоящем документе термин «рак» или «опухоль» включает предзлокачественные, а также злокачественные виды рака и опухолей.
- 15 **[0193]** Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанный рак может представлять собой: злокачественное новообразование губы, злокачественное новообразование миндалевидной железы, злокачественное
- новообразование языка, злокачественное новообразование десны, злокачественное новообразование ротовой полости, злокачественное новообразование околоушной
- 20 железы, злокачественное новообразование слюнной железы, злокачественное новообразование глотки, злокачественное новообразование пищевода, злокачественное новообразование желудка, злокачественное новообразование тонкого кишечника, злокачественное новообразование ободочной кишки, злокачественное
- новообразование ректосигмоидного соединения, злокачественное новообразование
- 25 прямой кишки, злокачественное новообразование ануса, злокачественное новообразование печени, злокачественное новообразование желчного пузыря, злокачественное новообразование желчевыводящих путей, злокачественное
- новообразование поджелудочной железы, злокачественное новообразование кишечного тракта, злокачественное новообразование селезенки, злокачественное
- 30 новообразование носовой полости и среднего уха, злокачественное новообразование придаточных пазух, злокачественное новообразование гортани, злокачественное новообразование трахеи, злокачественное новообразование бронхов и легкого, злокачественное новообразование тимуса, злокачественное новообразование сердца, средостения и плевры, злокачественное новообразование сайтов дыхательной системы

и интраторакальных органов, злокачественное новообразование костей и суставных хрящей конечностей, злокачественное новообразование костей черепа и лица, злокачественное новообразование позвоночного столба, злокачественное новообразование ребер, грудины и ключиц, злокачественное новообразование костей таза, крестца и копчика, злокачественную меланому кожи, злокачественную меланому губы, злокачественную меланому века, в том числе кантуса, злокачественную меланому уха и наружного слухового прохода, злокачественную меланому лица, злокачественную меланому кожи анального канала, злокачественную меланому кожи молочной железы, злокачественную меланому конечностей, в том числе плеча, карциному из клеток Меркеля, базально-клеточную карциному кожи губы, плоскоклеточную карциному кожи губы, другое и неуточненное злокачественное новообразование кожи/ века, в том числе кантуса, злокачественное новообразование кожи/ уха и наружного слухового прохода, другое и неуточненное злокачественное новообразование кожи иных / неуточненных частей лица, базально-клеточную карциному кожи иных и неуточненных частей лица, плоскоклеточную карциному кожи иных и неуточненных частей лица, базально-клеточную карциному кожи волосистой части головы и шеи, плоскоклеточную карциному кожи волосистой части головы и шеи, базально-клеточную карциному кожи туловища, базально-клеточную карциному кожи анального канала, базально-клеточную карциному кожи молочной железы, плоскоклеточную карциному кожи туловища, плоскоклеточную карциному кожи анального канала, плоскоклеточную карциному кожи молочной железы, плоскоклеточную карциному кожи другой части туловища, другое и неуточненное злокачественное новообразование кожи/ конечностей, в том числе плеча, базально-клеточную карциному кожи/ конечностей, в том числе плеча, плоскоклеточную карциному кожи/ конечностей, в том числе плеча, базально-клеточную карциному кожи конечностей, в том числе бедра, плоскоклеточную карциному кожи конечностей, в том числе бедра, мезотелиому, саркому Капоши, злокачественное новообразование периферических нервов и автономной нервной системы, злокачественное новообразование забрюшинного пространства и брюшины, злокачественное новообразование других соединительных и мягких тканей, злокачественное новообразование соединительной ткани и мягких тканей грудной клетки, злокачественное новообразование соединительной ткани и мягких тканей брюшной полости, злокачественное новообразование соединительной ткани и мягких тканей таза, неуточненное злокачественное новообразование соединительной и мягких тканей

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

новообразование головного мозга и оболочек головного мозга, вторичное злокачественное новообразование неуточненных частей нервной системы, вторичное злокачественное новообразование кости и костного мозга, вторичное злокачественное новообразование яичника, вторичное злокачественное новообразование надпочечной железы, лимфому Ходжкина, фолликулярную лимфому, нефолликулярную лимфому, мелкоклеточную В-клеточную лимфому, мантийноклеточную лимфому, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому, лимфобластную (диффузную) лимфому, лимфому Беркитта, другую нефолликулярную лимфому, нефолликулярную (диффузную) неуточненную лимфому, зрелые Т/НК-клеточные лимфомы, болезнь Сезари, неклассифицированную периферическую Т-клеточную лимфому, анапластическую крупноклеточную лимфому, ALK-положительную анапластическую крупноклеточную лимфому, неуточненную ALK-отрицательную кожную Т-клеточную лимфому, другие зрелые Т/НК-клеточные лимфомы, неуточненные зрелые Т/НК-клеточные лимфомы, другие и неуточненные типы неходжкинской лимфомы, злокачественное иммунопролиферативное заболевание и определенные другие В-клеточные лимфомы, множественную миелому и злокачественные плазмацитарные новообразования, лимфоидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз [ОЛЛ], хронический лимфоцитарный лейкоз В-клеточного типа, пролимфоцитарный лейкоз В-клеточного типа, лейкоз ворсистых клеток, Т-клеточную лимфому/лейкоз взрослых (HTLV-1-ассоциированный), пролимфоцитарный лейкоз Т-клеточного типа, зрелый В-клеточный лейкоз по типу Беркитта, другой лимфоидный лейкоз, неуточненный лимфоидный лейкоз, миелоидный лейкоз, острый миелобластный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, BCR/ABL-положительный атипичный хронический миелоидный лейкоз, BCR/ABL-отрицательную миелоидную саркому, острый промиелоцитарный лейкоз, острый миеломоноцитарный лейкоз, острый миелоидный лейкоз с аномалией 11q23, другой миелоидный лейкоз, неуточненный миелоидный лейкоз, моноцитарный лейкоз, хронический миеломоноцитарный лейкоз, ювенильный миеломоноцитарный лейкоз, другой моноцитарный лейкоз, неуточненный моноцитарный лейкоз, другие лейкозы уточненного клеточного типа, острый эритроидный лейкоз, острый мегакариобластный лейкоз, тучноклеточный лейкоз, острый панмиелоз с миелофиброзом, неклассифицированное миелодиспластическое заболевание, другие уточненные лейкозы, лейкоз неуточненного клеточного типа, хронический лейкоз неуточненного клеточного типа, неуточненный лейкоз, другое и неуточненное злокачественное новообразование лимфоидной, гематопозитической ткани, карциному

доброкачественное новообразование больших слюнных желез, доброкачественное новообразование ободочной кишки, прямой кишки, ануса и анального канала, доброкачественное новообразование нечетко определенных частей пищеварительной системы, доброкачественное новообразование пищевода, доброкачественное

5 новообразование желудка, доброкачественное новообразование двенадцатиперстной кишки, доброкачественное новообразование других и неуточненных частей тонкого кишечника, доброкачественное новообразование печени, доброкачественное новообразование экстрагепатических желчных путей, доброкачественное новообразование поджелудочной железы, доброкачественное новообразование

10 эндокринной поджелудочной железы, доброкачественное новообразование нечетко определенных сайтов в пищеварительной системе, доброкачественное новообразование среднего уха и дыхательной системы, доброкачественное новообразование дыхательной системы, неуточненное, доброкачественное новообразование других и неуточненных интраторакальных органов,

15 доброкачественное новообразование вилочковой железы, доброкачественное новообразование сердца, доброкачественное новообразование средостения, доброкачественное новообразование других уточненных интраторакальных органов, доброкачественное новообразование интраторакального органа, неуточненное, доброкачественное новообразование кости и суставного хряща, доброкачественное

20 новообразование коротких костей верхней конечности, доброкачественное новообразование длинных костей нижней конечности, доброкачественное новообразование коротких костей нижней конечности, доброкачественное новообразование костей черепа и лица, доброкачественное новообразование кости нижней челюсти, доброкачественное новообразование позвоночного столба,

25 доброкачественное новообразование ребер, грудины и ключиц, доброкачественное новообразование костей таза, крестца и копчика, доброкачественное новообразование кости и суставного хряща, неуточненное, доброкачественное липоматозное новообразование, доброкачественное липоматозное кожное/ подкожное новообразование головы, лица и шеи, доброкачественное липоматозное

30 новообразование интраторакальных органов, доброкачественное липоматозное новообразование внутрибрюшинных органов, доброкачественное липоматозное новообразование семенного канатика, доброкачественное липоматозное новообразование других сайтов, доброкачественное липоматозное новообразование почки, доброкачественное липоматозное новообразование другого органа мочеполовой

системы, гемангиому и лимфангиому любого сайта, гемангиому, гемангиому неуточненного сайта, гемангиому кожи и подкожной ткани, гемангиому интракраниальных структур, гемангиому внутрибрюшинных структур, гемангиому других сайтов, лимфангиому любого сайта, доброкачественное новообразование мезотелиальной ткани, доброкачественное новообразование мягкой ткани 5 забрюшинного пространства и брюшины, другие доброкачественные новообразования соединительной и других мягких тканей, меланоцитарные невусы, меланоцитарные невусы губы, меланоцитарные невусы века, в том числе кантуса, неуточненные меланоцитарные невусы века, в том числе кантуса, меланоцитарные невусы уха и 10 наружного слухового прохода, меланоцитарные невусы других и неуточненных частей лица, меланоцитарные невусы волосистой части головы и шеи, меланоцитарные невусы туловища, меланоцитарные невусы верхней конечности, в том числе плеча, меланоцитарные невусы нижней конечности, в том числе бедра, меланоцитарные невусы, неуточненные, другое доброкачественное новообразование кожи века, в том 15 числе кантуса, другое доброкачественное новообразование кожи/ уха и наружного слухового прохода, другое доброкачественное новообразование кожи/ левого уха и наружного слухового прохода, другое доброкачественное новообразование кожи других и неуточненных частей лица, другое доброкачественное новообразование кожи других частей лица, другое доброкачественное новообразование кожи волосистой 20 части головы и шеи, другое доброкачественное новообразование кожи туловища, другое доброкачественное новообразование кожи/ верхней конечности, в том числе плеча, другое доброкачественное новообразование кожи нижней конечности, в том числе бедра, другое доброкачественное новообразование кожи, неуточненное, доброкачественное новообразование молочной железы, неуточненное 25 доброкачественное новообразование молочной железы, лейомиому матки, другие доброкачественные новообразования матки, доброкачественное новообразование яичника, доброкачественное новообразование других и неуточненных органов женской половой системы, доброкачественное новообразование органов мужской половой системы, доброкачественное новообразование органов мочевого пузыря, доброкачественное новообразование почек, доброкачественное новообразование почечной лоханки, доброкачественное новообразование уретры, доброкачественное новообразование мочевого пузыря, доброкачественное новообразование уретры, доброкачественное новообразование других уточненных органов мочевого пузыря, доброкачественное новообразование органа мочевого пузыря, неуточненное, 30 доброкачественное новообразование органа мочевого пузыря, неуточненное,

доброкачественное новообразование глаза и придатков глаза, доброкачественное новообразование конъюнктивы, доброкачественное новообразование роговицы, доброкачественное новообразование сетчатки, доброкачественное новообразование сосудистой оболочки глаза, доброкачественное новообразование цилиарного тела,

5 доброкачественное новообразование слезной железы и протока, доброкачественное новообразование неутонченного сайта глазницы, доброкачественное новообразование неутонченной части глаза, доброкачественное новообразование мозговых оболочек, доброкачественное новообразование головного мозга и центральной нервной системы, доброкачественное новообразование щитовидной железы, доброкачественное

10 новообразование других и неутонченных эндокринных желез, доброкачественное новообразование других и неутонченных сайтов, доброкачественное новообразование лимфатических узлов, доброкачественное новообразование периферических нервов и автономной нервной системы, доброкачественное новообразование других уточненных сайтов, доброкачественные нейроэндокринные опухоли, другие доброкачественные

15 нейроэндокринные опухоли, новообразование ротовой полости и органов пищеварения неопределенного характера, новообразование большой слюнной железы неопределенного характера, новообразование глотки неопределенного характера, новообразование участков ротовой полости неопределенного характера, новообразование желудка неопределенного характера, новообразование тонкого

20 кишечника неопределенного характера, новообразование аппендикса неопределенного характера, новообразование ободочной кишки неопределенного характера, новообразование прямой кишки неопределенного характера, новообразование печени, желчного пузыря и желчевыводящих путей неопределенного характера, новообразование других органов пищеварения неопределенного характера ,

25 новообразование неопределенного характера органа пищеварения, новообразование среднего уха и интраорбитальных органов, новообразование неопределенного характера гортани, новообразование неопределенного характера трахеи, бронхов и легкого, новообразование неопределенного характера плевры, новообразование неопределенного характера средостения, новообразование неопределенного характера

30 вилочковой железы, новообразование неопределенного характера других органов дыхания, неутонченное новообразование неопределенного характера органа дыхания, новообразование неопределенного характера органов женской половой системы, новообразование матки неопределенного характера, новообразование яичника неопределенного характера, неутонченное новообразование яичника неопределенного

характера, новообразование плаценты неопределенного характера, новообразование органов мужской половой системы неопределенного характера, новообразование органов мочевого выделения неопределенного характера, новообразование почки неопределенного характера, неуточненное новообразование почки неопределенного характера, новообразование неопределенного характера почечной лоханки, новообразование уретры неопределенного характера, новообразование неопределенного характера мочевого пузыря, новообразование неопределенного характера других органов мочевого выделения, новообразование неопределенного характера органа мочевого выделения, неуточненное, новообразование неопределенного характера мозговых оболочек, новообразование неопределенного характера оболочек головного мозга, новообразование неопределенного характера оболочек спинного мозга, новообразование неопределенного характера мозговых оболочек, неуточненное, новообразование неопределенного характера головного мозга, новообразование неопределенного характера головного мозга, инфратенториальное новообразование неопределенного характера головного мозга, новообразование неопределенного характера головного мозга, неуточненное, новообразование неопределенного характера черепных нервов, новообразование неопределенного характера спинного мозга, новообразование неопределенного характера центральной нервной системы, новообразование неопределенного характера эндокринных желез, новообразование неопределенного характера щитовидной железы, новообразование неопределенного характера надпочечной железы, новообразование неопределенного характера надпочечной железы, неуточненное, новообразование неопределенного характера паращитовидной железы, новообразование неопределенного характера питуитарной железы, новообразование неопределенного характера краниофарингеального протока, новообразование неопределенного характера шишковидной железы, новообразование неопределенного характера каротидного тельца, новообразование неопределенного характера аортального тельца и других параганглиев, новообразование неопределенного характера неуточненной эндокринной железы, истинную полицитемию, миелодиспластические синдромы, рефрактерную анемию без кольцевых сидеробластов, как таковую, рефрактерную анемию с кольцевыми сидеробластами, рефрактерную анемию с избытком бластов [РАИБ], миелодиспластический синдром, неуточненный, другое новообразование неопределенного характера лимфоидной, гематопозитической ткани, гистиоцитарные и тучноклеточные опухоли неопределенного характера, хроническое миелопролиферативное заболевание,

моноклональную гаммопатию, эссенциальную (геморрагическую) тромбоцитемию, остеомиелофиброз, другое новообразование неопределенного характера лимфоидной, гематопозитической ткани, новообразование неопределенного характера лимфоидное, гематопозитическое и неуточненное, новообразование неопределенного характера
5 других и неуточненных сайтов, новообразование неопределенного характера кости/суставного хряща, новообразование неопределенного характера соединительной/мягкой ткани, новообразование неопределенного характера периферических нервов и автономной нервной системы, новообразование неопределенного характера забрюшинного пространства, новообразование
10 неопределенного характера брюшины, новообразование неопределенного характера кожи, новообразование неопределенного характера молочной железы, новообразование неопределенного характера пищеварительной системы, новообразование неопределенного характера дыхательной системы, новообразование неопределенного характера костей, мягких тканей и кожи, новообразование
15 неопределенного характера молочной железы, новообразование неопределенного характера мочевого пузыря, новообразование неопределенного характера других органов мочеполовой системы, новообразование неопределенного характера почки, новообразование неопределенного характера другого органа мочеполовой системы, новообразование неопределенного характера головного мозга, новообразование
20 неопределенного характера эндокринных желез и других частей нервной системы, новообразование неопределенного характера сетчатки и сосудистой оболочки глаза, или новообразование неопределенного характера неуточненного сайта.

[0194] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанный рак может не представлять собой один из перечисленных выше видов рака.

25 **[0195]** Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения указанный рак может быть выбран из группы, состоящей из: лимфомы, плоскоклеточного рака (такого как плоскоклеточный рак эпителия); рака легкого, в том числе мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, аденокарциномы легкого и плоскоклеточной карциномы легкого; рака брюшины;
30 гепатоцеллюлярного рака; гастриального рака или рака желудка, в том числе рака желудочно-кишечного тракта; рака поджелудочной железы; глиобластомы; рака шейки матки; рака яичников; рака печени; рака мочевого пузыря; гепатомы; рака молочной железы; рака толстой кишки; рака прямой кишки; рака ободочной и прямой кишки; карциномы эндометрия или матки; карциномы слюнной железы; рака почки или

рениального рака; рака предстательной железы; рака вульвы; рака щитовидной железы; карциномы печени; анальной карциномы; карциномы полового члена; и рака головы и шеи. Согласно некоторым конкретным предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения указанный рак может представлять собой лимфому. Согласно более конкретным предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения указанный рак может представлять собой В-клеточную лимфому или Т-клеточную лимфому. Согласно некоторым конкретным предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения указанный рак может представлять собой неходжкинскую лимфому. Согласно некоторым конкретным предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения указанный рак может представлять собой лимфому Беркитта, Т-клеточный острый лимфобластный лейкоз (Т-ОЛЛ), В-клеточный острый лимфобластный лейкоз (В-ОЛЛ) или диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (ДВКЛ). Согласно другим предпочтительным вариантам реализации указанный рак может представлять собой посттрансплантационное лимфопролиферативное расстройство. Согласно некоторым другим конкретным предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения указанный рак может представлять собой солидную раковую опухоль.

[0196] Согласно вариантам реализации, в которых способы по настоящему изобретению реализуют у субъекта, который имеет, предположительно имеет, или у которого был диагностирован рак, НКТ-подобные клетки, полученные указанными способами, могут лечить рак. В указанном контексте «лечить» означает «вызывать благоприятный терапевтический эффект» у субъекта, который может представлять собой любое общее клиническое преимущество, обеспечиваемое способами по настоящему изобретению. Указанное общее клиническое преимущество может представлять собой, например, что-либо из следующего: продленная выживаемость, частичная или полная ремиссия заболевания, (например, исходя из оценки % миелобластов костного мозга и/или нормального созревания линий клеток), замедление или отсутствие прогрессирования заболевания (например, исходя из оценки изменений % миелобластов костного мозга), уменьшение размеров опухоли (например, уменьшение объема опухоли на 5, 10, 20, 30, 40% или более), снижение опухолевой нагрузки (например, снижение опухолевой нагрузки на 5, 10, 20, 30, 40% или более), замедление или отсутствие увеличения размеров опухоли, замедление или отсутствие увеличения опухолевой нагрузки, лучшее качество жизни (например, исходя из результатов заполнения опросника для оценки связанного с состоянием

здоровья качества жизни, такого как опросник для функциональной оценки терапии рака (FACT)), выживаемость без прогрессирования, общая выживаемость, гематологическое улучшение (например: повышение уровня гемоглобина в крови, количества тромбоцитов и/или количества нейтрофилов), ответа со стороны костного мозга (например: костный мозг с $\leq 5\%$ миелобластов; снижение уровня миелобластов костного мозга на 30%, 40%, 50% или более; отсутствие циркулирующих миелобластов и миелобластов с палочками Ауэра; отсутствие экстрамедуллярного заболевания), гематологическое восстановление (например: ≥ 11 г/дл гемоглобина, $\geq 100 \times 10^9$ /л тромбоцитов и/или $\geq 1 \times 10^9$ /л нейтрофилов в периферической крови), отрицательный ответ в анализе на генетический маркер (например, SEBRA, NPM1 или FLT3), или любой другой положительный исход у пациента.

[0197] Общее клиническое преимущество может представлять собой «противоопухолевый эффект». В настоящем документе «противоопухолевый эффект» относится к биологическому эффекту, который может быть представлен уменьшением объема опухоли, снижением количества опухолевых клеток, снижением пролиферации опухолевых клеток, снижением количества метастазов, увеличением общей выживаемости или выживаемости без прогрессирования, увеличением ожидаемой продолжительности жизни или облегчением различных физиологических симптомов, ассоциированных с опухолью. Противоопухолевый эффект может также относиться к предотвращению возникновения опухоли, например, к вакцине. Подходящие способы определения объема опухоли / опухолевой нагрузки хорошо известны специалисту в данной области техники, например, с применением: технологий компьютерной томографии (КТ) или магнитно-резонансной визуализации (МРТ); рентгеновской визуализации, например, маммографии; ультразвуковой визуализации; ядерной визуализации, например, позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), ПЭТ/КТ-сканирования, остеосцинтиграфии, сканирования с галлием, или сканирования с метайодобензилгуанидином (МИБГ); биолюминесцентной визуализации (BLI); флуоресцентной визуализации (FLI); визуализации BD ToF (с помощью трехмерной времяпролетной инфракрасной камеры).

[0198] Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению могут лечить рак путем инфильтрации опухоли. Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению могут лечить рак путем высвобождения иммуноактивирующих цитокинов. Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по

настоящему изобретению могут захватывать и убивать раковые клетки у субъекта. Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению способствуют инфильтрации опухоли другими иммунными клетками. Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению непосредственно убивают раковые клетки путем CD1d-направленного апоптоза.

5 [0199] Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению непосредственно убивают раковые клетки путем индукции апоптоза, например, путем экспрессии лигандов, которые активируют рецепторы смерти на целевых клетках. Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению могут поглощать или захватывать раковые клетки у субъекта. Согласно некоторым вариантам реализации указанные НКТ-подобные клетки могут секретировать цитотоксические молекулы, которые убивают раковые клетки. Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки могут лечить рак путем биспецифической атаки за счет как TCR гамма/дельта, так и инвариантного TCR (iTCR).

10 [0200] «Аутоиммунное заболевание» в настоящем документе относится к аутоиммунным расстройствам и другим заболеваниям, возникающим из-за аномального иммунного состояния, когда иммунная система ошибочно атакует собственные компоненты организма субъекта. (У здоровых субъектов иммунная система избегает повреждающих аутоиммунных реакций за счет развития толерантности к собственным компонентам организма субъекта). Примеры различных аутоиммунных заболеваний описаны в настоящем документе и включают, не ограничиваясь перечисленными, целиакию, сахарный диабет 1 типа, болезнь Грейвса, воспалительное заболевание кишечника, транзиторный остеопороз, рассеянный склероз, псориаз, ревматоидный артрит и системную красную волчанку.

20 [0201] Аутореактивные иммунные клетки экспрессируют высокие уровни фосфоантигенов, которые представляют собой дифосфат-содержащие метаболиты; также их экспрессируют клетки в состоянии стресса и микроорганизмы, такие как микобактерии, *E.coli* и *Plasmodium*, в частности, фосфоантиген (E)-4-гидрокси-3-метил-бут-2-енилпирофосфат (НМВ-PP). У человека НМВ-PP не продуцируется. Но он продуцируется у большинства грамотрицательных бактерий, включая *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Clostridium difficile*, *Listeria monocytogenes*, малярийных паразитов, *Toxoplasma gondii* и *Schistosoma japonicum*.

Гамма-дельта-Т-клетки/рецепторы очень чувствительны к НМВ-РР, золедронату и изопентилпирофосфату (IPP), пептидогликану миколиларабиногалактану (mAGP) и изобутиламину (IBA). Представители семейства бутирофилинов, такие как BTN2A1, BTN3A1, BTN3L3, BTN3L8, BTN3L1, BTN3L6, Skint1, Skint2, играют важную роль в распознавании фосфоантигенов гамма-дельта-Т-клетками. Стимуляция мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК) аминокислотами может также активировать гамма-дельта-Т-клеточные рецепторы. ИЛ-18 может усиливать ответ гамма-дельта-Т-клеточного рецептора на фосфоантигены.

[0202] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения аутоиммунное заболевание может представлять собой: аллергию, астму, болезнь «трансплантат против хозяина» (БТПХ), стероид-резистентную БТПХ, ахалазию, болезнь Аддисона, болезнь Стилла у взрослых, агаммаглобулинемию, очаговую алопецию, алопецию, транзиторный остеопороз, амилоидоз, анкилозирующий спондилит, анти-ГБМ/анти-БМК-нефрит, антифосфолипидный синдром, аутоиммунный ангионевротический отек, аутоиммунную вегетативную дистонию, аутоиммунный энцефаломиелит, аутоиммунный гепатит, аутоиммунное заболевание внутреннего уха (AIED), аутоиммунный миокардит, аутоиммунный оофорит, аутоиммунный орхит, аутоиммунный панкреатит, аутоиммунную ретинопатию, аутоиммунную крапивницу, аксональную и нейрональную нейропатию (AMAN), болезнь Бало, болезнь Бехчета, доброкачественный пемфигоид слизистой оболочки, буллезный пемфигоид, болезнь Кастлемена (CD), целиакию, болезнь Чагаса, хроническую воспалительную демиелинизирующую полинейропатию (CIPD), хронический рецидивирующий мультифокальный остеомиелит (CRMO), болезнь Черджа-Стросс (CSS) или эозинофильный гранулематоз (EGPA), рубцовый пемфигоид, синдром Когана, болезнь холодových агглютининов, врожденную блокаду сердца, миокардит Коксаки, CREST-синдром, болезнь Крона, герпетиформный дерматит, дерматомиозит, болезнь Девика (оптикомиелит), дискоидную волчанку, синдром Дресслера, эндометриоз, эозинофильный эзофагит (ЕоЕ), эозинофильный фасциит, узелковую эритему, эссенциальную смешанную криоглобулинемию, синдром Эванса, фибромиалгию, фиброзирующий альвеолит, гигантоклеточный артериит (темпоральный артериит), гигантоклеточный миокардит, гломерулонефрит, синдром Гудпасчера, гранулематоз с полиангиитом, болезнь Грейвса, синдром Гийена-Барре, тиреоидит Хашимото, гемолитическую анемию, пурпуру Шенлейна-Геноха (HSP), герпес беременных или пемфигоид беременных (PG), гнойный гидраденит (HS)

(инверсное акне), гипогаммаглобулинемию, IgA-нефропатию, IgG4-связанное склерозирующее заболевание, иммунную тромбоцитопеническую пурпуру (ITP), миозит с тельцами включений (IBM), интерстициальный цистит (IC), ювенильный артрит, ювенильный диабет (диабет типа 1), ювенильный миозит (JM), болезнь

5 Кавасаки, синдром Ламберта-Итона, лейкоцитокластический васкулит, плоский лишай, склеротический лишай, деревянистый конъюнктивит, линейный IgA-дерматоз (LAD), волчанку, хроническую болезнь Лайма, болезнь Менъера, микроскопический полиангиит (MPA), смешанное заболевание соединительной ткани (MCTD), язву Мурена, болезнь Мухи-Габерманна, мультифокальную двигательную нейропатию

10 (MMN) или MMNCB, рассеянный склероз, тяжелую миастению, миозит, нарколепсию, неонатальную волчанку, нейромиелит зрительного нерва, нейтропению, рубцовый пемфигоид глаз, оптический неврит, палиндромный ревматизм (PR), PANDAS, паранеопластическую мозжечковую дегенерацию (PCD), ночную пароксизмальную гемоглобинурию (PNH), синдром Парри-Ромберга, воспаление pars plana (парспланит,

15 периферический увеит), синдром Персонейджа-Тернера, пузырчатку, периферическую нейропатию, перивенозный энцефаломиелит, пернициозную анемию (PA), POEMS-синдром, узелковый полиартериит, полигландулярные синдромы типа I, II, III, ревматическую полимиалгию, полимиозит, постинфарктный синдром, посткардиотомный синдром, первичный билиарный цирроз, первичный

20 склерозирующий холангит, прогестероновый дерматит, псориаз, псориатический артрит, истинную эритроцитарную аплазию (PRCA), гангренозную пиодермию, феномен Рейно, реактивный артрит, симпатическую рефлекторную дистрофию, рецидивирующий полихондрит, синдром беспокойных ног (RLS), забрюшинный фиброз, ревматическую лихорадку, ревматоидный артрит, саркоидоз, синдром

25 Шмидта, склерит, склеродермию, синдром Шегрена, аутоиммунитет к сперме и тестикулярный аутоиммунитет, синдром скованного человека (SPS), подострый бактериальный эндокардит (SBE), синдром Сусака, симпатическую офтальмию (SO), артериит Такаясу, темпоральный артериит/гигантоклеточный артериит, тромбоцитопеническую пурпуру (ТПП), синдром Толоса-Ханта (THS), поперечный

30 миелит, диабет 1 типа, язвенный колит (UC), недифференцированное заболевание соединительной ткани (UCTD), увеит, васкулит, витилиго, болезнь Фогта-Коянаги-Харада, гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз, множественную миелому, аллерген-специфическую иммунотерапию, аутосомно-доминантную гаплонедостаточность, синдром переднего межкостного нерва предплечья, синдром Черджа-Стросс,

системный васкулит, хроническую болезнь «трансплантат против хозяина», синдром опсклонус-миоклонус, некротизирующую аутоиммунную миопатию (NAM), саркоматоидные карциномы легкого, макроглобулинемию Вальденстрема (WM), нарушения фертильности, болезнь Бехчета, очаговую алопецию (AA), обострение

5 хронической печеночной недостаточности, меланому, синдром бронхиолита с организующейся пневмонией, или энцефалит. Согласно некоторым вариантам реализации указанное аутоиммунное заболевание может представлять собой:

ревматоидный артрит, ревматическую лихорадку, рассеянный склероз, экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит, псориаз, увеит, сахарный диабет,

10 системную красную волчанку (СКВ), волчаночный нефрит, экзему, склеродермию, полимиозит/склеродермию, полимиозит/дерматомиозит, язвенный проктит, тяжелый комбинированный иммунодефицит (ТКИД), синдром Ди Джорджи, атаксию-телеангиэктазию, сезонную аллергию, круглогодичную аллергию, пищевую аллергию, анафилаксию, мастоцитоз, аллергический ринит, атопический дерматит, болезнь

15 Паркинсона, болезнь Альцгеймера, гиперспленизм, недостаточность адгезии лейкоцитов, X-сцепленное лимфопролиферативное заболевание, X-сцепленную агаммаглобулинемию, селективный дефицит иммуноглобулина А, синдром гипер-IgM, ВИЧ, аутоиммунный лимфопролиферативный синдром, синдром Вискотта-Олдрича, хроническую гранулематозную болезнь, обычный переменный иммунодефицит

20 (ОВИД), синдром гипер-иммуноглобулина Е, тиреоидит Хашимото, острую идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру, хроническую идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру, дерматомиозит, хорею Сиденгама, тяжелую миастению, полигландулярные синдромы, буллезный пемфигоид, пурпуру Шенлейна-Геноха, постстрептококковый нефрит, узелковую эритему, мультиформную эритему,

25 IgA-нефропатию, артериит Такаясу, болезнь Аддисона, саркоидоз, язвенный колит, узелковый полиартериит, анкилозирующий спондилит, синдром Гудпасчера, облитерирующий тромбангиит, синдром Шегрена, первичный билиарный цирроз, тиреоидит Хашимото, тиреотоксикоз, хронический активный гепатит, полихондрит, обыкновенную пузырчатку, гранулематоз Вегенера, мембранозную нефропатию,

30 амиотрофический боковой склероз, сухотку спинного мозга, гигантоклеточный артериит/полимиалгию, пернициозную анемию, быстро прогрессирующий гломерулонефрит, псориаз, фиброзирующий альвеолит или рак.

[0203] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанное аутоиммунное заболевание может не представлять собой одно из перечисленных выше аутоиммунных заболеваний.

5 [0204] Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения указанное аутоиммунное заболевание может быть выбрано из группы, состоящей из: рассеянного склероза, системного склероза, амиотрофического бокового склероза, сахарного диабета 1 типа (T1D), склеродермии, пузырчатки и волчанки. Согласно некоторым другим предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения указанное аутоиммунное заболевание может быть выбрано из группы,
10 состоящей из: болезни «трансплантат против хозяина» (БТПХ) и аллергического расстройства, такого как астма. Согласно некоторым конкретным предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения указанное аутоиммунное заболевание может представлять собой сахарный диабет 1 типа (T1D).

[0205] Согласно вариантам реализации, в которых способы по настоящему
15 изобретению применяют у субъекта, который имеет, предположительно имеет, или у которого было диагностировано аутоиммунное заболевание, НКТ-подобные клетки, полученные согласно указанным способам, могут лечить указанное аутоиммунное заболевание. В указанном контексте «лечить» означает «вызывать благоприятный терапевтический эффект» у субъекта, который может представлять собой любое общее
20 клиническое преимущество, обеспечиваемое способами по настоящему изобретению. Указанное общее клиническое преимущество может представлять собой, например, что-либо из следующего: снижение утомляемости, уменьшение боли в мышцах, уменьшение отеков и покраснения, снижение субфебрильной лихорадки, уменьшение проблем с концентрацией внимания, снижение онемения и покалывания в кистях и
25 стопах, и в руках или ногах, уменьшение мочевыделения, уменьшение выпадения волос, уменьшение кожной сыпи, восстановление нормогликемии, повышенный уровень С-пептида, улучшение заживления ран, снижение диареи, уменьшение мышечных спазмов, улучшение мышечного тонуса и контроля, уменьшение кожной сыпи или чешуйчатых бляшек на коже, или обесцвечивания, улучшение поддержания
30 массы тела, уменьшение болей в мышцах или суставах, улучшение состояния пищеварительного тракта, нормальная частота сердечных сокращений, снижение тревожности, снижение баллов по расширенной шкале оценки статуса инвалидизации (EDSS), уменьшение индивидуальных активных очагов поражения в головном мозге, измеренное с помощью МРТ с усилением гадолинием.

[0206] Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению могут лечить аутоиммунное заболевание путем прямого киллинга аутореактивных Т- и/или В-лимфоцитов, повышая отношение Treg:T-лимфоциты, ингибируя активность аутореактивных Т- и/или В-лимфоцитов, уменьшая воспаление или снижая миграцию аутореактивных лимфоцитов.

[0207] «Инфекционное заболевание» (или «микробиологическое заболевание») в настоящем документе относится к заболеванию или болезни, возникающей в результате инфекции организма субъекта инфекционными агентами (патогенами), такими как вирусы, бактерии или грибы. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанное инфекционное заболевание может представлять собой: инфекцию бактериями *Acinetobacter* (*Acinetobacter baumannii*), актиномикоз (*Actinomyces israelii*, *Actinomyces gerencseriae* и *Propionibacterium propionicus*), африканскую сонную болезнь или африканский трипаносомоз (*Trypanosoma brucei*), СПИД (синдром приобретенного иммунодефицита) (вирус иммунодефицита человека), амебиаз (*Entamoeba histolytica*), анаплазмоз (виды *Anaplasma*), ангиостронгилез (*Angiostrongylus*), анисакиаз (*Anisakis*), сибирскую язву (*Bacillus anthracis*), инфекцию бактерией *Arcanobacterium haemolyticum* (*Arcanobacterium haemolyticum*), Аргентинскую геморрагическую лихорадку (вирус Хунин), аскаридоз (*Ascaris lumbricoides*), аспергиллез (виды *Aspergillus*), астровирусную инфекцию (семейство *Astroviridae*), бабезиоз (виды *Babesia*), инфекцию *Bacillus cereus* (*Bacillus cereus*), бактериальную пневмонию (различные бактерии), бактериальный вагиноз (перечень бактерий микробиоты, вызывающей бактериальный вагиноз), инфекцию *Bacteroides* (виды *Bacteroides*), балантидиоз (*Balantidium coli*), бартонеллез (*Bartonella*), инфекцию *Baylisascaris* (виды *Baylisascaris*), ВК-вирусную инфекцию (ВК-вирус), черную пьедру (*Piedraia hortae*), бластоцистоз (виды *Blastocystis*), бластомикоз (*Blastomyces dermatitidis*), боливийскую геморрагическую лихорадку (вирус Мачупо), ботулизм (и детский ботулизм) (*Clostridium botulinum*; Примечание: ботулизм не является инфекцией *Clostridium botulinum*, а вызван потреблением ботулотоксина), бразильскую геморрагическую лихорадку (вирус Сабиа), бруцеллез (виды *Brucella*), бубонную чуму (семейство бактерий *Enterobacteriaceae*), инфекцию *Burkholderia*, обычно *Burkholderia ceracia* и другими видами *Burkholderia*, язву Бурули (*Mycobacterium ulcerans*), калицивирусную инфекцию (*Norovirus* и *Sapovirus*) (семейство *Caliciviridae*), кампилобактериоз (виды *Campylobacter*), кандидоз (молиниаз; молочница) (обычно

Candida albicans и другие виды *Candida*), капилляриоз (кишечное заболевание, вызываемое *Capillaria philippinensis*, заболевание печени, вызванное *Capillaria hepatica*, и заболевание легких, вызванное *Capillaria aerophila*), болезнь Карриона (*Bartonella bacilliformis*), болезнь кошачьих царапин (*Bartonella henselae*), целлюлит (обычно *Streptococcus* группы А и *Staphylococcus*), болезнь Шагаса (американский трипаносомоз) (*Trypanosoma cruzi*), шанкроид (*Haemophilus ducreyi*), ветрянку (вирус ветряной оспы (VZV)), лихорадку Чикунгунья (*Alphavirus*), инфекцию *Chlamydia* (*Chlamydia trachomatis*), инфекцию *Chlamydomphila pneumoniae* («Тайваньский острый респираторный агент», или TWAR) (*Chlamydomphila pneumoniae*), холеру (*Vibrio cholerae*), хромобластомикоз (обычно *Fonsecaea pedrosoi*), хитридиомикоз (*Batrachochytrium dendrobatidis*), клонорхоз (*Clonorchis sinensis*), индуцированный *Clostridium difficile* колит (*Clostridium difficile*), кокцидиоидомикоз (*Coccidioides immitis* и *Coccidioides posadasii*), колорадскую клещевую лихорадку (CTF) (вирус колорадской клещевой лихорадки (CTFV)), простуду (острый вирусный ринофарингит; острый насморк) (обычно риновирусы и коронавирусы), *Coronavirus*, болезнь Крейтцфельда-Якоба (CJD) (PRNP), Конго-крымскую геморрагическую лихорадку (ККГЛ) (вирус Конго-крымской геморрагической лихорадки), криптококкоз (*Cryptococcus neoformans*), криптоспоридиоз (виды *Cryptosporidium*), кожную форму синдрома *larva migrans* (CLM) (обычно *Ancylostoma braziliense*; ряд других паразитов), циклоспороз (*Cyclospora cayentanensis*), цистицеркоз (*Taenia solium*), цитомегаловирусную инфекцию (*Cytomegalovirus*), лихорадку Денге (вирусы Денге (DEN-1, DEN-2, DEN-3 и DEN-4) – флавивирусы), инфекцию *Desmodesmus* (зеленая водоросль *Desmodesmus armatus*), диентамебиаз (*Dientamoeba fragilis*), дифтерию (*Corynebacterium diphtheriae*), дифиллоботриоз (*Diphyllobothrium*), дракункулез (*Dracunculus medinensis*), геморрагическую лихорадку Эбола (*Ebolavirus* (EBOV)), эхинококкоз (виды *Echinococcus*), эрлихиоз (виды *Ehrlichia*), энтеробиоз (инфекция острицами) (*Enterobius vermicularis*), инфекцию энтерококками (виды *Enterococcus*), энтеровирусную инфекцию (виды *Enterovirus*), эпидемический тиф (*Rickettsia prowazekii*), инфекционную эритему (пятую болезнь) (парвовирус B19), внезапную экзантему (шестую болезнь) (герпесвирус человека 6 (HHV-6) и герпесвирус человека 7 (HHV-7)), фасциолез (*Fasciola hepatica* и *Fasciola gigantica*), фасциопсиоз (*Fasciolopsis buski*), фатальную семейную бессонницу (FFI) (PRNP), филяриоз (надсемейство *Filarioidea*), пищевое отравление, вызванное *Clostridium perfringens* (*Clostridium perfringens*), инфекцию свободноживущими амебами (несколько видов), инфекцию

Fusobacterium (виды *Fusobacterium*), газовую гангрену (кlostридиальный мионекроз) (обычно *Clostridium perfringens*; другие виды *Clostridium*), геотрихоз (*Geotrichum candidum*), синдром Герстманна-Штройсслера-Шейнкера (GSS) (PRNP), лямблиоз (*Giardia lamblia*), сап (*Burkholderia mallei*), гнатостомоз (*Gnathostoma spinigerum* и *Gnathostoma hispidum*), гонорейю (*Neisseria gonorrhoeae*), паховую гранулему (донованоз) (*Klebsiella granulomatis*), инфекцию стрептококками группы А (*Streptococcus pyogenes*), инфекцию стрептококками группы В (*Streptococcus agalactiae*), инфекцию *Haemophilus influenzae* (*Haemophilus influenzae*), энтеровирусный везикулярный стоматит (HFMD) (энтеровирусы, в основном вирус Коксаки А и энтеровирус 71 (EV71)), хантавирусный легочный синдром (HPS) (вирус Син Номбре), вирусную болезнь Хартленда (вирус Хартленда), инфекцию *Helicobacter pylori* (*Helicobacter pylori*), гемолитико-уремический синдром (HUS), *Escherichia coli* O157:H7, O111 и O104:H4, геморрагическую лихорадку с почечным синдромом (HFRS) (семейство *Bunyaviridae*), гепатит А (вирус гепатита А), гепатит В (вирус гепатита В), гепатит С (вирус гепатита С), гепатит D (вирус гепатита D), гепатит E (вирус гепатита E), простой герпес (вирус простого герпеса 1 и 2 (HSV-1 и HSV-2)), гистоплазмоз (*Histoplasma capsulatum*), анкилостомоз (*Ancylostoma duodenale* и *Necator americanus*), бокавирусную инфекцию человека (бокавирус человека (HBoV)), эрлихиоз человека, вызываемый *Ehrlichia ewingii* (*Ehrlichia ewingii*), гранулоцитарный анаплазмоз человека (HGA) (*Anaplasma phagocytophilum*), метапневмовирусную инфекцию человека, метапневмовирус человека (hMPV), моноцитарный эрлихиоз человека (*Ehrlichia chaffeensis*), инфекцию папилломавирусом человека (HPV) (папилломавирус человека (HPV)), инфекцию вирусом парагриппа человека (вирусы парагриппа человека (HPIV)), гименолепидоз (*Hymenolepis nana* и *Hymenolepis diminuta*), инфекцию вирусом инфекционного мононуклеоза Эпштейна-Барр (вирус Эпштейна-Барр (EBV, ЭБВ)), грипп (семейство *Orthomyxoviridae*), изоспороз (*Isospora belli*), болезнь Кавасаки (возбудитель неизвестен; данные указывают на инфекционность), кератит (несколько типов), инфекцию *Kingella kingae* (*Kingella kingae*), болезнь куру (PRNP), лихорадку Ласса (вирус Ласса), легионеллез (болезнь легионеров) (*Legionella pneumophila*), легионеллез (понтиакскую лихорадку) (*Legionella pneumophila*), лейшманиоз (виды *Leishmania*), проказу (*Mycobacterium leprae* и *Mycobacterium lepromatosis*), лептоспироз (виды *Leptospira*), листериоз (*Listeria monocytogenes*), болезнь Лайма (боррелиоз Лайма) (*Borrelia burgdorferi*, *Borrelia garinii* и *Borrelia afzelii*), лимфатический филяриоз (элефантиаз) (*Wuchereria bancrofti* и *Brugia*

malayi), лимфоцитарный хориоменингит (вирус лимфоцитарного хориоменингита (LCMV)), малярию (виды *Plasmodium*), марбургскую геморрагическую лихорадку (МНГ) (вирус Марбург), корь (вирус кори), ближневосточный респираторный синдром (MERS) (коронавирус ближневосточного респираторного синдрома), мелиоидоз

5 (болезнь Уитмора) (*Burkholderia pseudomallei*), менингит (несколько возбудителей), менингококковый менингит (*Neisseria meningitidis*), метагонимоз (обычно *Metagonimus yokagawai*), микроспоридиоз (*Microsporidia* phylum), контагиозный моллюск (МС) (вирус контагиозного моллюска (MCV)), оспу обезьян (вирус оспы обезьян), свинку (вирус эпидемического паротита), крысиный сыпной тиф (эпидемический тиф)

10 (*Rickettsia typhi*), микоплазменную пневмонию (*Mycoplasma pneumoniae*), мицетому (в разных значениях) (многочисленные виды бактерий (актиномицетома) и грибов (эумицетома)), миаз (паразитические личинки двукрылых мух), неонатальный конъюнктивит (*Ophthalmia neonatorum*) (чаще всего *Chlamydia trachomatis* и *Neisseria gonorrhoeae*), норовирус (дети и младенцы) ((новый) вариант болезни Крейтцфельдта-

15 Якоба (vCJD, nvCJD), PRNP), нокардиоз (обычно *Nocardia asteroides* и другие виды *Nocardia*), онхоцеркоз (речная слепота) (*Onchocerca volvulus*), описторхоз (*Opisthorchis viverrini* и *Opisthorchis felinus*), паракокцидиоидомикоз (южноамериканский бластомикоз) (*Paracoccidioides brasiliensis*), парагонимоз (как правило, *Paragonimus westermani* и другие виды *Paragonimus*), пастереллез (виды *Pasteurella*), головной

20 педикулез (головные вши) (*Pediculus humanus capitis*), платяной педикулез (нательные вши) (*Pediculus humanus corporis*), лобковый педикулез (лобковые вши, площица) (*Phthirus pubis*), воспалительное заболевание органов малого таза (ВЗОМТ) (несколько возбудителей), коклюш (судорожный кашель) (*Bordetella pertussis*), чуму (*Yersinia pestis*), пневмококковую инфекцию (*Streptococcus pneumoniae*), пневмоцистную

25 пневмонию (PCP) (*Pneumocystis jirovecii*), пневмонию (несколько возбудителей), полиомиелит (*Poliovirus*), инфекцию *Prevotella* (виды *Prevotella*), первичный амебный менингоэнцефалит (РАМ) (обычно *Naegleria fowleri*), прогрессивную мультифокальную лейкоэнцефалопатию (вирус JC), пситтакоз (*Chlamydophila psittaci*), Q-лихорадку (*Coxiella burnetii*), бешенство (вирус бешенства), возвратную лихорадку

30 (*Borrelia hermsii*, *Borrelia recurrentis* и другие виды *Borrelia*), инфекцию респираторно-синцитиальным вирусом (респираторно-синцитиальный вирус (RSV)), риноспоридиоз (*Rhinosporidium seeberi*), риновирусную инфекцию (*Rhinovirus*), риккетсиозную инфекцию (виды *Rickettsia*), риккетсиоз (*Rickettsia akari*), лихорадку долины Рифт (RVF) (вирус лихорадки долины Рифт), пятнистую лихорадку Скалистых гор (RMSF)

(*Rickettsia rickettsii*), ротавирусную инфекцию (*Rotavirus*), краснуху (вирус краснухи), сальмонеллез (виды *Salmonella*), SARS (тяжелый острый респираторный синдром) (коронавирус SARS), чесотку (*Sarcoptes scabiei*), шистосомоз (виды *Schistosoma*), сепсис (несколько возбудителей), шигеллез (бациллярную дизентерию) (виды *Shigella*),
5 опоясывающий лишай (*Herpes zoster*) (вирус ветряной оспы (VZV)), натуральную оспу (вариолу) (*Variola major* или *Variola minor*), споротрихоз (*Sporothrix schenckii*), стафилококковое пищевое отравление (виды *Staphylococcus*), стафилококковую инфекцию (виды *Staphylococcus*), стронгилоидоз (*Strongyloides stercoralis*), подострый склерозирующий панэнцефалит (вирус кори), сифилис (*Treponema pallidum*), тениоз
10 (виды *Taenia*), тетанус (столбняк) (*Clostridium tetani*), дерматомироз бороды и усов (обыкновенный сикоз) (обычно виды *Trichophyton*), трихофитию волосистой части головы (дерматомироз волосистой части головы) (обычно *Trichophyton tonsurans*), грибковое поражение гладкой кожи туловища (трихофитию гладкой кожи) (обычно виды *Trichophyton*), трихофитию промежности (паховый дерматомироз) (обычно
15 *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton rubrum* и *Trichophyton mentagrophytes*), микоз кистей (трихофития кожи рук) (*Trichophyton rubrum*), черный лишай (обычно *Horreaa werneckii*), дерматофитию стоп (стопа атлета) (обычно виды *Trichophyton*), дерматофитный онихомикоз (онихомикоз) (обычно виды *Trichophyton*), разноцветный лишай (отрубевидный лишай) (виды *Malassezia*), токсокароз (глазную форму синдрома
20 *larva migrans* (OLM)) (*Toxocara canis* или *Toxocara cati*), токсокароз (синдром *larva migrans*, висцеральная форма (VLM)) (*Toxocara canis* или *Toxocara cati*), трахому (*Chlamydia trachomatis*), токсоплазмоз (*Toxoplasma gondii*), трихиноз (*Trichinella spiralis*), трихомоноз (*Trichomonas vaginalis*), трихуроз (инфекцию власоглавом) (*Trichuris trichiura*), туберкулез (обычно *Mycobacterium tuberculosis*), туляремию
25 (*Francisella tularensis*), тифоидную лихорадку (*Salmonella enterica*, подвид *enterica*, серовар *typhi*), сыпной тиф (*Rickettsia*), инфекцию *Ureaplasma urealyticum* (*Ureaplasma urealyticum*), пустынную лихорадку (*Coccidioides immitis* или *Coccidioides posadasii*), венесуэльский энцефалит лошадей (вирус венесуэльского энцефалита лошадей), венесуэльская геморрагическая лихорадка (вирус Гуанарито), инфекцию *Vibrio*
30 *vulnificus* (*Vibrio vulnificus*), энтерит *Vibrio parahaemolyticus* (*Vibrio parahaemolyticus*), вирусную пневмонию (несколько вирусов), лихорадку Западного Нила (вирус Западного Нила), белую пьедру (*Tinea blanca*) (*Trichosporon beigeli*), инфекцию *Yersinia pseudotuberculosis* (*Yersinia pseudotuberculosis*), иерсиниоз (*Yersinia enterocolitica*), желтую лихорадку (вирус желтой лихорадки), зигомикоз (порядок

Mucorales (мукоромикоз) и порядок Entomophthorales (энтомофторамикоз)),
заболевание, вызванное вирусом иммунодефицита человека [ВИЧ], заболевание ВИЧ с
инфекционными и паразитическими заболеваниями, заболевание ВИЧ с
микобактериальной инфекцией, заболевание ВИЧ с цитомегаловирусным
5 заболеванием, заболевание ВИЧ с другими вирусными инфекциями, заболевание ВИЧ
с кандидозом, заболевание ВИЧ с другими микозами, заболевание ВИЧ с пневмонией
Pneumocystis carinii, заболевание ВИЧ со злокачественными новообразованиями,
заболевание ВИЧ с саркомой Капоши, заболевание ВИЧ с лимфомой Беркитта,
заболевание ВИЧ с другими типами неходжкинской лимфомы, заболевание ВИЧ с
10 другими злокачественными новообразованиями лимфоидной, гематopoэтической и
связанных с ними тканей, заболевание ВИЧ с множественными злокачественными
новообразованиями, заболевание ВИЧ с другими злокачественными
новообразованиями, заболевание ВИЧ с неуточненным злокачественным
новообразованием, заболевание ВИЧ с энцефалопатией, заболевание ВИЧ с
15 лимфоидным интерстициальным пульмонитом, заболевание ВИЧ с синдромом
истощения, заболевание ВИЧ с несколькими заболеваниями, классифицированными в
других местах, заболевание ВИЧ с другими состояниями, заболевание ВИЧ с
синдромом острой ВИЧ-инфекции, заболевание ВИЧ с (персистирующей)
генерализованной лимфаденопатией, заболевание ВИЧ с гематологическими и
20 иммунологическими аномалиями, заболевание ВИЧ с другими уточненными
состояниями, или неуточненное заболевание ВИЧ. Согласно некоторым вариантам
реализации настоящего изобретения указанное инфекционное заболевание может
представлять собой инфекцию вирусом, таким как вирус из одного из следующих
семейств вирусов: а) семейство Adenoviridae, например, виды Adenovirus; б) семейство
25 Herpesviridae, например, виды Herpes simplex: простой герпес 1 типа, простой герпес 2
типа, вирус ветряной оспы (*Varicella Zoster*), вирус Эпштейн-Барр, цитомегаловирус
человека, герпесвирус человека 8 типа; в) семейство Papillomaviridae, например,
папилломавирус человека; д) семейство Polyomaviridae, например, вирус ВК, вирус JC;
е) семейство Poxviridae, например, вирус натуральной оспы; ф) семейство
30 Herpesviridae, например, вирус гепатита В г) семейство Parvoviridae, например,
бокавирус человека, парвовирус В19; h) семейство Astroviridae, например, астровирус
человека; и) семейство Caliciviridae, например, вирус Норуолк; j) семейство Flaviviridae,
например, вирус гепатита С (HCV), вирус желтой лихорадки, вирус Денге, вирус
Западного Нила; к) семейство Togaviridae, например, вирус краснухи; л) семейство

Нереviriidae, например, вирус гепатита E; m) семейство Retroviridae, например, вирус иммунодефицита человека (ВИЧ); n) семейство Orthomyxoviridae, например, вирус гриппа; o) семейство Arenaviridae, например, вирус Гуанарито, вирус Хунин, вирус Ласса, вирус Мачупо и/или вирус Сабиа; p) семейство Bunyaviridae, например, вирус Конго-крымской геморрагической лихорадки; q) семейство Filoviridae, например, вирус Эбола и/или вирус Марбург; семейство Paramyxoviridae, например, вирус кори, вирус эпидемического паротита, вирус парагриппа, респираторно-синцитиальный вирус, метапневмовирус человека, вирус Хендра и/или вирус Нипах; r) род семейства Rhabdoviridae, например, вирус бешенства; s) семейство Reoviridae, например, виды Rotavirus, Orbivirus, Coltivirus и/или вирус Банна.

[0208] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанное инфекционное заболевание может не представлять собой одно из перечисленных выше инфекционных заболеваний.

[0209] Согласно некоторым вариантам реализации указанное инфекционное заболевание может представлять собой заболевание, вызванное инфекцией вирусом гриппа А (Flu А). Согласно некоторым вариантам реализации указанный вирус гриппа может представлять собой происходящий от птиц или свиней вирус пандемического гриппа, например, H5N1, H7N3, H7N7, H7N9 и H9N2 (птичьи подтипы), или H1N1, H1N2, H2N1, H3N1, H3N2 или H2N3 (свиные подтипы).

[0210] Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения указанное инфекционное заболевание может представлять собой ВИЧ, например, остаточное заболевание ВИЧ, герпес, гепатит или папилломавирус человека. Согласно другим предпочтительным вариантам реализации указанное инфекционное заболевание может представлять собой заболевание, являющееся результатом инфекции коронавирусом, например, COVID-19 (коронавирус 2019; заболевание, вызываемое коронавирусом тяжелого острого респираторного синдрома 2, SARS-CoV-2).

[0211] Согласно вариантам реализации, в которых способы по настоящему изобретению реализуют у субъекта, который имеет, предположительно имеет, или у которого было диагностировано инфекционное заболевание, НКТ-подобные клетки, полученные указанными способами, могут лечить указанное инфекционное заболевание. В указанном контексте «лечить» означает «вызывать благоприятный терапевтический эффект» у субъекта, который может представлять собой любое общее клиническое преимущество, обеспечиваемое способами по настоящему изобретению.

Указанное общее клиническое преимущество может представлять собой, например, что-либо из следующего: уменьшение жара, уменьшение диареи, уменьшение кашля, уменьшение боли в мышцах, снижение утомляемости, снижение уровней СРБ, сокращение времени на ИВЛ, снижение потребности в дополнительном кислороде, снижение повреждения органов после выздоровления.

[0212] Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению могут лечить указанное инфекционное заболевание путем захвата и уничтожения инфекционного организма, активации других клеток врожденного и адаптивного иммунитета, рекрутинга других иммунных клеток в сайт инфекции (например, орган, инфицированный вирусом), деплеции иммунных клеток, инфицированных вирусом (например, моноцитов, активированных COVID-19).

[0213] Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению могут лечить указанное инфекционное заболевание путем высвобождения иммуноактивирующих цитокинов. Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению могут лечить указанное инфекционное заболевание путем высвобождения цитокинов с противомикробными или противовирусными эффектами (например, ФНО-альфа, ИФН-гамма). Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению могут лечить указанное инфекционное заболевание путем индукции апоптоза, например, путем экспрессии лигандов, которые активируют рецепторы смерти на целевых клетках. Согласно некоторым вариантам реализации указанные НКТ-подобные клетки могут секретировать цитотоксические молекулы, которые убивают инфекционный организм. Согласно некоторым вариантам реализации НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению могут поглощать или захватывать инфекционный организм.

[0214] Согласно вариантам реализации, в которых инфекционное заболевание представляет собой заболевание, являющееся результатом инфекции коронавирусом, например, COVID-19, НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению могут лечить заболевание путем захвата и уничтожения коронавируса, и/или путем активации других клеток врожденного и адаптивного иммунитета.

[0215] Соответственно, настоящее изобретение также обеспечивает способы лечения заболевания, являющегося результатом инфекции коронавирусом у субъекта, при этом указанный способ включает введение модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента субъекту в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по

меньшей мере приблизительно 6 мг/кг основания дексаметазона. Согласно некоторым вариантам реализации указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент может представлять собой глюкокортикоид, предпочтительно дексаметазон или бетаметазон. Согласно некоторым вариантам реализации указанный модулирующий

5 глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент может вводиться в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере приблизительно 15 мг/кг основания дексаметазона. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент может вводиться в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека)

10 приблизительно от 18 мг/кг до 30 мг/кг основания дексаметазона. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации указанное заболевание представляет собой COVID-19 (коронавирус-2019; заболевание, вызываемое коронавирусом 2 тяжелого острого респираторного синдрома, SARS-CoV-2) или SARS-CoV, или MERS. Согласно некоторым вариантам реализации указанный модулирующий

15 глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент индуцирует / мобилизует популяцию НКТ-подобных клеток согласно описанию в тексте настоящего документа.

[0216] Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения предложен способ лечения COVID-19 (коронавирус 2019; заболевание, вызываемое коронавирусом тяжелого острого респираторного синдрома 2, SARS-CoV-

20 2) у субъекта, при этом указанный способ включает введение дексаметазона или бетаметазона субъекту в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) приблизительно от 15 мг/кг до 30 мг/кг основания дексаметазона.

[0217] Согласно вариантам реализации, в которых инфекционное заболевание представляет собой заболевание, являющееся результатом инфекции коронавирусом, например, COVID-19, указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор агент

25 может вводиться в комбинации с ингибитором протонной помпы (таким как омепразол) и/или гидрокортизоном. В указанном контексте «в комбинации с» может означать одновременное введение, или может означать отдельное и/или последовательное введение в любом порядке.

30 **[0218]** Согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов способы получения / мобилизации популяции НКТ-подобных клеток могут дополнительно включать этап выделения НКТ-подобной клетки по настоящему изобретению или популяции НКТ-подобных клеток по настоящему изобретению из организма субъекта

или из образца, происходящего из организма субъекта. Соответственно, согласно настоящему изобретению предложены выделенные НКТ-подобные клетки, а также выделенные популяции НКТ-подобных клеток. Выделенные клетки и выделенные популяции клеток могут характеризоваться паттерном поверхностных белков, которые они экспрессируют, как изложено выше.

5 [0219] Подходящие способы выделения клеток и популяций клеток из смешанного образца хорошо известны специалисту – например, проточная сортировка (такая как сортировка клеток с активированной флуоресценцией; FACS) и сортировка с помощью магнитных частиц (такая как активируемая магнитным полем сортировка клеток; 10 MACS), микрожидкостная сортировка клеток, центрифугирование в градиенте плотности, выделение клеток методом иммунных розеток, размножение в культуре клеток на основе факторов роста и других компонентов среды. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения указанный этап выделения осуществляют с применением сортировки клеток с активированной 15 флуоресценцией (FACS) или активируемой магнитным полем сортировки клеток (MACS).

[0220] Согласно вариантам реализации, в которых НКТ-подобные клетки выделяют из образца, происходящего из организма субъекта, указанный образец может быть выбран из группы, состоящей из: крови, плазмы, биоптата опухоли или извлеченной 20 хирургическим путем опухоли, костного мозга, печени, биоптата селезенки, и жировой или адипозной ткани.

[0221] Согласно некоторым вариантам реализации этап выделения может быть проведен по меньшей мере приблизительно через 1, 3, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144 или 168 часов после введения модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента 25 или модулирующего ICAM3 агента. Согласно некоторым вариантам реализации этап выделения может быть проведен по меньшей мере приблизительно через 1, 3, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 дней после введения модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации этап выделения проводят по меньшей мере 30 приблизительно через 48 часов после указанного введения. Согласно некоторым другим предпочтительным вариантам реализации этап выделения проводят приблизительно через 1, 3 или 48 часов после указанного введения. Согласно некоторым вариантам реализации этап выделения может быть проведен приблизительно от 1, 3 или 48 часов до 13 дней, приблизительно от 1, 3 или 48 часов до

168 часов, приблизительно от 1, 3 или 48 часов до 120 часов, приблизительно от 1, 3 или 48 часов до 96 часов, или приблизительно от 1, 3 или 48 часов до 72 часов после введения модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации этап выделения проводят приблизительно от 1, 3 или 48 часов до 72 часов после указанного введения. Согласно некоторым вариантам реализации этап выделения может быть проведен в пределах 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 часов после введения глюкокортикоида. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации этап выделения может быть проведен в пределах 3 часов после введения глюкокортикоида. Согласно некоторым конкретным предпочтительным вариантам реализации этап выделения может быть проведен в пределах 1 часа после введения глюкокортикоида. Согласно другим конкретным предпочтительным вариантам реализации этап выделения может быть проведен в интервале от 30 до 60 минут после введения глюкокортикоида. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации, в которых субъект имеет рак, инфекционное заболевание или аутоиммунное заболевание, этап выделения НКТ-подобных клеток может быть проведен в образце крови от субъекта в пределах 3 часов после введения глюкокортикоида, и предпочтительно в пределах 1 часа после введения глюкокортикоида, например, в пределах от 30 до 60 минут после введения глюкокортикоида.

[0222] Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации способов, включающих этап выделения, субъект может представлять собой здорового субъекта, такого как здоровый взрослый субъект-человек. В указанном контексте здоровый субъект представляет собой субъекта, который не поражен заболеванием.

[0223] Выделенные НКТ-подобные клетки и популяции выделенных НКТ-подобных клеток по настоящему изобретению могут быть размножены в культуре. Подходящие способы и реагенты для культивирования и размножения клеток хорошо известны специалисту в данной области техники. Например, длительное культивирование с ИЛ-2, растворимым антителом против CD28, антителом против CD3-эпсилон, антителом против TCR-бета и гликолипидами, такими как KRN7000, PBS44 или PBS57, как было показано, обеспечивает устойчивое размножение НКТ-клеток (источник: Watarai *et al* 2008, включенный в настоящий документ полностью посредством ссылки). Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации описанных здесь способов способ получения популяции НКТ-подобных клеток может дополнительно включать

этап размножения НКТ-подобной клетки или НКТ-подобных клеток, выделенных путем проведения этапа выделения. Согласно некоторым вариантам реализации способа по настоящему изобретению указанный способ может дополнительно включать этап активации выделенных клеток (либо до, либо после этапа размножения) активатором НКТ-клеток, активатором Т-клеток и/или активатором НК-клеток, который может соответствовать подробному описанию выше.

[0224] Согласно некоторым вариантам реализации после выделения НКТ-подобной клетки или популяции НКТ-подобных клеток из организма субъекта или из образца, происходящего от субъекта, способы по настоящему изобретению могут дополнительно включать этап введения нуклеиновой кислоты, кодирующей белок, в выделенную клетку или клетки. Подходящие способы введения нуклеиновой кислоты в клетку хорошо известны специалисту – например, физические или химические способы, в том числе электропорация, сонопорация, микроинъекция в клетки, доставка на микрочастицах, опосредованная фосфатом кальция трансфекция и трансфекция на основе липосом; или вирусная трансдукция. После введения нуклеиновой кислоты, кодирующей белок, указанная клетка или клетки могут быть культивированы в условиях, облегчающих экспрессию кодируемого белка. Подходящие способы, реагенты и условия для культивирования клеток хорошо известны специалисту в данной области техники. Клетка или клетки, в которые была введена нуклеиновая кислота, кодирующая белок, могут называться в настоящем документе трансфицированными или трансформированными клетками.

[0225] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения нуклеиновая кислота, кодирующая белок, представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует белок, выбранный из группы, состоящей из одного или более из: Т-клеточного рецептора (TCR), химерного антигенного рецептора (CAR) и «разделенного, универсального и программируемого» («split, universal and programmable») CAR (SUPRA-CAR).

[0226] После выделения НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению могут быть генетически модифицированы для конкретной мишени. Например, клетки могут быть размножены с использованием ИЛ-2 и активированы с использованием GalCer (галактозилцерамида), сенсibiliзированных аутологичных облученных МКПК, затем трансдуцированы для экспрессии CAR или рекомбинантного TCR (rTCR). Указанный CAR или rTCR может специфически связывать мишень, выбранную из GD2 (дисиаialogанглиозида) и CD19. Например, указанный CAR может представлять собой

NCT03294954 (который специфически связывает GD2) или NCT03774654 (который специфически связывает CD19).

[0227] Кроме того, выделенные клетки могут подвергаться нацеленной активации.

Например, могут быть использованы следующие процедуры: нановекторы для

5 пассивной и активной доставки; нагруженные α -GalCer АПК для направленной активации NKT-подобных клеток в отношении опухолей; в/в введение α -GalCer; и/или стимуляция смешанных МКПК (двух-трехкратная) путем добавления α -GalCer к культивированным клеткам (для получения обогащенной клетками iNKT популяции, которую затем инфузируют обратно пациенту)

10 **[0228]** Кроме того, указанные выделенные клетки могут быть прямо соединены с нацеленными на опухоль фрагментами (либо на опухолевых клетках, либо в микроокружении опухоли (МОО)). Может также быть использована химическая модификация стимулирующими агентами для NKT-клеток (поляризация иммунных ответов аналогами α -GalCer), Т-клеток и NK-клеток.

15 **[0229]** Термин «химерный антигенный рецептор» (CAR) в настоящем документе неисключительным образом относится к конструкциям, которые содержат антиген-связывающий домен антитела, слитый с сильным активаторным доменом Т-клеток. Т-клетки, модифицированные конструкцией CAR, могут связываться с антигеном и получать стимуляцию для атаки связанных клеток. Искусственные Т-клеточные

20 рецепторы (также известные как химерные Т-клеточные рецепторы, химерные иммунорецепторы, химерные антигенные рецепторы (CAR)) представляют собой сконструированные рецепторы, которые придают произвольную специфичность иммунной эффекторной клетке. Указанные рецепторы называют химерными, поскольку они состоят из частей из разных источников. Указанный рецептор/лиганд,

25 или антитело, экспрессируемое Т-клетками с химерными антигенными рецепторами, или клеточная иммунотерапия могут быть моно- или биспецифическими, или мультиспецифическими.

[0230] Согласно некоторым вариантам реализации указанный TCR, CAR и/или SUPRA-CAR может содержать антигенсвязывающий домен, который связывается с

30 антигеном, выбранным из группы рецепторов / лигандов / мишеней, состоящей из: протоонкогена тирозиновой протеинкиназы ABL1, цитруллинированного антигена, ErbB2/HER2, CD16, WT-1, KRAS, глипикана 3, CD3, CD20, CD226, CD155, CD123, HPV-16 E6, Melan-A/MART-1, связанного с рецептором DR4 лиганда TRAIL, LMP, MTCR, ESO, NY-ESO-1, gp100, 4SCAR-GD2/CD56, мезотелина (антигена CAK1, или

(пре/про)мегакариоцит-потенцирующего фактора, или MSLN); ингибитора синтеза ДНК; антагониста гистаминовых H1-рецепторов (HRH1); ингибитора простагландин-G/H-синтазы 2 (циклооксигеназы 2, или COX2, или простагландин-эндопероксид-синтазы 2, или PHS II, или простагландин-H2-синтазы 2, или PTGS2, или EC 1.14.99.1),

5 CD19 (B-лимфоцитарного поверхностного антигена B4, или антигена дифференцировки CD19, или поверхностного антигена T-клеток Leu 12, или CD19), молекулы клеточной адгезии 5 (карциноэмбрионального антигена, или КЭА, или мекониевого антигена 100, или CD66e, или CEACAM5); агониста рецептора интерлейкина 2 (IL2R), рецептора эпидермального фактора роста (протоонкогена c-

10 ErbB 1, или рецепторной тирозиновой протеинкиназы erbB 1, или HER1, или ERBB1, или рЭФР, или EC 2.7.10.1); ингибитора ДНК-лигазы (EC 6.5.1.); ДНК-лигазы (EC 6,5.1.), ингибитора ДНК-полимеразы альфа (POLA или EC 2.7.7.7); ингибитора ДНК-примазы (EC 2.7.7.6); ингибитора рибонуклеозиддифосфатредуктазы (рибонуклеозидредуктазы, или RRM, или EC 1.17.4.1); ингибитора РНК-полимеразы II

15 (RNAP II, или Pol II, или EC 2.7.7.6), ингибитора ДНК-полимеразы (EC 2.7.7.7); ДНК-топоизомеразы II (EC 5.99.1.3) ингибитора; CD22, мезотелина, ДНК-примазы (EC 2.7.7.6); ингибитора лиганда 1 запрограммированной гибели клеток 1 (PD L1, или гомолога 1 B7, или CD274); РНК-полимеразы II (RNAP II, или Pol II, или EC 2.7.7.6), ингибитора гистоновой лизин-N-метилтрансферазы EZH2 (ENX 1, или энхансера

20 гомолога Zeste 2, или лизин-N-метилтрансферазы 6, или EZH2, или EC 2.1.1.43); лиганда 1 запрограммированной гибели клеток 1 (PD L1, или гомолога 1 B7, или CD274), антагониста хемокинового рецептора C-X-C 4 типа (FB22, или фузина, или HM89, или LCR1, или лейкоцитарного рецептора с семью трансмембранными доменами, или ассоциированного с липополисахаридами белка 3, или рецептора

25 происходящего из стромальных клеток фактора 1, или NPYRL, или CD184, или CXCR4); агониста рецептора гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (CD114, или GCSFR, или CSF3R), ингибитора аденозиндезаминазы (аденозинаминогидролазы, или ADA, или EC 3.5.4.4); представителя суперсемейства

30 17 рецепторов фактора некроза опухоли (антигена созревания B-клеток, или CD269, или TNFRSF17), цитотоксического для клеток, экспрессирующих неактивный тирозинпротеинкиназный трансмембранный рецептор ROR1 (связанной с рецептором нейротрофической тирозинкиназы 1, или ROR1, или EC 2.7.10.1); гликопротеина цепи эpsilon CD3 поверхности T-клеток (поверхностного антигена цепи эpsilon T-клеток T3/Leu 4, или CD3E); ингибитора дигидрофолатредуктазы (DHFR, или EC 1.5.1.3);

ингибитора рецептора 2 эфрина типа А (киназы эпителиальных клеток, или рецепторной тирозиновой протеинкиназы ЕСК, или ЕРНА2, или ЕС 2.7.10.1); агониста глюкокортикоидного рецептора (ГР, или представителя 1 ядерных рецепторов подсемейства 3 группы С, или NR3C1); ингибитора рецептора группы фактора роста тучных/стволовых клеток (протоонкогена c-Kit, или группы тирозиновой протеинкиназы, или гомолога вирусного онкогена саркомы кошачьих v-Kit Харди-Цукермана 4, или белка «пегой кожи», или p145 c-Kit, или CD117, или KIT, или ЕС 2.7.10.1); ингибитора рецептора бета тромбоцитарного фактора роста (рецептора бета-типа тромбоцитарного фактора роста, или представителя В семейства подобных антигену CD140 рецепторов, или рецептора 1 тромбоцитарного фактора роста, или CD140b, или PDGFRB, или ЕС 2.7.10.1); ингибитора тубулина; ингибитора тирозиновой протеинкиназы CSK (C-Src-киназы, или протеинтирозинкиназы CYL, или CSK, или ЕС 2.7.10.2); ингибитора тирозинпротеинкиназы Fyn (протоонкогена Syn, или протоонкогена c-Fyn, или Src-подобной киназы, или p59 Fyn, или FYN, или ЕС 2.7.10.2); ингибитора тирозинпротеинкиназы Lck (С-концевой киназы Src лейкоцитов, или белка YTI6, или протоонкогена Lck, или специфической Т-клеточной протеинтирозинкиназы, или специфической протеинтирозинкиназы лимфоцитов, или p56 LCK, или LCK, или ЕС 2.7.10.2); ингибитора тирозинпротеинкиназы Yes (протоонкогена c-Yes, или p61 Yes, или YES1, или ЕС 2.7.10.2), ингибитора фактора некроза опухоли (кахектина, или ФНО-альфа, или представителя суперсемейства 2 лигандов фактора некроза опухоли, или ФНО-а, или ФНО), ингибитора переносчика сигнала и активатора транскрипции 3 (фактора острофазовой реакции, или ДНК-связывающего белка APRF, или STAT3), ингибитора тирозинкиназы Bcr-Abl (ЕС 2.7.10.2); дигидрофолатредуктазы (DHFR, или ЕС 1.5.1.3); рецептора 2 эфрина типа А (киназы эпителиальных клеток, или рецептора тирозинпротеинкиназы ЕСК, или ЕРНА2, или ЕС 2.7.10.1); группы рецептора тучных/стволовых клеток фактора роста (протоонкогена c-Kit, или группы тирозиновой протеинкиназы, или гомолога вирусного онкогена v-Kit саркомы кошачьих Харди-Цукермана 4, или белка «пегой кожи», или p145 c-Kit, или CD117, или KIT, или ЕС 2.7.10.1); рецептора тромбоцитарного фактора роста бета (рецептора тромбоцитарного фактора роста бета-типа, или представителя В семейства подобных антигену CD140 рецепторов, или рецептора 1 тромбоцитарного фактора роста, или CD140b, или PDGFRB, или ЕС 2.7.10.1); тубулина; ингибитора тирозиновой протеинкиназы CSK (киназы C-Src, или протеинтирозинкиназы CYL, или CSK, или ЕС 2.7.10.2); ингибитора тирозиновой

протеинкиназы Fyn (протоонкогена Syn, или протоонкогена с-Fyn, или Src-подобной киназы, или p59 Fyn, или FYN, или EC 2.7.10.2); ингибитора тирозиновой протеинкиназы Lck (С-концевой киназы Src лейкоцитов, или белка Yт16, или протоонкогена Lck, или специфической протеинтирозинкиназы Т-клеток, или

5 специфической протеинтирозинкиназы лимфоцитов, или p56 LCK, или LCK, или EC 2.7.10.2); ингибитора тирозинпротеинкиназы Yes (протоонкогена с-Yes, или p61 Yes, или YES1, или EC 2.7.10.2), активатора каспазы 9 (апоптотической протеазы Mch 6, или активирующего фактора апоптотической протеазы 3, или ICE-подобной апоптотической протеазы 6, или CASP9, или EC 3.4.22.62); антигена простатических

10 стволовых клеток (PSCA), антигена меланомы, преимущественно экспрессируемого в опухолях (ракового антигена/ антигена семенников 130, или взаимодействующего с Ора белка 4, или OIP4, или преимущественно экспрессируемого антигена меланомы, или PRAME), ингибитора переносчика сигнала и активатора транскрипции 3 (фактора острофазовой реакции, или ДНК-связывающего белка APRF, или STAT3), антигена

15 CD44 (CDw44, или эпикана, или рецептора III внеклеточного матрикса, или рецептора GP90 хоуминга/адгезии лимфоцитов, или HUTCH I, или гепарансульфата протеогликана, или антигена Hermes, или гиалуронатного рецептора, или фагоцитарного гликопротеина 1, или CD44), рецепторной тирозинкиназы AXL (Anexelekto), GAS6, рецепторных тирозинкиназ TAM, TYRO-3 (также известного как

20 Bvt, Dtk, Rse, Sky и Tif), AXL (также известного как Ark, Tyro7 и Ufo) и MER (также известного как Euk, Num и Tyro12), CTLA4, представителя суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли 8 (рецептора CD30L, или антигена Ki 1, или антигена активации лимфоцитов CD30, или CD30, или TNFRSF8), активатора каспазы 9 (апоптотической протеазы Mch 6, или активирующего фактора апоптотической

25 протеазы 3, или ICE-подобной апоптотической протеазы 6, или CASP9, или EC 3.4.22.62); фактора, цитотоксического для клеток, экспрессирующих ганглиозид GD2; ингибитора простагландин-G/H-синтазы 1 (циклооксигеназы 1, или COX1, или простагландин-эндопероксидсинтазы 1, или простагландин-H2-синтазы 1, или PTGS1, или EC 1.14.99.1); цитокинов, интерлейкинов, клаудина 6 (скуллина, или CLDN6),

30 NKG2D, MICA, MICB и ULBP 1–6, NKp30, B7H6 (NCR3LG1), Bag6, семейства B7, активатора лиганда CD40 (Т-клеточного антигена Gp39, или связанного с ФНО белка активации, или представителя суперсемейства 5 лигандов фактора некроза опухоли, или CD154, или CD40L G); активатора интерлейкина 12 (ИЛ-12), антагониста субъединицы альфа рецептора интерлейкина 3 (группы рецепторов фактора роста

тучных/стволовых клеток IL3RA (протоонкогена c-Kit, или группы тирозиновой протеинкиназы, или гомолога вирусного онкогена саркомы кошачьих v-Kit Харди-Цукермана 4, или белка «пегой кожи», или p145 c-Kit, или CD117, или KIT, или EC 2.7.10.1); ингибитора протоонкогена тирозиновой протеинкиназы рецептора Ret (представителя семейства кадгеринов 12, или протоонкогена c-Ret, или RET, или EC 2.7.10.1); антагониста тирозиновой протеинкиназы рецепторного типа FLT3 (FMS-подобной тирозинкиназы 3, или цитокинового рецептора FL, или тирозинкиназы стволовых клеток 1, или киназы фетальной печени 2, или CD135, или FLT3, или EC 2.7.10.1); антагониста рецептора 1 фактора роста эндотелия сосудов (Fms-подобной тирозинкиназы 1, или рецепторной тирозиновой протеинкиназы FLT, или тирозиновой протеинкиназы FRT, или рецептора фактора проницаемости сосудов, или VEGFR1, или FLT1, или EC 2.7.10.1); антагониста рецептора 2 фактора роста эндотелия сосудов (киназы фетальной печени 1, или рецептора со встроенным киназным доменом, или рецепторной протеинтирозинкиназы FLK 1, или VEGFR2, или CD309, или KDR, или EC 2.7.10.1); антагониста рецептора фактора роста эндотелия сосудов 3 (Fms-подобной тирозинкиназы 4, или рецепторной тирозиновой протеинкиназы FLT4, или VEGFR3, или FLT4, или EC 2.7.10.1), активатора каспазы 9 (апоптотической протеазы Mch 6, или активирующего фактора апоптотической протеазы 3, или ICE-подобной апоптотической протеазы 6, или CASP9 или EC 3.4.22.62), антагониста белка цитотоксических Т-лимфоцитов 4 (ассоциированного с цитотоксическими Т-лимфоцитами антигена 4, или CD152, или CTLA4), антигена клеточной поверхности миелоидных клеток CD33 (связывающего сиаловую кислоту Ig-подобного лектина 3, или gp67, или CD33), рецептора фактора роста гепатоцитов (протоонкогена c-Met, или тирозиновой протеинкиназы Met, или рецептора фактора роста гепатоцитов/рассеивающего фактора (HGF/SF), или рецептора рассеивающего фактора, или MET, или EC 2.7.10.1), молекулы адгезии эпителиальных клеток (ассоциированного с аденокарциномой антигена, или гликопротеина поверхности клеток Ттор 1, или поверхностного антигена эпителиальных клеток, или эпителиального гликопротеина 314, или антигена KS 1/4, или KSA, или опухлеассоциированного переносчика кальциевого сигнала 1, или CD326, или EPCAM), ганглиозида GD2, антигена Lewis Y (CD174), латентного мембранного белка 1 (белка p63, или LMP1), муцина 1 (ассоциированного с карциномой молочной железы антигена DF3, или эписиалина, или H23AG, или Krebs Von Den Lungen 6, или PEMT, или чувствительного к арахису муцина мочи, или полиморфного эпителиального

муцина, или опухолеассоциированного эпителиального мембранного антигена, или опухолеассоциированного муцина, или CD227, или MUC1), константной области 1 бета-цепи Т-клеточного рецептора (TRBC1), рецептора фактора роста эндотелия сосудов 2 (киназы фетальной печени 1, или рецептора со встроенным киназным доменом, или рецептора протеинтирозинкиназы flk 1, или VEGFR2, или CD309, или KDR, или EC 2.7.10.1), BCMA, PD-1, рецептора интерлейкина-6, NKR2, CX-072, белка Т-лимфоцитов 4 (ассоциированного с цитотоксическими Т-лимфоцитами антигена 4, или CD152, или CTLA4) антагониста; ингибитора серин/треониновой протеинкиназы B Raf (p94, или протоонкогена B Raf, или гомолога вирусного онкогена саркомы мышей v-Raf B1, или BRAF, или EC 2.7.11.1), муцина 16 (связанного с раком яичников опухолевого маркера CA125, или антигена карциномы яичников CA125, или MUC16); ингибитора тирозинкиназы Vcr-Abl (EC 2.7.10.2); ингибитора тирозиновой протеинкиназы CSK (киназы C Src, или протеинтирозинкиназы CYL, или CSK, или EC 2.7.10.2); ингибитора тирозиновой протеинкиназы Fyn (протоонкогена Syn, или протоонкогена c-Fyn, или Src-подобной киназы, или p59 Fyn, или FYN, или EC 2.7.10.2); ингибитора тирозинпротеинкиназы Lck (С-концевой киназы Src лейкоцитов, или белка YТ16 или протоонкогена Lck, или специфической Т-клеточной протеинтирозинкиназы, или специфической для лимфоцитов протеинтирозинкиназы, или p56 LCK, или LCK, или EC 2.7.10.2); ингибитора тирозиновой протеинкиназы Yes (протоонкогена c-Yes, или p61 Yes, или YES1, или EC 2.7.10.2), ингибитора циклин-зависимой киназы 1 (протеинкиназы p34, или протеинкиназы клеточного деления 1, или гомолога белка контроля клеточного деления 2, или CDK1, или EC 2.7.11.22, или EC 2.7.11.23); ингибитора циклин-зависимой киназы 2 (протеинкиназы p33, или протеинкиназы клеточного деления 2, или CDK2, или EC 2.7.11.22); агониста субъединицы альфа рецептора гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (CDw116, или CD116, или CSF2RA), EGFR VIII (pЭФР-VIII), ингибитора тирозиновой протеинкиназы SYK (тирозинкиназы селезенки, или p72 Syk, или SYK, или EC 2.7.10.2), альфа-фетопротейна (фетопротейна альфа 1, или альфа-фетоглобина, или AFP), ингибитора ракового/тестикулярного антигена 1 (аутоиммуногенного ракового/тестикулярного антигена, или ракового/тестикулярного антигена 6.1, или представителя семейства L-антигенов 2, или STAG1A, или STAG1B); антигена HBV, представителя семейства pЭФР, херина, тирозиновой протеинкиназы ВТК (тирозинкиназы Брутона, или киназы предшественников В-клеток, или тирозинкиназы агаммаглобулинемии, или ВТК, или EC 2.7.10.2), CD4,

молекулы адгезии эпителиальных клеток (ассоциированного с аденокарциномой антигена, или гликопротеина поверхности клеток Tgp 1, или поверхностного антигена эпителиальных клеток, или эпителиального гликопротеина 314, или антигена KS 1/4, или KSA, или опухолеассоциированного переносчика кальциевого сигнала 1, или CD326, или EPCAM), пролилэндопептидазы FAP (мембраносвязанной желатиназы меланомы 170 кДа, или дипептидилпептидазы FAP, или интегральной мембранной серинпротеазы, или белка активации фибробластов альфа, или расщепляющей желатин протеазы FAP, или сепразы, или FAP, или EC 3.4.21.26, или EC 3.4.14.5), молекулы адгезии нервных клеток 1 (антигена, распознаваемого моноклональным антителом 5.1H11, или CD56, или NCAM1); антагониста рецептора эпидермального фактора роста (протоонкогена c-ErbB1, или рецепторной тирозиновой протеинкиназы erbB 1, или HER1, или ERBB1, или рЭФР, или EC 2.7.10.1), тирозинпротеинкиназного трансмембранного рецептора ROR1 (связанной с рецептором нейротрофической тирозинкиназы 1, или ROR1, или EC 2.7.10.1); белка опухоли Вильмса (WT33 или WT1); субъединицы альфа 2 рецептора интерлейкина 13 (связывающего интерлейкин 13 белка, или CD213a2, или IL13RA2), гликопротеина трофобластов (M6P1, или онкофетального антигена 5T4, или онкофетального гликопротеина трофобластов 5T4, или активируемого Wnt ингибиторного фактора 1, или TPBG), представителя 7 семейства SLAM (CD319, или мембранного белка FOAP 12, или CD2-подобного рецептора, активирующего цитотоксические клетки, или нового Ly9, или белка 19A, или CD2 подгруппы 1, или CS1, или SLAMF7), ингибитора В-клеточной лимфомы 2 (Bcl 2); ингибитора ДНК-(С5)метилтрансферазы 1 (белка 9 с цинковыми пальцами типа CXXC, или ДНК-метилтрансферазы HsaI, или MСMT, или DNMT1, или EC 2.1.1.37), ROR1, CD19 и CD40L, авидина (рЭФР, вар. III), фолатного рецептора, CD30, рmel CD*8 T, CD33, NKR2, эпителиального опухолевого антигена (ETA), тирозиназы, меланома-ассоциированного антигена, аномальных продуктов gas, p53, альфафетопротеина (AFP), CA-125, CA15-3, CA27-29, CA19-9, кальцитонина, кальретинина, CD34, CD99MIC 2, CD117, хромогранина, цитокератина (различных типов: TPA, TPS, Cyfra21-1), десмина, эпителиального мембранного антигена (EMA), фактора VIII, CD31 FL1, глиофибрилярного кислого белка (GFAP), белка, выделяемого из жидкости при кистозной болезни (GCDFP-15), HMB-45, хорионического гонадотропина человека (hCG), иммуноглобулина, ингибина, кератина (различных типов), маркера лимфоцитов (различных типов), BCR-ABL, Myo D1, специфического для мышц актина (MSA), нейрофиламента, нейрон-специфической

енолазы (NSE), плацентарной щелочной фосфатазы (PLAP), простатического специфического антигена (ПСА), РTPRC (CD45), белка S100, гладкомышечного актина (SMA), синаптофизина, тимидинкиназы, тиреоглобулина (Tg), тиреоидного транскрипционного фактора-1 (ТТФ-1), опухолевой пируваткиназы M2 («Tumor M2-РК»), виментина, SV40, аденовируса E1b-58kd, IGF2B3, общераспространенного антигена (низкие уровни), калликреина 4, KIF20A, ленгсина, Meloe, MUC5AC, незрелого рецептора ламинина, TAG-72, HPV E6, HPV E7, BING-4, кальций-активируемого хлорного канала 2, циклина-B1, 9D7, Ep-CAM, EphA3, теломеразу, SAP-1, семейства BAGE, семейства CAGE, семейства GAGE, семейства MAGE, семейства SAGE, семейства XAGE, LAGE-1, PRAME, SSX-2, pml17, тирозиназы, TRP-1/-2, Р-полипептида, MC1R, β-катенина, специфического простатического антигена, BRCA1, BRCA2, CDK4, CML66, фибронектина, MART-2, Ras, рецептора ТФР-бета II, Т-клеточного рецептора (TCR), BLOC1S6, CD10/неприлизина, CD24, CD248, CD5 / Кластера дифференцировки 5, CD63 / Tspan-30 / тетраспанина-30, CEACAM5/CD66e, CT45A3, CTAG1A, CXORF61, DSE, GPA33, HPSE, KLK3, LCP1, LRIG3, LRRC15, потенцирующего фактора мегакариоцитов, МОК, MUC4, NDNL2, OCIAD1, PMPCB, PTOV1, RCAS1 / EBAG9, RNF43, ROPN1, RPLP1, SARNP, SBEM / MUCL1, TRP1 / TYRP1, CA19-9, неактивного трансмембранного рецептора тирозиновой протеинкиназы ROR1 (связанной с рецептором нейротрофической тирозинкиназы 1, или ROR1, или EC 2.7.10.1), тирозинкиназного рецептора ALK (киназы анапластической лимфомы, или CD246, или ALK, или EC 2.7.10.1), антигена простатических стволовых клеток (PSCA), антигена меланомы, преимущественно экспрессируемой в опухолях (ракового/тестикулярного антигена 130, или взаимодействующего с Ора белка 4, или OIP4, или преимущественно экспрессируемого антигена меланомы, или PRAME), ингибитора переносчика сигнала и активатора транскрипции 3 (фактора острофазовой реакции, или ДНК-связывающего белка APRF, или STAT3), антигена CD44 (CDw44, или эпикана, или рецептора III внеклеточного матрикса, или рецептора GP90 хоуминга/адгезии лимфоцитов, или HUTCH I, или гепарансульфата протеогликана, или антигена Hermes, или гиалуронатного рецептора, или фагоцитарного гликопротеина 1, или CD44), активатора лиганда CD40 (Т-клеточного антигена Gp39, или связанного с ФНО белка активации, или представителя 5 суперсемейства лигандов фактора некроза опухоли, или CD154, или CD40LG); представителя 13В суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли (трансмембранного активатора и взаимодействующего с CAML белка,

или CD267, или TACI, или TNFRSF13B); цитотоксического для клеток, экспрессирующих фактор некроза опухоли, представителя 17 суперсемейства рецепторов ФНО (антигена созревания В-клеток, или CD269, или TNFRSF17), антигена CD276 (гомолога 3 В7, или 4Ig В7 Н3, или костимулирующей молекулы, или 5 CD276), антигена поверхности миелоидных клеток CD33 (связывающего сиаловую кислоту Ig-подобного лектина 3, или gp67, или CD33), АДФ-рибозилциклазы/гидролазы циклической АДФ-рибозы 1 (гидролазы циклической АДФ-рибозы 1, или T10, или 2'-фосфо-АДФ-рибозилциклазы/трансферазы 2' циклической фосфо-АДФ-рибозы, или АДФ-рибозилциклазы 1, или CD38, или ЕС 10 3.2.2.6, или ЕС 2.4.99.20), представителя А семейства лектинов 14 с лектиновым доменом типа С (рецептора 5 эпидермального фактора роста, или EGFR5, или CLEC14A), рецептора фактора роста гепатоцитов (протоонкогена c-Met, или тирозиновой протеинкиназы Met, или рецептора фактора роста гепатоцитов/рассеивающего фактора (HGF/SF), или рецептора рассеивающего фактора, 15 или MET, или ЕС 2.7.10.1), молекулы адгезии эпителиальных клеток (ассоциированного с аденокарциномой антигена, или гликопротеина поверхности клеток Trop 1, или поверхностного антигена эпителиальных клеток, или эпителиального гликопротеина 314, или антигена KS 1/4, или KSA, или опухолеассоциированного переносчика кальциевого сигнала 1, или CD326, или 20 EPCAM), ганглиозида GD3, субъединицы альфа 2 рецептора интерлейкина 13 (связывающего интерлейкин 13 белка, или CD213a2, или IL13RA2); антигена каппа миеломы (КМА), антигена лямбда миеломы (ЛМА), латентного мембранного белка 1 (белка p63, или LMP1), меланома-ассоциированного антигена, цитотоксического для клеток, экспрессирующих антиген активации Т-лимфоцитов CD80 (антиген активации 25 В7-1, или контррецептор CTLA 4 В7.1, или CD80); цитотоксического для клеток, экспрессирующих антиген активации Т-лимфоцитов CD86 (антиген активации В7-2, или контррецептор CTLA 4 В7.2, или CD86), неактивной трансмембранной рецепторной тирозиновой протеинкиназы ROR1 (связанной с рецептором нейротрофической тирозинкиназы 1, или ROR1, или ЕС 2.7.10.1), апоптотической ингибиторной молекулы 3 Fas (рецептора Fc-фрагмента IgM, или регулятора 30 индуцируемого Fas апоптоза Toso, или TOSO, или FAIM3, или FCMR), константной области 1 бета-цепи Т-клеточного рецептора (TRBC1), рецептора 2 фактора роста эндотелия сосудов (киназы фетальной печени 1, или рецептора со встроенным киназным доменом, или рецепторной протеинтирозинкиназы flk 1, или VEGFR2, или

CD309, или KDR, или EC 2.7.10.1), альфа-фетопротеина (фетопротеина альфа 1, или альфа-фетоглобулина, или AFP), ракового/тестикулярного антигена 1 (аутоиммуногенного ракового/тестикулярного антигена NY ESO 1, или ракового/тестикулярного антигена б.1, или представителя 2 семейства L-антигенов, или STAG1A, или STAG1B), гликопротеина поверхности Т-клеток CD5 (антигена лимфоцитов Т1/Leu 1, или CD5), пролил-эндопептидазы FAP (мембраносвязанной желатиназы меланомы 170 кДа, или дипептидилпептидазы FAP, или интегральной мембранной серинпротеазы, или белка активации фибробластов альфа, или разлагающей желатин протеазы FAP, или сепразы, или FAP, или EC 3.4.21.26, или EC 3.4.14.5), молекулы адгезии нервных клеток 1 (антигена, распознаваемого моноклональным антителом 5.1H11, или CD56, или NCAM1), представителя А семейства лектинов 12 с лектиновым доменом типа С (миелоидного ингибиторного подобного лектину типа С рецептора, или ассоциированного с дендритными клетками лектина 2, или подобной лектинам типа С молекулы 1, или CLEC12A), интегрин альфа V (субъединицы альфа рецептора витронектина, или CD51, или ITGAV); цитотоксического для клеток, экспрессирующих интегрин бета 6 (ITGB6), субъединицы альфа 2 рецептора интерлейкина 13 (связывающего интерлейкин 13 белка, или CD213a2, или IL13RA2), гликопротеина трофобластов (M6P1, или онкофетального антигена 5T4, или онкофетального гликопротеина трофобластов 5T4, или активируемого Wnt ингибиторного фактора 1, или TPBG), гликопротеина трофобластов (M6P1, или онкофетального антигена 5T4, или онкофетального гликопротеина трофобластов 5T4, или активируемого Wnt ингибиторного фактора 1, или TPBG), представителя А семейства лектинов 12 с лектиновым доменом типа С (миелоидного ингибиторного рецептора, подобного лектину типа С, или ассоциированного с дендритными клетками лектина 2, или лектиноподобной молекулы 1 типа С, или CLEC12A), представителя семейства SLAM 7 (CD319, или мембранного белка FOAP 12, или CD2-подобного рецептора, активирующего цитотоксические клетки, или нового белка Ly9, или белка 19A, или CD2 подгруппы 1, или CS1, или SLAMF7), представителя семейства SLAM 7 (CD319, или мембранного белка FOAP 12, или CD2-подобного рецептора, активирующего цитотоксические клетки, или нового белка Ly9, или белка 19A, или CD2 подгруппы 1, или CS1, или SLAMF7), иммуноглобулина, ассоциированного с множественной лекарственной устойчивостью белка 3 (MRP3), тирозиновой протеинкиназы – протоонкогена ABL1, простатической кислотой фосфатазы, OY-TES-1, ACSM2A, альфа-актинина-4, перилипина-2, альфа-

фетопротеина, онкобелка онкогена лимфоидного бластного криза (Lbc), представителя семейства альдегид-дегидрогеназ 1 A1 (ALDH1A1), AML, ANKRD17, NY-BR-1, аннексина II, ARHGAP17, ARHGAP30, ARID1B, постоянного белка эндоплазматического ретикулума, 5'-аминоимидазол-4-карбоксамид-1-бета-d-рибонуклеотидтрансформилазы/инозиниказы (AICRT/I), ATR, ATXN2, ATXN2L, BAGE1, BCL11A, Bcl-xL, белка области кластеризации точек разрыва, сурвивина, Livin/ML-IAP, HM1.24, содержащего ВТВ-домен белка 2 (BTBD2), C6ORF89, карбоангидразы IX, CLCA2, CRT2, CAMEL, белка CAN, каспазы-5, каспазы-8, KM-HN-1, CCDC88B, циклина B1, циклина D1, CCNI, CDC2, CDC25A, CDC27, CDK12, кишечной карбоксилэстеразы, CEP95, CHAF1A, коактозин-подобного белка 1, CPSF, CRYBA1, TRAG-3, макрофагального колониестимулирующего фактора, CSNK1A1, меланома-ассоциированного хондроитинсульфата протеогликана (MCSP), катепсина H, антигена 1 рака легкого Китаюсю, P450 1B1 или CYP1B1, DDR1, онкогена DEK, DEK-CAN, Dickkopf-1 (DKK1), DNAJC8, DSCAML1, EEF2, содержащего GTP-связывающий домен фактора удлинения Tu белка, или SNRP116, EIF4EBP1, белка Mena человека, EP300, ETV5, TEL1 или ETV6, белка-энхансера группы Polycomb гомолога Zeste 2 (EZH2), F2R, F4.2, FAM53C, фактора роста фибробластов 5, или FGF5 (ФРФ-5), родственного формину белка в лейкоцитах 1 (FMNL1), фибромодулина (FMOD), FNDC3B, FKHR, GDP-L-фукозы GAS7, GF11, GIGYF2, GPNMB, O, A1, GPSM3, GRK2, GRM5, H3F3A, HAUS3, HERC1, HERV-K-MEL, HIVEP2, HMGN, HMNA1, гемоксигеназы-1 (HO-1), HNRPL, гепараназы, кодируемого HMSD-v минорного антигена гистосовместимости (МАГ), HSPA1A, Hsp70, HSPB1, гена X-1 немедленного раннего ответа (IEX-1), связывающего мРНК инсулиноподобного фактора роста (ИФР)-II белка 3 (IMP-3), IP6K1, IRS2, ITGB8, JUP, RU2AS, KANSL3, KLF10, KLF2, KLK4, KMT2A, K-ras, рецептора липидов низкой плотности (LDLR), LDLR-FUT, Мас-2-связывающего белка, KIAA0205, LPP, LRP1, LRRC41, LSP1, LUZP1, локуса К комплекса лимфоцитарного антигена 6 (LY6K), MACF1, MAP1A, MAP3K11, MAP7D1, матрилина-2, Mcl-1, MDM2, малатдегидрогеназы, MEF2D, MEFV, белка мембран жировых глобул молока BA46 (лактадгерина), меланотрансферрина, GNT-V или N-ацетилглюкозаминтрансферазы V, MIP, MMP14, матриксной металлопротеиназы-2, MORC2, антигена меланомы p15, MUC2, MUM, MYC, MYL9, гена нестандартного миозина класса I, N4BP2, NCBP3, NCOA1, NCOR2, NFATC2, NFYC, NIFK, нинеина, NPM, NPM1-ALK1, N-ras, OAS3, полипептида P, OGT, OS-9, ErbB3-связывающего белка 1, PAGE-4, P21-активируемой серинкиназы 2

(PAK2), neo-PAP, PARP12, PAX3, PAX3-FKHR, PCBP2, фосфоглицераткиназы 1 (PKG1), PLEKHM2, промиелоцитарного лейкоза или PML, PML-RARA, POLR2A, циклофилина В, PPP1CA, PPP1R3B, пероксиредоксина 5, протеиназы 3, связанного с паратиреоидным гормоном белка (PTHrP), рецептороподобной тирозиновой

5 протеинфосфатазы каппа, MG50, NY-MEL-1 или RAB38, RAGE, RALGAPB, RAR-альфа, RBM, RCSD1, рековерина, RERE, RGS5, RHAMM/CD168, RPA1, рибосомального белка L10a, рибосомального белка S2, RREB1, RSRP1, RTCB, SART, SCAP, маммаглобина А, сецернина 1, SDCBP, SETD2, SF3B1, общераспространенного

10 белка почек 1, SIK1, SIRT2, SKI, связывающего шпильку белка, SLC35A4, простеина, SLC46A1, SNRPD1, SOGA1, SON, SOX10, SOX11, SOX2, SOX-4, белка спермы 17, SPEN, SRRM2, SRSF7, SRSF8, SSX1, SSX2 или HOM-MEL-40, SSX4, STAT1, STEAP, STRAP, ART-1, SVIL, HOM-TE5-14/SCP1, CD138, SYNМ, SYNPO, SYT, SYT15, SYT-SSX1, SYT-SSX2, SZT2, TAPBP, TBC1D10C, TBC1D9B, hTERT, THNSL2, THOC6, TLK1, TNS3, TOP2A, TOP2B, АТФ-зависимого интерферон-чувствительного антигена

15 (ADIR), TP53, триозофосфатизомеразы или TPII, тропомиозина-4, TPX2, TRG, белка альтернативной рамки считывания Т-клеточного рецептора гамма (TARP), TRIM68, простатического специфического белка с транзиторным рецепторным потенциалом р8 (trp-p8), TSC22D4, протеинкиназы ТТК (ТТК), тимидилатсинтазы (TYMS), UBE2A, убиквитин-конъюгирующего фермента, варианта Kua, COA-1, USB1, NA88-A,

20 VPS13D, BING4, WHSC1L1, WHSC2, WNK2, WT1, XBP1, XPO1, ZC3H14, ZNF106, ZNF219, фактора связывания папилломавируса (PBF), E3-убиквитин-протеинлигазы UBR4.

[0231] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения TCR, CAR и/или SUPRA-CAR могут не содержать антигенсвязывающего домена, который

25 связывается с антигеном, выбранным из описанной выше группы рецепторов / лигандов / мишеней.

[0232] Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации TCR, CAR и/или SUPRA-CAR может содержать антигенсвязывающий домен, который связывается с антигеном, выбранным из группы, состоящей из: CD19, CD20, CD22, GD2, CD133,

30 рЭФР, GPC3, КЭА, MUC1, мезотелина, ИЛ-13R, ПСМА, ROR1, CAIX, Her2.

[0233] После введения нуклеиновой кислоты, кодирующей белок, указанная НКТ-подобная клетка или НКТ-подобные клетки могут быть размножены в культуре. Подходящие способы и реагенты для культивирования и размножения клеток хорошо известны специалисту в данной области техники. Способы по настоящему

изобретению могут дополнительно включать этап активации клеток активатором НКТ-клеток, активатором Т-клеток и/или активатором НК-клеток после размножения.

Указанные активатор НКТ-клеток, активатор Т-клеток и активатор НК-клеток могут соответствовать подробному описанию выше.

- 5 **[0234]** Согласно некоторым вариантам реализации изобретения клетки или клетки-мишени по настоящему изобретению, как описано выше, применяют для доставки груза, такого как нуклеиновые кислоты, дцРНК, миРНК, микроРНК, дцДНК, оцДНК, кДНК, рРНК, мРНК, тРНК, миРНК, dsRNAi, РНКи, органические соединения, цитотоксические препараты, антитела, ведотин, озогамин, эмтансин, дерукстефан, мертансин, мафодотин, ингибиторы тубулина, монометил ауристин-Е (ММАЕ) и
- 10 монометил ауристин-F (ММАF) являются пептидными аналогами доластатина-10, майтанзиноиды, алкалоиды барвинка, калихеамицин, дуокармицины, пирролобензодиазепиновые димеры, талирин, тезилин, индолинобензодиазепиновые псевдодимеры, соравтанзин, DM1, DM4, нейромедиаторы, ДНК-интеркаляторы,
- 15 антиметаболиты, эндостатины, нейротрофины, химиотерапия, или фактором роста, или антитело, токсин, радиоактивность, антибиотики, противогрибковые средства, противовирусные агенты, рецепторы, вирус, цитокин, липиды, хемокин, пептиды и белки, антипаразитарные средства, гормоны, антигены, нейроактивные агенты, агонисты или антагонисты рецепторов, малые молекулы, или любой тип
- 20 биологического груза или биологически активного груза.

[0235] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения клетки по настоящему изобретению могут применяться для доставки груза, не представляющего собой один или более из указанных выше грузов.

- - -

- 25 **[0236]** Также настоящее изобретение обеспечивает способы лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания (также называемого микробиологическим заболеванием) у субъекта. Согласно некоторым вариантам реализации указанный способ лечения представляет собой способ получения
- 30 популяции НКТ-подобных клеток у субъекта согласно описанию в тексте настоящего документа. Согласно некоторым вариантам реализации указанный способ лечения представляет собой способ мобилизации популяции НКТ-подобных клеток у субъекта согласно описанию в тексте настоящего документа. В этих вариантах осуществления НКТ-подобные клетки могут лечить рак, аутоиммунное заболевание или инфекционное заболевание посредством одного или механизма, описанного в тексте

настоящего документа. Согласно другим вариантам реализации указанный способ лечения представляет собой способ, включающий введение субъекту терапевтически эффективной дозы выделенных НКТ-подобных клеток по настоящему изобретению. Указанные клетки могут представлять собой любые клетки, выбранные из выделенной

5 НКТ-подобной клетки или популяции НКТ-подобных клеток согласно описанию выше, в том числе размноженные и неразмноженные, и/или активированные или неактивированные, и/или трансфицированные или нетрансфицированные клетки, описанные выше. Согласно указанным вариантам реализации субъект, рак, аутоиммунное заболевание, инфекционное заболевание и/или механизм

10 терапевтической эффективности могут соответствовать подробному описанию выше. [0237] Согласно вариантам реализации, в которых способ лечения представляет собой способ, включающий введение субъекту терапевтически эффективной дозы выделенных НКТ-подобных клеток по настоящему изобретению, субъект, которому вводят выделенные клетки, может представлять собой того же субъекта, из организма

15 которого выделили указанные клетки. Согласно таким вариантам реализации лечение может называться лечением аутологичными клетками. Термин «аутологичный» относится к любому материалу, происходящему от того же индивидуума, которому позже его повторно вводят, независимо от того, представляет ли указанный индивидуум собой человека или другое животное. Согласно другим вариантам

20 реализации, в которых способ лечения представляет собой способ, включающий введение субъекту терапевтически эффективной дозы выделенных НКТ-подобных клеток по настоящему изобретению, субъект, которому вводят выделенные клетки, может представлять собой не того субъекта, из организма которого выделили указанные клетки. Согласно таким вариантам реализации лечение может называться

25 лечением аллогенными клетками. Термин «аллогенный» относится к любому материалу, происходящему от одного индивидуума, который затем вводят другому индивидууму того же вида, независимо от того, представляет ли указанный индивидуум собой человека или другое животное. Соответственно, согласно

30 вариантам реализации, в которых способ лечения представляет собой способ, включающий введение субъекту терапевтически эффективной дозы выделенных НКТ-подобных клеток по настоящему изобретению, указанные клетки могут быть получены из аутологичного или аллогенного источника. Терапевтическая эффективность способов, в которых субъекту вводят выделенные НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению, описана в примере 16.

[0238] Способы лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания у субъекта в соответствии с настоящим изобретением могут дополнительно включать этап введения активатора НКТ-клеток, активатора Т-клеток и/или активатора НК-клеток субъекту. Указанные активаторы могут соответствовать
5 подробному описанию выше. Способы лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания у субъекта в соответствии с настоящим изобретением могут включать введение глюкокортикоида или клеток по настоящему изобретению субъекту в комбинации с одним или более дополнительными агентами, например, активатором НКТ-клеток, активатором Т-клеток и/или активатором дендритных НК-
10 клеток, как описано выше, или химиотерапевтическим агентом, таким как ингибитор иммунной контрольной точки. В указанном контексте «в комбинации с» может означать одновременное введение, или может означать отдельное и/или последовательное введение в любом порядке.

[0239] В настоящем документе термин «введение» относится к физическому введению
15 агента субъекту, с применением любых из различных способов и систем доставки, известных специалистам в данной области техники. Примеры путей введения агентов согласно описанию в настоящем документе включают внутривенный, внутримышечный, подкожный, внутрибрюшинный, спинальный или другие парентеральные пути введения, например, посредством инъекции или инфузии.

Выражение «парентеральное введение» в настоящем документе означает способы
20 введения, не относящиеся к энтеральному и местному введению, обычно путем инъекции, и включает, без ограничения, внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, внутрилимфатическую, внутриочаговую, интракапсулярную, интраорбитальную, внутрисердечную, внутрикожную,
25 внутрибрюшинную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную, эпидуральную и интрастернальную инъекцию и инфузию, а также электропорацию *in vivo*. Согласно некоторым вариантам реализации описанные в настоящем документе агенты могут вводиться непарентеральным путем, например, перорально. Другие
30 непарентеральные пути включают местный, эпидермальный или мукозальный путь введения, например, введение интраназально, вагинально, ректально, сублингвально или местно.

[0240] Выражение «системное введение» в настоящем документе неисключительным образом относится, в том числе, к внутривенному, внутрибрюшинному, подкожному

введению, введению через подслизистую оболочку носа, лингвальному введению, введению посредством бронхоскопии, внутривенному, внутриартериальному, внутримышечному, внутриглазному введению, введению в стриатум, подкожному, внутрикожному введению, введению через дермальный пластырь, через кожный
5 пластырь, введению через пластырь, введению в спинномозговую жидкость, в воротную вену, в головной мозг, в лимфатическую систему, внутриплевральному, ретроорбитальному, внутрикожному введению, введению в селезенку, внутрилимфатическому введению.

[0241] Термин «сайт введения» в настоящем документе неисключительным образом
10 относится, в том числе, к введению внутрь опухоли, или внутрь органа, например, почки, или печени, или поджелудочной железы, или сердца, или легкого, или головного мозга, или селезенки, или глаза, внутримышечно, в глаза, в стриатум, внутрикожно, через дермальный пластырь, через кожный пластырь, через пластырь, в спинномозговую жидкость, в головной мозг.

[0242] Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации настоящего
15 изобретения модулирующие глюкокортикоидный рецептор агенты могут вводиться перорально. Согласно вариантам реализации, в которых способ лечения по настоящему изобретению представляет собой способ, включающий введение субъекту терапевтически эффективной дозы выделенных НКТ-подобных клеток по настоящему
20 изобретению, указанные клетки могут быть нанесены непосредственно на орган или опухоль с помощью коллагеновых матриксов, композиций внеклеточного матрикса, биополимерных микронитей, изготовленных из фибрина или другого материала внеклеточного матрикса, пластырей, содержащих внеклеточный матрикс и биоразлагаемые материалы, пластырей на основе фибрина, пластырей на основе
25 альгината или агарозы, скаффолдов, состоящих из материалов внеклеточного матрикса и биоразлагаемого физиологически инертного материала, что, помимо прочего, может относиться к таким компонентам, как декстраны, покрытия стволовых клеток органоспецифическими антигенами или связывающими молекулами, остаточных внеклеточных матриксов, также известных как скаффолды, или децеллюляризованных
30 органов от доноров органов, расщепляемых *ex vivo*, или трупных органов; а также контактных линз. Предпочтительно указанные клетки вводят субъекту способом, выбранным из группы, состоящей из: внутривенной инъекции, внутрибрюшинной инъекции, внутрилимфатической инъекции, интратекальной инъекции, инъекции в

спинномозговую жидкость (СМЖ), прямой инъекции в опухоль, и в виде геля, наносимого на солидную опухоль или возле нее.

[0243] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения путь введения агентов и клеток согласно описанию в настоящем документе может не быть представлен собой одним или более из указанных выше путей.

- - -

[0244] Согласно настоящему изобретению также предложены модулирующие глюкокортикоидный рецептор (ГР) агенты и модулирующие ICAM3 агенты для применения в способе получения / мобилизации популяции NKT-подобных клеток согласно подробному описанию выше. Согласно настоящему изобретению также предложены модулирующие глюкокортикоидный рецептор (ГР) агенты и модулирующие ICAM3 агенты, для применения в способе лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания (также называемого микробиологическим заболеванием) у субъекта, причем указанный способ лечения представляет собой способ получения / активации / мобилизации популяции NKT-подобных клеток у субъекта согласно подробному описанию выше.

Предпочтительные варианты реализации включают глюкокортикоиды для применения в способе получения и/или мобилизации популяции NKT-подобных клеток согласно подробному описанию выше, и глюкокортикоиды для применения в способе лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания у субъекта, причем указанный способ лечения представляет собой способ получения и/или мобилизации популяции NKT-подобных клеток у субъекта согласно подробному описанию выше.

Другие предпочтительные варианты реализации включают глюкокортикоиды для применения в способе мобилизации популяции NKT-клеток согласно подробному описанию выше. Согласно некоторым конкретным предпочтительным вариантам реализации глюкокортикоид представляет собой дексаметазон.

[0245] Также настоящее изобретение обеспечивает применение модулирующих глюкокортикоидный рецептор (ГР) агентов или модулирующих ICAM3 агентов при изготовлении медикамента для применения в способе получения / мобилизации популяции NKT-подобных клеток согласно подробному описанию выше. Согласно настоящему изобретению также предложено применение модулирующих глюкокортикоидный рецептор (ГР) агентов или модулирующих ICAM3 агентов при изготовлении медикамента для применения в способе лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания (также называемого

микробиологическим заболеванием) у субъекта, отличающееся тем, что указанный способ лечения представляет собой способ получения и/или мобилизации популяции НКТ-подобных клеток у субъекта согласно подробному описанию выше.

[0246] Согласно настоящему изобретению также предложено применение

5 модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента для индукции и/или мобилизации популяции НКТ-подобных клеток, причем указанную популяцию НКТ-подобных клеток индуцируют способом получения и/или мобилизации популяции клеток у субъекта согласно подробному описанию выше.

10 - - -

[0247] Настоящее изобретение также обеспечивает способ получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК), включающий перепрограммирование НКТ-подобных клеток по настоящему изобретению для получения иПСК. НКТ-подобные клетки по настоящему изобретению для применения в способе получения иПСК могут представлять собой НКТ-подобные клетки, полученные и выделенные

15 **[0248]** Согласно некоторым вариантам реализации раскрытого способа получения иПСК перепрограммирование включает введение одной или более экспрессионных кассет, кодирующих Oct3/4, Klf4, Sox2 и C-мус, в клетки по настоящему изобретению.

20 Согласно некоторым вариантам реализации указанное перепрограммирование включает введение мРНК, кодирующей Oct3/4, KLF4, Sox2 и c-мус, в клетки.

Согласно некоторым другим вариантам реализации раскрытого способа получения иПСК указанное перепрограммирование может дополнительно включать введение одной или более экспрессионных кассет, кодирующих одно или более из: Sox1, Sox3, Sox15, Klf1, Klf2, Klf5, L-мус, N-мус, Nanog и/или LIN28, в клетки. Согласно другим вариантам реализации указанное перепрограммирование может дополнительно включать введение одной или более из: мРНК, кодирующей Sox1, Sox3, Sox15, Klf1, Klf2, Klf5, L-мус, N-мус, Nanog и/или LIN28, в клетки. Подходящие способы введения экспрессионных кассет или кодирующей мРНК в клетку хорошо известны специалисту

30 – например, введение путем электропорации, микроинъекции в клетки или способов трансфекции на основе липосом. Было описано применение ретровирусных систем, в том числе лентивирусных и аденовирусных систем, для перепрограммирования неплюрипотентных клеток в иПСК (источник: Stadtfeld et al, 2008, который включен в настоящий документ полностью посредством ссылки). Перепрограммирование

взрослых клеток в иПСК может также осуществляться с помощью плазмиды без применения вирусных систем трансфекции (источник: Okita et al, 2008, который включен в настоящий документ полностью посредством ссылки).

Oct-3/4

- 5 [0249] Oct-3/4 (Pou5f1; κДНК доступна у Bioclone, Сан-Диего, Калифорния) входит в семейство октамерных («Oct») транскрипционных факторов, и играет важнейшую роль в поддержании плюрипотентности. Отсутствие Oct-3/4 в клетках Oct-3/4+, таких как бластомеры и эмбриональные стволовые клетки, приводит к спонтанной дифференцировке в трофобласты, а присутствие Oct-3/4, соответственно, обеспечивает
- 10 плюрипотентность и потенциал дифференцировки у эмбриональных стволовых клеток. Различные другие гены семейства «Oct», в том числе близкородственные Oct-3/4 Oct1 и Oct6, неспособны вызывать индукцию, что демонстрирует исключительное значение Oct-3/4 для процесса индукции.

Семейство Klf:

- 15 [0250] Klf4 из семейства генов Klf представляет собой фактор генерации иПС-клеток мыши. Klf2 (κДНК доступна у Bioclone, Inc., Сан-Диего, Калифорния) и Klf4 (κДНК доступна у Bioclone, Inc., Сан-Диего, Калифорния) представляют собой факторы, способные обеспечивать генерацию иПС-клеток; родственные им гены Klf1 (κДНК доступна у Bioclone, Inc., Сан-Диего, Калифорния) и Klf5 (κДНК доступна у Bioclone, Inc., Сан-Диего, Калифорния) также способны к этому, хотя и со сниженной
- 20 эффективностью.

Семейство Sox

- [0251] Семейство генов Sox ассоциировано с поддержанием плюрипотентности, аналогично Oct-3/4, хотя оно ассоциировано с мультипотентными и унипотентными
- 25 стволовыми клетками, в отличие от Oct-3/4, который экспрессируется исключительно в плюрипотентных стволовых клетках (источник: Bowles et al, 2000, который включен в настоящий документ полностью посредством ссылки). Хотя Sox2 (κДНК доступна у Bioclone, Сан-Диего, Калифорния) был первым геном, который был использован для индукции, другие гены в семействе Sox, как было обнаружено, также задействованы в
- 30 процессе индукции. Sox1 (κДНК доступна у Bioclone, Inc., Сан-Диего, Калифорния) обеспечивает продуцирование иПС-клеток с эффективностью, аналогичной Sox2, и гены Sox3 (κДНК человека доступна у Bioclone, Inc., Сан-Диего, Калифорния), Sox15 и Sox18 также обеспечивают генерацию иПС-клеток, хотя и со сниженной эффективностью.

Семейство Мус

[0252] Гены семейства Мус представляют собой протоонкогены, задействованные при раке. С-мус (кДНК доступна у Bioclone, Inc., Сан-Диего, Калифорния) представляет собой фактор, вовлеченный в генерацию иПС-клеток мыши. Однако с-мус не
5 обязательно может быть необходим для генерации иПС-клеток человека. Применение генов семейства «мус» при индукции иПС-клеток затруднительно из-за непредсказуемости иПС-клеток в качестве клинической терапии, поскольку у 25% мышей, которым были трансплантированы индуцированные с-мус иПС-клетки, развивались летальные тератомы. N-мус (кДНК доступна у Bioclone, Inc., Сан-Диего,
10 Калифорния) и L-мус были идентифицированы как индукторы, заменяющие с-мус, с аналогичной эффективностью.

Nanog

[0253] В эмбриональных стволовых клетках Nanog (кДНК доступна у Bioclone, Inc., Сан-Диего, Калифорния), наряду с Oct-3/4 и Sox2, необходим для стимуляции
15 плюрипотентности (источник: Chambers et al, 2003, который включен в настоящий документ полностью посредством ссылки).

LIN28

[0254] LIN28 (кДНК доступна у Bioclone, Inc., Сан-Диего, Калифорния) представляет собой связывающий мРНК белок, экспрессируемый в эмбриональных стволовых
20 клетках и клетках эмбриональной карциномы, ассоциированный с дифференцировкой и пролиферацией (источник: Moss & Tang, 2003, который включен в настоящий документ полностью посредством ссылки).

[0255] Согласно некоторым вариантам реализации описанный способ получения иПСК дополнительно включает этап индукции дифференцировки иПСК по настоящему
25 изобретению. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации раскрытые способы могут дополнительно включать индукцию дифференцировки иПСК по настоящему изобретению в НКТ-клетки. Соответственно, настоящее изобретение также обеспечивает способ получения популяции НКТ-клеток, при этом указанный способ включает дифференцировку иПСК, полученных способом,
30 соответствующим настоящему изобретению, в линию НКТ-клеток. Согласно некоторым вариантам реализации описанные способы могут дополнительно включать индукцию дифференцировки иПСК по настоящему изобретению в Т-клетки. Соответственно, настоящее изобретение также обеспечивает способ получения популяции Т-клеток, при этом указанный способ включает дифференцировку иПСК,

полученных способом по настоящему изобретению, в линию Т-клеток. Такие дифференцированные клетки могут применяться в способах лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания (также называемого микробиологическим заболеванием) у субъекта в соответствии с настоящим

5 изобретением.

- - -

[0256] Настоящее изобретение также относится к способам получения *in vitro* популяции клеток, подобных естественным киллерным Т-клеткам (NKT-подобных клеток), выделенных NKT-подобных клеток или выделенных популяций NKT-подобных клеток согласно описанию в тексте настоящего документа. Способы *in vitro* по настоящему изобретению могут включать: получение клеток или популяции клеток CD3^{high} CD49b⁻; и приведение указанной клетки или указанных клеток CD3^{high} CD49b⁻ в контакт с одним или более цитокинами; причем указанная стадия приведения в контакт индуцирует превращение указанной клетки или указанных клеток в NKT-подобные клетки по настоящему изобретению. Указанные NKT-подобные клетки могут характеризоваться паттерном поверхностных белков, которые они экспрессируют, как описано в тексте настоящего документа. Согласно некоторым вариантам реализации указанная клетка или популяция клеток CD3^{high} CD49b⁻ может быть получена от субъекта, такого как субъект-человек. Субъект может представлять собой субъекта согласно определению в тексте настоящего документа. Согласно некоторым вариантам реализации этап приведения в контакт может включать приведение в контакт клетки или клеток с активатором NKT-клеток, активатором Т-клеток и/или активаторами NK-клеток согласно описанию в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации указанные один или более цитокинов могут содержать один или более цитокинов, описанных в тексте настоящего документа, в качестве активатора NKT-клеток, активатора Т-клеток и/или активатора NK-клеток. Согласно некоторым вариантам реализации указанные один или более цитокинов могут содержать один или более цитокинов, описанных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации один или более цитокинов могут содержать ИЛ-2 и ИФН-гамма. Согласно некоторым вариантам реализации указанные один или более цитокинов могут содержать ИЛ-2, ИФН-гамма и один или более дополнительных цитокинов. Способы *in vitro* по настоящему изобретению могут дополнительно включать стадии выделения, активации, размножения, введения нуклеиновой кислоты, генной инженерии для соответствия какой-либо мишени,

связывания с нацеливающими на опухоль фрагментами и т.д., согласно описанию в тексте настоящего документа. Клетка или клетки, полученные способами *in vitro* по настоящему изобретению, могут быть использованы в способах лечения, в которых НКТ-подобные клетки вводят субъекту, а также в способах получения

5 индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК), согласно описанию в тексте настоящего документа.

- - -

[0257] Также настоящее изобретение обеспечивает выделенные НКТ-подобные клетки, 10 полученные или мобилизованные любыми из способов согласно описанию в настоящем документе, а также выделенные популяции НКТ-подобных клеток, полученных или мобилизованных любыми из способов согласно описанию в настоящем документе. Также предложены НКТ-подобные клетки и выделенные популяции НКТ-подобных клеток, характеризующиеся паттернами поверхностных 15 белков, описанными подробно в тексте настоящего документа, и применение таких клеток в способах лечения по настоящему изобретению.

Примеры

[0258] Приведенные ниже примеры демонстрируют, что высокие дозы агонистов 20 глюкокортикоидных рецепторов, наряду с обеспечением почти полной лимфодеплеции лимфоцитов периферической крови (без влияния на количество нейтрофилов, тромбоцитов, эритроцитов и стволовых клеток), могут индуцировать продуцирование и мобилизацию новой популяции НКТ-подобных клеток у субъектов, включая мышей с иммунной системой человека (HIS), а также людей.

25 [0259] Указанные примеры также демонстрируют, что, наряду с проявлением известных свойств НКТ-клеток, популяция НКТ-подобных клеток, индуцированная высокими дозами агонистов глюкокортикоидных рецепторов, имеет новый паттерн экспрессии поверхностных белков, который позволяет им непосредственно захватывать раковые клетки и демонстрировать повышенную цитотоксическую 30 эффективность против солидного рака.

[0260] Высокие дозы агонистов глюкокортикоидов, соответственно, представляют собой многообещающую терапию для применения в лечении рака и заболеваний, опосредованных иммунными клетками, такими как лимфоциты.

СОКРАЩЕНИЯ

[0261] Терминология:

- ab альфа-бета
- A20 В-лимфома мыши
- 5 • AVM_NKT Клетка CD56+gdTCR+invTCR+ человека
- KM костный мозг
- CanMod Модель рака
- ОАК Общий анализ крови
- CD Кластер дифференцировки
- 10 • CD19 Маркер В-лимфоцитов
- CD3 Маркер Т-лимфоцитов
- CD4 Маркер хелперных Т-лимфоцитов
- CD45 Маркер лейкоцитов
- CD49b Маркер естественных киллерных клеток мыши
- 15 • CD56 Маркер естественных киллерных клеток человека
- CD8 Маркер цитотоксических Т-лимфоцитов
- ЦНС Центральная нервная система
- ПО Полный ответ
- Су/Flu циклофосфамид/флударабин
- 20 • DN двойные отрицательные
- ДФ Дексаметазона фосфат
- DOB Дата рождения
- DOM Дата изготовления
- ДНФ Дексаметазона натрия фосфат
- 25 • FDA Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств
- FSC Прямое рассеяние (размер клеток)
- gd Гамма-дельта
- GMP Надлежащая производственная практика
- 30 • GP Родительские клетки во втором поколении
- hCD45 CD45 человека
- ЭДЧ Эквивалентная доза для человека

- Inv Инвариантный
- LyDep Исследование лимфодеплеции
- mCD45 CD45 мыши
- МКЛ Мантйноклеточная лимфома
- 5 • MFI Средняя интенсивность флуоресценции
- Neoadj неoadъювант
- НХЛ Неходжкинская лимфома
- NK естественные киллерные клетки
- NKT естественные киллерные Т-клетки
- 10 • NKT new AVM-NKT-клетки
- NOD мышь, не страдающая ожирением и диабетом
- ФСБ Фосфатно-солевой буфер
- ПФА параформальдегид
- ЧО Частичный ответ
- 15 • P/P рецидивирующий/рефрактерный
- SBIR программа поддержки малого бизнеса в области инновационных исследований
- SD Стабилизация заболевания
- SSC боковое рассеяние (сложность структуры клеток)
- 20 • TCR α/β Т-клеточный рецептор альфа-бета
- TCR g/d Т-клеточный рецептор гамма-дельта
- TCRinv Инвариантный Т-клеточный рецептор
- UC пуповина
- WBC Лейкоциты

25

МАТЕРИАЛЫ И СПОСОБЫ

[0262] Острая высокая доза дексаметазона может также называться в настоящем документе Dex, AugmenStem™, PlenaStem™ или AVM0703. Новая популяция NKT-подобных клеток, индуцированных после введения острой высокой дозы дексаметазона (AVM0703), может также называться в настоящем документе NKT-клетками или AVM-NKT-клетками.

[0263] Для начальных исследований лимфодеплеции ранее не стимулированные мыши C57Bl/6 получали ЭДЧ 18 мг/кг ДФ через желудочный зонд. Самцов мышей C57Bl/6

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

[0264] Для характеристики индуцированной / мобилизованной популяции НКТ-подобных клеток (AVM-НКТ) у людей цельную кровь субъектов-людей отбирали в пробирку K2 EDTA Vacutainer (367862, BD Biosciences, Нью-Джерси) и отправляли в AVM Biotechnology при комнатной температуре. 100 мкл цельной крови окрашивали следующими антителами: CD45 AF700 (2D1), CD16 APC (3G8), iNKТ PECy7 (6B11), CD8 PE (SK1), CD14 FITC (M5E2), CD56 BV650 (5.1H11), $\gamma\delta$ TCR BV510 (B1), CD19 BV421 (H1B19), NKp44 APC (P44-8) (все от Biolegend, Сан-Диего, Калифорния); и CD3 APCVio770 (BW264/56) (Miltenyi Biotec, Сан-Хосе, Калифорния), 7-AAD (Biolegend, Сан-Диего, Калифорния) включали для различения живых и мертвых клеток. Окрашивание антителами проводили в течение 15 минут при комнатной температуре. Эритроциты, присутствующие в образце, лизировали с использованием лизирующего реагента BD FACS (BD Biosciences, Сан-Диего, Калифорния) в течение 10 минут при комнатной температуре, затем промывали и ресуспендировали в 300 мкл 1X DPBS CMF. В качестве контролей включали кровь здоровых пациентов от BloodWorks

(Сиэтл, штат Вашингтон), неокрашенный контроль и контроль флуоресценции без одной из меток (FMO). Образец объемом 250 мкл анализировали на проточном цитометре MACSQuant 16 (серийный №40150, Miltenyi Biotec, Сан-Хосе, Калифорния). Данные анализировали с использованием программного обеспечения Kaluza 2.1

5 (Beckman Coulter Lifesciences, Индианаполис, Индиана) для разных иммунных популяций. Данные проточной цитометрии, проанализированные с помощью Kaluza, объединяли для определения различных популяций клеток, гейтированных из живых CD45-лимфоцитов: Т-клетки CD3+, цитотоксические CD8+ Т-клетки, CD3+CD56+ (NKT-клетки) CD3-CD56+, CD3-CD56bright (NK-клетки) и CD3-CD19+ (В-клетки),
10 клетки CD3+ $\gamma\delta$ TCR+, клетки CD3+ $\gamma\delta$ TCRbright, клетки CD3+iTCR+, живые лейкоциты – гранулоциты CD3-CD16bright, живые лейкоциты – моноциты CD3-CD14+. Количества представлены в виде % лейкоцитов и числа клеток на мкл.

[0265] В экспериментах на гуманизированных мышах использовали высококонцентрированный состав большого объема AVM0703, который содержит
15 активный фармацевтический ингредиент дексаметазона натрия фосфат. AVM0703 содержит 26,23 мг/мл дексаметазона натрия фосфата (что эквивалентно 24 мг/мл дексаметазона фосфата, DP), 10 мг/мл цитрата натрия, 0,5 мг/мл динатрия эдетата и 0,035 мг/мл сульфита натрия (безводного). Материал AVM0703, используемый для этих исследований, соответствовал требованиям GMP и был изготовлен компанией
20 Hospira, Австралия. Вся информация о дозировке AVM0703 в этом отчете приведена применительно к фосфату дексаметазона. Самок мышей huNOG-EXL (n=6) получали от Taconic Bioscience (Джермантаун, Нью-Йорк). Самок мышей huCD34-NCG (n=8) получали от Charles River (Уилмингтон, штат Массачусетс). Мышей из обеих
25 организаций акклиматизировали к условиям лаборатории на протяжении по меньшей мере 5–6 дней.

[0266] Мышей дозировали три раза перорально 32 мг/кг дексаметазона фосфата (ДФ) или плацебо, и ждали заданной точки времени. После введения первой
(01.03.2021) и второй дозы через 1 неделю (08.03.2021), когда мыши достигали
30 заданной временной точки, у них забирали до 70 мкл крови/мышь посредством щечной пункции. Кровь анализировали с помощью проточной цитометрии. После введения третьей дозы через 28 дней после предыдущей дозы (04.05.2021), когда мыши достигали заданной точки времени исследования, их умерщвляли в соответствии со стандартной технологической процедурой, общее описание которой приведено ниже: Мышей анестезировали газообразным изофлураном. После анестезии собирали кровь

путем сердечной пункции, по меньшей мере 300 мкл крови немедленно помещали в покрытые ЭДТК микропробирки для анализа с помощью проточной цитометрии; отдельно собирали 300–400 мкл крови в стандартные микроцентрифужные пробирки, чтобы обеспечить свертывание крови для сбора сыворотки.

- 5 [0267] Для вымывания всей оставшейся крови из сосудистой системы проводили ретроградную перфузию через брюшную аорту путем медленной струйной инфузии 10 мл 5 Ед/мл гепарина в ФСБ. Собирали селезенки, тимусы, бедренные кости и грудину всех мышей. Селезенку и тимус обрабатывали для получения суспензии отдельных клеток для анализа с помощью проточной цитометрии. Кости очищали от мышц, используя марлю, пропитанную 70% этанолом, и обрабатывали для подготовки костного мозга к анализу с помощью проточной цитометрии. Поджелудочную железу и ободочную кишку препарировали в соответствии с видеороликами и обучающими файлами JoVE. Кал удаляли из ободочной кишки путем введения ледяного ФСБ через желудочный зонд 22 калибра. Также собирали другие органы, такие как тонкий
- 10 кишечник, слепая кишка, почки, легкие и печень. Массу всех органов регистрировали после удаления избыточной внешней жидкости. Мягкие органы сначала фиксировали в 4% ПФА, а затем переносили в 70% этанол через 24 часа и хранили при 4°C. Кости хранили непосредственно в 70% этаноле при 4°C. Кровь обрабатывали для анализа методом проточной цитометрии и сбора сыворотки. ОАК не проводили.
- 15 [0268] Проточную цитометрию полностью проводили на собственной базе. Кровь, селезенку, тимус и костный мозг обрабатывали с применением стандартного протокола окрашивания для проточной цитометрии. Для проточной цитометрии использовали MACSQUANT 16. Панели антител незначительно варьировали для первой, второй и третьей доз. Маркеры в анализе проточной панели после первой дозы включали
- 20 маркеры живых/мертвых клеток, hCD45, mCD45, hCD56, hTCRgd, hCD3, hCD8, hCD16, hCD19, hCD14. Маркеры в проточной панели после второй дозы включали все вышеперечисленное, плюс hTCRab и hiTCR. В анализе крови после второй дозы 7AAD, CD14 и CD19 вместе включали в канал для негативной селекции («dump channel»). Позже было обнаружено, что новые AVM-NKT также могут иметь
- 25 уникальный профиль экспрессии CD19 и CD14. Для дизайна панели третьей дозы, когда проводили полный анализ всех клеток, всем маркерам, упомянутым выше, были назначены уникальные каналы, чтобы избежать перекрытия, но TCRab не включали в
- 30 итоговую панель из-за ограничений открытых каналов.

[0269] По 70 мкл крови из щечной пункции собирали в покрытый ЭДТК микротейнер и проводили иммуноокрашивание. Антитела, используемые в панели, представляли собой CD45 мыши (клон: 30F-11), CD45 человека (клон: 2D1); CD3 человека (клон: НТ3а); CD8 человека (клон: SK1); CD16 человека (клон: 3G8); CD14 человека (клон: M5E2); TCRgd человека (клон: B1); CD56 человека (клон: 5.1H11); CD19 человека (клон: НВ19). Кровь окрашивали для определения маркера живых /мертвых клеток в течение 10 минут при комнатной температуре, а затем для определения поверхностных антител, упомянутых выше, в течение 20 минут при комнатной температуре в темноте. Эритроциты лизировали лизирующем буфером BD FACS, промывали DPBS и ресуспендировали в 300 мкл DBPS. 250 мкл образца анализировали на проточном цитометре MACSquant 16.

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

[0270] В международной патентной заявке PCT/US2019/054395 авторы настоящего изобретения представили ряд экспериментов, демонстрирующих, что высокие дозы агонистов глюкокортикоидных рецепторов могут вызывать почти полную лимфодеплецию лимфоцитов периферической крови, а также снижать количество герминативных центров в лимфоидных органах и истощать лимфоциты тимуса. Указанные эффекты достигаются по существу без влияния на количество нейтрофилов, тромбоцитов, эритроцитов и стволовых клеток (как гематопоетических стволовых клеток, ГСК, так и мезенхимальных стволовых клеток, МСК).

[0271] В настоящей работе исследования, проведенные на ранее не стимулированных мышах, показывают, что введение высоких доз агонистов глюкокортикоидных рецепторов приводит к почти полной лимфодеплеции лимфоцитов периферической крови по существу без влияния на количество нейтрофилов, тромбоцитов, эритроцитов (красных клеток крови) и стволовых клеток (как ГСК, так и МСК). Интересно, что, как было также обнаружено, высокие дозы агонистов глюкокортикоидных рецепторов индуцируют положительную регуляцию NKT-клеток.

[0272] Как показано на фиг. 1, у ранее не стимулированных мышей высокие дозы дексаметазона (ЭДЧ 18 мг/кг ДФ) значительно уменьшают абсолютное количество лимфоцитов (АКЛ за вычетом НК- и NKT-клеток) по сравнению с плацебо – эффект, который сохраняется вплоть до 21 дня после введения. Через 6 и 48 часов после

введения наблюдается почти полная лимфоабляция, причем этот эффект сопоставим с достигаемым при стандартной химиотерапии Су/Flu (ЭДЧ 13 мг/кг циклофосфида и ЭДЧ 0,8 мг/кг флударабина).

[0273] У ранее не стимулированных мышей высокие дозы дексаметазона

5 обеспечивают селективную абляцию Т- и В-лимфоцитов (эквивалентную абляции при стандартной химиотерапии Су/Flu; фиг. 2), моноцитов (превосходящую абляцию при химиотерапии Су/Flu; фиг. 3) и лимфодеплецию нейтрофилов при целевой клинической дозе (фиг. 4). Базофилы (снижение только в точке времени 6 часов), эозинофилы (снижение только в точках времени 24 часа и 48 часов), тромбоциты (см. 10 фиг. 5) и эритроциты сохраняются; ГСК (фиг. 6) и МСК сохраняются или их уровни повышаются. (* $p < 0,05$; # $p < 0,0001$).

[0274] Неожиданным образом, было также показано, что высокие дозы дексаметазона индуцируют положительную регуляцию НКТ (фиг. 7) и продуцирование новой популяции НКТ-клеток (AVM-НКТ). При исследовании с помощью проточной

15 цитометрии указанные новые AVM-НКТ-клетки представляют собой клетки CD49b+ и CD3 с очень ярким свечением (CD3^{high}CD49b+). Ранее описанные НКТ-клетки экспрессируют CD3 с MFI на 1 log ниже MFI AVM-НКТ-клеток (CD3^{med}CD49b+; фиг.8). AVM-НКТ-клетки появляются в крови нестимулированных мышей через 48 часов после введения высоких доз (ЭДЧ 18,1 мг/кг) агонистов глюкокортикоидных 20 рецепторов дексаметазона и бетаметазона, тогда как стандартная химиотерапия Су/Flu эти клетки не индуцирует.

[0275] Исследования с эскалацией дозы показывают, что однократная доза ЭДЧ от 6 до 12 мг/кг основания дексаметазона может индуцировать AVM-НКТ-клетки. ЭДЧ 15 мг/кг основания дексаметазона, в частности, индуцирует устойчивое получение AVM- 25 НКТ-клеток, как и схема дозирования с ЭДЧ 6+6 мг/кг, когда 6 мг/кг вводят в момент времени 0 и 6 мг/кг через 24 часа.

ПРИМЕР 2 – AVM-НКТ-клетка отвечает за лимфоабляцию Т- и В-клеток in vivo

[0276] Мононуклеарные клетки из периферической крови ранее не стимулированных 30 самцов мышей C57Bl/6 или суспензию одиночных спленоцитов инкубировали с концентрациями AVM0703, эквивалентными пиковым концентрациям в крови при введении острой высокой дозы AVM0703, достигаемым in vivo. В течение периода до 72 часов после добавления AVM0703 in vitro к мононуклеарным клеткам периферической крови или одиночным спленцитам апоптоз не наблюдался.

Отсутствие апоптоза мононуклеарных клеток периферической крови или спленоцитов *in vitro* показывает, что лимфоабляция *in vivo* обусловлена в значительной степени индукцией AVM-NKT-клеток.

5 ПРИМЕР 3 – Хоминг AVM-NKT-клеток в сайты опухолей

[0277] В предварительных исследованиях ранее не стимулированные мыши C57Bl/6 получали лечение высокой дозой дексаметазона, и периферическую кровь исследовали с помощью проточной цитометрии через заранее заданные интервалы времени для определения характеристик разных иммунных популяций. После лечения высокой дозой дексаметазона идентифицировали две популяции NKT: NKT-клетки, определяемые как CD3^{med}CD49b⁺, и новую популяцию AVM-NKT, определяемую как CD3^{high}CD49b⁺ (фиг. 8).

10 [0278] Было обнаружено, что AVM-NKT-клетки появляются в крови не стимулированных ранее мышей через 48 часов после введения супрафармакологических доз (ЭДЧ 18,1 мг/кг) дексаметазона (AVM0703) или бетаметазона. И напротив, ни стандартная химиотерапия Су/Фу, ни метилпреднизон не индуцируют указанные клетки в какой-либо значимой степени.

15 [0279] Как показано на фиг. 9 и в таблице 2, у нормальных мышей индукция AVM-NKT-клеток в селезенке происходит в пределах 48 часов после дозирования дексаметазоном, их наличие в периферической крови обнаруживается спустя 48 часов после введения дексаметазона и остается очевидным в кровотоке до 13 дня после введения дексаметазона. AVM-NKT-клетки не детектируются в селезенках ранее не стимулированных получавших плацебо мышей. Дозирование циклофосфамидом/флударабином не индуцирует указанную новую популяцию NKT.

25

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

Присутствие AVM-NKT-клеток	3 ч, кровь	3 ч, селезенка	3 ч, опухоль	48 ч, кровь	48 ч, селезенка	48 ч, опухоль
Ранее не стимулированные, плацебо	Н/В	Н/В	Н/П	отриц.	отриц.	Н/П
Ранее не	Н/В	Н/В	Н/П	+++	положит.	Н/П

стимулированные, AVM0703						
Модель A20, плацебо	+	+++	+	отриц.	Н/В	+
Модель A20, AVM0703	++	----	++++	отриц.	Н/В	+++

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

[0280] В отличие от временной динамики положительной регуляции AVM-NKT, наблюдаемой у нормальных, не пораженных заболеванием мышей, количественное определение AVM-NKT-клеток у мышей-носителей В-клеточной лимфомы A20 показало, что AVM-NKT-клетки в периферической крови не присутствуют. Вместо этого, как оказалось, у этих мышей-носителей опухоли происходит хоминг AVM-NKT-клеток в сайты опухоли – где усиленный некроз очевиден при исследовании через 48 часов после введения дексаметазона (фиг. 10А). Дополнительные исследования временной динамики продемонстрировали, что AVM-NKT-клетки обеспечивают максимальную абляцию лимфомы A20, имплантированной в боковые области мышам, в течение 3 часов после введения 18 мг/кг ЭДЧ дексаметазона фосфата, тогда как максимальная эрадикация метастазов A20 в кровь и тимус наблюдается через 24 часа после дозирования, а максимальная эрадикация метастазов A20 в костный мозг наблюдается через 48 часов после дозирования (фиг. 10В).

[0281] В соответствии с вышесказанным, высокие дозы дексаметазона, как было показано, значимо замедляют рост опухолей в модели A20 (фиг. 11; пример 6). Поскольку только приблизительно 30% клеток A20 подвергаются апоптозу через 72 часа после обработки высокой дозой дексаметазона *in vitro*, считается, что AVM-NKT-клетки играют роль в контроле роста опухоли.

[0282] Два миллиона клеток В-клеточной лимфомы A20 с плотностью $1,8 \times 10^7$ кл/мл к моменту взятия смешивали с равным объемом матригеля (по 100 мкл) и инъецировали подкожно в левый бок (общий объем 200 мкл) мышам BALB/c, получая модель солидной опухоли В-клеточной лимфомы. После развития опухолей (приблизительно через 7 дней или при достижении размера примерно $\sim 100\text{--}150 \text{ мм}^3$, что соответствует вполне развившейся опухоли) мыши получали лечение в соответствии с таблицей доз, приведенной ниже. Объемы опухолей измеряли калипером три раза в неделю и рассчитывали объем опухоли, используя уравнение $V = L \times W^2 \times 0,5$. Также три раза в

неделю и в дни дозирования для определения правильной дозировки измеряли массу тела. Считалось, что мыши достигают конечной точки исследования при достижении объема опухоли 1500 мм³, или при снижении массы тела более чем на 20%. При достижении мышами конечной точки исследования их умерщвляли следующим образом. Мышей анестезировали газообразным изофлураном. После анестезии собирали кровь путем сердечной пункции и затем перфузировали 10 мл раствора 5 Ед/мл гепарина в ФСБ. После этого извлекали из правого бока опухоль, снимая кожу с правой задней стороны тела мыши. Кожу растягивали, прикрепляли к подложке, и отделяли опухоль от кожи, аккуратно соскребая ее скальпелем. Опухоли фиксировали в течение 48 часов, после чего переносили в 70% этанол и помещали на хранение в кассетах при 4°C. Опухоли отправляли в Histotox Labs (Боулдер, Колорадо) для изготовления срезов и окрашивания. НКТ-клетки в опухолях идентифицировали путем окрашивания НКр46.

15 ПРИМЕР 4 – Рак крови повышает концентрацию AVM-НКТ-клеток в периферической крови.

[0283] Мышам инокулируют Т- или В-клеточную лимфому путем инъекции в хвостовую вену 1–5 М клеток лимфомы в фазе логарифмического роста. Через 6 часов – 13 дней у мышей собирали кровь и определяют количества AVM-НКТ в крови с помощью проточной цитометрии путем гейтирования по очень высоким уровням CD3 (с MFI по меньшей мере на 0,5 log выше, чем у Т-лимфоцитов) и положительным по CD49b клеткам, или путем гейтирования по НКр46. По сравнению с ранее не стимулированными мышами или носителями солидных опухолей, например, клеток Т- или В-лимфомы, заключенных в матригель и имплантированных п/к в боковую область, у мышей с циркулирующими клетками Т- или В-лимфомы значительно повышены количества AVM-НКТ в периферической крови.

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

[0284] Мыши Balb/c имеют гаплотип ГКГС «d»: H-2K: *d* (H-2K_d). H-2D: *d* (H-2D_d). H2-L: *d* (H-2L_d). Aαβ: *d, d*. Eαβ: *d, d*. Mls1: *b*. Mls 2: *a*. I-A: *d* (I-A_d). I-E: *d* (I-E_d). Qa-1: *b* (Qa-1_b). Qa-2: (Qa-2_a).

[0285] Мыши C57Bl/6 имеют гаплотип ГКГС «b»: H-2K: *b* (H-2K_b). H-2D: *b* (H-2D_b). H2-L: *null* (нулевой). Aαβ: *b, b*. Eαβ: *b, b*. Mls1: *b*. Mls 2: *b*. I-A: *b* (I-A_b). I-E: *null* (нулевой). Qa-1: *b* (Qa-1_b). Qa-2: (Qa-2_a).

[0286] AVM NKT, индуцированные у ранее не стимулированных мышей Balb/c, представляют собой клетки с высокими значениями MFI CD3, аналогичные AVM-NKT периферической крови, индуцированным у ранее не стимулированных мышей C57Bl/6, а AVM-NKT у ранее не стимулированных мышей Balb/c представляют собой положительные по TCR-гамма/дельта клетки. Многие из клеток являются отрицательными по NKp46, что указывает на то, что они не активированы. Указанный пример демонстрирует, что экспрессия ГКГС может определять целевой орган.

[0287] ГКГС может контролировать миграцию AVM_NKT-клеток: AVM_NKT-клетки присутствуют в крови у ранее не стимулированных получавших лечение AVM0703 самцов мышей C57Bl6. AVM_NKT-клетки присутствуют в жировой ткани и костном мозге у ранее не стимулированных получавших лечение AVM0703 самцов мышей Balb/c. AVM_NKT-клетки присутствуют в опухолях у получавших лечение AVM0703 самцов мышей Balb/c – носителей опухолей. Новые NKT у ранее не стимулированных мышей Balb/c также представляют собой клетки, положительные по tCRgd, B220-, NKp46+/-, Ly6G-, CD4-, CD8-, CD3high, MFI 10492 и CD49b+.

ПРИМЕР 6 – Острые высокие дозы дексаметазона оказывают эффекты, обеспечивающие киллинг опухоли, при Т-клеточной и В-клеточной лимфоме, предотвращают или задерживают гипергликемию у мышей NOD со спонтанным диабетом, обращают у мышей NOD прогрессирование диабета с ранним началом и прогрессирование диабета у мышей NOD со сформировавшимся диабетом

[0288] Было показано, что высокая доза дексаметазона значительно задерживает рост опухоли в модели опухоли В-клеточной лимфомы A20 (фиг. 11). Ряд последующих экспериментов (описанных в заявке PCT/US2021/019773, содержание которой полностью включено в настоящий документ посредством ссылки) подтвердил эффект киллинга опухоли острой высокой дозы дексаметазона в модели опухоли В-клеточной лимфомы A20 и модели ксенотрансплантата Т-клеточной лимфомы (CCRF-CEM) и продемонстрировал способность высокой дозы дексаметазона предотвращать гипергликемию и обращать диабет у мышей NOD при раннем начале и у мышей NOD со сформировавшимся диабетом.

Таблица 3: Примеры схем дозирования

Исследование	Дизайн	Доза (дозы) AVM0703 (ДФ), ЭДЧ, мг/кг	Доза 1	Доза 2	Доза 3	Доза 4	Доза 5	Доза 6	Доза 7	Доза 8	Доза 9	
A20_1	Повторное введение	18	7	10	18	23	24	29	36	43	50	
		Число достигнувших конечной точки через:						1	3	1	Резистентность?	
	1–10 с полным некрозом, дозировки согласно описанию выше;											
	Мыши 1–5 с полным некрозом, дозировки согласно описанию здесь							X	X	X	X	X
A20-3	КДО	7, 18, 25	10	17	25	32	39	18 и 26 мг/кг, некроз 50–80%				
Видимый некроз на КДО; обратно пропорциональная зависимость меченого CD3 на КДО												
A20_4	Комбинация CyFlu	18	1	AVM	1	AVM						
			1	AVM	4	CyFlu	67	AVM	74	CyFlu		
				CyFlu		CyFlu						
A20_5	КДО	18, 22, 25	15	31	38	45						
A20_7	AVM, APP, Mylan	18	9	16	23							
A20 представляет собой В-лимфому мыши												
CCRF-SEM	Ксенотрансплантат Т-лимфомы	18	7	14	21	28	35	42	49	56	63	

Исследование	Дизайн	Доза (дозы) АVM0703 (ДФ), ЭДЧ, мг/кг	Доза 1	Доза 2	Доза 3	Доза 4	Доза 5	Доза 6	Доза 7	Доза 8	Доза 9
	человека										
		Рост опухоли полностью отсутствует									
КДО: кривая зависимости «доза-ответ»		Доза соответствует числу дней после имплантации опухоли									

ПРИМЕР 7 – Идентификация AVM-NKT-клеток у субъектов-людей, получавших лечение острыми высокими дозами дексаметазона

[0289] После идентификации AVM-NKT-клеток у мышей имеющиеся данные для субъектов-людей, получавших лечение высокими дозами дексаметазона,

5 анализировали повторно.

[0290] В случае пациентов с остеоартритом, согласно указаниям из руководства «Physician Practice of Medicine», 4 пациентам вводили 3–6 мг/кг дженерика дексаметазона (д-р Loniewski, «Advanced Orthopedic Specialists», Брайтон, Мичиган).

10 [0291] Повторно анализировали данные проточной цитометрии для 4 пациентов, выполненной через 48 часов после лечения дозой дексаметазона в 6 раз ниже дозы, которую применяли для максимальной индукции AVM_NKT у мышей. На диаграммах рассеяния CD45/CD56 от одного из четырех пациентов видно, что новая популяция клеток, соответствующая AVM-NKT-клеткам, идентифицированным у мышей, появлялась через ~48 часов после лечения (фиг. 12).

15 [0292] Как показано на фиг. 13, новая популяция клеток с очень ярким свечением CD56 также наблюдалась у пациента с раком предстательной железы через час после четвертого введения AVM0703 путем инфузии в дозе 6 мг/кг. Указанный пациент с раком предстательной железы представлял собой пациента без возможных вариантов терапии после многолетнего лечения рака, и он получил в общей сложности 4 инфузии

20 AVM0703 через интервалы, составлявшие по меньшей мере 28 дней.

[0293] По сравнению со здоровым донором крови у указанного пациента с раком предстательной железы имелись признаки новой популяции клеток с тусклым свечением CD3 (CD3dim), которые пропадали через час после введения AVM0703; тем не менее, после этого в крови появлялась новая популяция клеток с очень ярким

25 свечением CD56, которая больше не наблюдалась через 3 часа после инфузии.

[0294] По сравнению со здоровым донором крови у пациента с раком предстательной железы присутствовала популяция клеток CD3dim и NKp46dim до инфузии, и через час после инфузии AVM0703 в дозе 6 мг/кг у пациента появлялась новая популяция CD56+ с очень ярким свечением и CD3dim, отрицательная по CD45dim и дважды

30 отрицательная по CD4/CD8.

ПРИМЕР 8 – Получение и мобилизация AVM-NKT-клеток человека у гуманизированных мышей

[0295] Гуманизированным мышам BRGSF на основе Balb/c от Genoway, полученным путем трансплантации стволовых CD34+ клеток пуповинной крови человека облученным мышам, у которых отсутствуют В- и Т-лимфоциты мыши, и НК-клетки мыши, однако имеется функциональная система комплемента мыши, перорально вводят дозы ЭДЧ 18–45 мг/кг ДНФ. Через 24-48 часов можно наблюдать новую популяцию клеток, соответствующую AVM-NKT-клеткам, идентифицированным у негуманизированных мышей. Клетки CD56+ человека можно наблюдать в крови приблизительно через 36 часов – 13 дней спустя.

Модель на мышах HuCD34-NCG

10 [0296] Мышь HuCD34-NCG от Charles River представляет собой готовую для исследований модель иммунной системы, подобной человеческой, у мышей, полученную путем адоптивного переноса стволовых клеток CD34+. Мыши HuCD34-NCG представляют собой идеальную платформу in vivo для оценки эффективности соединений, модулирующих иммунную систему человека. Отсутствие или позднее начало болезни «трансплантат против хозяина» (БТПХ) у гуманизированных мышей делает их идеальными для долгосрочных исследований.

15 [0297] Мышей NCG гуманизируют путем адоптивного переноса с применением происходящих из пуповинной крови человека стволовых клеток CD34+ после миелоаблативного лечения. Мышам NCG от 4 доноров (n=2 на донора) перорально вводят дозы ЭДЧ 18–45 мг/кг ДНФ. Через 24-48 часов можно наблюдать клетки, соответствующие AVM-NKT-клеткам, идентифицированным у негуманизированных мышей, в количестве около 0,2–3% от общего количества спленоцитов, с помощью проточной цитометрии. Клетки CD56+ человека можно наблюдать в крови приблизительно через 36 часов – 13 дней спустя.

25 Модель на мышах huNOG-EXL

[0298] huNOG EXL от Taconic в среднем имеют 54% клеток CD45, положительных по CD45 человека. Шесть мышей huNOG EXL с гуманизированной иммунной системой от 3 доноров (n=2 на донора) получают перорально дозы ЭДЧ 18–45 мг/кг ДНФ. Через 24-48 часов можно наблюдать клетки, соответствующие клеткам AVM-NKT, идентифицированным у негуманизированных мышей, в количестве около 0,2–3% от общего количества спленоцитов, с помощью проточной цитометрии. Клетки CD56+ человека можно наблюдать в крови приблизительно через 36 часов – 13 дней спустя.

ПРИМЕР 9 – Определение характеристик AVM-NKT (NKT-подобных клеток), индуцированных / мобилизованных у субъектов-людей.

5 [0299] Доклинически были охарактеризованы AVM-NKT-клетки, индуцированные AVM0703, которые продемонстрировали активность в отношении меланомы мыши, В-лимфомы мыши, ксенотрансплантата Т-лимфомы человека и диабета.

[0300] Образцы крови собирали у субъектов-людей с раком, получавших AVM0703, и определяли характеристики клеток с помощью протокола поверхностного окрашивания цельной крови человека, приведенного выше. AVM0703 индуцирует продуцирование и мобилизацию клетки, подобной естественной киллерной $\gamma\delta$ -Т-клетке (CD56+ $\gamma\delta$ TCR+). Интересно, что мобилизованная NKT-подобная клетка, как было также обнаружено, экспрессирует iTCR (фиг. 14). Это открытие может объяснить, почему клетки, индуцированные AVM0703, обладают активностью как в отношении рака, так и в отношении диабета 1 типа, в то время как клетки iNKT и $\gamma\delta$ T обычно описывают как активные в отношении только одного заболевания, но не в отношении другого. Мобилизованные клетки, как правило, также представляют собой CD16+ и NKp44+ (фиг. 14).

15 [0301] Мобилизация клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+ (1,64% лейкоцитов) в цельную кровь происходила после введения AVM0703, в пределах 30 минут после инфузии. Эти клетки гейтировали из всех живых лейкоцитов (белых клеток крови). У репрезентативного субъекта эти клетки также представляли собой клетки, положительные по iNKT (~96% новых клеток), NKp44 (~97% новых клеток), CD8dim/- (~98% новых клеток), CD19+ (85% новых клеток), CD16+ (86% новых клеток), CD14+ (67% новых клеток). Количества представлены здесь в виде % клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+. Было также обнаружено, что клетки CD56+ $\gamma\delta$ TCR+ iTCR+ экспрессируют CD3, CD45 и в некоторых случаях не экспрессируют CD4. Было также обнаружено, что некоторые клетки CD56+ $\gamma\delta$ TCR+ iTCR+ экспрессируют $\alpha\beta$ TCR.

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

30 [0302] Аутологичные или аллогенные AVM-NKT-клетки вводят либо в/в, либо в/б пациенту за 6–96 часов до проведения клеточной терапии. Клеточная терапия может проводиться с целью регенерации, для лечения рака, для лечения аутоиммунного заболевания или для лечения инфекции или любого другого медицинского состояния, оправдывающего проведение клеточной терапии.

ПРИМЕР 11 – AVM-NKT индуцируют синдром лизиса опухоли

[0303] AVM-NKT нацеливаются на опухоли и образуют полосы атакующих клеток, как «армия» внедряющихся в опухоль со всех сторон. Возникает синдром лизиса опухоли, который у мышей не поддается лечению и может приводить к смерти. Происходит повышение уровней клинических биохимических маркеров синдрома лизиса опухоли, таких как мочевая кислота. При макроскопическом исследовании опухолей обнаруживается полужидкое маслянистое содержимое, заключенное в мембрану опухоли.

5

10

ПРИМЕР 12 – AVM-NKT-клетки используют для подготовки пациента для лечения рака или другого серьезного медицинского лечения

[0304] Аутологичные или аллогенные AVM-NKT-клетки вводят либо в/в, либо в/б пациенту с функциональным статусом, который не позволяет использовать медицинскую терапию, такую как химиотерапия, клеточная терапия, трансплантация органа или костного мозга. Функциональный статус пациента улучшается таким образом, что становится возможным проведение медицинского лечения.

15

ПРИМЕР 13 – AVM-NKT-клетки вызывают псевдопрогрессирование опухоли

[0305] Кажется, что опухоли после лечения AVM-NKT-клетками продолжают расти, однако этот рост представляет собой псевдопрогрессирование опухоли за счет других иммунных клеток, которые AVM-NKT-клетки привлекают в опухоль, либо путем высвобождения цитокинов и хемокинов, либо путем непосредственного вовлечения других иммунных клеток. В результате опухоль становится полностью бесклеточной и резорбируется.

20

25

ПРИМЕР 14 – AVM-NKT-клетки применяют для лечения любого типа рака, болезни «трансплантат против хозяина», аутоиммунитета или связанных с иммунитетом нежелательных явлений в результате иммунотерапии

[0306] AVM-NKT-клетки направленно мигрируют и нацеливаются как на рак крови, так и на солидный рак, а также на фиброидные опухоли, доброкачественные опухоли и аутореактивные Т- и В-лимфоциты.

30

ПРИМЕР 15 – AVM-НКТ-клетки детектируют у субъектов-людей с Р/Р НХЛ, получавших лечение острыми высокими дозами дексаметазона, а также у гуманизированных мышей, получавших лечение острыми высокими дозами дексаметазона

5 **[0307]** Краткий обзор

[0308] В клиническом исследовании Р/Р НХЛ человека биспецифическая клетка, положительная по TCR гамма-дельта и инвариантному TCR, мобилизуется в кровь в течение 30–60 минут после введения дозы AVM0703 от 6 мг/кг до 18 мг/кг. Эта новая индуцированная иммунная клетка не обнаруживается в крови здоровых мышей в среде, свободной от патогенов, или в крови здоровых в некоторой степени доноров-людей (не находящихся в среде, свободной от патогенов), однако при наличии рака в исходный момент у пациентов экспрессировалась на низких уровнях эта новая биспецифическая клетка, которая также экспрессирует CD56 (маркер естественных киллерных клеток). Таким образом, указанные клетки представляют собой

10

положительные по TCR гамма-дельта и инвариантному TCR биспецифические клетки, подобные естественным киллерным Т-клеткам.

[0309] Авторы предполагают, что раковое окружение может индуцировать индукцию этих клеток, но максимальная мобилизация этих клеток в кровь не происходит до дозирования AVM0703, аналогично результатам, наблюдаемым в модели лимфомы

20

A20 у мышей (фиг. 11, примеры 3 и 6). У одного пациента с плоскоклеточной карциномой ЦНС, получавшего благотворительно-испытательное лечение, наблюдался иммунный инфильтрат, характеризующийся покраснением кожи, ограниченной областью опухоли ЦНС на левой стороне головного мозга, в пределах 30 минут после начала инфузии 18 мг/кг AVM0703 (данные не показаны).

[0310] Интересно, что присутствие этих клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+ iTCR+ ассоциировано с клиническим ответом у пациентов в клиническом исследовании Р/Р НХЛ. Единственный пациент (108-004), у которого не выявлены эти клетки в исходный момент или после дозирования AVM0703, является единственным пациентом, у которого отсутствовал какой-либо объективный клинически благоприятный ответ

30

после AVM0703.

[0311] У мышей AVM0703 в ЭДЧ (эквивалентные дозы для человека) 18 мг/кг в расчете на фосфат дексаметазона индуцирует продуцирование клеток с высоким содержанием CD3 в селезенке, костном мозге и тимусе и мобилизацию этих клеток из селезенки в кровь и в В-клеточную лимфому A20 мыши, независимо от того, находятся

ли клетки A20 в солидной опухоли, инъецированной в боковую область, в костном мозге, в селезенке, в тимусе или в крови. Наиболее быстрая первичная мобилизация происходит в опухоли, где максимальный эффект киллинга A20 наблюдается через ~3 часа после дозирования.

5 [0312] Ранее не стимулированные мыши, как правило, не экспрессируют эти клетки ни в одном из исследуемых органов. Различные штаммы мышей имеют различную чувствительность к AVM0703 применительно к индуцированию и мобилизации этих клеток, и собственно опухолевая среда может индуцировать продуцирование этих клеток в селезенке, но AVM0703 требуется для оптимальной мобилизации и
10 нацеливания клеток на опухоль.

[0313] Гуманизированные мыши, приобретенные как у Charles River, так и у Taconic, несущие лимфоидный компартмент человека, также мобилизуют клетки hCD45+ CD56+ $\gamma\delta$ TCR+ invTCR+ после дозирования AVM0703.

15 [0314] ОБЗОР ДАННЫХ ПО ЛЮДЯМ ДЛЯ ПАЦИЕНТОВ С Р/Р НХЛ ИЗ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ AVM0703

[0315] 101-001 (6 мг/кг): CD56+ $\gamma\delta$ TCR+ присутствуют на незначительных уровнях в крови до инфузии и увеличиваются с 1,6% (76 клеток/мкл крови) до 3,48% (165 клеток/мкл крови) всех CD45+ клеток через час после инфузии 6 мг/кг AVM0703.

20 Указанные клетки также представляют собой клетки invTCR+, и у этого пациента также $\alpha\beta$ TCR+, при гейтировании клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+ на гистограммы экспрессии invTCR и $\alpha\beta$ TCR. По размеру и сложности они представляют собой преимущественно крупные гранулированные лимфоцитоподобные клетки (выглядят как красные точки на графиках FSC при сравнении с SSC; фиг. 15).

25 [0316] При использовании другого подхода к гейтированию, включающего гейтирование лейкоцитов CD56+ на диаграмму рассеяния с $\gamma\delta$ TCR по оси X и invTCR по оси Y, среди лейкоцитов обнаруживаются тройные положительные клетки CD56+ $\gamma\delta$ TCR+iTCR+, в количестве 0,15% до инфузии (7 клеток/мкл) и 0,24% через 1 час после инфузии (11,4 клеток/мкл). Эти клетки не обнаруживаются на 3 день после
30 инфузии, что предполагает хоминг клеток в сайты опухоли, и они составляют 1,74% всех лейкоцитов на 14 день (78,7 клеток/мкл). У этого пациента имелись признаки вспышки опухоли и стабильного заболевания (C3) по результатам ПЭТ/КТ на 28 день. Эти данные приведены на фиг. 16 и вместе с % гейтированных GP (GP представляют собой лейкоциты) обобщены в таблице 4 ниже.

Таблица 4: Характеристики CD56+ $\gamma\delta$ TCR+invTCR+ 101-001

	% CD56+ $\gamma\delta$ TCR+ iTCR+ от общего количества лейкоцитов	Клетки CD56+ $\gamma\delta$ TCR+iTCR+, клеток/мкл	Ниже как % клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+iTCR+					
			CD19+	TCR $\alpha\beta$	CD8med	CD8hi	CD3	CD45
До инфузии	0,15	7	55	99	84		56	99
1 час	0,24	11,4	54	100	86		39	99
День 3	0,00							
День 14	1,74	78,7	22	99	94		99	99,5

[0317] 103-002 (6 мг/кг): Количества клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+ были высокими до инфузии (9,3% всех клеток CD45+, 735 клеток/мкл крови) и снижались в крови через 1 час после инфузии (6,54% всех клеток CD45+, 517 клеток/мкл крови). Поскольку у этого пациента имелись признаки «вспышки» опухоли и ЧО на основании ПЭТ/КТ на 28 день, это позволяет предположить, что AVM-NKT были нацелены на опухоль после инфузии AVM0703. Не все клетки у этого пациента являются биспецифическими; только приблизительно 10% клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+ коэкспрессируют invTCR. У этого пациента также наблюдалась экспрессия более высоких уровней CD8, в том числе клеток CD8+ с высокой MFI.

[0318] При использовании другого подхода к гейтированию, включающего гейтирование лейкоцитов CD56+ на диаграмму рассеяния с $\gamma\delta$ TCR по оси X и invTCR по оси Y, измеряли количества тройных положительных клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+iTCR+ и характеризовали экспрессированные маркеры. На 3 день не наблюдалось окрашивания CD19 для каких-либо клеток, кроме 4% клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+ iTCR+, хотя наличие популяции лимфоцитов было очевидным, исходя из данных FCS и SSC, и только 60% клеток были положительными по CD3 по данным проточной цитометрии. Эти данные показаны на фиг. 17 и обобщены в таблице 5 ниже.

Таблица 5: Характеристики CD56+ $\gamma\delta$ TCR+invTCR+ 103-002

	% CD56+ $\gamma\delta$ TCR+ iTCR+ от	Клетки CD56+ $\gamma\delta$ TCR+iTCR+, клеток/мкл	Ниже как % клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+iTCR+					
			CD19+	TCR $\alpha\beta$	CD8med	CD8hi	CD3	CD45

	общего количества лейкоцитов							
До инфузии	1,13	89,3	0,91	72	4,6	3,9	5,6	81
1 час	0,83	65,6	0,78	79	2,9	2,6	4,2	92
День 3	1,99	366,2	4,2	54	30	2	67	17
День 14	0,42	27	1,76	78	70	2,4	31,5	98

[0319] 103-005 (9 мг/кг): Исходные клетки CD56+ γ δ TCR+ составляли 2,7% клеток CD45+, и все они были биспецифическими по invTCR (фиг. 18, сверху слева). α β TCR не был включен в эту проточную панель. Они были в основном отрицательными по CD8, но 95% были положительными по CD14, а 60% были положительными по CD16, что указывало на активированное состояние. 13% клеток были положительными по CD19.

[0320] Через час после введения 9 мг/кг AVM0703 (фиг. 18, сверху справа) количество клеток CD56+ γ δ TCR+ уменьшалось до 0,21% клеток CD45+; поскольку у этого пациента наблюдались признаки вспышки опухоли и ЧО по результатам ПЭТ/КТ на 28 день, это предполагает, что AVM-NKT-клетки были нацелены на сайты опухоли.

[0321] При использовании другого подхода к гейтированию, включающего гейтирование лейкоцитов CD56+ на диаграмму рассеяния с γ δ TCR по оси X и invTCR по оси Y, измеряли количества тройных положительных клеток CD56+ γ δ TCR+iTCR+ и характеризовали экспрессированные маркеры. У этого пациента, у которого наблюдался клинический ответ, отмеченный ГИ в пределах 1 недели, и ЧО по результатам ПЭТ/КТ на 28 день, наблюдались высокие уровни клеток, которые резко снижались в крови через час после инфузии 9 мг/кг AVM0703, что указывает на хоминг в опухоль. Эти данные показаны на фиг. 18 и обобщены в таблице 7 ниже.

Таблица 7: Характеристики CD56+ γ δ TCR+invTCR+ 103-005

	% CD56+ γ δ TCR+ iTCR+ от общего количества	Клетки CD56+ γ δ TCR+iTCR+, клеток/мкл	Ниже как % клеток CD56+ γ δ TCR+iTCR+						
			CD19+	CD14+	CD8me d	CD8h i	CD16	CD3	CD45

	а лейкоцито в								
До инфузи и	13,89	347,3	8	76	4	2	67	30	98
1 час	0,87	21,8	33,9	76	17		66	6	99
День 3	2,67	82,8	28	8	15		84	10	63
День 14	0,66	22,4	99	81	16		37	66	84

[0322] 103-006 (9 мг/кг): Исходные клетки CD56+ $\gamma\delta$ TCR+ составляли 3,84% клеток CD45+. $\alpha\beta$ TCR и invTCR не были включены в эту проточную панель. Клетки CD56+ $\gamma\delta$ TCR+ также были положительными по CD16, CD34 и ICAM3 (ICAM3 MFI составила 294 относительно MFI 760 для здорового контроля), и 42% клеток были положительными по NKp44. Клетки были в основном отрицательными по CD8, но 95% были положительными по CD14, а 20% были положительными по CD16, что указывало на активированное состояние. 13% клеток были положительными по CD19.

[0323] Через час после введения 9 мг/кг AVM0703 количество или экспрессия клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+ в крови не изменялись, за исключением того, что только 25% клеток в этот момент были NKp44+. ICAM3 MFI не изменялась. На 3 день клетки CD56+ $\gamma\delta$ TCR+ составляли 2,2% всех лейкоцитов, и 92% экспрессировали CD16, 19% экспрессировали NKp44, а MFI ICAM3 составляла 240. На 14 день клетки CD56+ $\gamma\delta$ TCR+ составляли 2,2% всех лейкоцитов, и 92% экспрессировали CD16, 19% экспрессировали NKp44, а MFI ICAM3 составляла 240. На 14 день клетки CD56+ $\gamma\delta$ TCR+ составляли только 0,11% от всех лейкоцитов.

[0324] 108-001 (9 мг/кг): Через час после инфузии AVM0703 количество клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+iTCR+ в крови увеличивалось примерно в 20 раз по сравнению с исходным уровнем (от 5,8 до 112 клеток/мкл) и оставалось повышенным на 3-й день (36 клеток/мкл). У этого пациента наблюдался значимый клинический ответ с восстановлением зрения на 3 день после инфузии AVM0703. Интересно, что у этого пациента было очень мало лимфоцитов CD19+ на исходном уровне или в любой точке времени. Проточно-цитометрические характеристики CD56+ $\gamma\delta$ TCR+ iTCR+ после

первой инфузии показаны на фиг. 19 и обобщены в таблице 8 ниже. $\alpha\beta$ TCR не был включен в эту проточную панель.

Таблица 8: Характеристики первой инфузии CD56+ $\gamma\delta$ TCR+invTCR+ 108-001

	% CD56+ $\gamma\delta$ TCR+ iTCR+ от общего количеств а лейкоцито в	Клетки CD56+ $\gamma\delta$ TCR+iTCR +, кл/мкл	Ниже указаны % клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+iTCR+						
			CD19 +	CD14 +	CD8me d	CD8h i	CD1 6	CD 3	CD4 5
До инфузи и	0,05	5,8							
1 час	0,72	112	11,3	35	11	1	90	4	96
День 3	0,22	36,0	24	50	16	2	80	24	98
День 14	0,06	3							

[0325] Клетки AVM_NKT CD56+ $\gamma\delta$ TCR+iTCR+ на исходном уровне или через 1 час

- 5 после второй инфузии 9 мг/кг AVM0703; при этом уровень увеличивался в 10 раз на 3 день. У этого пациента наблюдался продолжающийся ответ с отсутствием наблюдаемой солидной опухоли ЦНС и снижением количества бластных клеток в ЦСЖ на 40% после второй инфузии в дозе 9 мг/кг. Данные обобщены в таблице 9 ниже.

10 **Таблица 9: Характеристики второй инфузии CD56+ $\gamma\delta$ TCR+invTCR+ 108-001**

	% CD56+ $\gamma\delta$ TCR+ iTCR+ от общего количеств а лейкоцито в	Клетки CD56+ $\gamma\delta$ TCR+iTCR +, кл/мкл	Ниже указаны % клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+iTCR+						
			CD19 +	CD14 +	CD8me d	CD8h i	CD1 6	CD 3	CD4 5
До инфузи	0,98	31	29	85	6	2	80	17	13

и									
1 час	0,84	26	26	81	4,4	2,2	89	23	13
День 3	0,19	10,2	17	35	55	1	58	49	11
День 14	0,43	20	28	76	20	4	82	22	84

[0326] Клетки AVM_NKT CD56+ $\gamma\delta$ TCR+iTCR+ не обнаруживались в крови после третьей инфузии 9 мг/кг AVM0703, что согласуется с отсутствием у пациента ответа на третью инфузию.

- 5 **[0327] 108-003** (12 мг/кг): Данные для клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR + iTCR+ пациента 108-003 приведены на фигуре 20 и обобщены в таблице 10 ниже.

Таблица 10: Характеристики CD56+ $\gamma\delta$ TCR+invTCR+ 108-003

	% CD56+ $\gamma\delta$ TCR+iTCR+ от общего количества лейкоцитов	Клетки CD56+ $\gamma\delta$ TCR+iTCR+, кл/мкл	Ниже указаны % клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+iTCR+						
			CD19+	CD14+	CD8me d	CD8h i	CD16	CD3	CD45
До инфузии	0,3	23,9	40	54	21	4	70	20	96
1 час	0,4	31,8	40	43	9	1,7	85	14	95
День 3	0,6	58,4	11,5	68	45	12,6	75	80	67
День 14	0,83	94	12,4	87	84	8	89	90	94

- 10 **[0328] 108-004** (12 мг/кг): Клетки CD56+ $\gamma\delta$ TCR+invTCR+ до инфузии составляют 0,09% от общего количества клеток (4,6 клеток/мкл). Не наблюдалось увеличения через один час, 3 дня или 14 дней после инфузии AVM0703. Интересно, что пациент 108-004 является единственным пациентом, у которого не было объективного положительного ответа по оценкам на основании ПЭТ/КТ, клинического биохимического анализа, ОАК или клинических симптомов. Как показано на фиг. 21,
- 15 у 108-004 не было мобилизации клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+invTCR+.

[0329] 108-002 (18 мг/кг): 2,8% всех лейкоцитов представляли собой клетки CD56+ γ δ TCR+iTCR+ (163,2 клеток/мкл) на исходном уровне, который не изменился после инфузии AVM0703 в дозе 18 мг/кг в точке времени через один час. На 3 день

уровень этих новых клеток снижался до 0,04% в крови, что свидетельствует о хоминге в опухоль, что наблюдалось в моделях на мышах; и на 14 день указанные уровни возвращались к 2,12% в крови. У пациента 108-002 наблюдался продолжающийся ЧО с СЗ по результатам ПЭТ/КТ, и он жив с даты дозирования 30 августа 2021 года. Данные приведены на фиг. 22 и обобщены в таблице 11 ниже.

10 Таблица 11: Характеристики CD56+ γ δ TCR+invTCR+ 108-002

	% CD56+ γ δ TCR+iTCR+ от общего количества лейкоцитов	Клетки CD56+ γ δ TCR+iTCR+, кл/мкл	Ниже указаны % клеток CD56+ γ δ TCR+iTCR+						
			CD19+	CD14+	CD8me d	CD8h i	CD16	CD3	CD45
До инфузии	0,71	53,3	97	86	18	82	57	80	100
1 час	0,66	49,5	98	79	12,3	88	87	83,2	100
День 3	0,04	2,3							
День 14	0,25	9,7	80	80	16,5	73	41,2	72	84

[0330] СВОДНЫЕ ДАННЫЕ ПО ЭСКАЛАЦИИ ДОЗЫ AVM-NKT И СВЯЗИ С КЛИНИЧЕСКИМ ОТВЕТОМ И ПЭТ/КТ

[0331] Сводные данные по фазе эскалации дозы AVM0703 при Р/Р НХЛ приведены ниже в таблице 12. По состоянию на 15 июля 2022 года; дозы получали 12 пациентов; в среднем 5,6 предшествующих линий терапии, при этом у 7 из 12 пациентов была неуспешной терапия ТГСК или CarT. Единственный пациент с результатами проточно-цитометрического анализа, у которого не обнаружены новые AVM-NKT, также не

отвечал на лечение (108-004). Все пациенты с обнаруженными новыми клетками АУМ-НКТ имели клинический ответ и/или ответ по результатам ПЭТ/КТ: СЗ/ЧО/ПО.

Монотерапия AVM0703 (Число инфузий X)	6 мг/кг			9 мг/кг			12 мг/кг			18 мг/кг		
	101-001 (X1)	103-002 (X1)	103-004 (X1)	108-001 (X3)	103-005 (X1)	103-006 (X1)	108-003 (X2)	108-004 (X1)	103-007 (X1)	108-002 (X1)	103-008 (X1)	103-009 (X1)
Диагноз	<u>В-ОЛЛ</u>	<u>ПТКЛ</u>	<u>Т-ОЛЛ</u>	<u>В-ОЛЛ</u> <u>ЦНС</u>	<u>МКЛ</u>	<u>ДВККЛ</u>	<u>АИТЛ</u>	<u>ДВККЛ</u>	<u>МКЛ</u>	<u>ПТКЛ</u>	<u>ДВККЛ</u>	<u>ДВККЛ</u>
Интенсивное предшествующее лечение – предыдущие линии терапии	<u>5 + 2 алло-ТГСК +6 XRT</u> (лучевая терапия)	<u>4 + ауто-ТГСК</u>	5	<u>5 + 1 XRT</u>	<u>9 + CarT</u>	<u>2 + 1 XRT</u>	<u>1 + ауто-ТГСК</u>	<u>2 + CarT</u>	<u>1 + Splx + 1 XRT</u>	4	<u>8 + CarT</u>	<u>3 + HSCT + CarT</u>
Выживаемость после первой дозы AVM0703 (месяцы)	<u>4,8</u>	<u>7</u>	<u>2,7</u>	<u>>11,8, по настоящее время</u>	<u>8,3</u>	<u>>12,6 по настоящее время</u>	<u>>10,2 по настоящее время</u>	<u>≥8 по настоящее время</u>	<u>>7,6 по настоящее время</u>	<u>>10,3 по настоящее время</u>	<u>>2,1 по настоящее время</u>	<u>Н/О</u>
Централизованная оценка классификация Лугоно	<u>СЗ</u>	<u>ЧО</u>	<u>ЧО</u>	Н/В	<u>ЧО</u>	Н/В	<u>ПЗ</u>	<u>ПЗ</u>	Н/В	<u>ПО/СЗ</u>	<u>Н/В / Н/О</u>	

День 28													
Объективный клинический ответ				<u>A</u>			<u>B</u>		<u>C</u>			<u>D</u>	
Индукцированны ые клетки CD56+gdTCR+ invTCR+	<u>ДА</u>	<u>ДА</u>	<u>ДА</u>	<u>ДА</u>	<u>ДА</u>	<u>Н/О</u>	<u>ДА</u>	<u>НЕТ</u>	<u>Н/О</u>	<u>ДА</u>	<u>Н/О</u>	<u>Н/О</u>	<u>Н/О</u>
<u>±</u> <u>дополнительн</u> <u>ая</u> <u>противораков</u> <u>ая терапия</u> <u>(число линий,</u> <u>подробные</u> <u>данные по</u> <u>ответу и</u> <u>терапии)</u>	+2	+3	<u>отсутств</u> <u>овала</u>	+2 + CarT	+1 + CarT <u>C3</u>	CarT+1 <u>ПО</u>	+2 + CarT <u>C3</u>	+2 <u>C3</u>	+2 <u>ПО</u>	<u>отсутств</u> <u>вала</u>	<u>отсутств</u> <u>вала</u>	<u>отсутств</u> <u>вала</u>	<u>отсутств</u> <u>вала</u>
	Программа благотворит ельно- испытатель ного применения 18 мг/кг AVM0703	Венетокла кс + ромидепа ин Цисплати н – гемцитаби н		HD MTX	Клиниче ское исследов ание IGM	Тисаген леклейсе л + ИЛ-7	ICE Ромидепа син	PBR	R- GEMOX + акалабру тиниб				
	Винкристин	бендамуст ин		Брексакаб таген Аутолейц	CarT	Полатуз умаб + Моесунет	CarT	Лонкаст уксимаб	Ритукси маб				

				<u>ел</u>		<u>узумаб</u>		<u>Тезирин</u>				
<u>Выживаемость</u> (месяцы)	<u>4,8</u>	<u>7</u>	<u>2,7</u>	<u>>11,8</u>	<u>8,3</u>	<u>>12,6</u>	<u>>10,2</u>	<u>>8</u>	<u>>7,6</u>	<u>>10,3</u>	<u>>2,1</u>	

Н/В: не выполнялось; Н/О: не поддается оценке/еще не оценивалось; ПО: полная ремиссия; ЧО: частичный ответ; СЗ: стабильное заболевание; ПЗ: прогрессирующее заболевание; ХРТ: лучевая монотерапия; Splx: спленэктомия

Объективные клинические ответы: А. Восстановление зрения, 3 месяца В. Фарингит и локальная оценка по Лугано: СЗ на 28 день С.

Обращение лимфоцитоза и повышение уровня гемоглобина D. Увеличение отека/воспаления, опухоль ствола головного мозга по

5 данным МРТ

ПО: после дополнительной противораковой терапии 2/10 поддаются оценке; ЧО: до монотерапии 4/10 поддаются оценке; СЗ: до монотерапии 2/10 поддаются оценке; только клинический ответ: 2/11 поддаются оценке

ПО + ЧО + СЗ + клинический ответ = 10 из 11 пациентов, поддающихся оценке

ОБЗОР ДАННЫХ ПО ЗДОРОВЫМ КОНТРОЛЬНЫМ ДОНОРАМ КРОВИ

ЧЕЛОВЕКА

[0332] У здоровых контрольных доноров крови: Клетки CD56+ $\gamma\delta$ TCR+, как правило, не присутствуют. Немногочисленные присутствующие клетки обычно

5 коэкспрессируют invTCR, а также положительны по CD14 и CD16. Графики рассеяния клеток $\gamma\delta$ TCR+iTCR+ из общего количества лейкоцитов CD56+ для 12 здоровых доноров крови приведены на фигуре 23.

[0333] Экспрессия маркеров CD56+ $\gamma\delta$ TCR+ iTCR+ у здоровых доноров, у которых очевидно присутствуют некоторые низкие уровни в крови, представлена в таблице 13

10 ниже. Экспрессируемые маркеры соответствуют маркерам, экспрессируемым этими клетками в крови наших испытуемых пациентов с Р/Р НХЛ, и мы предполагаем, что эти «здоровые» доноры крови могут фактически иметь инфекцию или другую бессимптомную проблему, которая индуцировала продуцирование указанных клеток, которые никогда не наблюдаются у получающих плацебо мышей, содержащихся в

15 среде, свободной от патогенов. Характеристики этих клеток, когда они присутствуют у наших испытуемых здоровых доноров крови, не отличаются от характеристик этих клеток у пациентов в исследовании AVM0703-001. % гейтированных GP – %, указанный в таблицах (GP представляют собой лейкоциты).

Таблица 13: Характеристики клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+invTCR+ у предположительно

20

Здоровый донор для:	% CD56+ $\gamma\delta$ TCR+ iTCR+ от общего количества лейкоцитов	Ниже указан % клеток CD56+ $\gamma\delta$ TCR+iTCR+						
		CD19+	TCR $\alpha\beta$	CD8med	CD8hi	CD16	CD3	CD45
103-004 D0	0,77	100	100	82	17		99	100
103-002 D3	0,73	50	46	40	9		54	74
103-005 D0	2,43	29	11	22	0	85	14	57

[0334] ОБЗОР ДАННЫХ ИЗ ЭКСПЕРИМЕНТОВ НА ГУМАНИЗИРОВАННЫХ МЫШАХ LYDEP 43 И 45

[0335] У мышей, клетки крови которых частично представлены клетками крови человека, полученных путем облучения новорожденных мышей и прививки клеток CD34+ пуповины (UC), уровень новых иммунных клеток человека, аналогичных клеткам, наблюдаемым у нестимулированных мышей и пациентов-людей, получавших лечение AVM0703, увеличиваются в крови после лечения AVM0703, при сравнении мышей группы лечения с мышами группы плацебо, полученными с использованием клеток крови человека CD34+ UC от того же донора. После повторного дозирования через 1 неделю уровни иммунных клеток человека hCD45+ CD56+ TCR $\gamma\delta$ + увеличивались у большего числа мышей по сравнению с мышами, получавшими плацебо. У этих гуманизированных мышей отсутствуют миелоидные клетки как мыши, так и человека; при этом, что интересно, после дозирования AVM0703 они начали продуцировать миелоидные клетки как человека, так и мыши. Кроме того, после введения третьей дозы AVM0703 у гуманизированных мышей присутствовали двойные положительные клетки hCD45+mCD45+.

[0336] Самок мышей huNOG-EXL (n=6) получали от Taconic Bioscience (Джермантаун, Нью-Йорк). Самок мышей huCD34-NCG (n=8) получали от Charles River (Уилмингтон, штат Массачусетс). Мышей из обеих организаций акклиматизировали к условиям лаборатории на протяжении по меньшей мере 5–6 дней.

[0337] Мышей дозировали три раза перорально 32 мг/кг дексаметазона фосфата (ДФ) или плацебо, и ждали заданной точки времени. После введения первой (01.03.2021) и второй дозы через 1 неделю (08.03.2021), когда мыши достигали заданной временной точки, у них забирали до 70 мкл крови/мышь посредством щечной пункции. Кровь анализировали с помощью проточной цитометрии.

[0338] После введения третьей дозы через 28 дней после предыдущей дозы (04.05.2021), когда мыши достигали временной точки исследования 48 или 60 часов, их умерщвляли в соответствии со стандартной технологической процедурой.

[0339] Исследуемые самки гуманизированных мышей были получены с использованием пуповинной крови в общей сложности от 6 разных доноров и от двух разных поставщиков. Ответ на AVM0703 был сопоставимым и у мышей от обоих поставщиков, и у мышей, полученных с использованием крови всех 6 доноров; эти данные обобщены ниже. AVM0703 индуцировал экспрессию и мобилизацию иммунных клеток человека CD56+ $\gamma\delta$ TCR+invTCR+, а также индуцировал

продуцирование миелоидных клеток у мышей, у которых практически отсутствуют миелоидные компартменты.

Таблица 14: Поставщик гуманизированных мышей и донор пуповинной крови

<u>Поставщик</u>	<u>Донор</u>	<u>Лечение плацебо</u>	<u>Лечение AVM0703</u>
<u>CRL-NCG</u>	<u>1</u>		<u>M1 M2</u>
	<u>2</u>		<u>M3 M4</u>
	<u>3</u>		<u>M5 M6</u>
	<u>4</u>		<u>M7 M8</u>
<u>Taconic-NOG-EXL</u>	<u>1</u>	<u>M12</u>	<u>M10 M11</u>
	<u>2</u>	<u>M90</u>	<u>M88 M89</u>

[0340] Гуманизированные мыши, приобретенные у Taconic, мобилизовали большее количество клеток hCD45+CD56+ $\gamma\delta$ TCR+, чем мыши, приобретенные у Charles River, после первой дозы AVM0703. Маркер invTCR включали в проточные панели для второй дозы, но не для первой дозы. Однако после повторного дозирования мыши от Charles River мобилизовали большее количество клеток hCD45+CD56+ $\gamma\delta$ TCR+ invTCR+, чем после первой дозы, в то время как у мышей от Taconic после повторного дозирования происходила такая же мобилизация по сравнению с получавшими плацебо. Мыши, получавшие плацебо, не могут считаться нестимулированными, поскольку все мыши подвергались летальному облучению, а затем им трансплантировали клетки CD34+ пуповинной крови человека, поэтому неудивительно, что мыши, получавшие плацебо, могли иметь исходные уровни этих новых иммунных клеток, поскольку было показано, что клетки присутствуют, но не являются оптимально мобилизованными до лечения AVM0703 у мышей с раком или диабетом.

Таблица 15: Поставщик гуманизированных мышей, лечение, AVM_NKT-клетки

Поставщик	Мышь	Лечение	hCD45+(CD56+gdTCR+)	hCD45+(CD56+gdTCR+ invTCR+)
CR	1	AVM0703, 72 ч	1,1%	2,3%
CR	2	AVM0703 96 ч	4,4%	30,7%

CR	3	AVM0703, 72 ч	1,6%	3,5%
CR	4	AVM0703 96 ч	1,4%	47,5%
CR	5	AVM0703, 72 ч	4,7%	4,4%
CR	6	AVM0703 96 ч	1,1%	24,1%
CR	7	AVM0703, 72 ч	6,3%	1,8%
CR	8	AVM0703 96 ч	0,4%	50%
Тас	10	AVM0703, 72 ч	10,5%	0,7%
Тас	11	AVM0703 96 ч	11%	22,6%
Тас	12	Плацебо, 72 ч	7,1%	0,8%
Тас	88	AVM0703, 72 ч	3,4%	0,7%
Тас	89	AVM0703 96 ч	0,6%	41,9%
Тас	90	Плацебо, 96 ч	4,0%	20%

[0341] Как и у пациентов-людей, AVM0703 индуцирует мобилизацию биспецифических иммунных клеток CD56+ TCR $\gamma\delta$ + invTCR+ у гуманизированных мышей. Как показано на фиг. 24, AVM0703 индуцировал клетки CD56+ TCR $\gamma\delta$ + (12% клеток hCD45+), которые представляют собой клетки CD16+, что указывает на активированное состояние (мышь 10 Тасonic NOG-EXL). Как показано на фиг. 25 и 26, ЭДЧ >18 мг/кг AVM0703 индуцирует биспецифическую мобилизацию иммунных клеток в 2–12% клеток hCD45+. Как показано на фиг. 27 и 28, AVM0703 индуцирует биспецифические $\gamma\delta$ TCR+invTCR+ активированные клетки CD56+ костного мозга у

гуманизированных мышей, что коррелирует с данными для пациентов-людей. Более 60% клеток CD45+ CD56+ человека были биспецифическими по TCR $\gamma\delta$ и инвариантному TCR, и были положительными по CD16, что указывало на активированное состояние. Костный мозг анализировали через 48–60 часов после введения третьей повторной дозы ЭДЧ 32 мг/кг AVM0703.

[0342] На фиг. 29 и 30 приведены данные FSC / SSC для гуманизированных мышей после первой (фиг. 29) и второй (фиг. 30) доз AVM0703. У указанных мышей, согласно предоставленным Charles River и Taconic данным, нет миелоидных компарментов, однако после дозирования AVM0703 эти мыши начали продуцировать миелоидные клетки как человека, так и мыши. Показаны диаграммы рассеяния для двух мышей, получавших плацебо (фигуры 29 и 30, верхние графики; мышь M12, получавшая плацебо, сверху слева, мышь M90, получавшая плацебо, сверху справа), и для мыши, получавшей AVM0703 (фигуры 29 и 30, нижний график; мышь M88). У мыши 88 наблюдалось наиболее раннее увеличение уровня миелоидных клеток среди всех 12 получавших лечение AVM0703 гуманизированных мышей. В среднем у получавших плацебо мышей лимфоидные клетки составляли 12,7% от общего количества лейкоцитов мыши, в то время как у получавших лечение AVM0703 мышей лимфоидные клетки составляли 10,62% от общего количества лейкоцитов мыши (в диапазоне от 2% до 20,4%).

[0343] Это наблюдение, заключающееся в том, что мыши начинают продуцировать миелоидные клетки, которые включают нейтрофилы, согласуется с данными для пациента, получавшего благотворительно-испытательное лечение в Германии, который начал вырабатывать здоровые активные нейтрофилы после введения AVM0703. У этого 18-летнего мужчины не вырабатывались нейтрофилы после первого цикла химиотерапии, проведенного за 6 лет до лечения AVM0703. Аналогичным образом, пациенты-люди в нашем исследовании AVM0703-001 при Р/Р НХЛ демонстрируют некоторые признаки увеличения уровня нейтрофилов.

[0344] На фиг. 31–33 показано, что гуманизированные мыши имеют в основном лимфоидные клетки человека. Эти фигуры представляют собой еще один способ рассмотрения происхождения лимфоидных и миелоидных клеток у мышей, получавших плацебо, и также демонстрируют, что немногочисленные миелоидные клетки в основном происходят от мыши, в то время как большинство лимфоидных клеток происходят от человека. В этих образцах для проточной цитометрии присутствовало значительное количество дебриса, поэтому так много точек на графике

рассеяния hCD45 по сравнению с mCD45 отрицательны как по CD45 человека, так и по CD45 мыши.

[0345] На фиг. 31 показано, что у мышей, получавших плацебо, лимфоциты в основном представляют собой клетки CD45+ человека (фиг. 31, сверху), а

5 немногочисленные миелоидные клетки в основном представляют собой mCD45 + (фиг. 31, снизу). На фиг. 32–33 показано, что дозирование AVM0703 индуцирует продуцирование миелоидных клеток у гуманизированных мышей. Приведены FSC / SSC при гейтировании на клетках mCD45 + (сверху слева) и hCD45+ (сверху справа), и диаграмма рассеяния для клеток hCD45+ / mCD45+ (снизу). На фиг. 32 приведены

10 данные для получавшей плацебо мыши M12, у которой лимфоциты мыши составляют 13% от общего количества лейкоцитов мыши (фиг. 32, сверху слева); лимфоциты человека составляют 60% от общего количества лейкоцитов человека (фиг. 32, сверху справа); и общее количество лимфоцитов составляет 45% от общего количества лейкоцитов. На фиг. 33 приведены данные для мыши M90, получавшей плацебо, у

15 которой лимфоциты мыши составляют 12,5% от общего количества лейкоцитов мыши (фиг. 33, сверху слева); лимфоциты человека составляют 31,5% от общего количества лейкоцитов человека (фиг. 33, сверху справа); и общее количество лимфоцитов составляет 30% от общего количества лейкоцитов.

[0346] На фиг. 34–39 показано, что дозирование AVM0703 индуцирует продукцию

20 миелоидных клеток у гуманизированных мышей. Они демонстрируют проточно-цитометрические диаграммы рассеяния для получавших лечение AVM0703 мышей после введения первой дозы AVM0703. На диаграммах рассеяния лимфоциты отмечены кружками, а миелоидные клетки имеют более высокие показатели SSC и находятся на графике выше лимфоцитов. Эти диаграммы рассеяния FSC / SSC

25 демонстрируют значительно большее количество миелоидных клеток, происходящих от мыши (сверху слева) по сравнению с плацебо, что позволяет предположить, что дозирование AVM0703 индуцирует выработку миелоидной линии, что наблюдалось у пациентов, участвовавших в клинических испытаниях на людях, и пациентов, получавших благотворительно-испытательное лечение. Лимфоидная популяция в

30 основном имеет происхождение hCD45+ (сверху справа). По сравнению с получавшими плацебо гуманизированными мышами, у которых клеток CD45+ человека примерно в два раза больше, чем клеток mCD45+, получавшие лечение AVM0703 гуманизированные мыши имеют примерно равное количество клеток CD45+ мыши и клеток CD45+ человека (ниже).

[0347] На фиг. 34 приведены данные мыши M88, получавшей лечение AVM0703, у которой лимфоциты мыши составляют только 5,7% от общего количества лейкоцитов (фиг. 34, сверху слева); лимфоциты человека составляют 58% от общего количества лейкоцитов человека (фиг. 34, сверху справа); и общее количество лимфоцитов составляет 32% от общего количества лейкоцитов. На фиг. 35 показаны данные мыши M01, получавшей лечение AVM0703, у которой лимфоциты мыши составляют только 6,7% от общего количества лейкоцитов (фиг. 35 сверху слева); лимфоциты человека составляют 67% от общего количества лейкоцитов человека (фиг. 35 сверху справа); и общее количество лимфоцитов составляет 35% от общего количества лейкоцитов. На фиг. 36 показаны данные мыши M03, получавшей лечение AVM0703, у которой лимфоциты мыши составляют только 23,7% от общего количества лейкоцитов (фиг. 36, сверху слева); лимфоциты человека составляют 47% от общего количества лейкоцитов человека (фиг. 36, сверху справа); и общее количество лимфоцитов составляет 40% от общего количества лейкоцитов. На фиг. 37 показаны данные мыши M05, получавшей лечение AVM0703, у которой лимфоциты мыши составляют только 2,0% от общего количества лейкоцитов (фиг. 37, сверху слева); лимфоциты человека составляют 50,1% от общего количества лейкоцитов человека (фиг. 37, сверху справа); и общее количество лимфоцитов составляет 20,9% от общего количества лейкоцитов. На фиг. 38 показаны данные M07 мыши, получавшей лечение AVM0703, у которой лимфоциты мыши составляют только 20,4% от общего количества лейкоцитов (фиг. 38, сверху слева); лимфоциты человека составляют 58,2% от общего количества лейкоцитов человека (фиг. 38, сверху справа); и общее количество лимфоцитов составляет 41,9% от общего количества лейкоцитов. На фиг. 39 показаны данные M10 мыши, получавшей лечение AVM0703, у которой лимфоциты мыши составляют только 5,2% от общего количества лейкоцитов (фиг. 39, сверху слева); лимфоциты человека составляют 37,5% от общего количества лейкоцитов человека (фиг. 39, сверху справа); и общее количество лимфоцитов составляет 28,1% от общего количества лейкоцитов.

30 ПРИМЕР 16 – Противораковая активность индуцированных AVM0703 in vivo, а затем адоптивно перенесенных иммунных клеток

[0348] *In vivo* активированные иммунные клетки адоптивно переносили (АСТ) мышам с клетками множественной миеломы MOPC315, введенными мышам в боковые области, которые также метастазировали в селезенку, кровь и костный мозг. AVM0703

использовали не только для индукции биспецифических $\gamma\delta$ TCR⁺ invTCR⁺ NKT-подобных клеток, которые были выделены, а затем адоптивно перенесены, но и в качестве агента для предварительного кондиционирования, чтобы определить, могут ли AVM0703 заменять схемы цитотоксического предварительного

5 кондиционирования, например, циклофосфамид/флударабин (Cy/Flu). Как и ожидалось, для достижения статистически значимых эффектов АСТ-клеток от получавших лечение AVM0703 мышей требовалось предварительное кондиционирование. Мыши, предварительно кондиционированные AVM0703, также мобилизуют свои собственные эндогенные новые иммунные клетки в дополнение к
10 клеткам АСТ, которые они получают.

[0349] Клетки АСТ от мышей, получавших лечение AVM0703, значительно снижали общее количество живых клеток МОРС315 в опухолях (фиг. 40, сверху слева) и селезенках (фиг. 40, сверху справа) мышей, предварительно кондиционированных AVM0703. Кроме того, хотя это снижение не было статистически значимым, при
15 предварительном кондиционировании AVM0703 с последующим АСТ клеток от получавших плацебо мышей наблюдалась тенденция к снижению количества живых клеток МОРС315. Это было ожидаемо, исходя из способности предварительного кондиционирования AVM0703 индуцировать/мобилизовать эндогенные биспецифические NKT-подобные клетки у мышей, которым инокулировали МОРС315.

20 Несмотря на то, что результаты не были статистически значимыми, при предварительном кондиционировании AVM0703 с последующим АСТ наблюдалась тенденция к снижению содержания живых МОРС315 в крови (фиг. 40, снизу слева) и костном мозге (фиг. 40, снизу справа). Это исследование МОРС315 было поддержано грантом NCI SBIR 1R43CA246896-01A1.

25

ПРИМЕР 17 – Высокие дозы глюкокортикоидов, таких как дексаметазон, связываются с ICAM3 посредством низкоаффинных водородных связей, которые могут опосредовать индукцию и/или мобилизацию новых NKT-подобных клеток по настоящему изобретению

30 **[0350]** Авторы настоящего изобретения также обнаружили, что после введения высоких доз молекулы глюкокортикоида могут связывать и блокировать молекулы межклеточной адгезии, такие как ICAM3 – согласно описанию, например, в WO 2021 247473. Молекулярное моделирование взаимодействия между дексаметазоном и ICAM3 предсказывает, что взаимодействие между ними происходит за счет

низкоаффинного водородного связывания, включающего взаимодействие между молекулой водорода в дексаметазоне и остатком SER31 в ICAM3, и молекулой кислорода в дексаметазоне и остатком MET49 в ICAM3. Молекулярное моделирование взаимодействия между ICAM3 и ICAM3 и рядом других лигандов предсказывает: что агонистические антитела связываются с ICAM3 в гидрофобном кармане и взаимодействуют с остатками THR38, LEU40, LEU56, VAL59 и ILE65; что антитело к ICR 8.1 ICAM3 взаимодействует с остатками PHE21, VAL22, GLU32, LYS33, TRP51 и ALA52; и что связанный с функцией лимфоцитов антиген – интегрин 1 (LFA-1) взаимодействует с остатками в положениях SER25, ASN23, GLU37, PHE54 и GLN75.

[0351] Авторы настоящего изобретения полагают, что индукция и/или мобилизация новых NKT-подобных клеток согласно настоящему изобретению может быть опосредована этим взаимодействием между ICAM3 и глюкокортикоидами в рамках независимого от глюкокортикоидных рецепторов механизма действия.

[0352] Как показано на фиг. 41, у пациента с мантийноклеточной лимфомой (пациент 103-007) после инфузии AVM0703 в дозе 12 мг/кг лимфоцитоз снижался до нормальных уровней лимфоцитов в период с 4 по 7 день после AVM0703, что позволяет предположить, что иммунная активация AVM0703 избирательно распознает раковые клетки при сохранении нормальных клеток крови, включая лимфоциты, моноциты, тромбоциты и эритроциты (фиг. 42). Показатели гематокрита и гемоглобина также сохранялись, а уровень гемоглобина клинически значимо повышался после инфузии 9 мг/кг AVM0703 у пациента с Р/Р МКЛ. Отсутствие лимфоцитопении в ответ на AVM0703 поддерживает гипотезу о независимом от глюкокортикоидных рецепторов (ГКР) механизме действия. Аналогичным образом, отсутствие эффекта в отношении тромбоцитов и повышенные уровни нейтрофилов также поддерживают о ГКР-независимом механизме действия.

[0353] Кривые концентрация-ответ демонстрируют ожидаемый апоптотический эффект основания дексаметазона на выделенные спленоциты мыши и цельную кровь в концентрациях, которые, как известно, связывают трансмембранный ГКР (от 10 нМ до 100 мкМ), при этом наблюдается двухфазная кривая, с уменьшением апоптоза по мере увеличения концентрации до уровней выше 100 мкМ (что является *in vivo* эквивалентом пиковой концентрации в крови от приблизительно 2,8 мг/кг ЭДЧ (эквивалентная доза для человека), как показано на фиг. 43. Двухфазные кривые ответа были хорошо описаны для хемокинов (Olsen I, J Immunol Methods. 2013 Apr 30;390(1-

2):106-12; Florini J R, Am J Physiol. 1986 May;250(5 Pt 1):C771-8) и факторов роста (Parris, Dose Response. 2015 May 20;13(2): dose-response.14-020; Kanodia J, Cell Commun Signal. 2014 May 15;12:34), и было показано, что они являются результатом десенсибилизации/интернализации рецептора или новых низкоаффинных (Olsen, 2013; Florini, 1986), однако присутствующих с очень высокой плотностью рецепторов, поглощающих фактор, так что он становится недоступным для связывания с более высокоаффинными, но менее доступными рецепторами (Kanodia, 2014; Koledova Z, Front Cell Dev Biol. 2019 Dec 12;7:331).

[0354] Аналогичным образом, начиная с фазы эскалации дозы AVM0703-001, у пациентов с Р/Р НХЛ не происходило деплеции лейкоцитов, лимфоцитов, тромбоцитов и эритроцитов при дозах от 6 мг/кг до 18 мг/кг. Известно, что лейкоциты, тромбоциты, моноциты, лимфоциты и спленоциты экспрессируют ГКР-альфа, что согласуется с эффектами, наблюдаемыми в этих популяциях клеток при концентрациях основания дексаметазона от 1 нМ до 10 мкМ. Двухфазная кривая концентрация-эффект (CRC) предполагает, что низкоаффинный, но присутствующий с очень высокой плотностью рецептор, не являющийся ГКР, поглощает высокие концентрации, предотвращая связывание и активацию ГКР (Kanodia, 2014). Эритроциты, которые не экспрессируют ГКР, не отвечали на введение основания дексаметазона *ex vivo* при любой концентрации (данные не показаны). ICAM3 был идентифицирован как потенциальный низкоаффинный рецептор для супрафармакологических концентраций дексаметазона в результате поиска в литературных источниках и в базе данных протеома человека (Human Proteome) и подтвержден исследованиями по методу молекулярного докинга, проведенными двумя независимыми консультантами.

[0355] Сообщалось, что после связывания дексаметазона происходит шеддинг ICAM3 (Juan M, 1999), и авторы предполагают, что это связывание является ковалентным при супрафармакологических дозах, что предотвращает связывание AVM0703 с ГКР и объясняет, почему не наблюдается активация ГКР, когда, по результатам ФК-анализа, AVM0703, по-видимому, выводится из крови. AVM0703, ковалентно связанный с выделяющимся при шеддинге ICAM3, должен обнаруживаться во фракциях плазмы/сыворотки крови, и связанный AVM0703 будет отсоединяться от ICAM3 в ходе анализа ЖХ-МС/МС, но не сможет связываться с ГКР и активировать их. Как вариант, структура AVM0703 может быть модифицирована после связывания ICAM3 таким образом, что он больше не может связывать ГКР, даже находясь в свободной форме в крови.

Источники

[0356] Выше упоминается ряд публикаций для более полного описания и раскрытия настоящего изобретения и уровня техники в области техники, к которой принадлежит настоящее изобретение. Каждый из источников включен в настоящий документ полностью посредством ссылки. Полный список указанных источников приведен ниже:

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

Wolf BJ, Choi JE, & Exley MA. Novel Approaches to Exploiting Invariant NKT Cells in Cancer Immunotherapy. *Frontiers in immunology*. 2018; 9, 384
Nair S, & Dhodapkar MV. Natural Killer T Cells in Cancer Immunotherapy. *Frontiers in immunology*. 2017; 8, 1178

Lodisch M. B. Clinical review: kinase inhibitors: adverse effects related to the endocrine system. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2013; 98(4), 1333–1342

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

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

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

Mato AR, Nabhan C, Barr PM, Ujjani CS, Hill BT, Lamanna N, Skarbnik AP, Howlett C, Pu JJ, Sehgal AR, Strelec LE, Vandegrift A, Fitzpatrick DM, Zent CS, Feldman T, Goy A, Claxton DF, Bachow SH, Kaur G0, Svoboda J, Nasta SD, Porter D, Landsburg DJ, Schuster SJ, Cheson BD, Kiselev P, Evens AM. Outcomes of CLL patients treated with sequential kinase inhibitor therapy: a real world experience. *Blood*. 2016; 128(18):2199-2205

Barrett AJ, & Battiwalla M. Relapse after allogeneic stem cell transplantation. *Expert review of hematology*. 2010; 3(4), 429–441

Nie Y, Lu W, Chen D, Tu H, Guo Z, Zhou X, Li M, Tu S, Li Y. Mechanisms underlying CD19-positive ALL relapse after anti-CD19 CAR T cell therapy and associated strategies. *Biomark Res*. 2020 May 27;8(1). /pmc/articles/PMC725465

Gill S, Brudno J. CAR T-Cell Therapy in Hematologic Malignancies: Clinical Role, Toxicity, and Unanswered Questions. Am Soc Clin Oncol Educ book Am Soc Clin Oncol Annu Meet. 2021 Jun;41(41):e246–65. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33989023/>

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

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

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

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

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

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

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

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

WO 2018/183927

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

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

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

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

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

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

20 **Раскрывающие изобретение пункты**

[0357] Приведенные ниже пронумерованные пункты, содержащие краткий обзор аспектов настоящего изобретения, являются частью описания.

Способы получения NKT-подобных клеток иммунной системы человека (AVM-NKT-клеток)

25 101. Способ получения и/или мобилизации популяции клеток, подобных естественным киллерным Т-клеткам (NKT-подобных клеток), включающий введение субъекту модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента или модулирующего ICAM3 агента в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере приблизительно 6 мг/кг основания дексаметазона,

30 отличающийся тем, что указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент или модулирующий ICAM3 агент индуцирует и/или мобилизует популяцию NKT-подобных клеток у указанного субъекта.

Экспрессия маркеров клеток

35 102. Способ по пункту 101, отличающийся тем, что указанная популяция клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток:

- i) экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR альфа/бета, CD34 и/или ICAM3;
- ii) экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 и/или TCR альфа/бета; и/или
- 5 iii) не экспрессируют: CD4.
103. Способ по пункту 102, отличающийся тем, что указанные клетки экспрессируют:
- (i) TCR гамма/дельта и iTCR;
- (ii) CD56, TCR гамма/дельта и iTCR;
- 10 (iii) CD45, TCR гамма/дельта и iTCR;
- (iv) CD45, CD56, TCR гамма/дельта и iTCR;
- (vi) TCR гамма/дельта, iTCR и TCR альфа/бета;
- (vii) CD56, TCR гамма/дельта, iTCR и TCR альфа/бета;
- (viii) CD45, TCR гамма/дельта, iTCR и TCR альфа/бета;
- 15 (ix) CD45, CD56, TCR гамма/дельта, iTCR и TCR альфа/бета;
- (x) CD56, TCR гамма/дельта, iTCR и CD16;
- (xi) CD45, TCR гамма/дельта, iTCR и CD16;
- (xii) CD16 и NKp44;
- (xiii) CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16 и NKp44;
- 20 (xiv) CD56, TCR гамма/дельта, iTCR и TCR альфа/бета;
- (xv) CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44 и TCR альфа/бета;
- (xvi) CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD8, CD14 и CD19;
- (xvii) CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19 и CD45;
- или
- 25 (viii) CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 и TCR альфа/бета.
104. Способ по любому из пунктов 102–103, отличающийся тем, что указанные клетки не экспрессируют CD4.
- 30
105. Способ в соответствии с любым из пунктов 102–104, отличающийся тем, что указанные клетки представляют собой:
- i) CD3+/dim;
- ii) CD8+/dim;
- 35 iii) CD3+/dim и CD8+/dim;
- при этом необязательно уровни экспрессии определены относительно среднего уровня экспрессии в популяции референсных клеток, происходящих из общего

источника, которые не были приведены в контакт с модулирующим глюкокортикоидный рецептор (ГР) агентом или модулирующим ICAM3 агентом.

5 106. Способ в соответствии с любым из пунктов 102–105, отличающийся тем, что экспрессию измеряют с помощью проточной цитометрии, при этом необязательно проточную цитометрию осуществляют с применением оборудования, реагентов и/или условий, описанных в настоящем документе (по отдельности или в комбинации).

10 *Глюкокортикоид*

107. Способ в соответствии с любым из пунктов 101–106, отличающийся тем, что модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент или модулирующий ICAM3 агент представляет собой глюкокортикоид, при этом необязательно указанный глюкокортикоид выбран из группы, состоящей из: дексаметазона, гидрокортизона, метилпреднизолон, преднизона, преднизолон, преднилизон, кортизон, будесонида, бетаметазона, флуметазон и беклометазон.

108. Способ в соответствии с пунктом 107, отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид выбран из группы, состоящей из: дексаметазон, бетаметазон и метилпреднизон, при этом предпочтительно глюкокортикоид представляет собой дексаметазон или бетаметазон.

109. Способ в соответствии с любым из пунктов 107–108, отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид выбран из группы, состоящей из основания дексаметазон, дексаметазон натрия фосфат, дексаметазон гемисукцинат, дексаметазон натрия сукцинат, дексаметазон сукцинат, дексаметазон изоникотинат, дексаметазон-21-ацетат, дексаметазон фосфат, дексаметазон-21-фосфат, дексаметазон тебутат, дексаметазон-17-валерат, дексаметазон ацетат моногидрат, дексаметазон пивалат, дексаметазон пальмитат, дексаметазон-21-пальмитат, дексаметазон дипропионат, дексаметазон пропионат, безводного дексаметазон ацетат, дексаметазон-21-фенилпропионат, дексаметазон-21-сульфобензоат, дексаметазон гемисульфат, дексаметазон сульфат, дексаметазонбелоксила, дексаметазоновой кислоты, дексаметазон ацефурат, дексаметазон карбосимида, дексаметазон ципецилат, динатриевой соли дексаметазон-21-фосфат, дексаметазон мезилат, дексаметазон линолеат, дексаметазон глюкозид, дексаметазон глюкуронида, дексаметазон йодацетат, дексаметазон оксетанон, карбоксиметилтиодексаметазон, дексаметазон-бисэтоксимов, дексаметазон-эпоксида, дексаметазонлинолеата, дексаметазон метилортовалерат, дексаметазон спермина, 6-

5 гидроксидексаметазона, дексаметазона трибутилацетата, дексаметазон-аспарагиновой кислоты, дексаметазонгалактопиранозы, дексаметазона гидрохлорида, гидроксидексаметазона, карбоксидексаметазона, дезоксидексаметазона, дексаметазона бутазона, дексаметазона циклодекстрина, дигидродексаметазона, оксидексаметазона, пропионилоксидексаметазона, дексаметазона галактозида, дексаметазона изоникотината, дексаметазона натрия гидрофосфата, альдегида дексаметазона, дексаметазона пивалата, дексаметазона тридецилата, дексаметазона кротоната, дексаметазона метансульфоната, дексаметазона бутилацетата, дегидродексаметазона, простого изотиоцианат-этилового тиоэфира дексаметазона, дексаметазона бромацетата, дексаметазона гемиглютарата, дезоксидексаметазона, 10 дексаметазона хлорамбуцилата, дексаметазона мелфаланата, формилоксидексаметазона, дексаметазона бутирата, дексаметазона лаурата, дексаметазона ацетата, и любого комбинированного лечения, которое включает форму дексаметазона.

110. Способ в соответствии с пунктом 109, отличающийся тем, что указанный дексаметазон 15 представляет собой дексаметазона натрия фосфат.

Доза глюкокортикоида

111. Способ в соответствии с любым из пунктов 101–110, отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид вводят в дозе, эквивалентной приблизительно:

20 i) ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере 6–12 мг/кг основания дексаметазона;

ii) ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере 6 мг/кг основания дексаметазона;

25 iii) ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере 12 мг/кг основания дексаметазона;

iv) ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере 15 мг/кг основания дексаметазона;

v) ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере 18 мг/кг основания дексаметазона;

30 vi) ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере 24 мг/кг основания дексаметазона;

vii) ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) 15 мг/кг основания дексаметазона;

viii) ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) 24 мг/кг основания дексаметазона;

ix) ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) 30 мг/кг основания дексаметазона;

35 x) ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) 45 мг/кг основания дексаметазона; или

xi) ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) основания дексаметазона, соответствующей значению в мг/кг в пределах диапазона значений в мг/кг,

причем указанный диапазон ограничен двумя значениями из значений в мг/кг, указанных в пунктах с i) по х) выше.

5 112. Способ в соответствии с любым из пунктов 101–111, отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид вводят в виде разовой острой дозы, или в виде суммарной дозы, которую вводят за период, составляющий приблизительно 72 часа.

10 113. Способ в соответствии с любым из пунктов 101–112, отличающийся тем, что указанный способ включает введение одной или более дополнительных доз глюкокортикоида.

114. Способ в соответствии с пунктом 113, отличающийся тем, что указанную одну или более дополнительных доз вводят:

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

Активация клеток

25 115. Способ в соответствии с любым из пунктов 101–114, дополнительно включающий этап введения активатора НКТ-клеток, активатора Т-клеток и/или активатора НК-клеток субъекту.

116. Способ в соответствии с пунктом 115, отличающийся тем, что указанный активатор НКТ-клеток выбран из группы, состоящей из: альфа-GalCer, сульфатида или активирующего НКТ антитела.

30 117. Способ в соответствии с пунктом 116, отличающийся тем, что указанный активатор НКТ-клеток представляет собой нагруженные альфа-GalCer дендритные клетки или моноциты.

35 118. Способ в соответствии с пунктом 115, отличающийся тем, что указанный активатор Т-клеток выбран из группы, состоящей из: золедроната, мевастатина или активирующего Т-клетки антитела.

119. Способ в соответствии с пунктом 115, отличающийся тем, что указанный активатор НК-клеток выбран из группы, состоящей из: ИЛ-2, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-18, ИЛ-21 или активирующего НК-клетки антитела.

5 120. Способ в соответствии с любым из пунктов 115–119, отличающийся тем, что указанный активатор НКТ-клеток, активатор Т-клеток и/или активатор НК-клеток вводят в пределах 48 часов или приблизительно через 48 часов после введения глюкокортикоида.

Субъект

10 121. Способ в соответствии с любым из пунктов 101–120, отличающийся тем, что указанный субъект представляет собой человека или млекопитающее с гуманизированной иммунной системой, такое как мышь с иммунной системой человека (HIS).

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

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

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

30 матки; карциномы слюнной железы; рака почки или ренального рака; рака предстательной железы; рака вульвы; рака щитовидной железы; карциномы печени; анальной карциномы; карциномы полового члена; и рака головы и шеи.

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

126. Способ в соответствии с любым из пунктов 122–125, отличающийся тем, что индуцированные / мобилизованные клетки лечат рак путем инфильтрации опухоли.
- 5 127. Способ в соответствии с пунктом 126, отличающийся тем, что индуцированные / мобилизованные клетки лечат рак путем высвобождения иммуноактивирующих цитокинов.
128. Способ в соответствии с пунктом 126 или 127, отличающийся тем, что индуцированные / мобилизованные клетки захватывают и убивают раковые клетки.
- 10 129. Способ в соответствии с любым из пунктов 126–128, отличающийся тем, что индуцированные / мобилизованные клетки способствуют инфильтрации опухоли другими иммунными клетками.
- 15 130. Способ в соответствии с любым из пунктов 126–129, отличающийся тем, что индуцированные / мобилизованные клетки непосредственно убивают раковые клетки путем CD1d-направленного апоптоза.
- 20 131. Способ в соответствии с любым из пунктов 126–130, отличающийся тем, что индуцированные / мобилизованные клетки вызывают некроз опухоли.
- 25 132. Способ в соответствии с пунктом 122, отличающийся тем, что указанное аутоиммунное заболевание выбрано из группы, состоящей из: рассеянного склероза, системного склероза, амиотрофического бокового склероза, сахарного диабета 1 типа (T1D), склеродермии, пузырчатки и волчанки.
- 30 133. Способ в соответствии с пунктом 122, отличающийся тем, что указанное аутоиммунное заболевание представляет собой сахарный диабет 1 типа (T1D).
- 35 134. Способ в соответствии с пунктом 122, отличающийся тем, что указанное инфекционное заболевание выбрано из группы, состоящей из: ВИЧ и герпеса, гепатита, папилломавируса человека, или заболевания, являющегося результатом инфекции коронавирусом, такого как COVID-19.
135. Способ в соответствии с пунктом 122, отличающийся тем, что указанное инфекционное заболевание представляет собой:
- i) ВИЧ; или
 - ii) COVID-19.

Этапы выделения/размножения

136. Способ в соответствии с любым из пунктов 101–135, дополнительно включающий этап выделения популяции индуцированных / мобилизованных клеток от субъекта или из образца,
5 происходящего от субъекта,

необязательно отличающийся тем, что этап выделения осуществляют:

- i) через 30–60 минут после введения глюкокортикоида;
- ii) по меньшей мере через 48 часов после введения глюкокортикоида;
- iii) через 48 часов – 13 дней после введения глюкокортикоида; или
- 10 iv) через 6–48 часов после введения глюкокортикоида.

137. Способ по пункту 136, отличающийся тем, что указанный образец выбран из группы, состоящей из: крови, плазмы, биоптата опухоли или извлеченной хирургическим путем опухоли, костного мозга, печени, и жировой или адипозной ткани.
15

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

139. Способ в соответствии с любым из пунктов 136–138, дополнительно включающий этап активации выделенных клеток активатором NKT-клеток, активатором Т-клеток и/или активатором НК-клеток;
20

необязательно отличающийся тем, что активатор NKT-клеток выбирают из: альфа-GalCer (альфа-галактозилцерамида; α -GalCer) и сульфатида (3-О-сульфогалактозилцерамида; SM4; сульфатированного галактоцереброзида);

25 необязательно отличающийся тем, что указанный активатор Т-клеток выбирают из: золедроната и мевастатина; и

необязательно отличающийся тем, что активатор НК-клеток выбран из группы, состоящей из: ИЛ-2, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-18, ИЛ-21.

30 *Трансфекция выделенных клеток*

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

35 141. Способ в соответствии с пунктом 140, отличающийся тем, что указанный белок выбран из группы, состоящей из одного или более из: Т-клеточного рецептора (TCR), химерного

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

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

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

15 144. Способ в соответствии с любым из пунктов 140–143, дополнительно включающий этап активации клеток активатором NKT-клеток, активатором Т-клеток и/или активатором NK-клеток.

Введение выделенных клеток

20 145. Способ лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания у субъекта, включающий введение терапевтически эффективной дозы клеток, выделенных в соответствии с любым из пунктов 136–144, или терапевтически эффективной дозы выделенных клеток или популяции клеток по любому из пунктов 201–211, субъекту.

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

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

35 148. Способ в соответствии с любым из пунктов 145–147, отличающийся тем, что выделенные клетки вводят субъекту способом, выбранным из группы, состоящей из: внутривенной инъекции, внутривенной инъекции, внутривенной инъекции, интратекальной инъекции, инъекции в спинномозговую жидкость (СМЖ), прямой инъекции в опухоль, и в виде геля, наносимого на солидную опухоль или возле нее.

Варианты медицинского применения

149. Глюкокортикоид для применения в способе, соответствующем любому из пунктов 101–148.
150. Применение глюкокортикоида для изготовления медикамента для применения в способе, соответствующем любому из пунктов 101–148.
151. Применение дексаметазона для индукции и/или мобилизации популяции НКТ-подобных клеток, отличающееся тем, что указанную популяцию клеток индуцируют и/или мобилизуют способом, соответствующим любому из пунктов 101–148.
- Происходящие из АУМ-НКТ и ПСК*
152. Способ получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК), включающий перепрограммирование клеток, выделенных способом, соответствующим любому из пунктов 136–138, для получения иПСК.
153. Способ по пункту 152, отличающийся тем, что указанное перепрограммирование включает введение одной или более экспрессионных кассет, кодирующих Oct3/4, Klf4, Sox2 и С-мус, в клетки.
154. Способ по пункту 152, отличающийся тем, что указанное перепрограммирование включает введение мРНК, кодирующей Oct3/4, KLF4, Sox2 и с-мус, в клетки.
155. Способ по пункту 153 или 154, отличающийся тем, что указанное перепрограммирование дополнительно включает введение одной или более экспрессионных кассет, кодирующих одно или более из: Sox1, Sox3, Sox15, Klf1, Klf2, Klf5, L-мус, N-мус, Nanog и/или LIN28, в клетки.
156. Способ по пункту 153 или 154, отличающийся тем, что указанное перепрограммирование дополнительно включает введение одной или более из: мРНК, кодирующих Sox1, Sox3, Sox15, Klf1, Klf2, Klf5, L-мус, N-мус, Nanog и/или LIN28, в клетки.
157. Способ в соответствии с любым из пунктов 152–156, дополнительно включающий индукцию дифференцировки иПСК.
158. Способ в соответствии с пунктом 157, отличающийся тем, что указанные иПСК дифференцируют в НКТ-клетки.

159. Способ получения популяции NKT-подобных клеток, включающий дифференцировку и ПСК, полученных способом в соответствии с любым из пунктов 152–156, в линию NKT-клеток.

5

Выделенные NKT-подобные клетки иммунной системы человека

201. Выделенная клетка, подобная естественной киллерной Т-клетке (NKT-подобная клетка), или популяция NKT-подобных клеток, полученная способом, соответствующим
10 любому из пунктов 101–159.

202. Выделенная NKT-подобная клетка, характеризующаяся тем, что указанная клетка экспрессирует CD56, TCR гамма/дельта и iTCR.

15 203. Выделенная клетка в соответствии с пунктом 202, причем указанная клетка характеризуется тем, что:

- i) указанная клетка экспрессирует CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR альфа/бета, CD34 и/или ICAM3;
- ii) указанная клетка экспрессирует CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44,
20 CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 и/или TCR альфа/бета;
- iii) указанная клетка не экспрессирует CD4;
- iv) указанная клетка экспрессирует CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16 и NKp44;
- v) указанная клетка экспрессирует CD56, TCR гамма/дельта, iTCR и TCR
25 альфа/бета;
- vi) указанная клетка экспрессирует CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44 и TCR альфа/бета;
- vii) указанная клетка экспрессирует CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD8, CD14 и CD19
- 30 viii) указанная клетка экспрессирует CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19 и CD45;
- ix) указанная клетка экспрессирует CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 и TCR альфа/бета; и/или
- x) указанная клетка экспрессирует комбинацию маркеров, определенную в пункте
35 103.

204. Выделенная популяция NKT-подобных клеток, характеризующаяся тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта и iTCR.

5 205. Выделенная популяция клеток согласно положению 204, причем указанная популяция клеток характеризуется тем, что:

- i) по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR альфа/бета, CD34 и/или ICAM3;
- 10 ii) по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 и/или TCR альфа/бета;
- iii) по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток не экспрессируют CD4;
- 15 iv) по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16 и NKp44;
- v) по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR и TCR альфа/бета;
- 20 vi) по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44 и TCR альфа/бета;
- vii) по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD8, CD14 и CD19;
- viii) по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19 и CD45;
- 25 ix) по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 и TCR альфа/бета; и/или
- x) по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют комбинацию маркеров, определенную в пункте 103.

30

206. Выделенная клетка или выделенная популяция клеток в соответствии с любым из пунктов 202–205, причем указанную клетку или указанные клетки получают способом, соответствующим любому из пунктов 101–159.

35 207. Выделенная клетка или выделенная популяция клеток в соответствии с любым из пунктов 202–205, причем указанная клетка или указанные клетки представляют собой встречающиеся в природе клетки.

208. Выделенная клетка или выделенная популяция клеток в соответствии с любым из пунктов 202–205 и 207, причем указанная клетка или указанные клетки не были трансфицированы, трансдуцированы или иным образом модифицированы для экспрессии TCR
5 гамма/дельта.

209. Выделенная клетка или выделенная популяция клеток в соответствии с любым из пунктов 202–205 и 207–208, причем указанная клетка или указанные клетки не были трансфицированы, трансдуцированы или иным образом модифицированы для экспрессии
10 iTCR.

210. Выделенная клетка или выделенная популяция клеток в соответствии с любым из пунктов 202–205 и 207–209, причем указанная клетка или указанные клетки не были трансфицированы, трансдуцированы или иным образом модифицированы для экспрессии TCR
15 альфа/бета.

211. Выделенная клетка или выделенная популяция клеток в соответствии с любым из пунктов 202–205 и 207–210, причем указанная клетка или клетки не были трансфицированы, трансдуцированы или иным образом модифицированы для экспрессии CD56, TCR
20 гамма/дельта, iTCR, CD16, НКp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR альфа/бета, CD34 и/или ICAM3.

- - -

25 *Способы лечения*

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

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

- i) экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, НКp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR альфа/бета, CD34 и/или ICAM3;
- ii) экспрессирует CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, НКp44, CD3, CD8, CD14,
35 CD19, CD45 и/или TCR альфа/бета; и/или
- iii) не экспрессируют: CD4.

302. Глюкокортикоид для применения в способе лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания у субъекта, отличающийся тем, что указанный способ включает введение глюкокортикоида субъекту в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) приблизительно 6–45 мг/кг основания дексаметазона,
5 при этом указанный глюкокортикоид индуцирует популяцию NKT-подобных клеток согласно определению в любом из пунктов 101–159.
303. Способ лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания у субъекта, отличающийся тем, что указанный способ включает введение глюкокортикоида субъекту в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) приблизительно 6–45 мг/кг основания дексаметазона,
10 причем указанный глюкокортикоид индуцирует популяцию NKT-подобных клеток, характеризующуюся тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток:
15 i) экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR альфа/бета, CD34 и/или ICAM3;
ii) экспрессирует CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 и/или TCR альфа/бета; и/или
iii) не экспрессируют: CD4.
20
304. Способ лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания у субъекта, отличающийся тем, что указанный способ включает введение глюкокортикоида субъекту в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека), равной приблизительно 6–45 мг/кг основания дексаметазона,
25 при этом указанный глюкокортикоид индуцирует популяцию NKT-подобных клеток согласно определению в любом из пунктов 101–159.
305. Выделенная NKT-подобная клетка или популяция NKT-подобных клеток для применения в способе лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания у субъекта, причем указанный способ включает введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективной дозы:
30 i) клеток, выделенных в соответствии с любым из пунктов 136–144;
ii) клеток в соответствии с любым из пунктов 201–211.
- 35 306. Способ лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания у субъекта, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективной дозы:

- i) клеток, выделенных в соответствии с любым из пунктов 136–144;
- ii) клеток в соответствии с любым из пунктов 201–211.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения популяции естественных киллерных Т-клеток (НКТ-подобных клеток), включающий введение субъекту-человеку модулирующего глюкокортикоидный рецептор (ГР) агента в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека), равной по меньшей мере приблизительно 6 мг/кг основания дексаметазона;
- 5 отличающийся тем, что указанная популяция НКТ-клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта и iTCR.
- 10
2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанная популяция НКТ-подобных клеток характеризуется тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток:
- i) экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR альфа/бета, CD34 и/или ICAM3;
- 15 ii) экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 и/или TCR альфа/бета; и/или
- iii) не экспрессируют: CD4.
3. Способ по п. 2, отличающийся тем, что указанные НКТ-подобные клетки
- 20 экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта и iTCR, и:
- i) CD16 и NKp44;
- (ii) TCR альфа/бета;
- (iii) CD16, NKp44 и TCR альфа/бета;
- (iv) CD16, NKp44, CD8, CD14 и CD19;
- 25 (v) CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19 и CD45; или
- (vi) CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 и TCR альфа/бета.
4. Способ по п. 2 или 3, отличающийся тем, что указанные НКТ-подобные клетки представляют собой:
- 30 i) CD3+/dim;
- ii) CD8+/dim;
- iii) CD3+/dim и CD8+/dim;
- при этом необязательно уровни экспрессии определены относительно среднего уровня экспрессии в популяции референсных клеток, происходящих из общего источника, которые не были приведены в контакт с модулирующим
- 35 глюкокортикоидный рецептор (ГР) агентом или модулирующим ICAM3 агентом.

5. Способ по любому из пп. 1–4, отличающийся тем, что указанный модулирующий глюкокортикоидный рецептор (ГР) агент представляет собой глюкокортикоид, при этом необязательно указанный глюкокортикоид выбран из группы, состоящей из: дексаметазона, гидрокортизона, метилпреднизолона, преднизона, преднизолона, преднилидена, кортизона, будесонида, бетаметазона, флуметазона и беклометазона.
6. Способ по п. 5, отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид выбран из группы, состоящей из: дексаметазона, бетаметазона и метилпреднизона.
7. Способ по п. 6, отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид представляет собой дексаметазон или бетаметазон.
8. Способ по любому из пп. 5–7, отличающийся тем, что указанный дексаметазон представляет собой дексаметазона натрия фосфат.
9. Способ по любому из пп. 1–8, отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид вводят в дозе, эквивалентной приблизительно:
- i) ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере 6–12 мг/кг основания дексаметазона;
 - ii) ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере 6 мг/кг основания дексаметазона;
 - iii) ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере 12 мг/кг основания дексаметазона;
 - iv) ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере 15 мг/кг основания дексаметазона;
 - v) ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере 21 мг/кг основания дексаметазона;
 - vi) ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) по меньшей мере 24 мг/кг основания дексаметазона;
 - vii) ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) 15 мг/кг основания дексаметазона;
 - viii) ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) 24 мг/кг основания дексаметазона; или
 - ix) ЭДЧ (эквивалентная доза для человека) 45 мг/кг основания дексаметазона.
10. Способ по любому из пп. 1–9, отличающийся тем, что указанный глюкокортикоид вводят в виде разовой острой дозы, или в виде суммарной дозы, которую вводят за период, составляющий приблизительно 72 часа.

11. Способ по любому из пп. 1–10, отличающийся тем, что указанный способ включает введение одной или более дополнительных доз глюкокортикоида.
- 5 12. Способ по любому из пп. 1–11, дополнительно включающий этап введения активатора NKT-клеток, активатора Т-клеток и/или активатора NK-клеток субъекту.
13. Способ по п. 12, отличающийся тем, что указанный активатор NKT-клеток, активатор Т-клеток и/или активатор NK-клеток вводят в пределах 1 часа или приблизительно через 1 час
10 после введения глюкокортикоида.
14. Способ по любому из пп. 1–13, отличающийся тем, что указанный субъект имеет, предположительно имеет, или у него было диагностировано заболевание, выбранное из группы, состоящей из: рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания;
15 и/или NKT-подобные клетки лечат заболевание, выбранное из группы, состоящей из: рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания, у указанного субъекта.
15. Способ по п. 14, отличающийся тем, что указанный рак представляет собой солидную раковую опухоль.
20
16. Способ по п. 15, отличающийся тем, что указанный рак представляет собой лимфому, предпочтительно В-клеточную лимфому, Т-клеточную лимфому или неходжкинскую лимфому, или лейкоз, предпочтительно Т-ОЛЛ или В-ОЛЛ.
- 25 17. Способ по любому из пп. 14–16, отличающийся тем, что указанные NKT-подобные клетки лечат рак путем инфильтрации опухоли.
18. Способ по любому из пп. 14–17, отличающийся тем, что указанные NKT-подобные клетки способствуют инфильтрации опухоли другими иммунными клетками.
30
19. Способ по любому из пп. 14–18, отличающийся тем, что указанные NKT-подобные клетки непосредственно убивают раковые клетки путем CD1d-направленного апоптоза.
20. Способ по любому из пп. 14–19, отличающийся тем, что указанные NKT-подобные
35 клетки лечат рак, вызывая некроз опухоли.

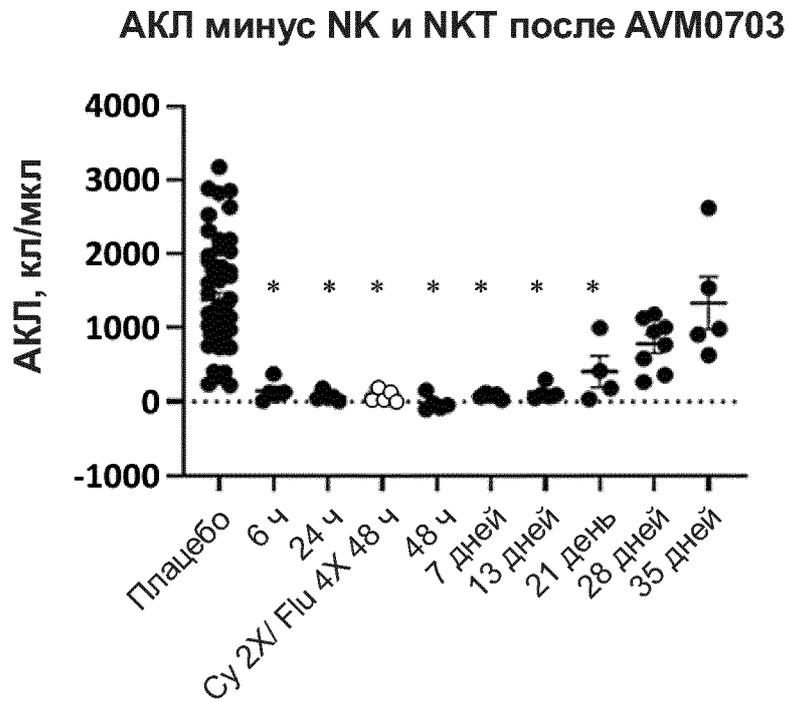
21. Способ по п. 14, отличающийся тем, что указанное аутоиммунное заболевание выбрано из группы, состоящей из: рассеянного склероза, системного склероза, амиотрофического бокового склероза, сахарного диабета 1 типа (Т1D), склеродермии, пузырчатки и волчанки.
- 5 22. Способ по п. 14, отличающийся тем, что указанное инфекционное заболевание представляет собой ВИЧ или заболевание, являющееся результатом инфекции коронавирусом, такое как COVID-19.
- 10 23. Способ по любому из пп. 1–22, дополнительно включающий этап выделения популяции NKT-подобных клеток от субъекта или из образца, происходящего от субъекта, необязательно отличающийся тем, что этап выделения осуществляют:
- i) по меньшей мере через 48 часов после введения глюкокортикоида; или
 - ii) через 48 часов – 13 дней после введения глюкокортикоида.
- 15 24. Способ по п. 23, отличающийся тем, что указанный образец выбран из группы, состоящей из: крови, плазмы, биоптата опухоли или извлеченной хирургическим путем опухоли, костного мозга, печени, и жировой или адипозной ткани.
- 20 25. Способ по п. 23 или 24, дополнительно включающий этап размножения выделенных NKT-подобных клеток.
26. Способ по любому из пп. 23–25, дополнительно включающий этап активации выделенных NKT-подобных клеток активатором NKT-клеток, активатором Т-клеток и/или активатором NK-клеток;
- 25 необязательно отличающийся тем, что указанный активатор NKT-клеток выбирают из альфа-GalCer и сульфатида;
- необязательно отличающийся тем, что указанный активатор Т-клеток выбирают из золедроната и мевастатина; и
- 30 необязательно отличающийся тем, что активатор NK-клеток выбран из группы, состоящей из: ИЛ-2, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-18, ИЛ-21.
27. Способ по любому из пп. 23–25, дополнительно включающий этап введения нуклеиновой кислоты, кодирующей белок, в выделенные NKT-подобные клетки, и культивирование указанных клеток в условиях, облегчающих экспрессию указанного белка.

35

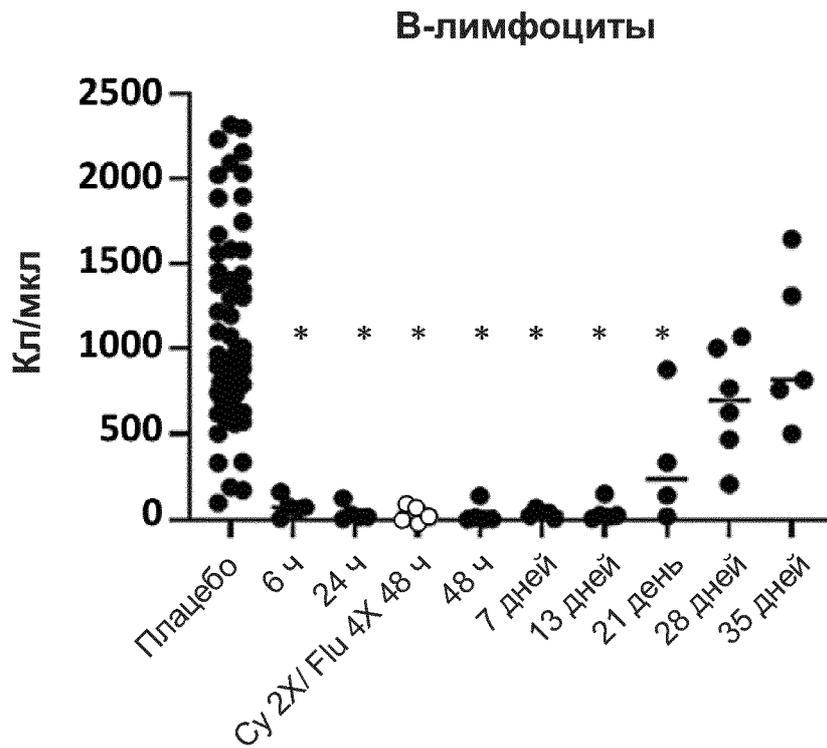
28. Способ по п. 27, отличающийся тем, что указанный белок выбран из группы, состоящей из одного или более из: Т-клеточного рецептора (TCR), химерного антигенного рецептора (CAR), и «разделенного, универсального и программируемого» CAR (SUPRA-CAR).
- 5 29. Способ по любому из пп. 23–28, дополнительно включающий этап размножения NKT-подобных клеток.
30. Способ по любому из пп. 23–29, дополнительно включающий этап активации NKT-подобных клеток активатором NKT-клеток, активатором Т-клеток и/или активатором НК-клеток.
- 10 31. Способ лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания у субъекта, включающий введение терапевтически эффективной дозы выделенных NKT-подобных клеток по любому из пп. 1–30 субъекту.
- 15 32. Глюкокортикоид для применения в способе по любому из пп. 1–31.
33. Применение глюкокортикоида для изготовления медикамента для применения в способе по любому из пп. 1–31.
- 20 34. Выделенная NKT-подобная клетка или популяция NKT-подобных клеток, полученная способом по любому из пп. 1–33.
35. Выделенная NKT-подобная клетка, характеризующаяся тем, что указанная клетка экспрессирует CD56, TCR гамма/дельта и iTCR, и необязательно:
- 25 i) экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR альфа/бета, CD34 и/или ICAM3;
- ii) экспрессирует CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 и/или TCR альфа/бета; и/или
- 30 iii) не экспрессирует: CD4
36. Выделенная NKT-подобная клетка по п. 35, отличающаяся тем, что NKT-подобная клетка или ее предшественник не были трансфицированы, трансдуцированы или иным образом модифицированы для экспрессии TCR гамма/дельта.
- 35

37. Выделенная NKT-подобная клетка по п. 35 или 36, отличающаяся тем, что указанная NKT-подобная клетка или ее предшественник не были трансфицированы, трансдуцированы или иным образом модифицированы для экспрессии iTCR.
- 5 38. Выделенная NKT-подобная клетка по п. 35–37, отличающаяся тем, что NKT-подобная клетка или ее предшественник не были трансфицированы, трансдуцированы или иным образом модифицированы для экспрессии CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR альфа/бета, CD34 и/или ICAM3.
- 10 39. Выделенная популяция NKT-подобных клеток, характеризующаяся тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта и iTCR, и необязательно:
- i) экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR альфа/бета, CD34 и/или ICAM3;
 - 15 ii) экспрессируют CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 и/или TCR альфа/бета; и/или
 - iii) не экспрессируют: CD4.
40. Глюкокортикоид для применения в способе лечения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания у субъекта, отличающийся тем, что указанный способ
- 20 включает введение глюкокортикоида субъекту в дозе, эквивалентной ЭДЧ (эквивалентная доза для человека), равной приблизительно 6–45 мг/кг основания дексаметазона,
- причем указанный глюкокортикоид индуцирует популяцию NKT-подобных клеток, характеризующуюся тем, что по меньшей мере 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% клеток
- 25 экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта и iTCR, и необязательно:
- i) экспрессируют CD56, TCR гамма/дельта, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR альфа/бета, CD34 и/или ICAM3;
 - ii) экспрессируют CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 и/или TCR альфа/бета; и/или
 - 30 iii) не экспрессируют: CD4.

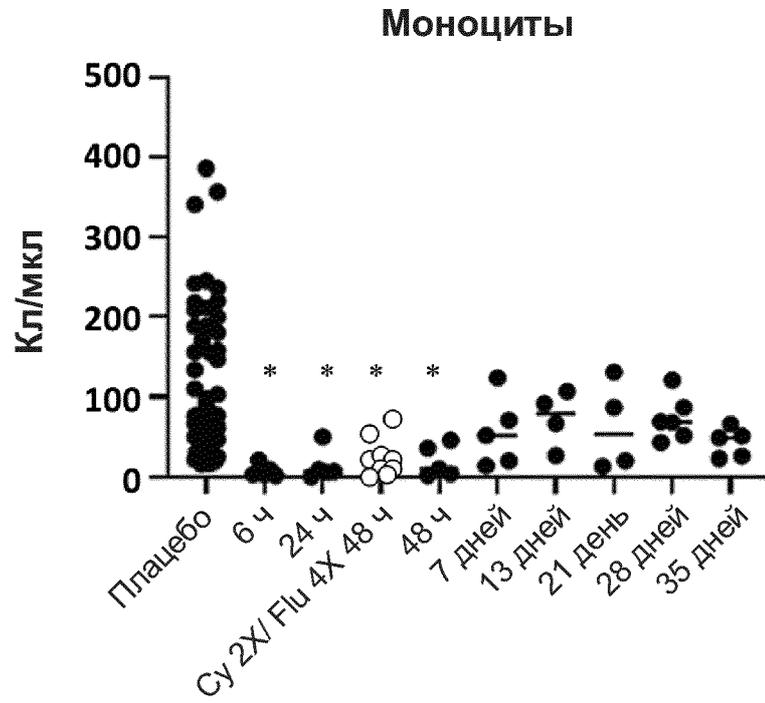
Фиг. 1



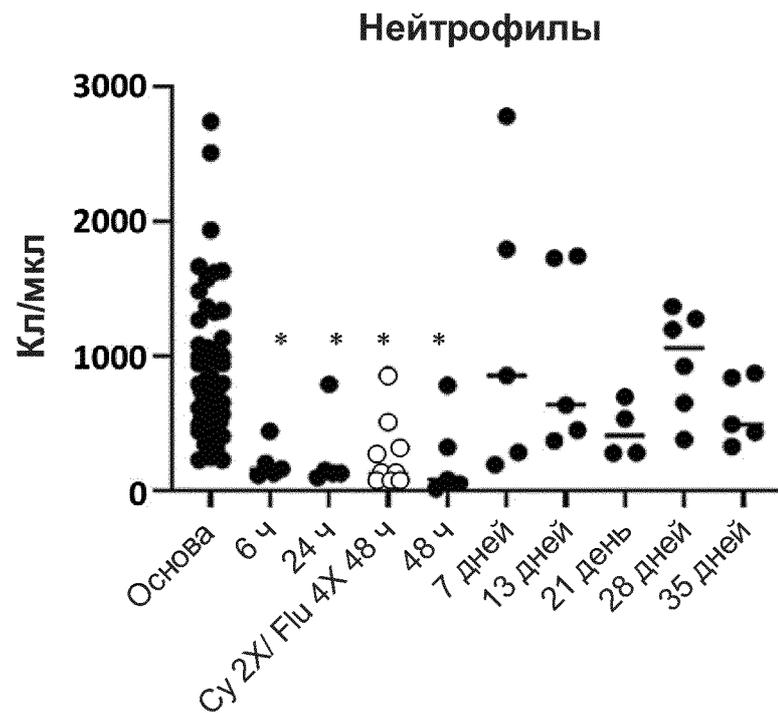
Фиг. 2



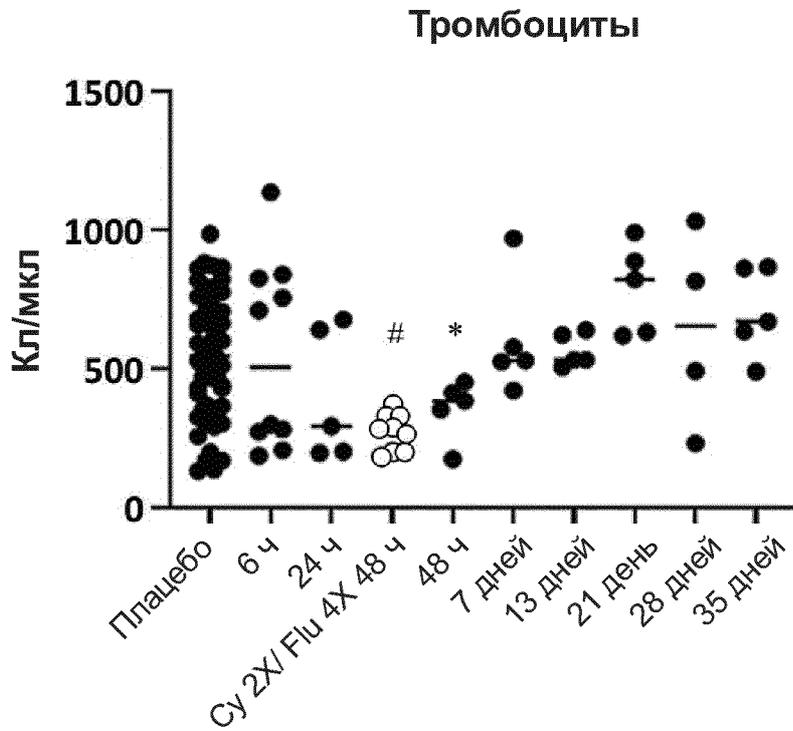
Фиг. 3



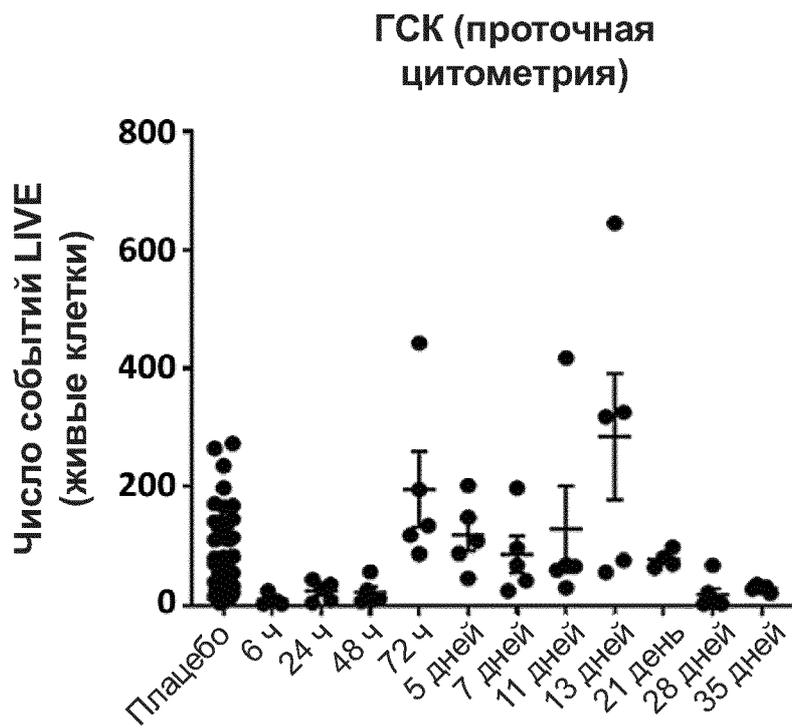
Фиг. 4



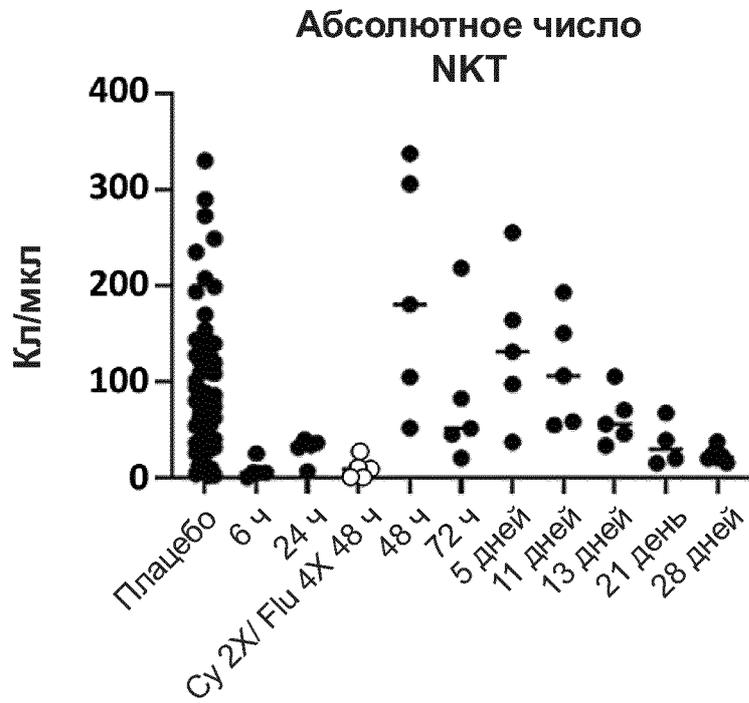
Фиг. 5



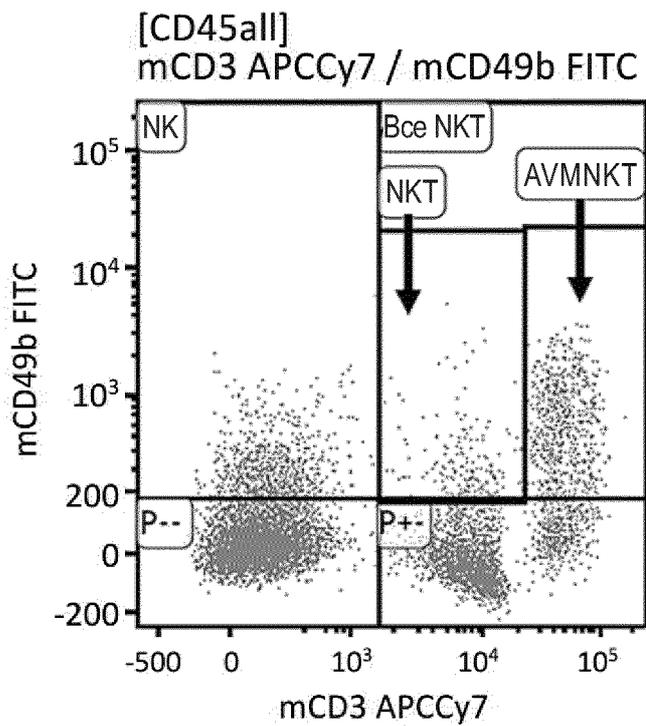
Фиг. 6



Фиг. 7

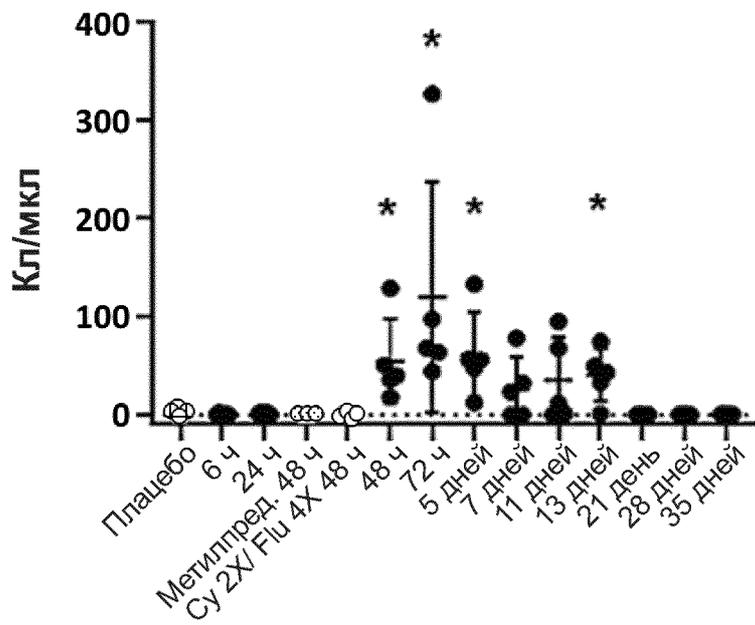


Фиг. 8



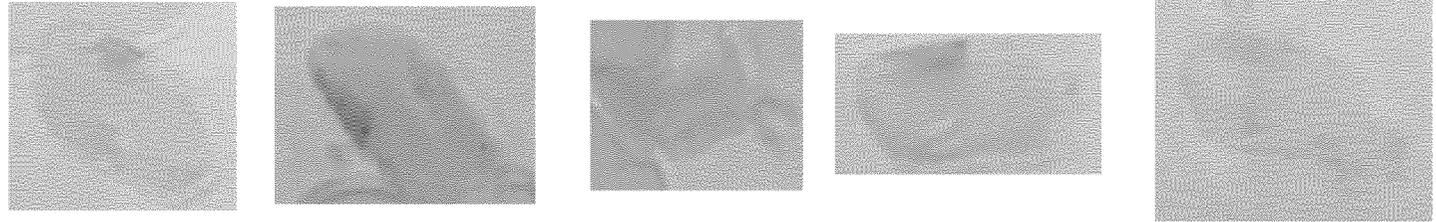
Фиг. 9

Новые естественные
киллерные Т-клетки
CD3+ с очень ярким
свечением

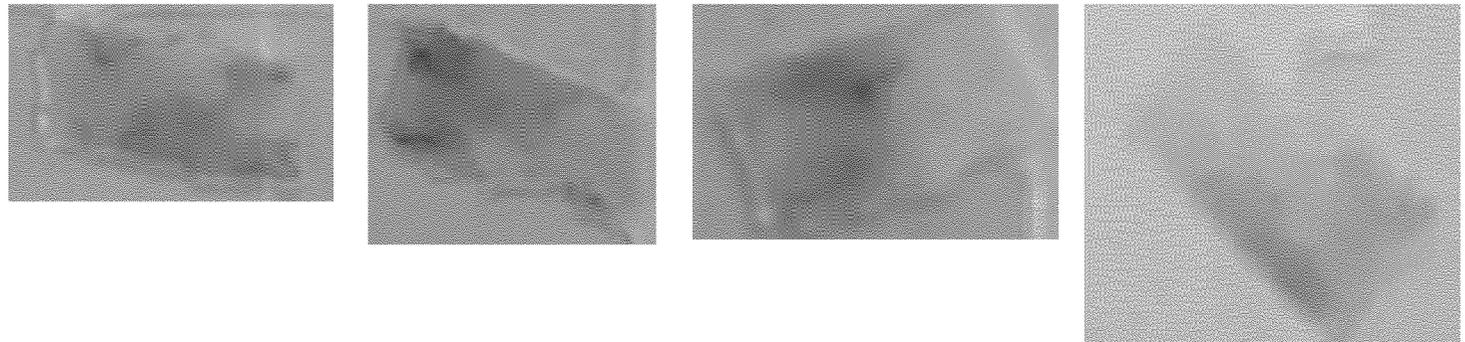


Фиг. 10А

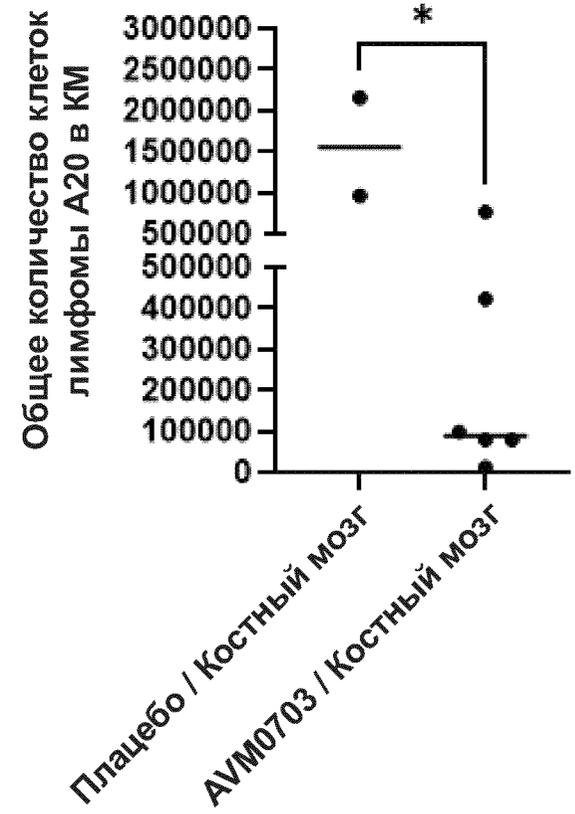
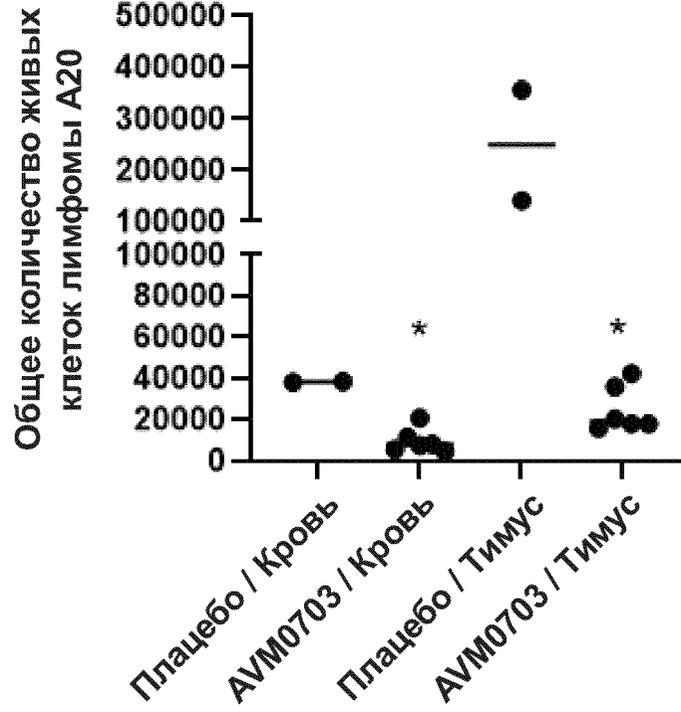
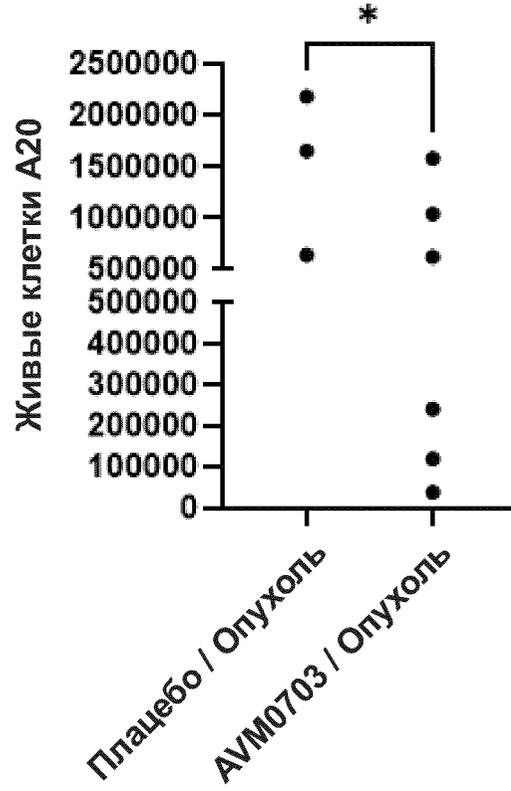
Плацебо



AVM0703

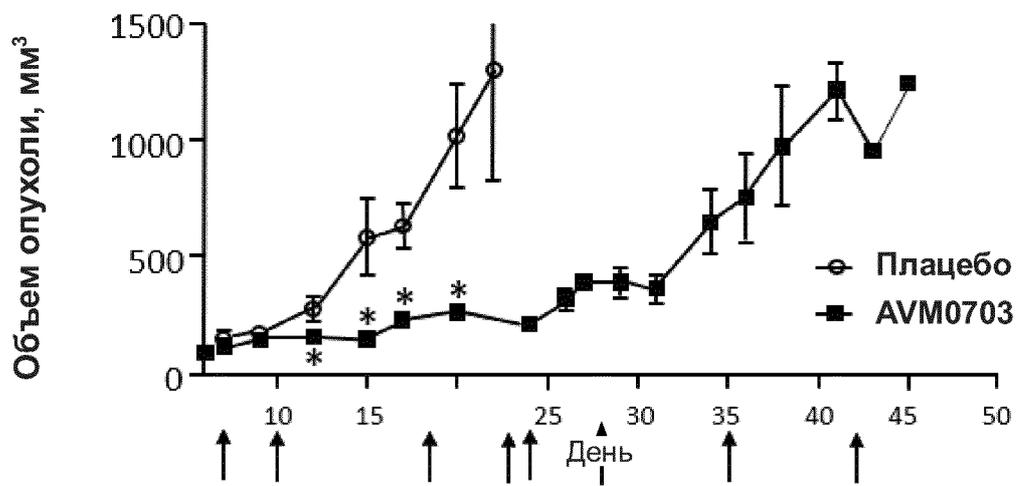


Фиг. 10В



Фиг. 11

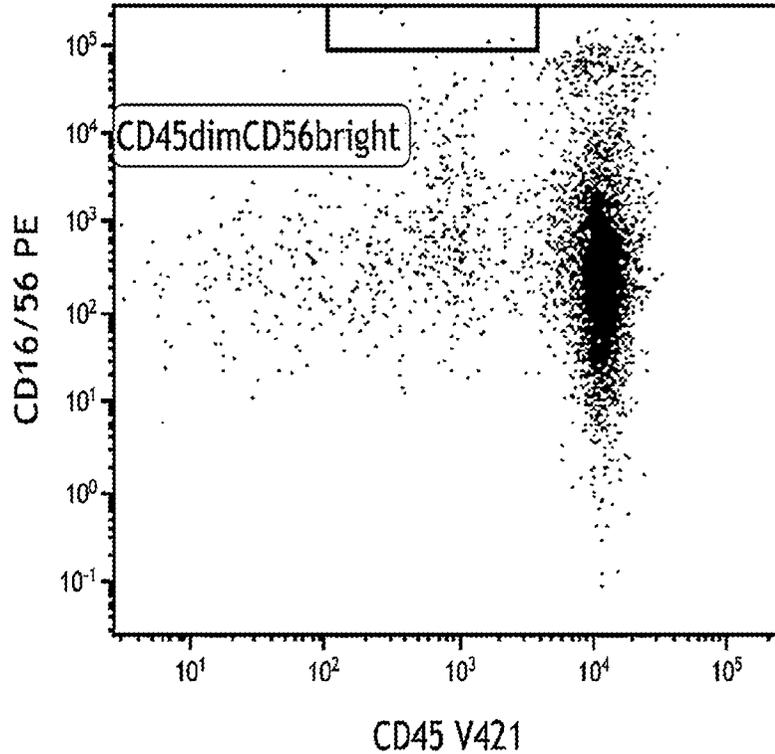
Повторное дозирование AVM0703 (ЭДЧ 18,06 мг/кг ДФ)
значимо задерживало рост лимфомы мыши А20



стрелками отмечены дни п/о дозирования плацебо или AVM0703

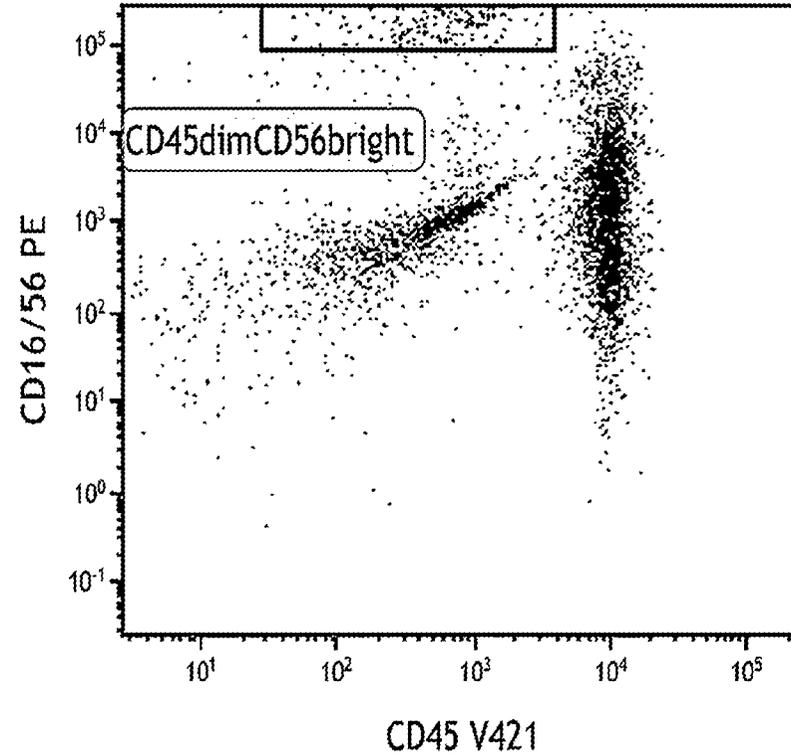
Фиг. 12

10000
событий
Пациент П_ДО
[Лимфоциты] CD45 V421/ CD16/56 PE



Гейт	Кол-во	%Общ.	% Гейтир.
CD45dimCD56bright	19	0.09	0.12
Гейт	Y-Геом.среднее		
CD45dimCD56bright	202.435.30		

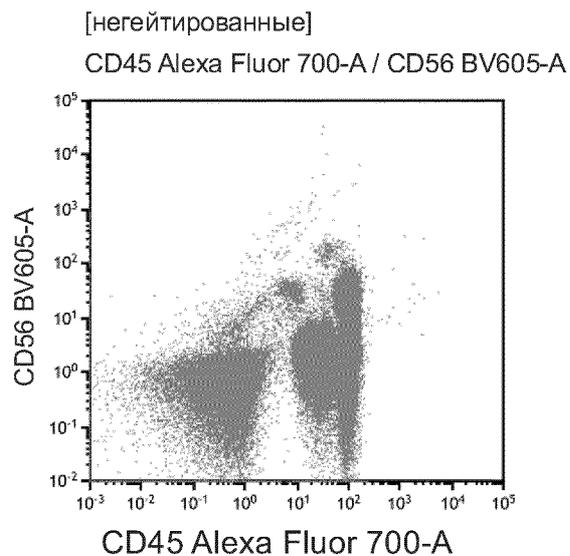
10000
событий
Пациент П_ПОСЛЕ
[Лимфоциты] CD45 V421/ CD16/56 PE



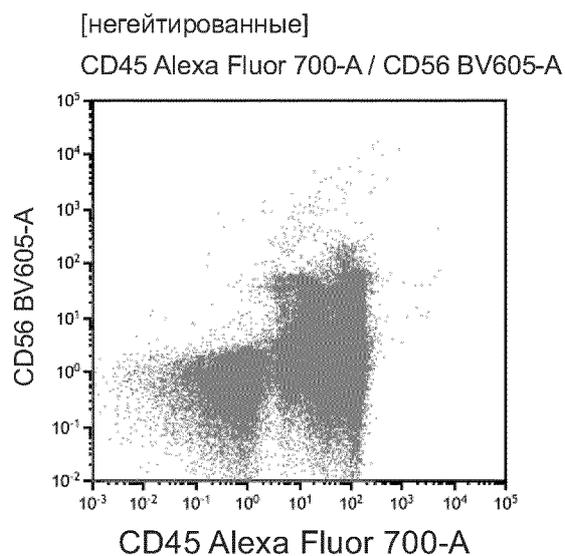
Гейт	Кол-во	%Общ.	% Гейтир.
CD45dimCD56bright	255	0.34	4.08
Гейт	Y-Геом.среднее		
CD45dimCD56bright	191.535.75		

Фиг. 13

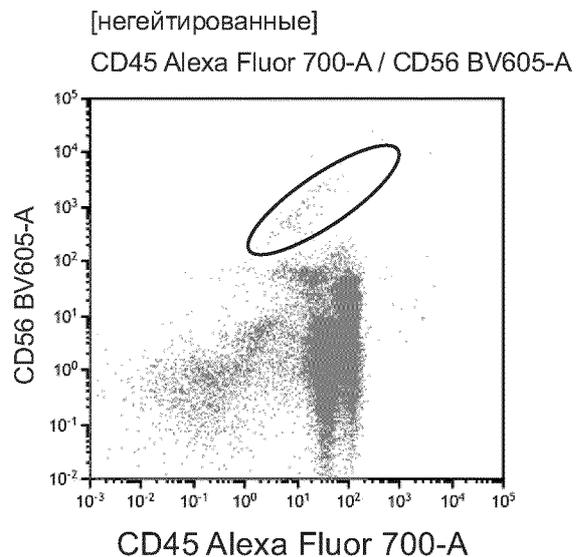
Здоровый донор крови



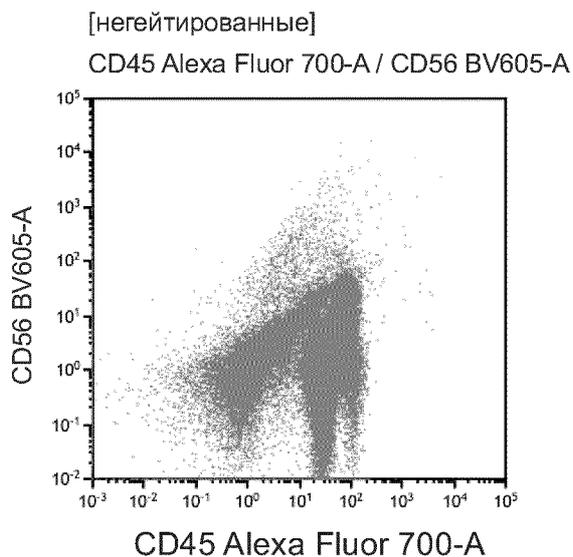
Пациент с раком предстательной железы, до введения AVM0703



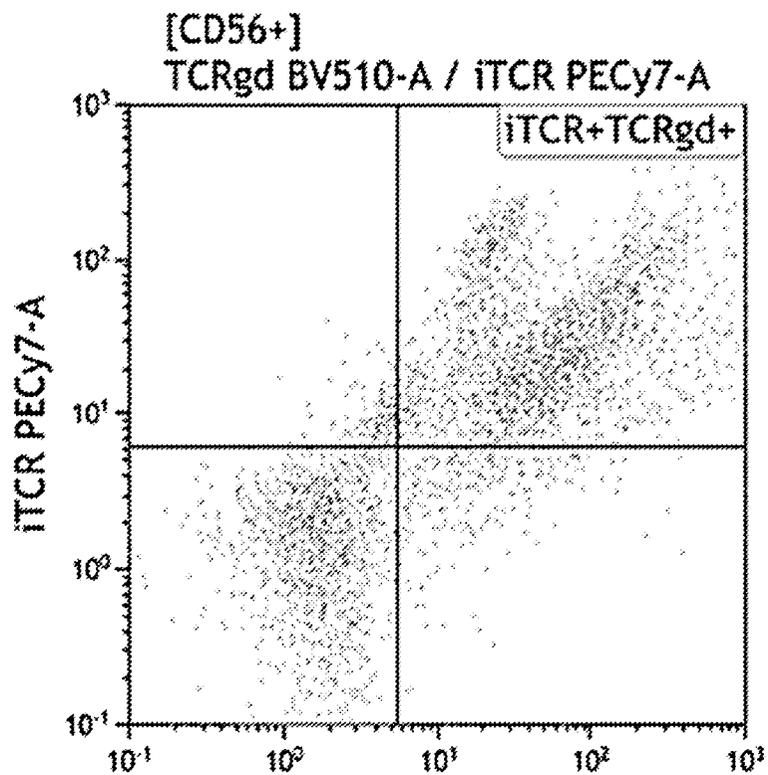
Пациент с раком предстательной железы, через 1 ч



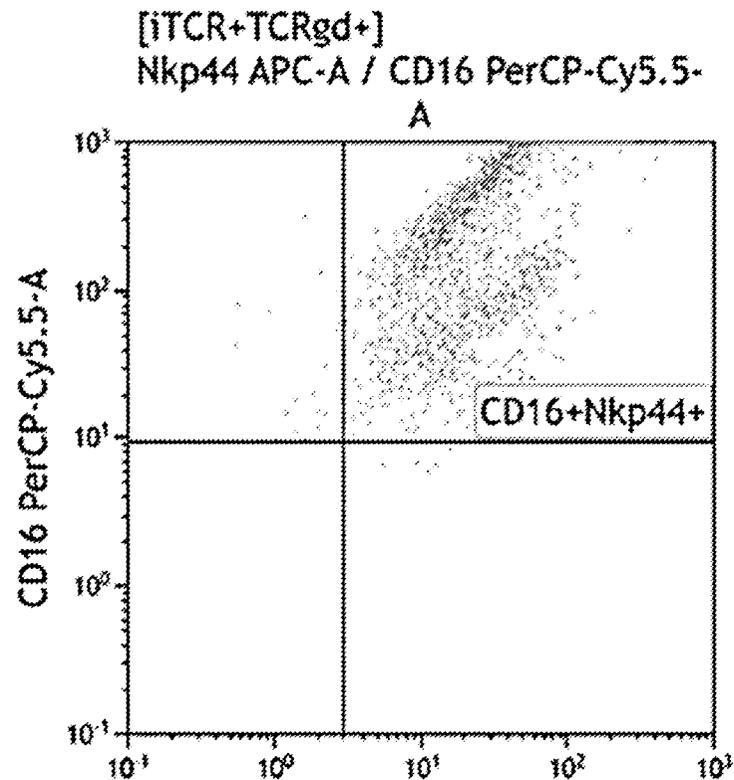
Пациент с раком предстательной железы, через 3 ч



Фиг. 14

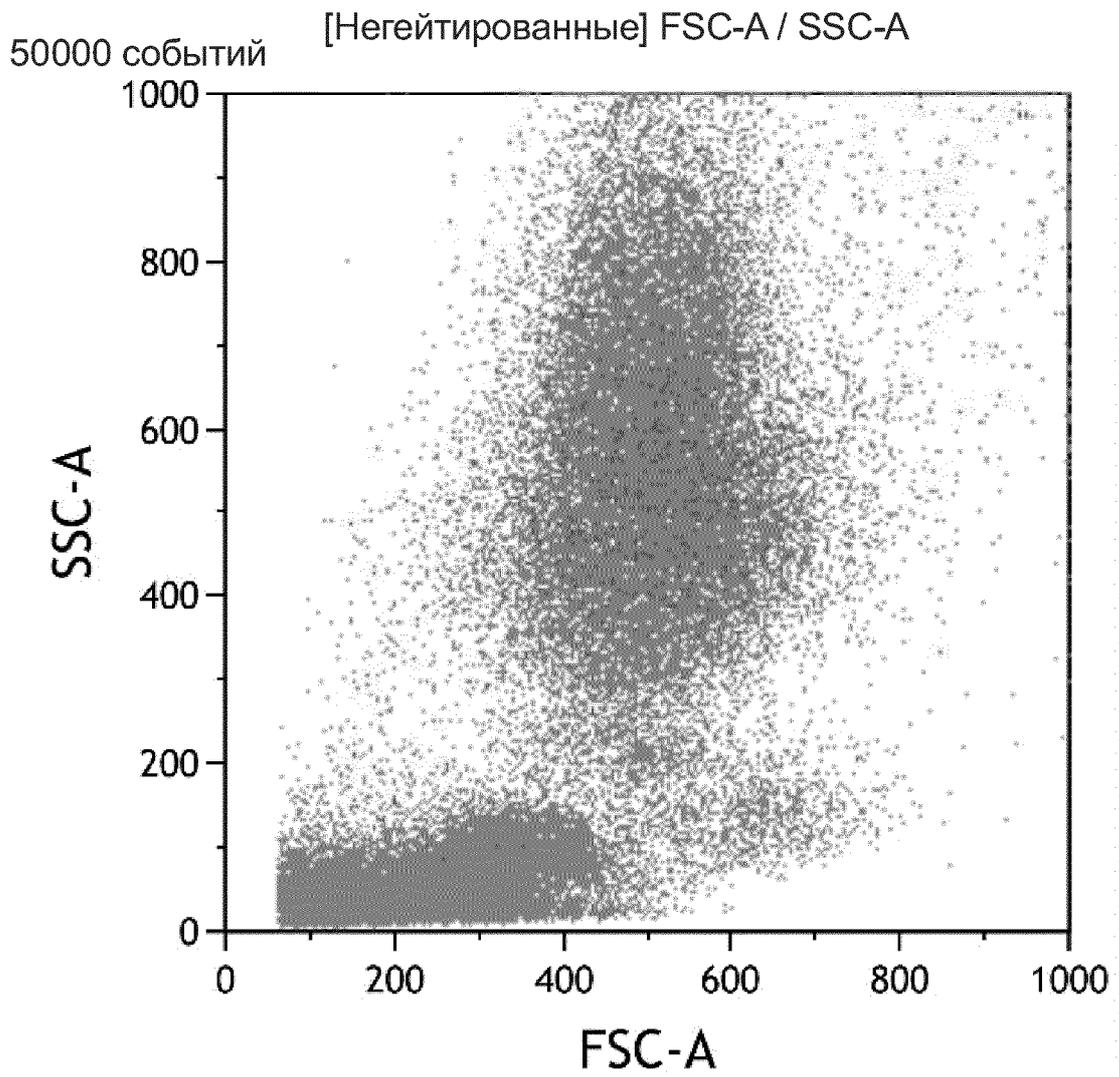


TCRgd BV510-A			
Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.
Всего	4,386	4.50	100.00
iTCR+TCRgd+	2,236	2.29	50.98

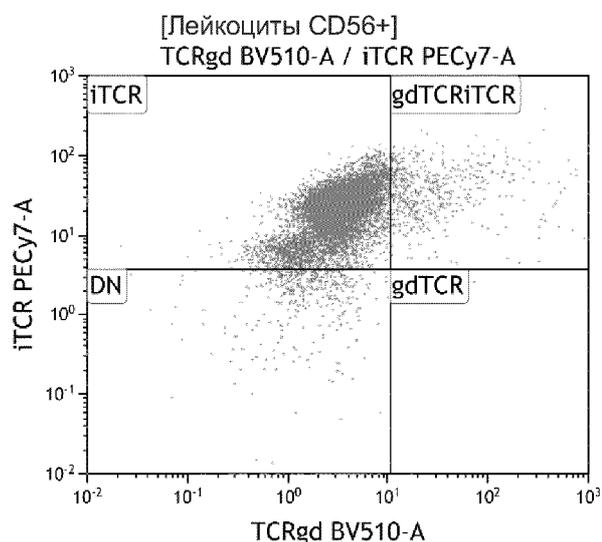


Nkp44 APC-A			
Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.
Всего	2,236	2.29	100.00
CD16+Nkp44+	2,203	2.26	98.52

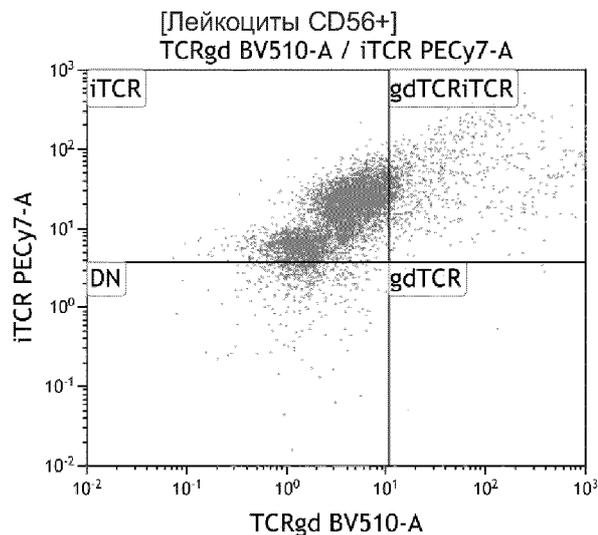
Фиг. 15



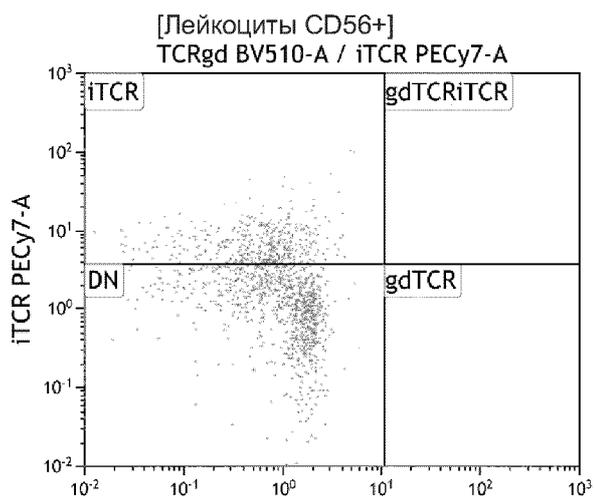
Фиг. 16



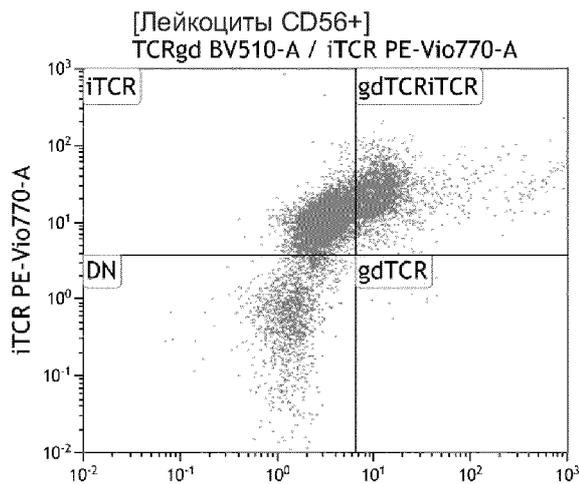
Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP гейт.
Всего	10782	1,84	100,00	H/O
DN	577	0,10	5,35	0,16
gdTCR	2	0,00	0,02	0,00
gdTCRiTCR	547	0,09	5,07	0,15
iTCR	9656	1,65	89,56	2,67



Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP гейт.
Всего	7324	1,13	100,00	H/O
DN	620	0,10	8,47	0,17
gdTCR	17	0,00	0,23	0,00
gdTCRiTCR	860	0,13	11,74	0,24
iTCR	5827	0,90	79,56	1,61

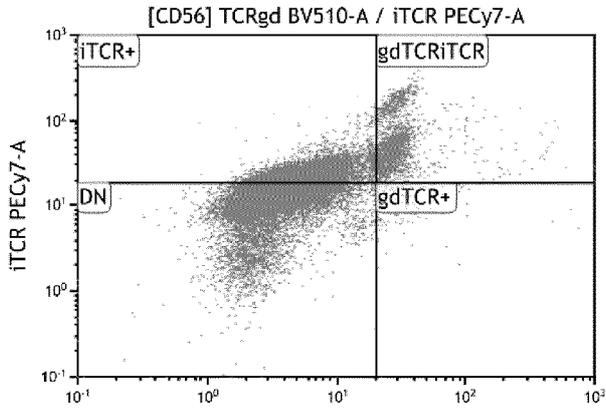


Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP гейт.
Всего	4978	2,58	100,00	H/O
DN	2578	1,34	51,79	1,54
gdTCR	216	0,11	4,34	0,13
gdTCRiTCR	5	0,00	0,10	0,00
iTCR	2179	1,13	43,77	1,30

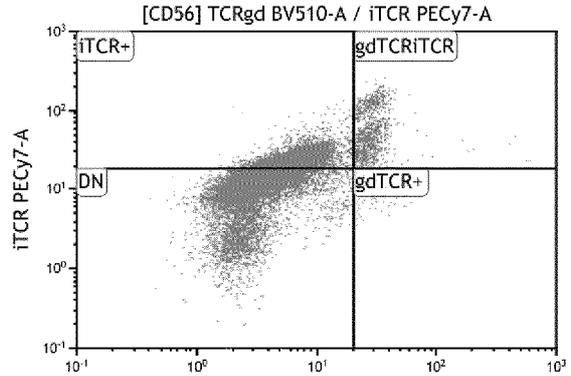


Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP гейт.
Всего	14 017	6,81	100,00	H/O
DN	2469	1,20	17,61	1,41
gdTCR	161	0,08	1,15	0,09
gdTCRiTCR	3064	1,49	21,86	1,74
iTCR	8323	4,04	59,38	4,74

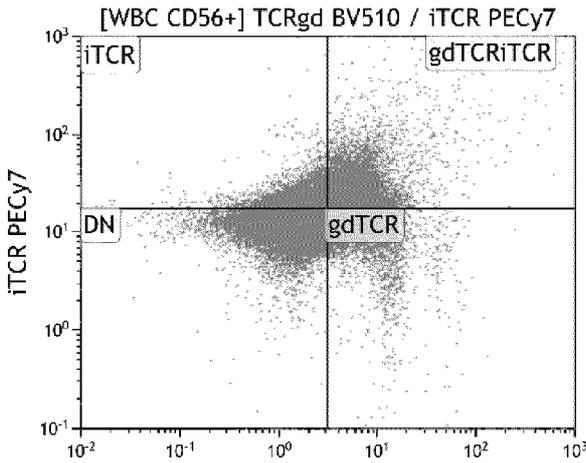
Фиг. 17



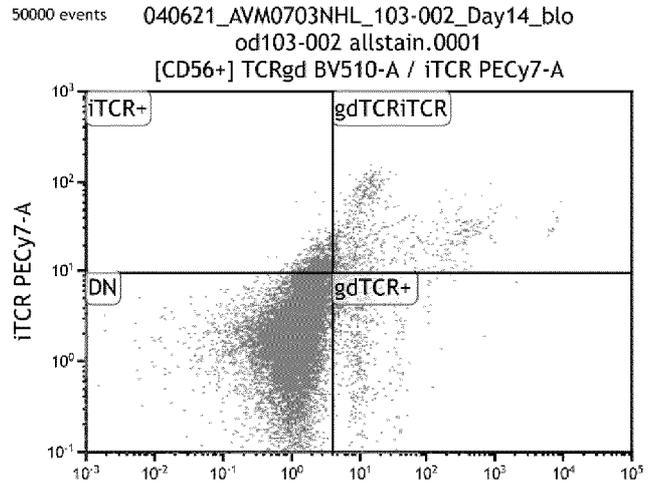
Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP гейт.
Всего	37 116	15,26	100,00	H/O
DN	19 353	7,96	52,14	10,02
gdTCR+	205	0,08	0,55	0,11
gdTCRiTCR	2179	0,90	5,87	1,13
iTCR+	15 379	6,32	41,43	7,97



Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP гейт.
Всего	23 826	14,76	100,00	H/O
DN	13 872	8,60	58,22	10,95
gdTCR+	115	0,07	0,48	0,09
gdTCRiTCR	1053	0,65	4,42	0,83
iTCR+	8786	5,44	36,88	6,93

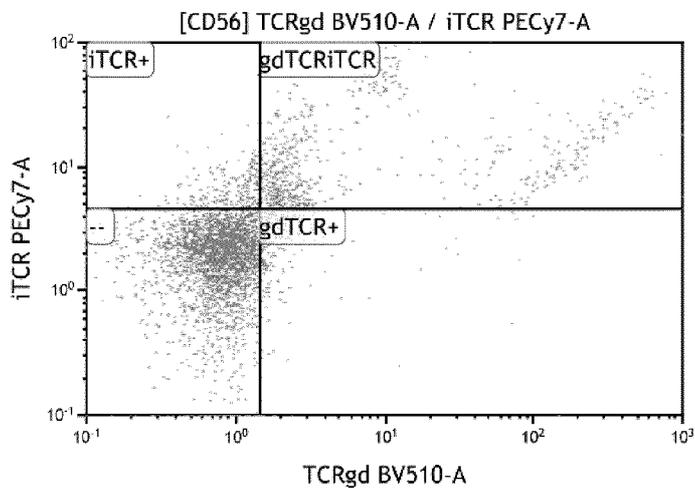
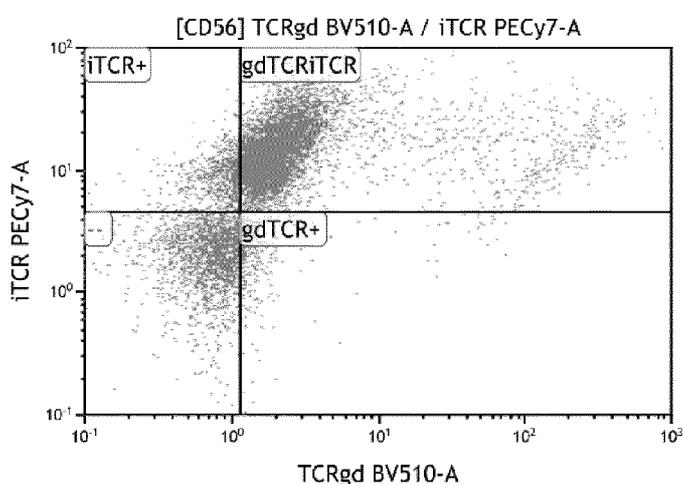


Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP гейт.
Всего	73 065	10,48	100,00	H/O
DN	41 509	5,95	56,81	6,90
gdTCR	10 863	1,56	14,87	1,81
gdTCRiTCR	11 954	1,71	16,36	1,99
iTCR	8739	1,25	11,96	1,45



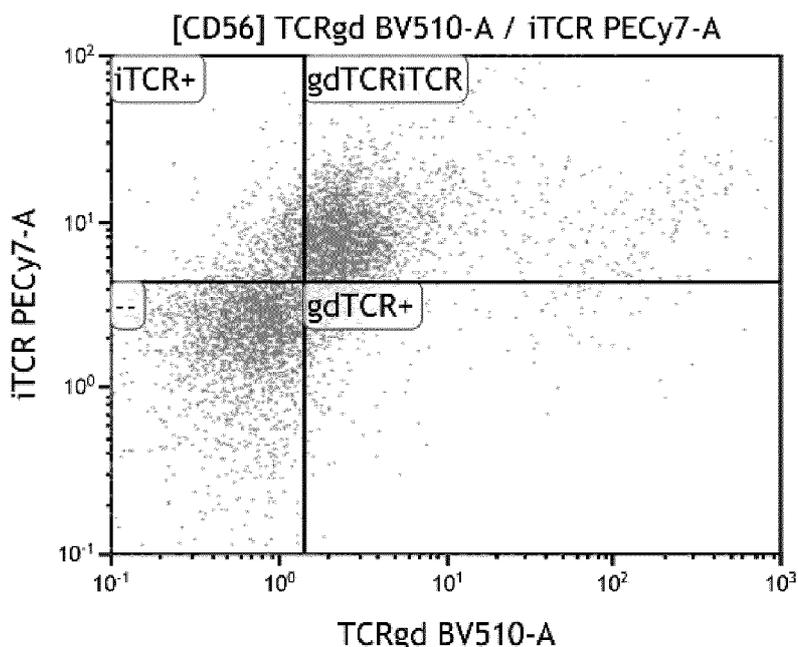
Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP гейт.
Всего	22 656	9,97	100,00	H/O
DN	19 595	8,63	86,49	12,36
gdTCR+	1707	0,75	7,53	1,08
gdTCRiTCR	671	0,30	2,96	0,42
iTCR+	683	0,30	3,01	0,43

Фиг. 18



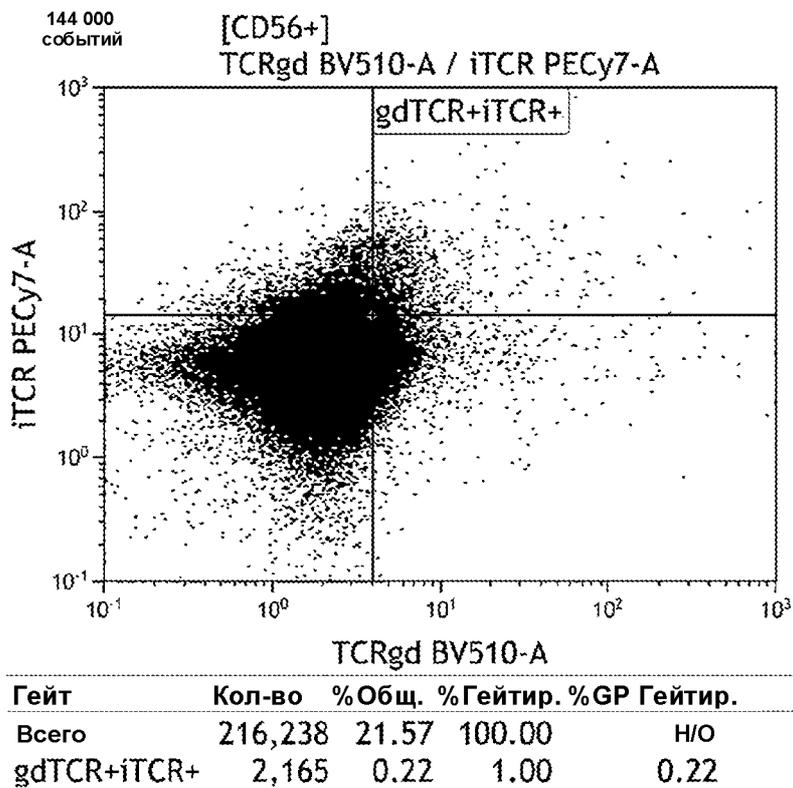
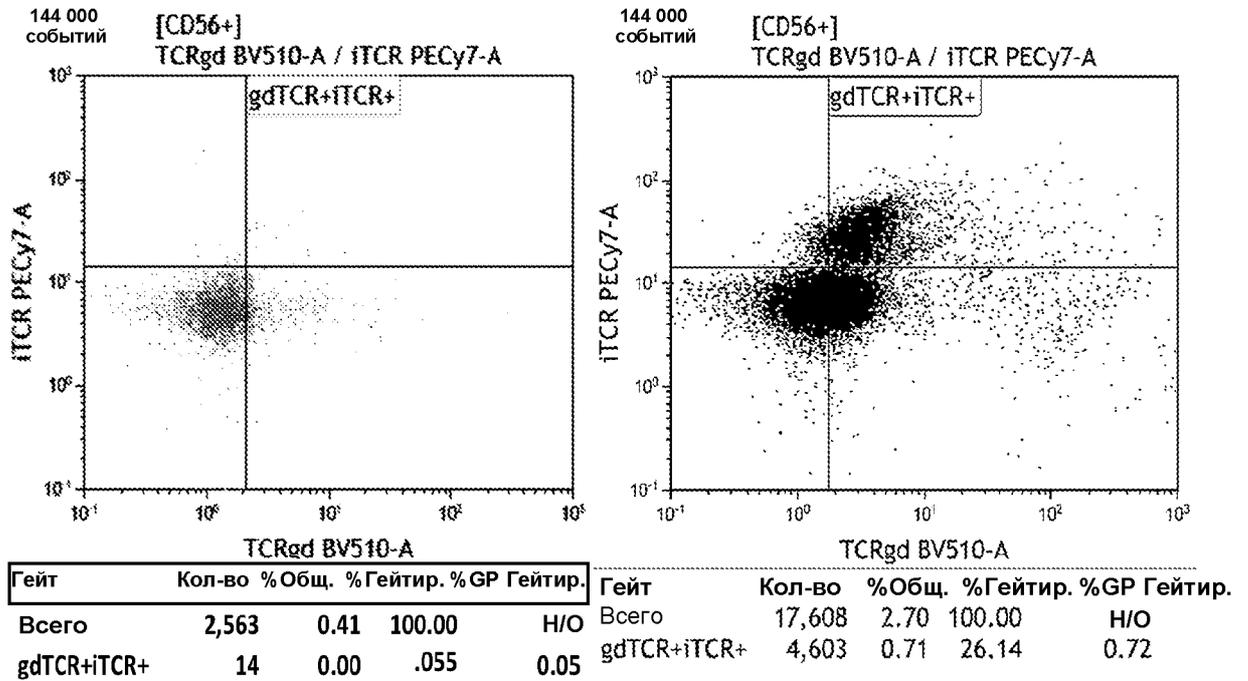
Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP гейт.
Всего	9952	9,92	100,00	H/O
--	2010	2,00	20,20	4,20
gdTCR+	468	0,47	4,70	0,98
gdTCRiTCR	6645	6,62	66,77	13,89
iTCR+	829	0,83	8,33	1,73

Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP гейт.
Всего	4228	3,37	100,00	H/O
--	2961	2,36	70,03	3,62
gdTCR+	335	0,27	7,92	0,41
gdTCRiTCR	710	0,57	16,79	0,87
iTCR+	222	0,18	5,25	0,27

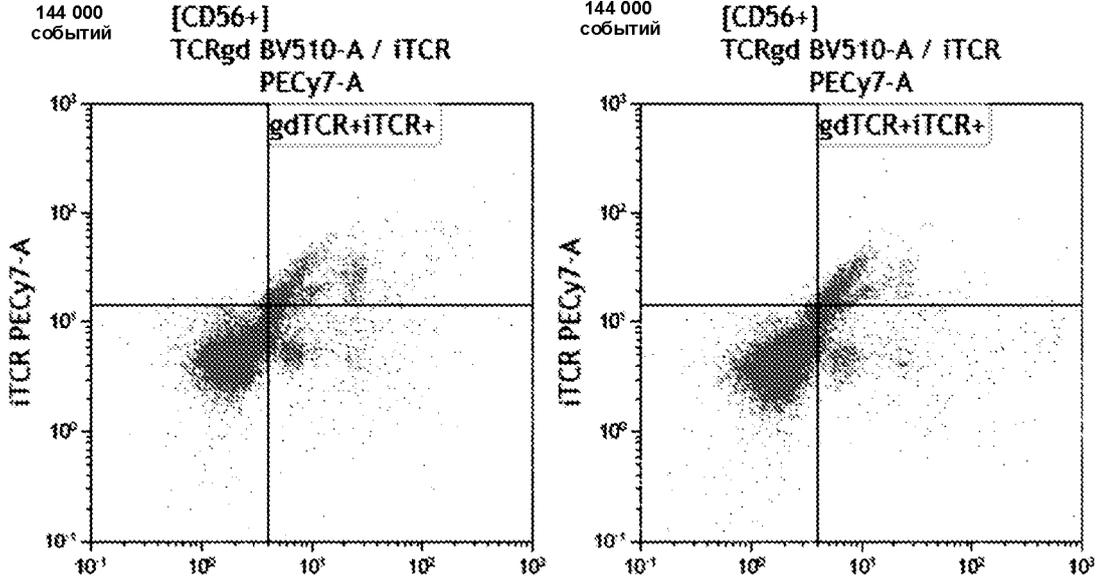


Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP гейт.
Всего	7021	4,72	100,00	H/O
--	2897	1,95	41,26	2,66
gdTCR+	598	0,40	8,52	0,55
gdTCRiTCR	2908	1,95	41,42	2,67
iTCR+	618	0,42	8,80	0,57

Фиг. 19

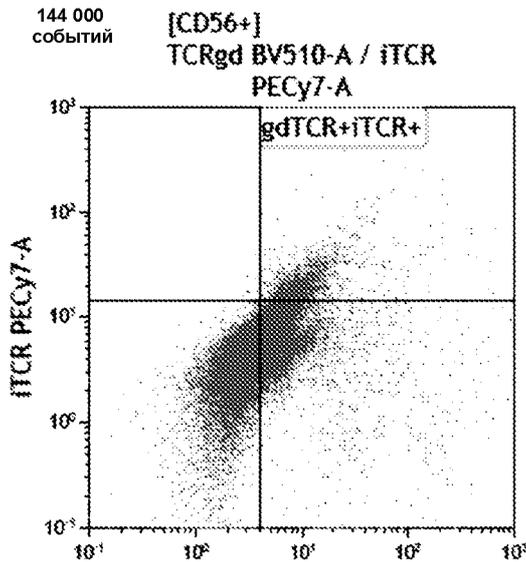


Фиг. 20

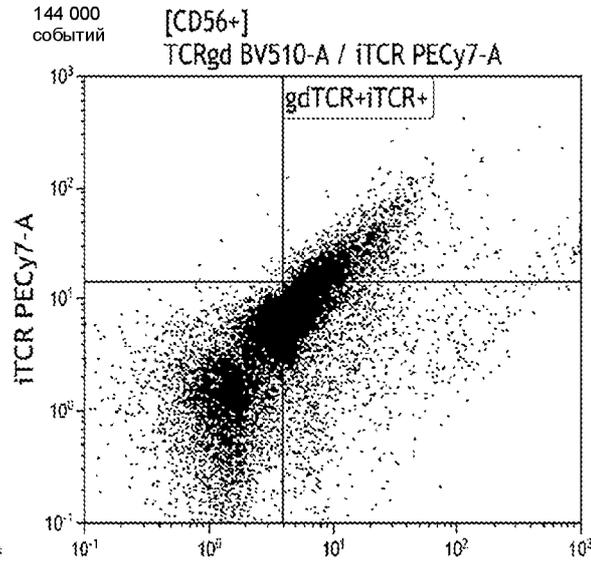


Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.
Всего	13,938	3.99	100.00
gdTCR+iTCR+	1,690	0.48	12.13

Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.
Всего	15,666	4.29	100.00
gdTCR+iTCR+	1,621	0.44	10.35

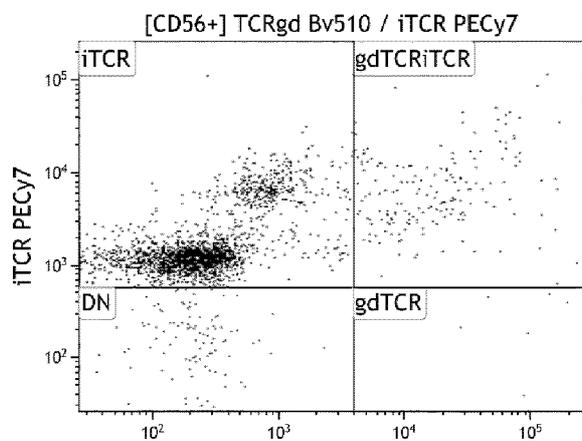


Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.
Всего	31,166	8.15	100.00
gdTCR+iTCR+	2,274	0.59	7.30

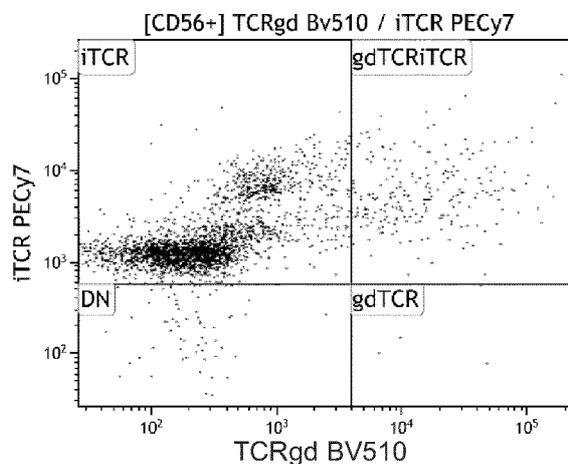


Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP	Гейт.
Всего	25,485	7.55	100.00		Н/О
gdTCR+iTCR+	2,745	0.81	10.77		0.83

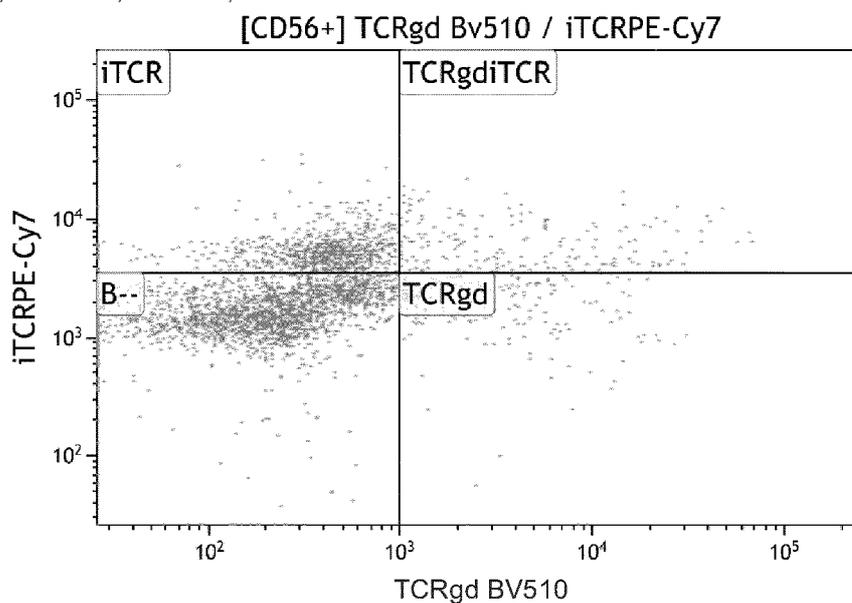
Фиг. 21



Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP гейт.
Всего	2868	1,24	100,00	H/O
DN	203	0,09	7,08	0,09
gdTCR	83	0,04	2,89	0,04
gdTCRiTTCR	201	0,09	7,01	0,09
iTCR	2381	1,03	83,02	1,06

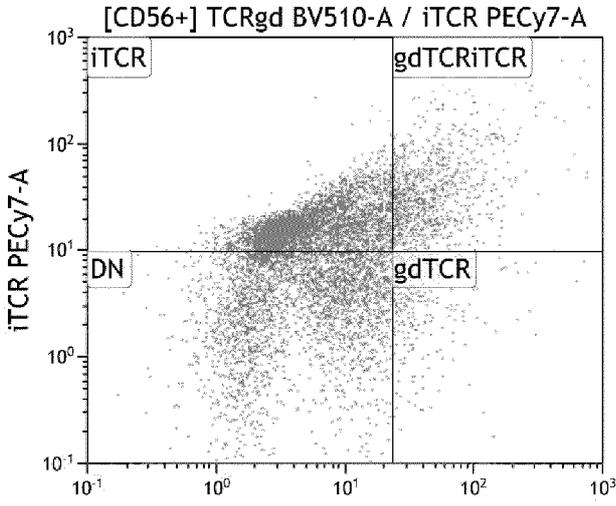


Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP гейт.
Всего	3449	1,07	100,00	H/O
DN	108	0,03	3,13	0,03
gdTCR	71	0,02	2,06	0,02
gdTCRiTTCR	242	0,08	7,02	0,08
iTCR	3028	0,94	87,79	0,96

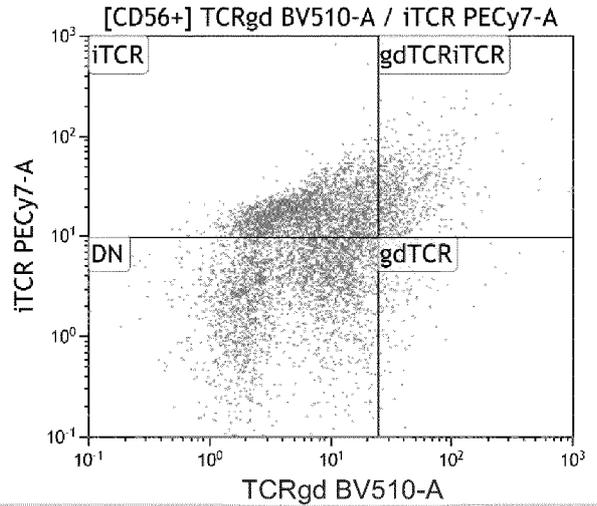


Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP гейт.
Всего	3712	1,40	100,00	H/O
B--	2526	0,95	68,05	0,97
iTCR	781	0,29	21,04	0,30
TCRgd	216	0,08	5,82	0,08
TCRgdiTCR	189	0,07	5,09	0,07

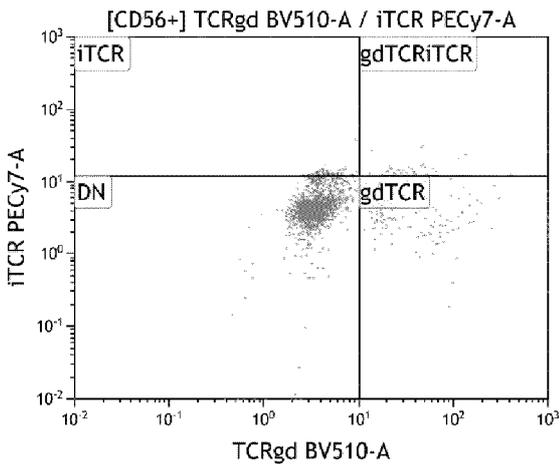
Фиг. 22



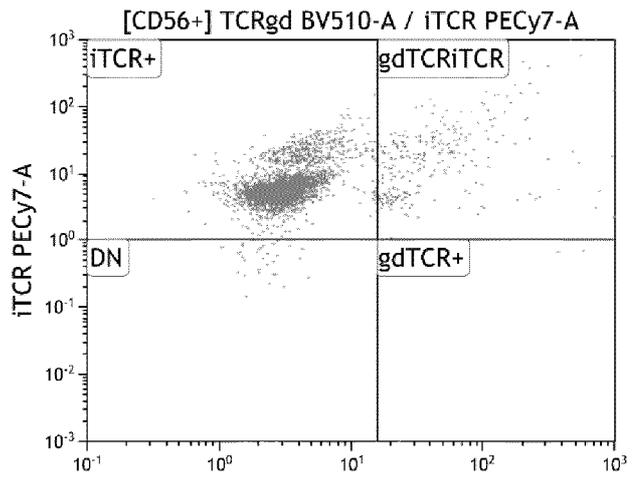
Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP гейт.
Всего	10 524	7,49	100,00	H/O
DN	4974	3,54	47,26	3,76
gdTCR	508	0,36	4,83	0,38
gdTCRiTTCR	933	0,66	8,87	0,71
iTCR	4109	2,92	39,02	3,11



Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP гейт.
Всего	8115	7,49	100,00	H/O
DN	4412	4,07	54,37	4,27
gdTCR	335	0,31	4,13	0,32
gdTCRiTTCR	685	0,63	8,44	0,66
iTCR	2683	2,48	33,06	2,60



Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP гейт.
Всего	1 899	2.01	100.00	H/O
DN	1 594	1.69	83.94	1.71
gdTCR	196	0.21	10.32	0.21
gdTCRiTTCR	39	0.04	2.05	0.04
iTCR	70	0.07	3.69	0.08

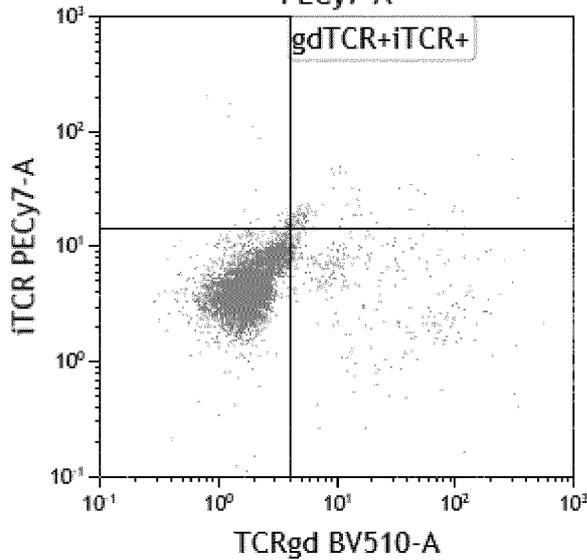


Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP гейт.
Всего	3 942	3.38	100.00	H/O
DN	46	0.04	1.17	0.04
gdTCR+	4	0.00	0.10	0.00
gdTCRiTTCR	279	0.24	7.08	0.25
iTCR+	3 613	3.10	91.65	3.19

Фиг. 23А

144 000 событий

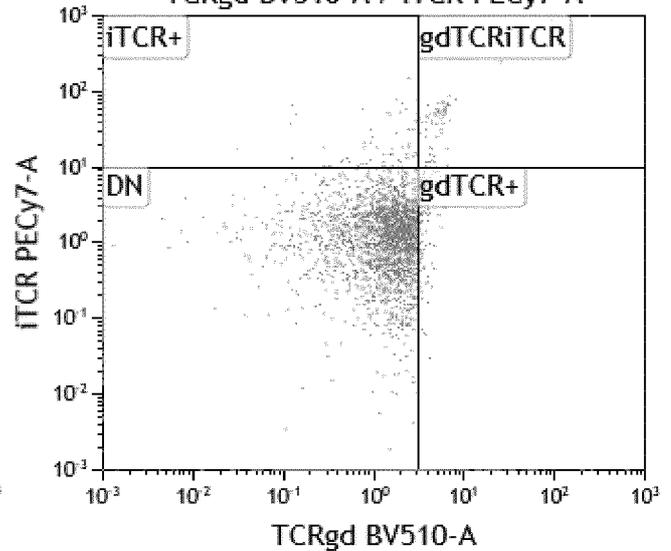
[CD56+]

TCRgd BV510-A / iTCR
PECy7-A

Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.
Всего	8 014	4.71	100.00
gdTCR+iTCR+	120	0.07	1.50

[CD56+]

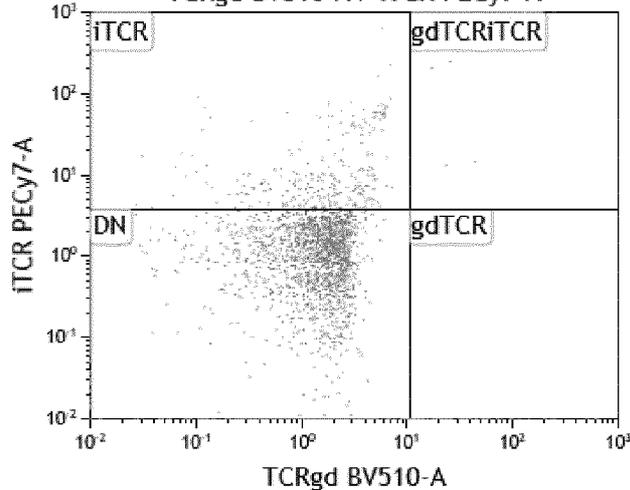
TCRgd BV510-A / iTCR PECy7-A



Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP гейт.
Всего	15 652	8.83	100.00	H/O
gdTCRiTTCR	71	0.04	0.45	0.05

[Лейкоциты CD56+]

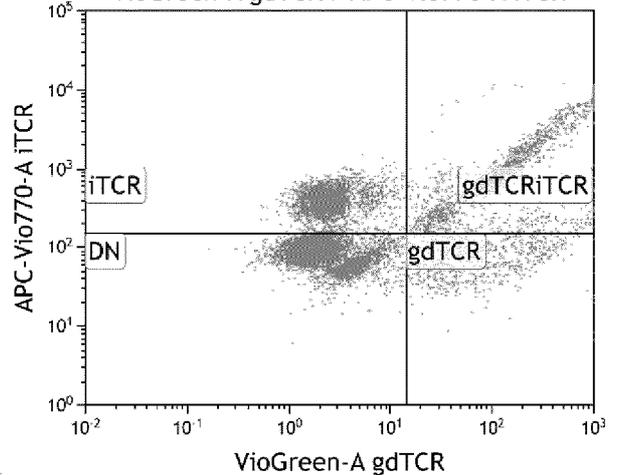
TCRgd BV510-A / iTCR PECy7-A



Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP гейт.
Всего	16 818	9.49	100.00	H/O
DN	6 833	3.85	40.63	4.47
gdTCR	77	0.04	0.46	0.05
gdTCRiTTCR	10	0.01	0.06	0.01
iTCR	9 898	5.58	58.85	6.48

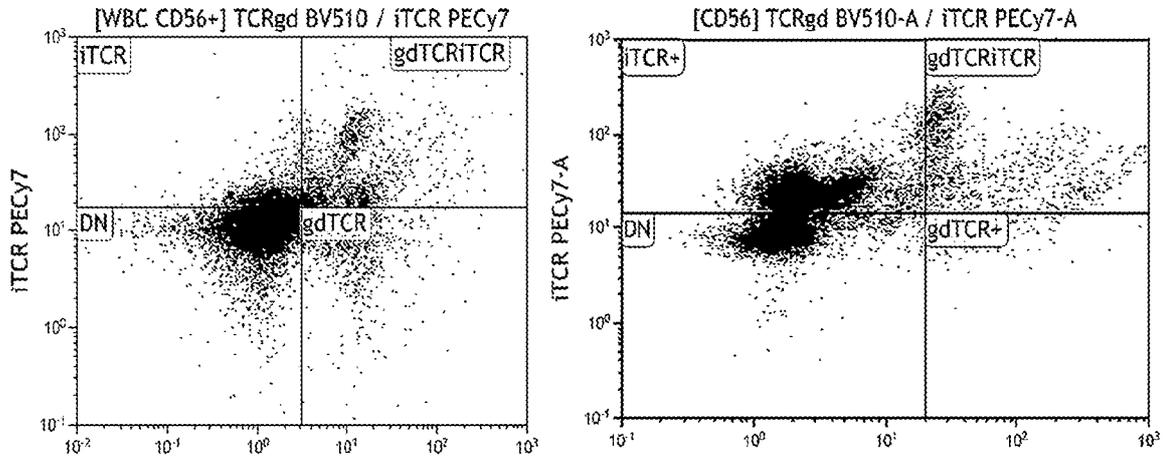
[Лейкоциты CD56+]

VioGreen-A gdTCR / APC-Vio770-A iTCR

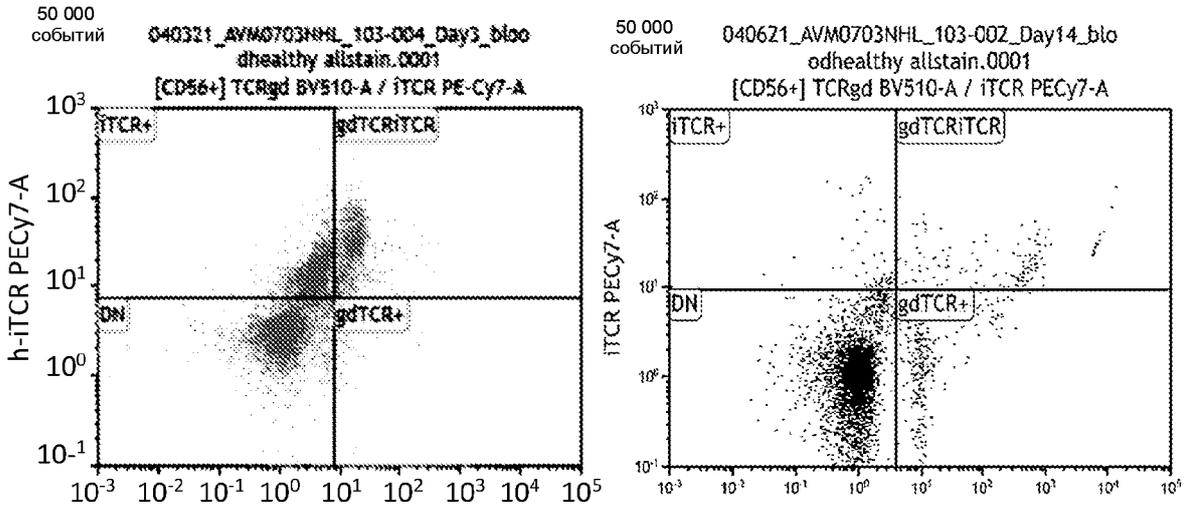


Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP гейт.
Всего	11 814	5.50	100.00	H/O
DN	5 961	2.77	50.46	3.13
gdTCR	652	0.30	5.52	0.34
gdTCRiTTCR	1 470	0.68	12.44	0.77
iTCR	3 731	1.74	31.58	1.96

Фиг. 23В

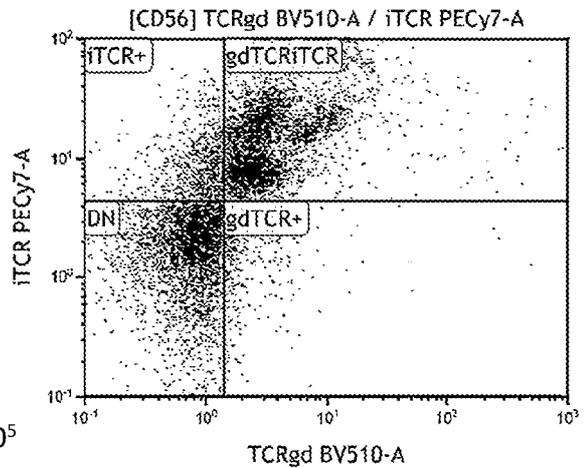
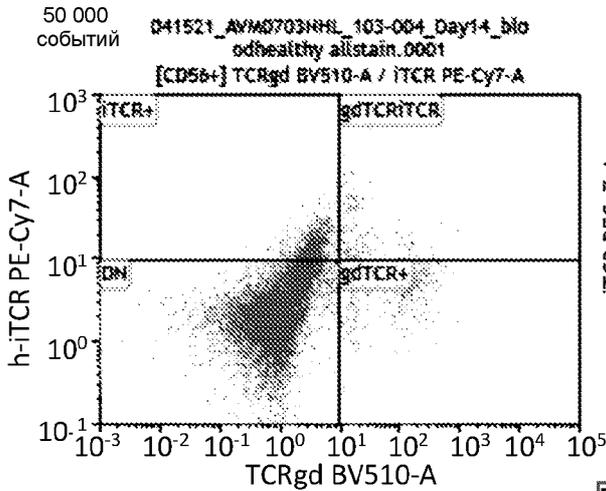


TCRgd BV510					TCRgd BV510-A				
Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP	Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP
Всего	17,365	5.77	100.00	H/O	Всего	14,059	6.54	100.00	H/O
DN	11,853	3.94	68.26	4.53	DN	6,001	2.79	42.68	3.46
gdTCR	1,873	0.62	10.79	0.72	gdTCR+	219	0.10	1.56	0.13
gdTCRiTCR	1,899	0.63	10.94	0.73	gdTCRiTCR	1,091	0.51	7.76	0.63
iTCR	1,740	0.58	10.02	0.66	iTCR+	6,748	3.14	48.00	3.89



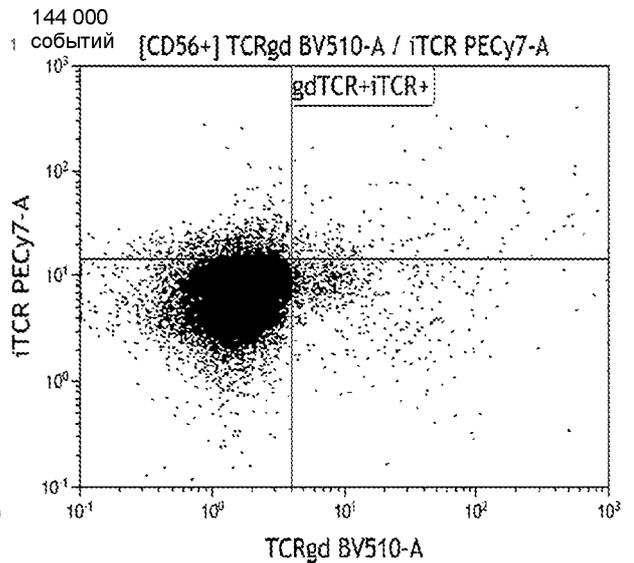
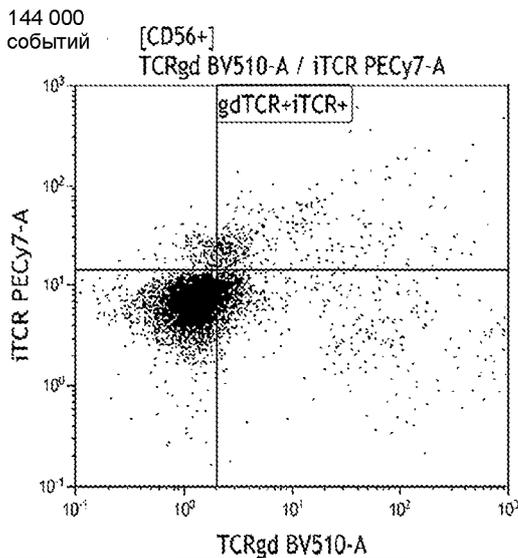
TCRgd BV510-A					TCRgd BV510-A				
Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP	Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP
Всего	8,595	4.29	100.00	H/O	Всего	5,807	4.63	100.00	H/O
DN	3,966	1.98	46.14	4.42	DN	4,854	3.87	83.59	6.86
gdTCR+	520	0.26	6.05	0.58	gdTCR+	715	0.57	12.31	1.01
gdTCRiTCR	1,262	0.63	14.68	1.41	gdTCRiTCR	158	0.13	2.72	0.22
iTCR+	2,847	1.42	33.12	3.17	iTCR+	80	0.06	1.38	0.11

Фиг. 23С



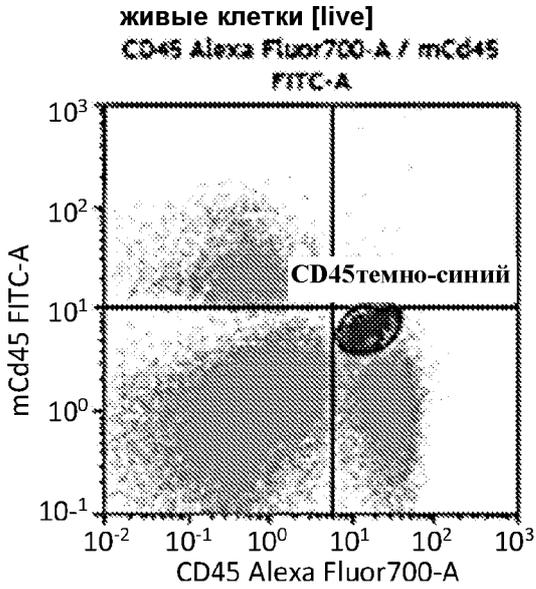
Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP	Гейт
Всего	18,708	7.82	100.00		Н/О
DN	16,454	6.88	87.95		15.85
gdTCR+	517	0.22	2.76		0.50
gdTCRiTCR	204	0.09	1.09		0.20
iTCR+	1,533	0.64	8.19		1.48

Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP	Гейт
Всего	11,419	4.23	100.00		Н/О
--	4,648	1.72	40.70		2.30
gdTCR+	851	0.32	7.45		0.42
gdTCRiTCR	4,902	1.82	42.93		2.43
iTCR+	1,018	0.38	8.91		0.50

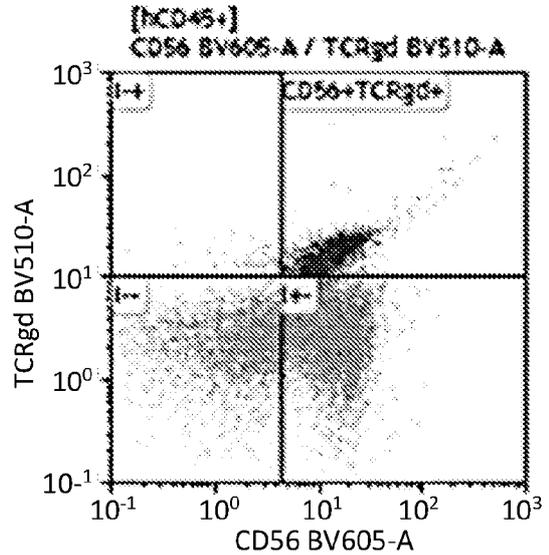


Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP	Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	%GP	Гейт
Всего	7,545	2.66	100.00		Всего	77,735	30.91	100.00		Н/О
gdTCR+iTCR+	506	0.18	6.71		gdTCR+iTCR+	224	0.09	0.29		0.10

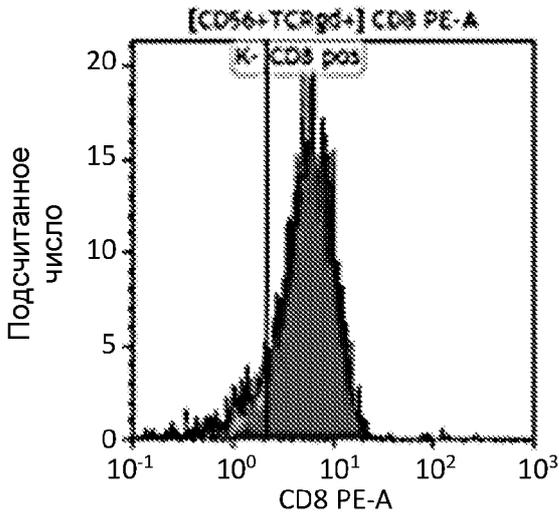
Фиг. 24



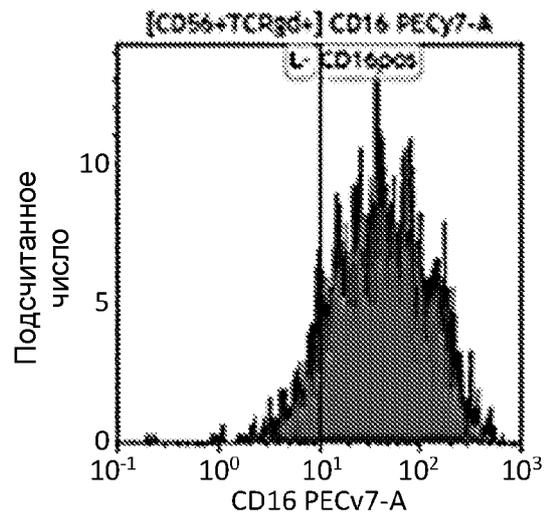
Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.
hCD45+	22,211	4.88	18.59
hCD45+mCD45+	465	0.10	0.39
hCD45 темно-синий	2,791	0.61	2.34
mCD45-hCD45-	84,689	18.62	70.83
mCD45+ красн.	12,113	2.66	10.14



Гейт	Кол-во	%Гейтир.
Всего	22,211	100.00
CD56+TCRgd+	2,672	12.03
I--	8,675	39.06
I+	144	0.65
I+-	10,720	48.26

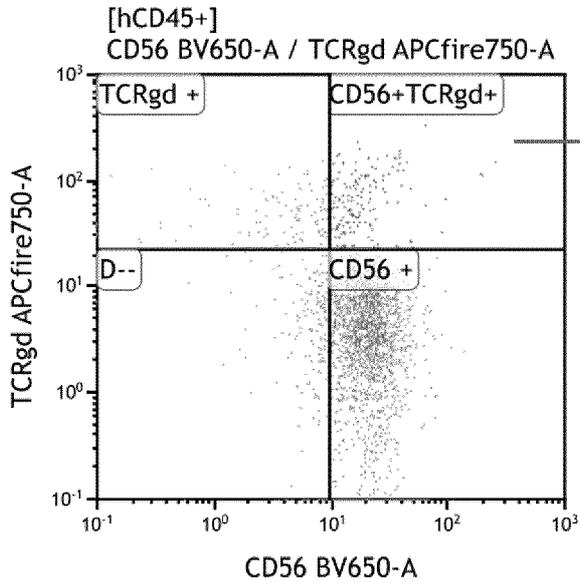


Гейт	Кол-во	%Гейтир.
Всего	2,672	100.00
CD8 pos	2,275	85.14
K-	397	14.86

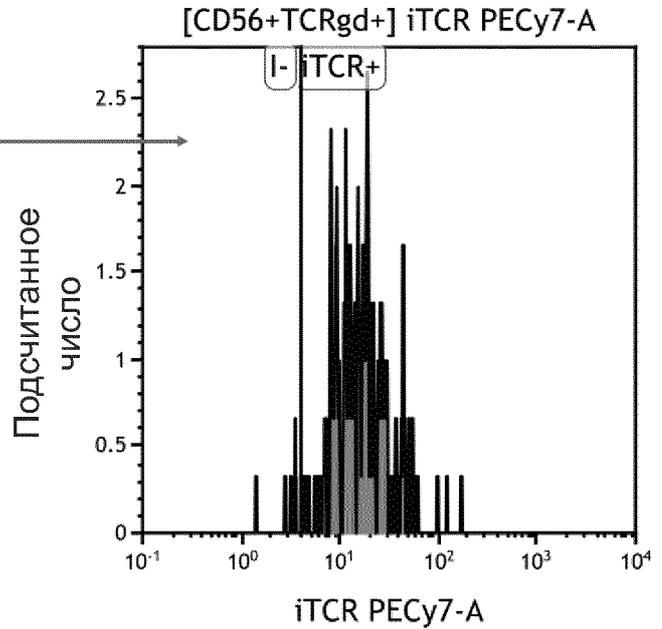


Гейт	Кол-во	%Гейтир.
Всего	2,672	100.00
CD16pos	2,349	87.91
L-	323	12.09

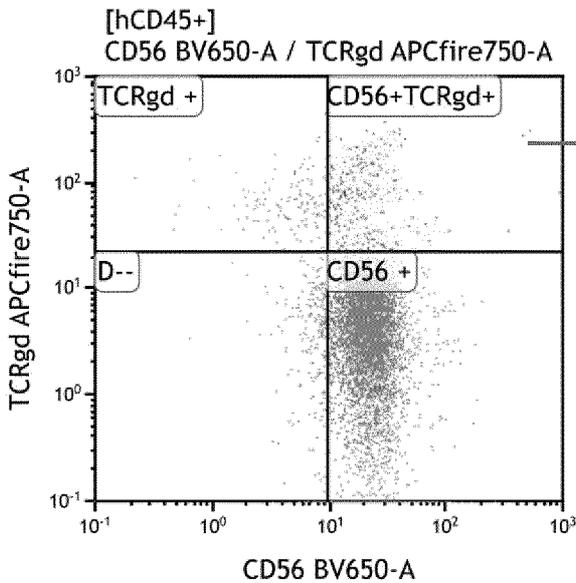
Фиг. 25



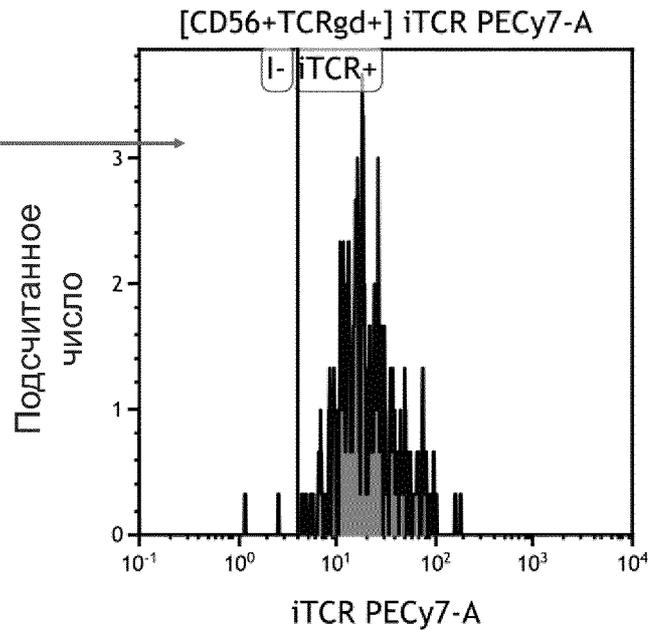
Гейт	Кол-во	% Гейтир.
Всего	3 246	100.00
CD56 +	2 736	84.29
CD56+TCRgd+	167	5.14
D--	224	6.90
TCRgd +	119	3.67



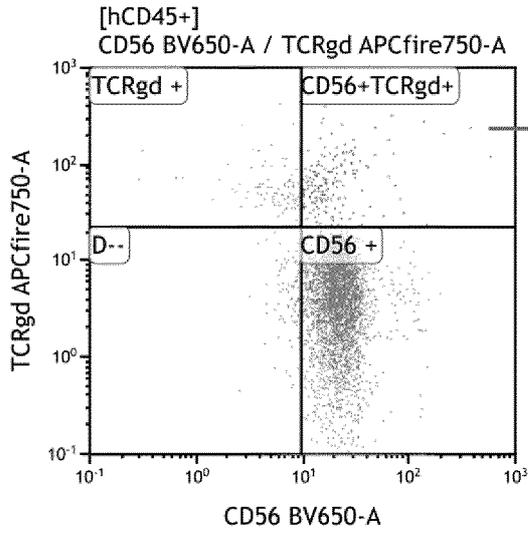
Гейт	Кол-во	% Гейтир.
Всего	167	100.00
I-	5	2.99
iTCR+	162	97.01



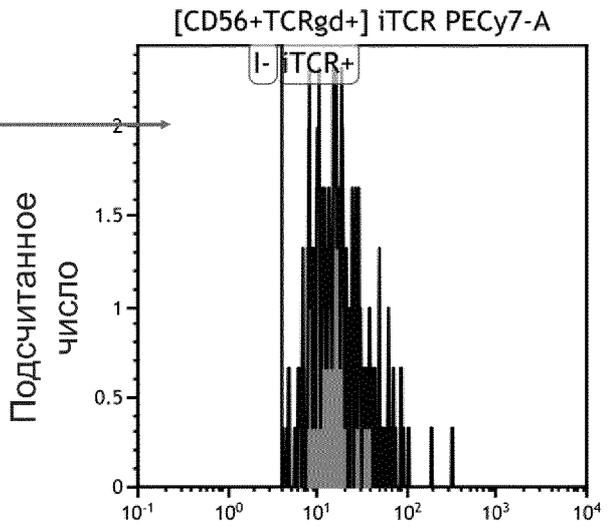
Гейт	Кол-во	% Гейтир.
Всего	9 284	100.00
CD56 +	8 663	93.31
CD56+TCRgd+	220	2.37
D--	260	2.80
TCRgd +	141	1.52



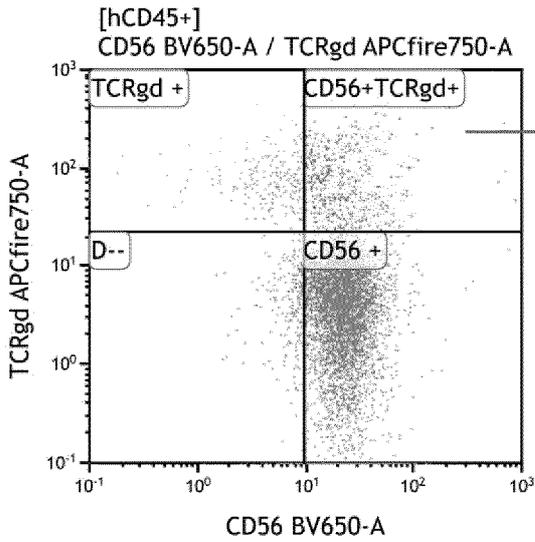
Гейт	Кол-во	% Гейтир.
Всего	220	100.00
I-	3	1.36
iTCR+	217	98.64



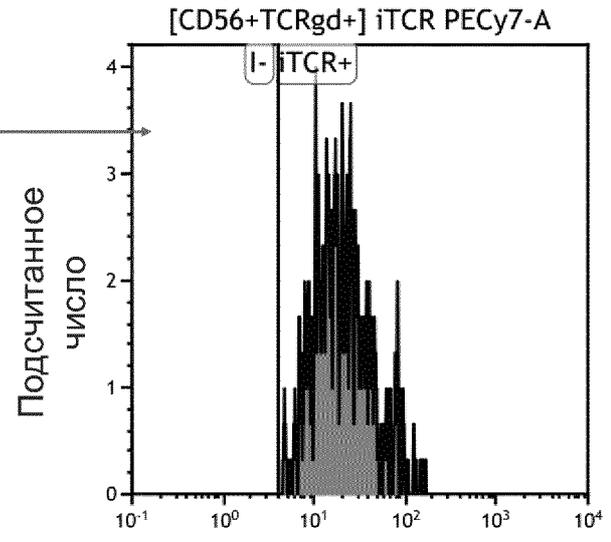
Гейт	Кол-во	%Гейтир.
Всего	5 889	100.00
CD56 +	5 450	92.55
CD56+TCRgd+	197	3.35
D--	123	2.09
TCRgd +	119	2.02



Гейт	Кол-во	%Гейтир.
Всего	197	100.00
I-	2	1.02
iTCR+	195	98.98

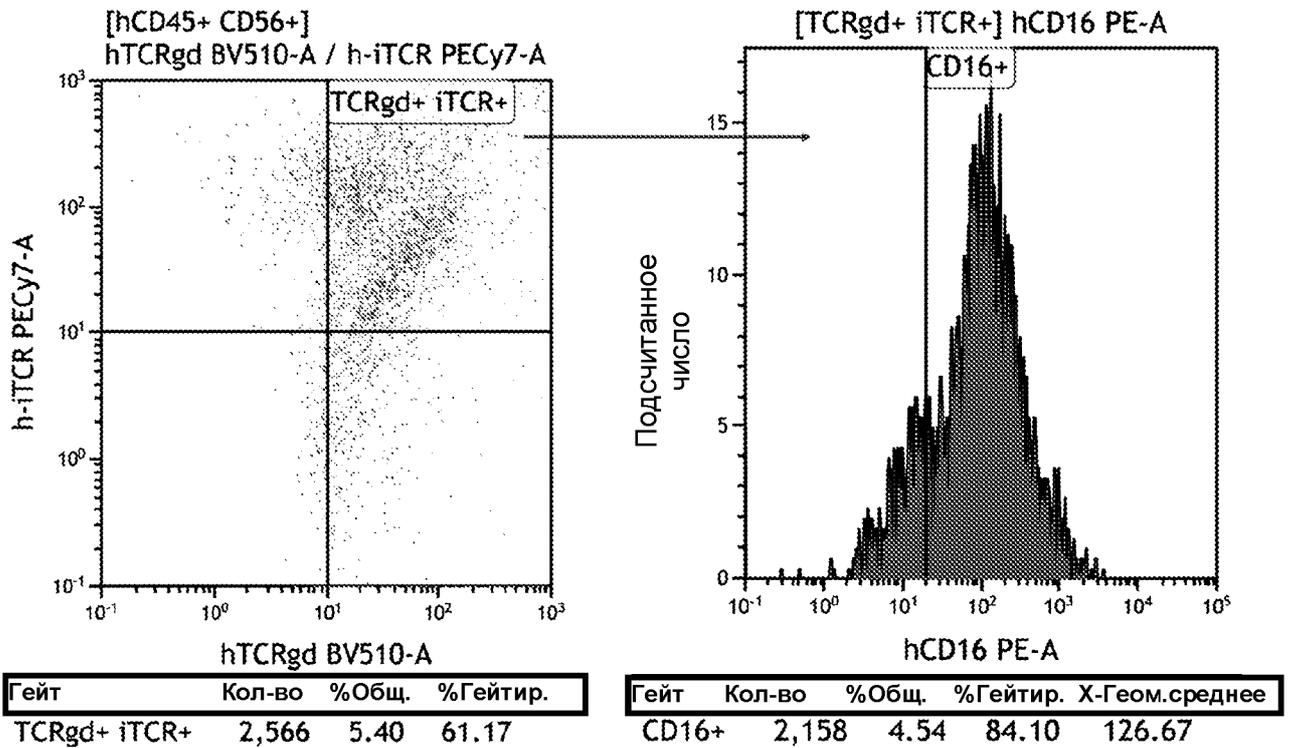
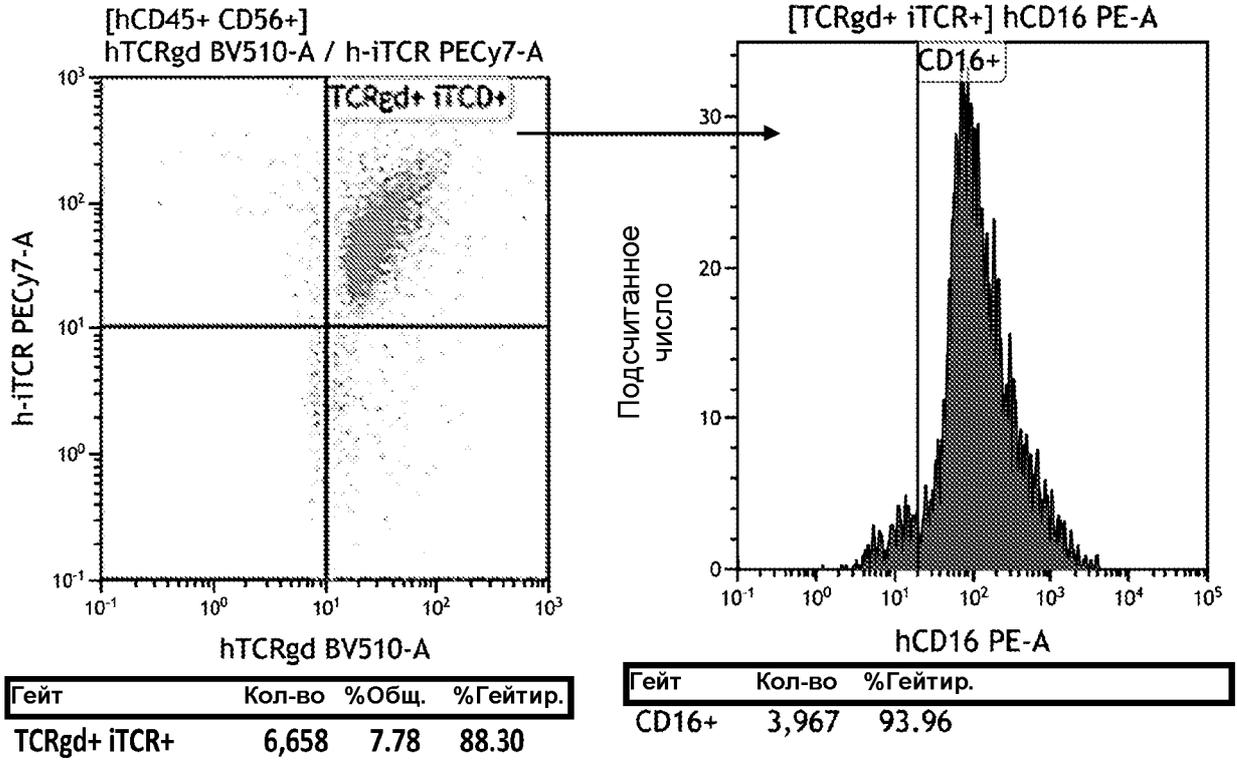


Гейт	Кол-во	%Гейтир.
Всего	9 054	100.00
CD56 +	8 123	89.72
CD56+TCRgd+	374	4.13
D--	315	3.48
TCRgd +	242	2.67

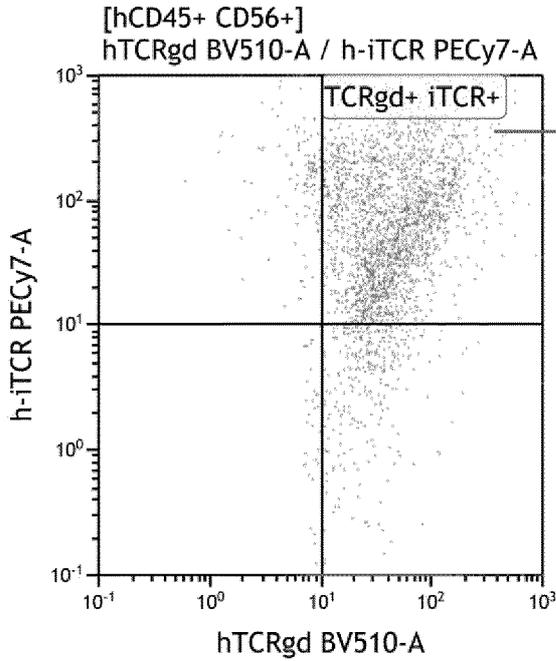


Гейт	Кол-во	%Гейтир.
Всего	374	100.00
I-	2	0.53
iTCR+	372	99.47

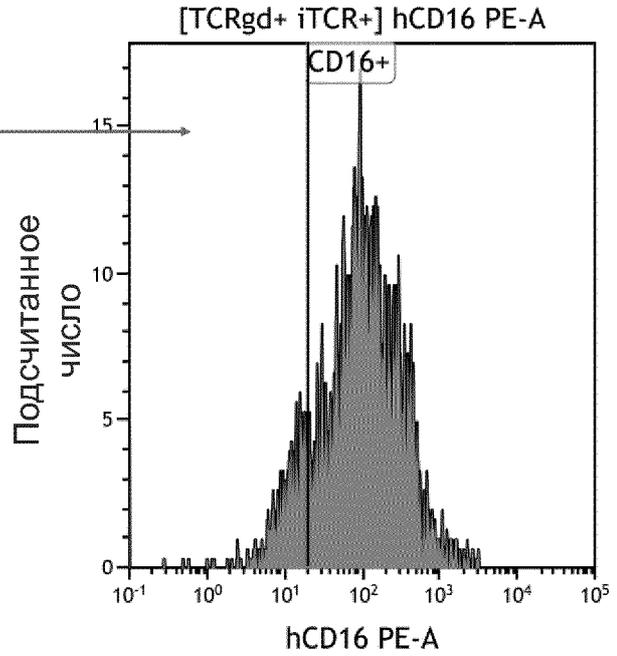
Фиг. 27



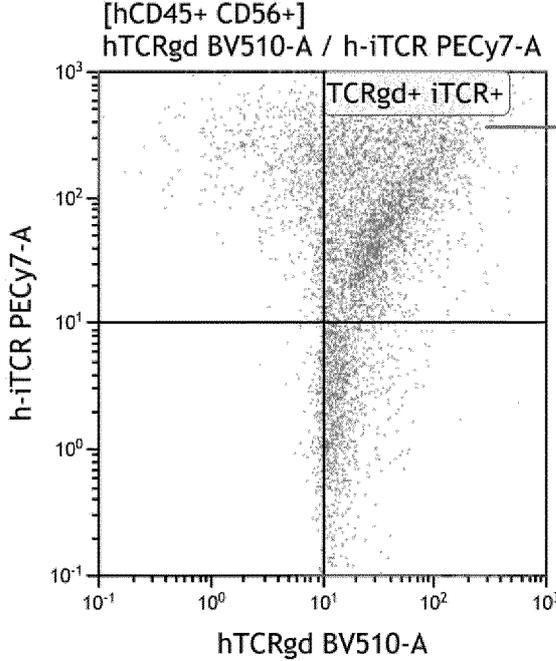
Фиг. 28



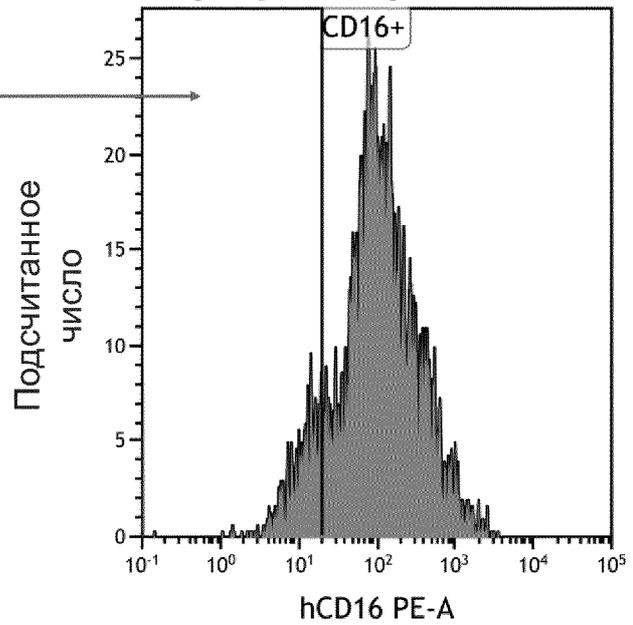
Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.
TCRgd+ iTCR+	2 269	4.00	64.31



Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	X-Геом.среднее
CD16+	1 968	3.47	86.73	122.27

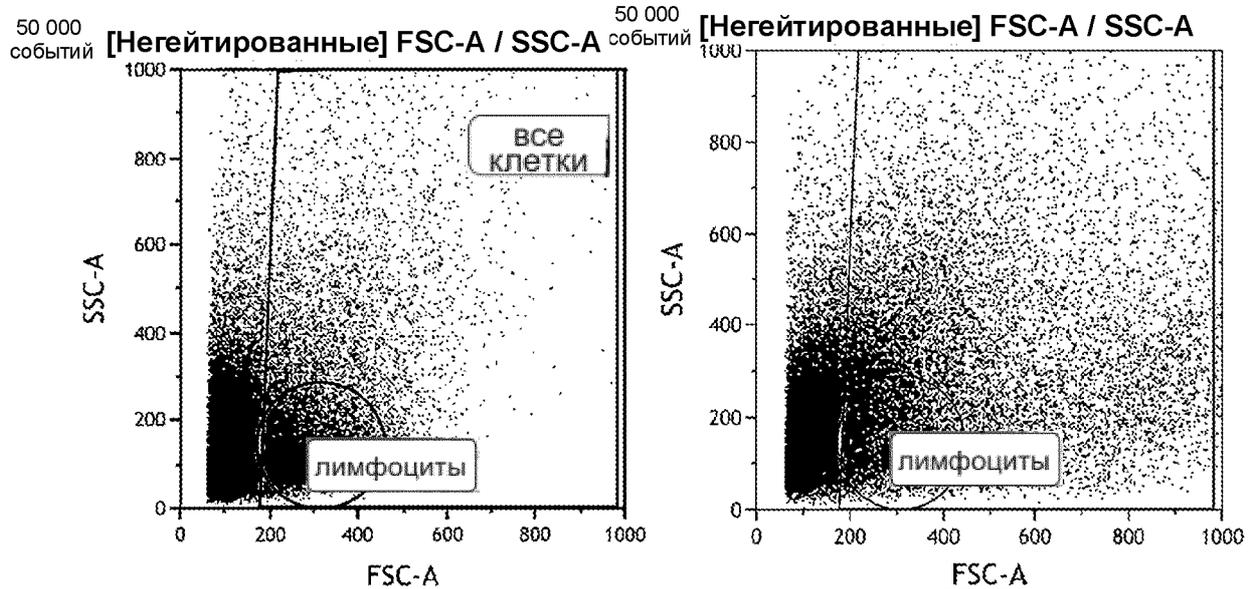


Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.
TCRgd+ iTCR+	3 979	2.79	52.16



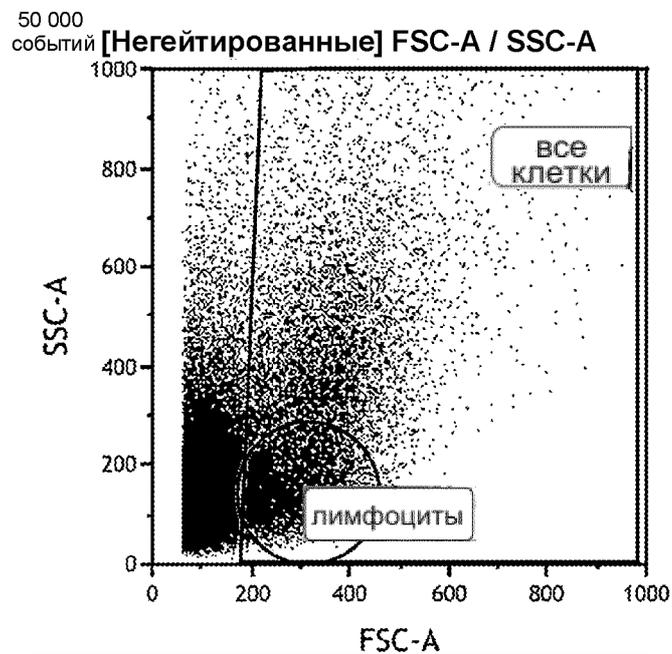
Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.	X-Геом.среднее
CD16+	3 521	2.47	88.49	126.16

Фиг. 29



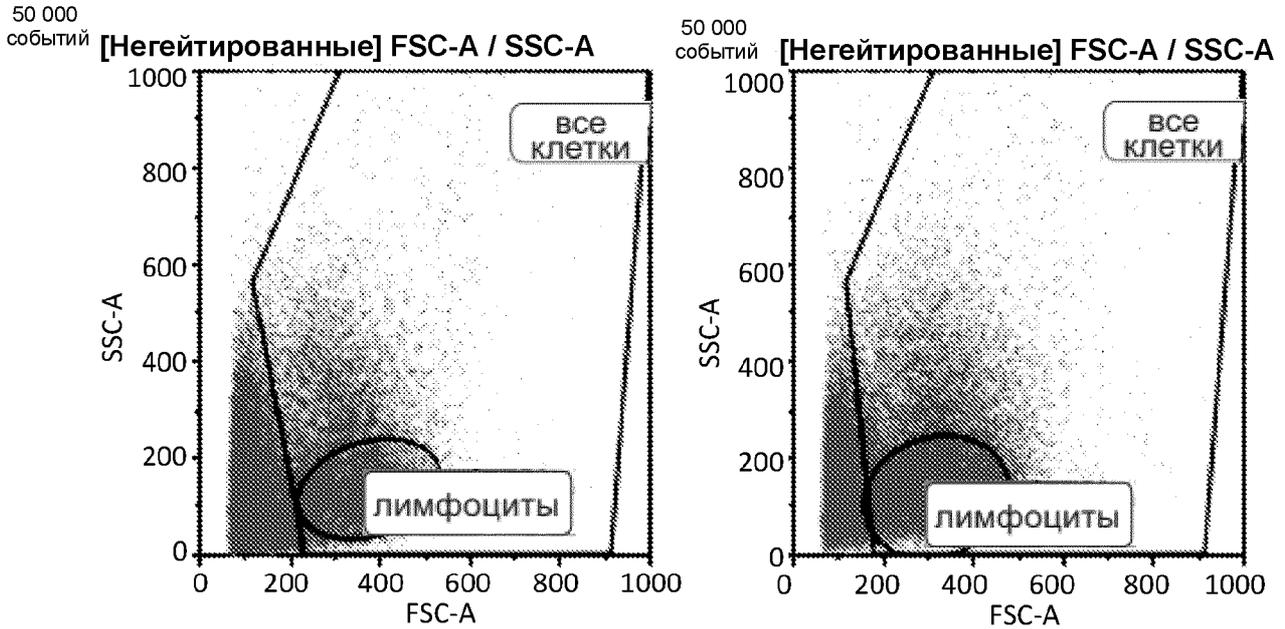
Гейт	Кол-во
Всего	255,680
Все клетки	76,100
Лимфоциты	52,478

Гейт	Кол-во
Всего	430,232
Все клетки	153,829
Лимфоциты	59,073



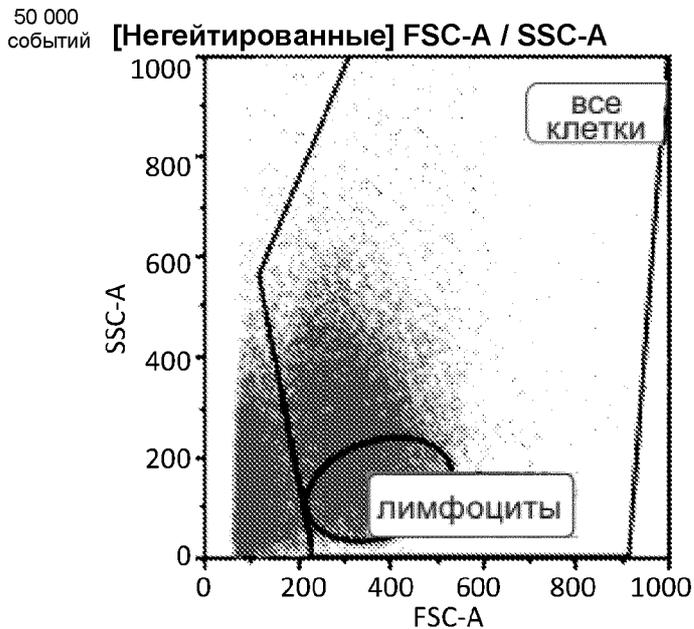
Гейт	Кол-во
Всего	207,601
Все клетки	63,986
Лимфоциты	32,230

Фиг. 30



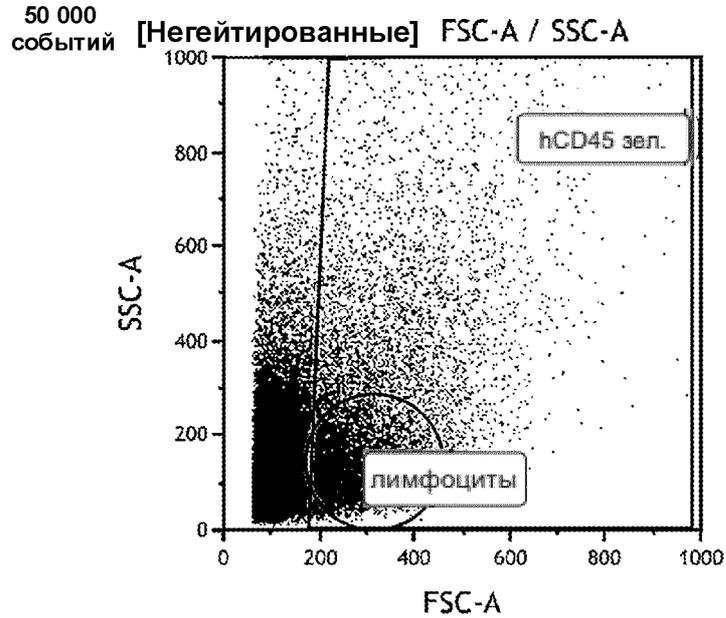
Гейт	Кол-во
Всего	71,591
Все клетки	28,934
Лимфоциты	15,519

Гейт	Кол-во
Всего	58,348
Все клетки	34,911
Лимфоциты	22,658

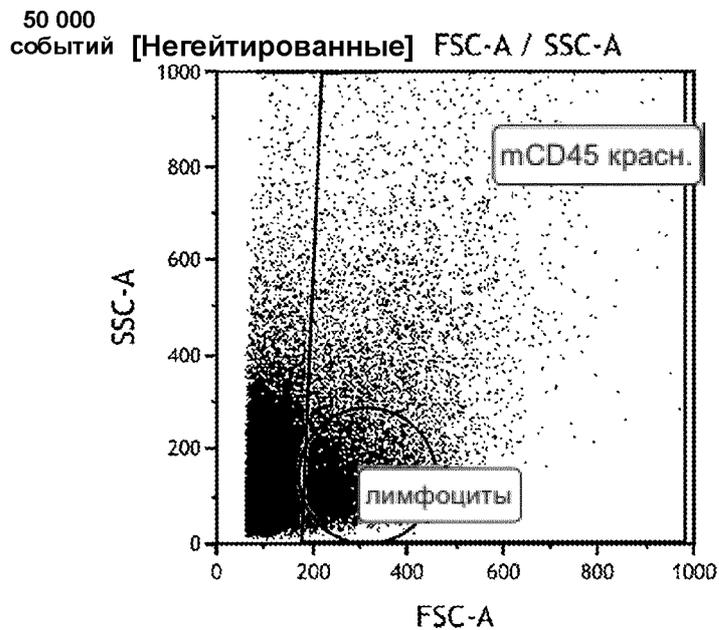


Гейт	Кол-во
Всего	75,494
Все клетки	44,311
Лимфоциты	17,211

Фиг. 31

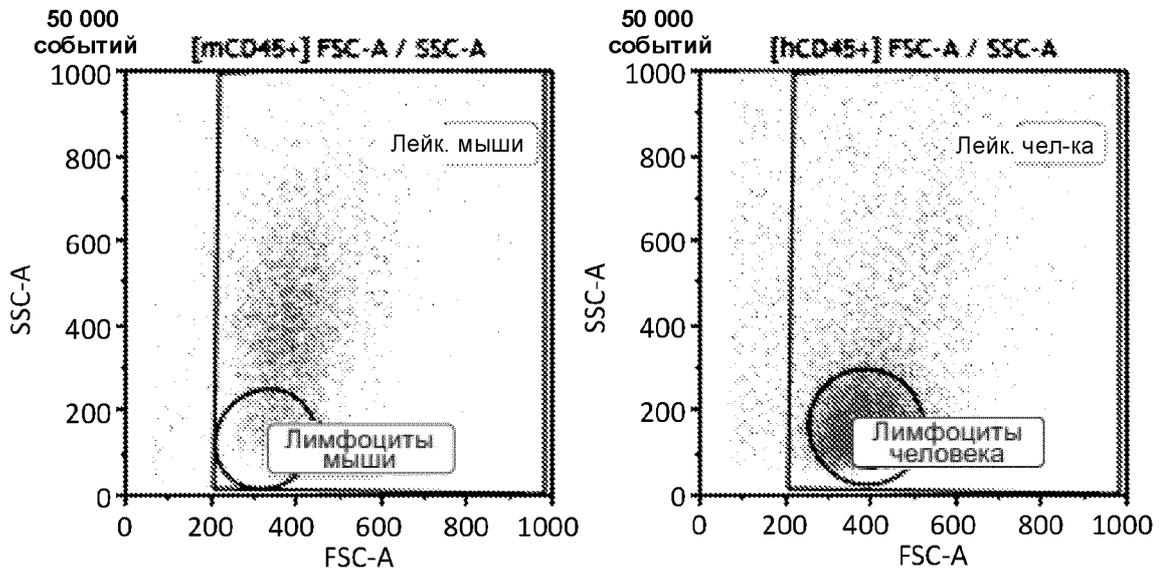


Гейт	Кол-во
Всего	255,680
hCD45 зел.	76,100
Лимфоциты	52,478



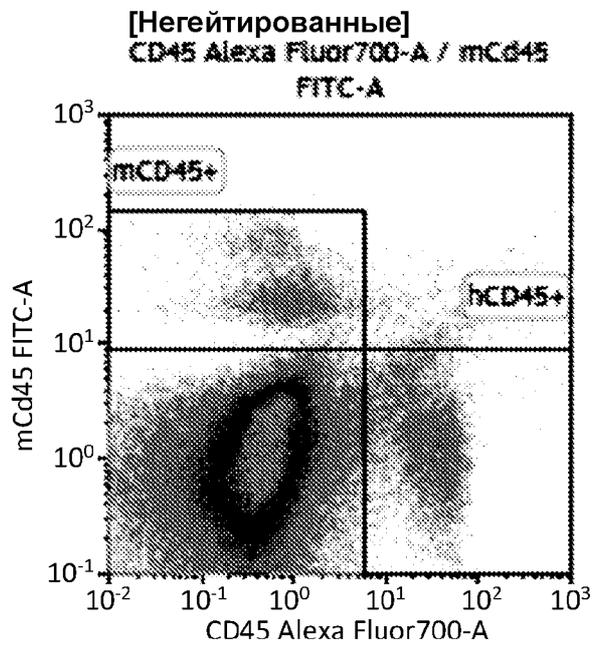
Гейт	Кол-во
Всего	255,680
Лимфоциты	52,478
mCD45 красн.	76,100

Фиг. 32



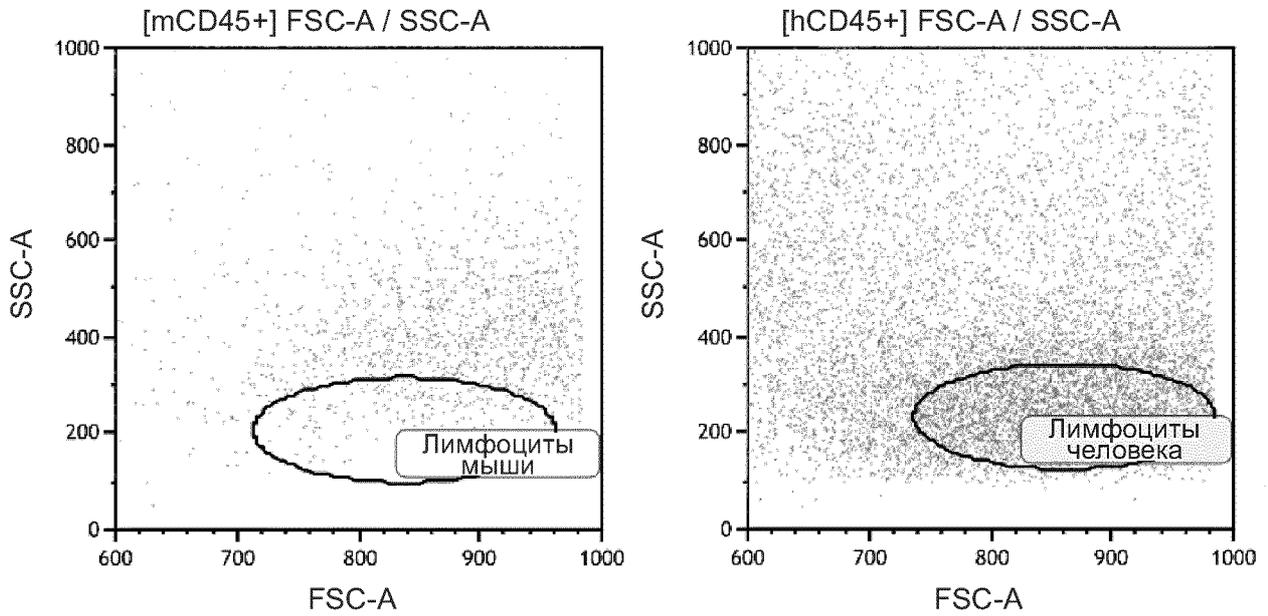
Гейт	Кол-во
Всего	4,750
Лимф. мыши	620
Лейк. мыши	4,541

Гейт	Кол-во
Всего	11,428
Лимф. чел-ка	6,021
Лейк. чел-ка	10,179



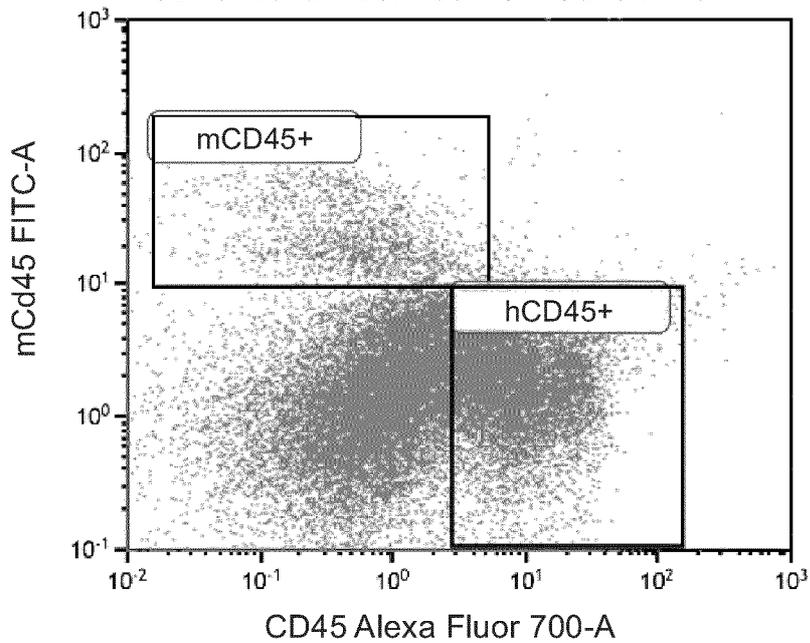
Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.
hCD45+	11,428	4.47	4.47
mCD45+	4,750	1.86	1.86

Фиг. 33



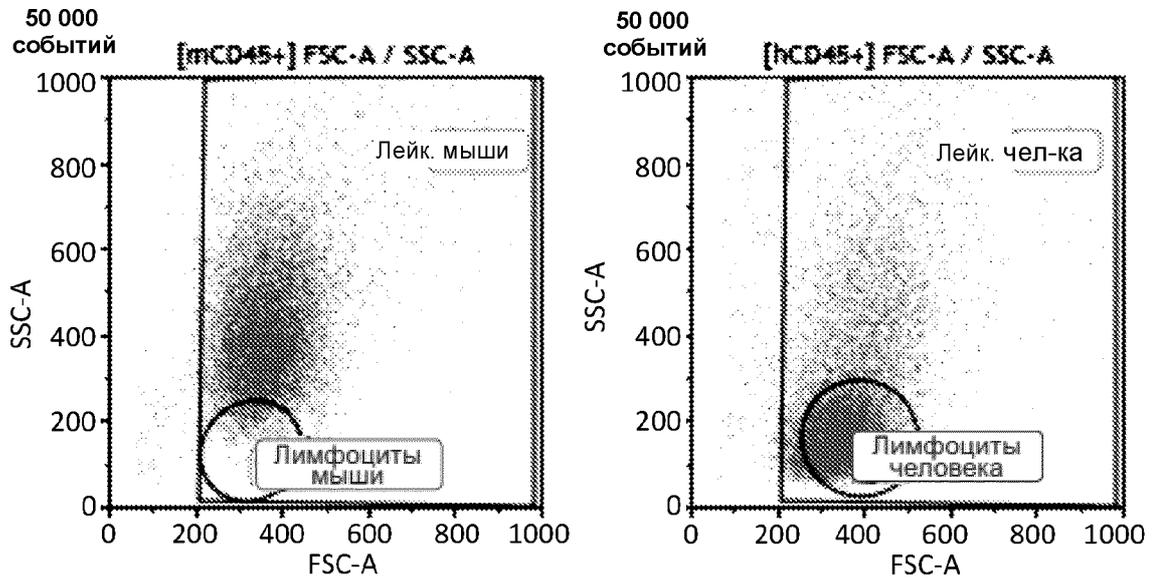
Гейт	Кол-во	% Гейтир.	Гейт	Кол-во	% Гейтир.
Всего	1680	100,00	Всего	10 256	100,00
Лимф. мыши	210	12,50	Лимф. человека	3232	31,51

живые клетки [live]
CD45 Alexa Fluor 700-A / mCd45 FITC-A



Гейт	Кол-во	%Общ.	% Гейтир.
Всего	34 689	8,06	100,00
hCD45+	10101	2,35	29,12
mCD45+	1680	0,39	4,84

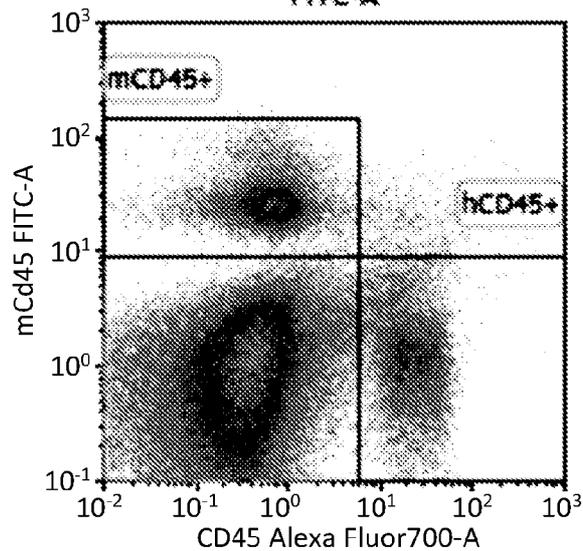
Фиг. 34



Гейт	Кол-во
Всего	13,470
Лимф. мыши	749
Лейк. мыши	13,112

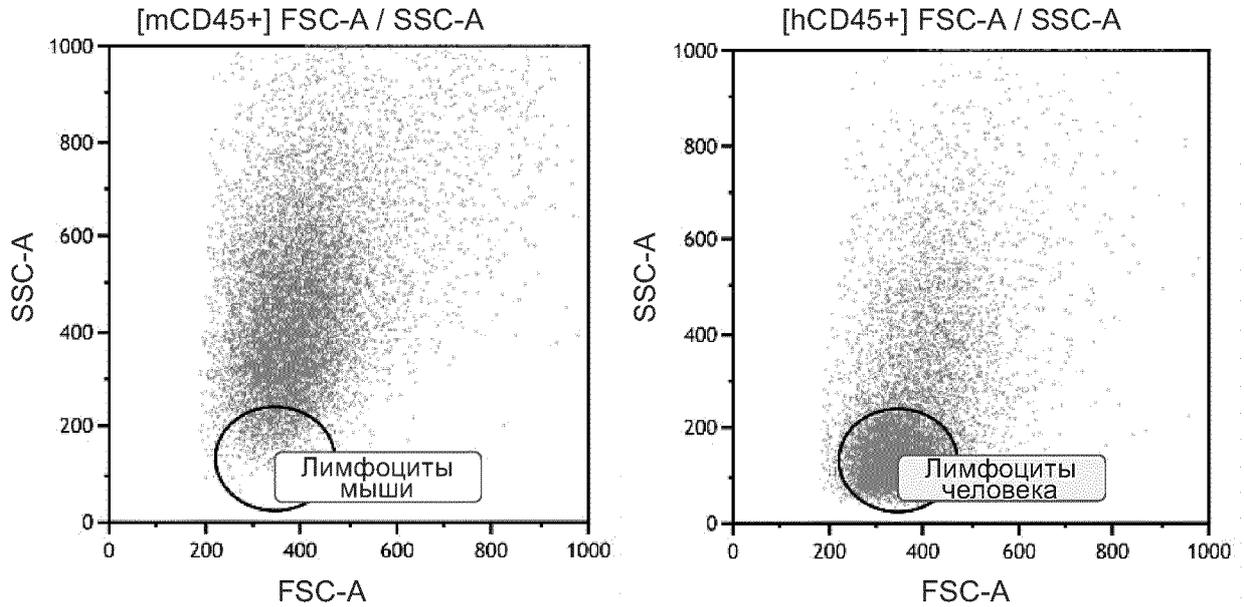
Гейт	Кол-во
Всего	14,794
Лимф. чел-ка	7,854
Лейк. чел-ка	13,612

[Негейтированные]
CD45 Alexa Fluor700-A / mCD45
FITC-A

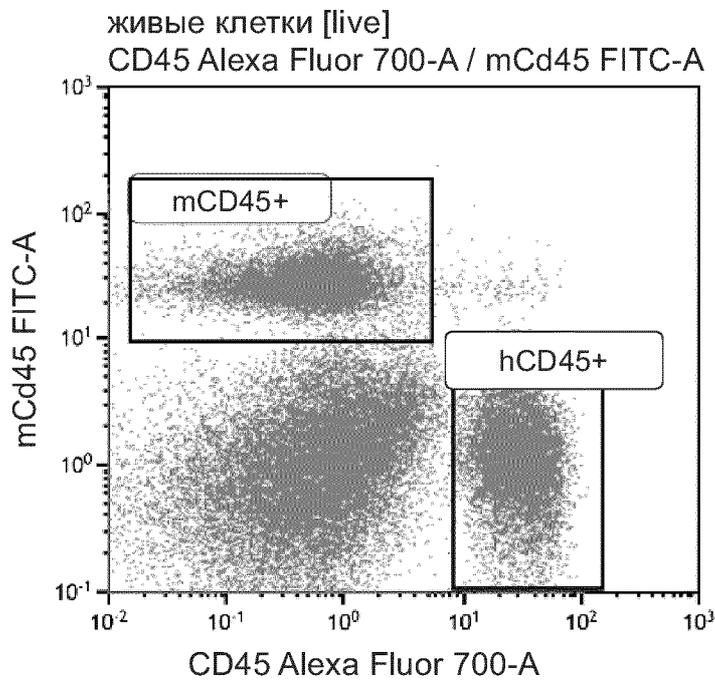


Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.
hCD45+	14,794	7.13	7.13
mCD45+	13,470	6.49	6.49

Фиг. 35

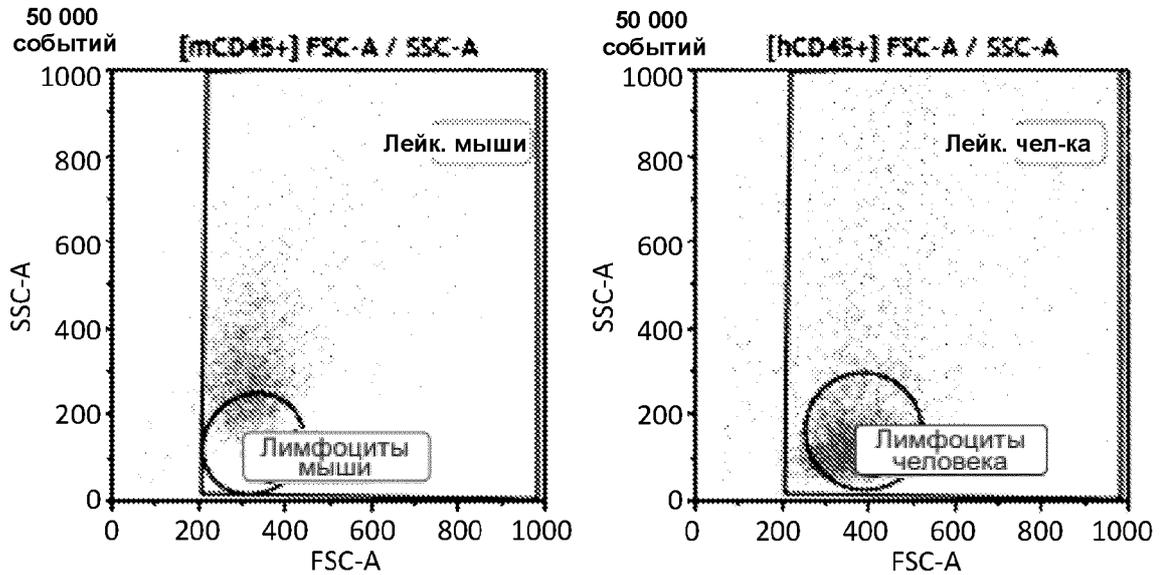


Гейт	Кол-во	% Гейтир.	Гейт	Кол-во	% Гейтир.
Всего	11 687	100,00	Всего	10 390	100,00
Лимфоциты мыши	788	6,74	Лимф. человека	6970	67,08



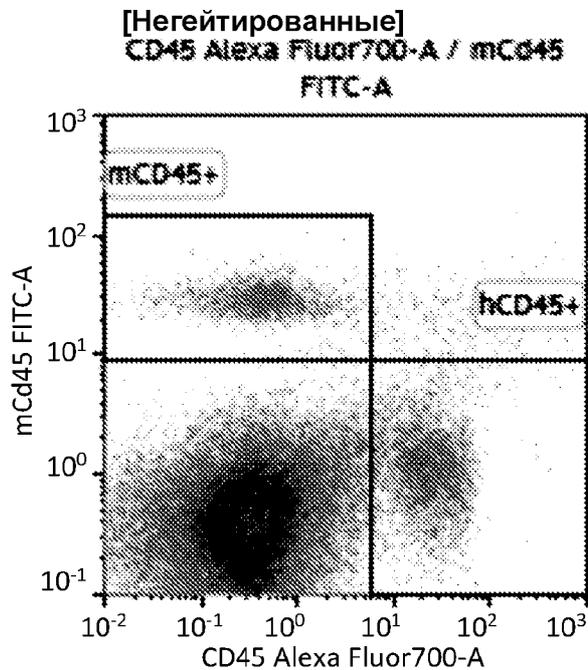
Гейт	Кол-во	%Общ.	% Гейтир.
Всего	61 221	32,34	100,00
hCD45+	9688	5,12	15,82
mCD45+	11 687	6,17	19,09

Фиг. 36



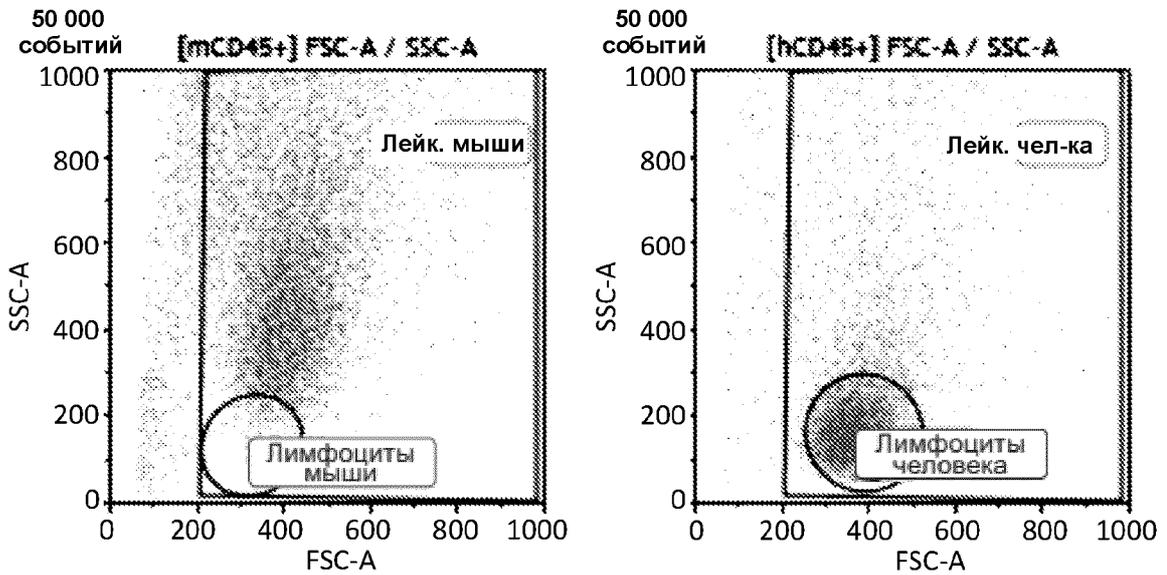
Гейт	Кол-во
Всего	2,839
Лимф. мыши	638
Лейк. мыши	2,687

Гейт	Кол-во
Всего	8,013
Лимф. чел-ка	3,029
Лейк. чел-ка	6,401



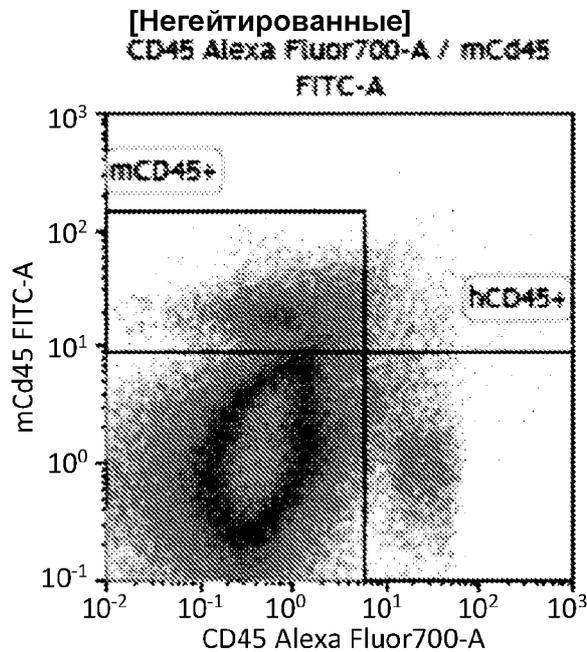
Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.
hCD45+	8,013	5.57	5.57
mCD45+	2,839	1.97	1.97

Фиг. 37



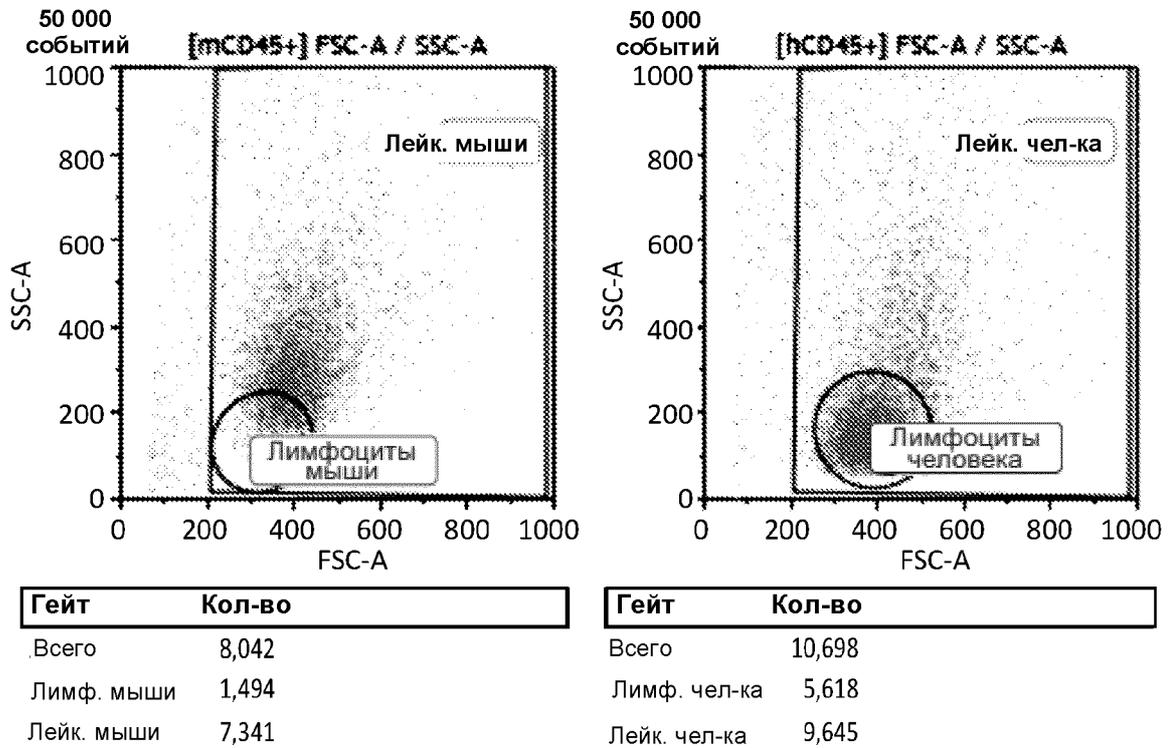
Гейт	Кол-во
Всего	16,394
Лимф. мыши	256
Лейк. мыши	12,600

Гейт	Кол-во
Всего	10,413
Лимф. чел-ка	4,073
Лейк. чел-ка	8,134

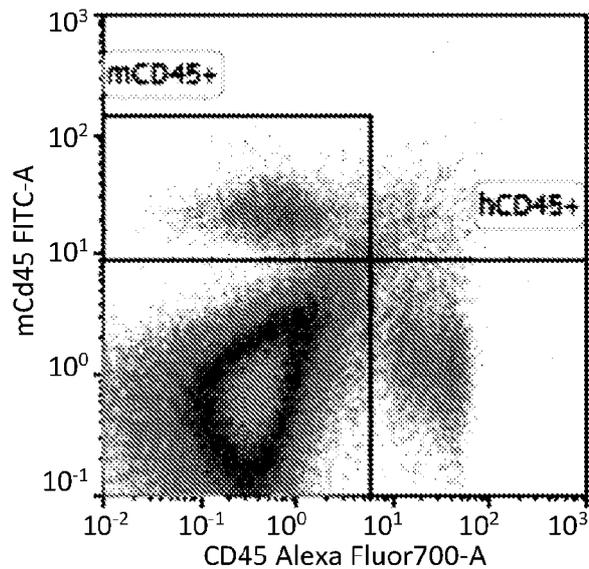


Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.
hCD45+	10,413	3.67	3.67
mCD45+	16,394	5.78	5.78

Фиг. 38

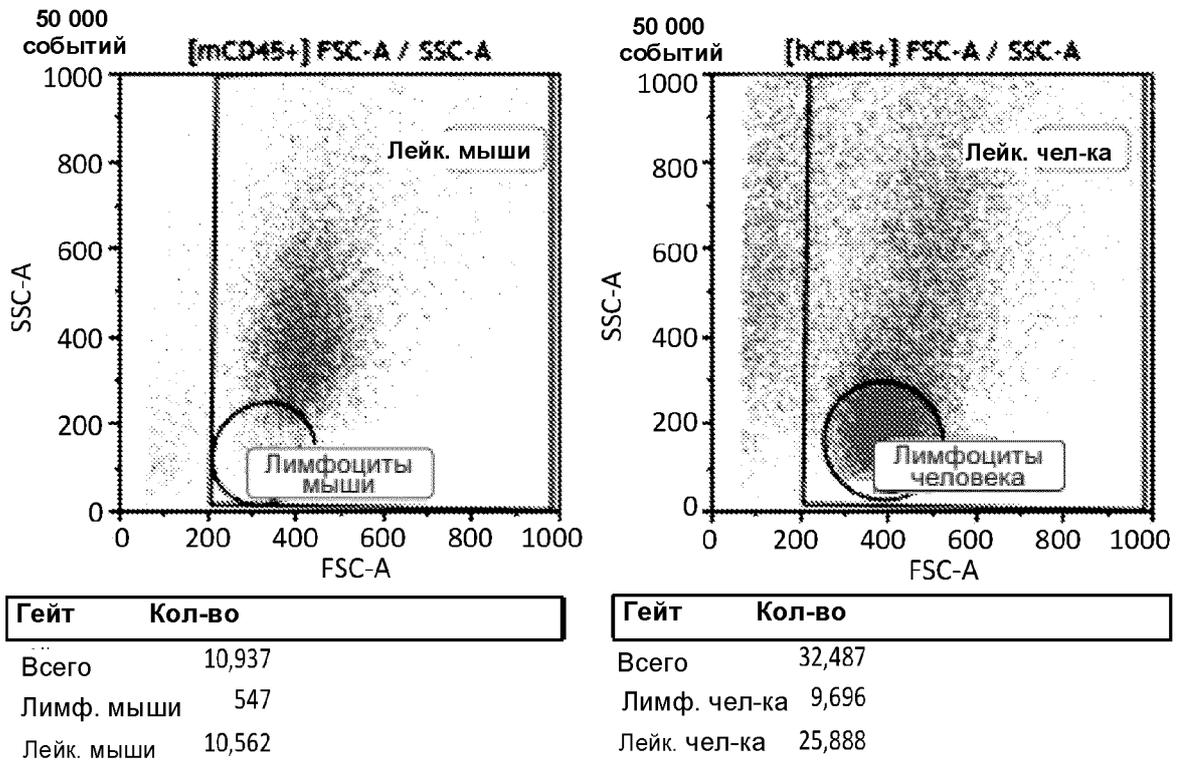


[Негейтированные]
CD45 Alexa Fluor700-A / mCD45
FITC-A

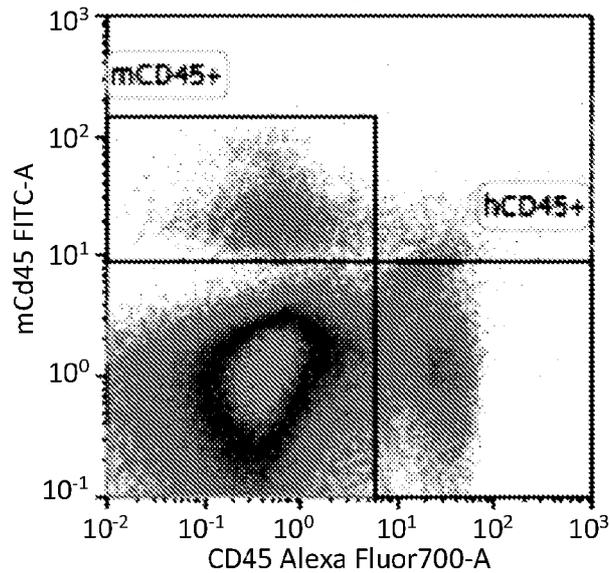


Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.
hCD45+	10,698	4.25	4.25
mCD45+	8,042	3.20	3.20

Фиг. 39

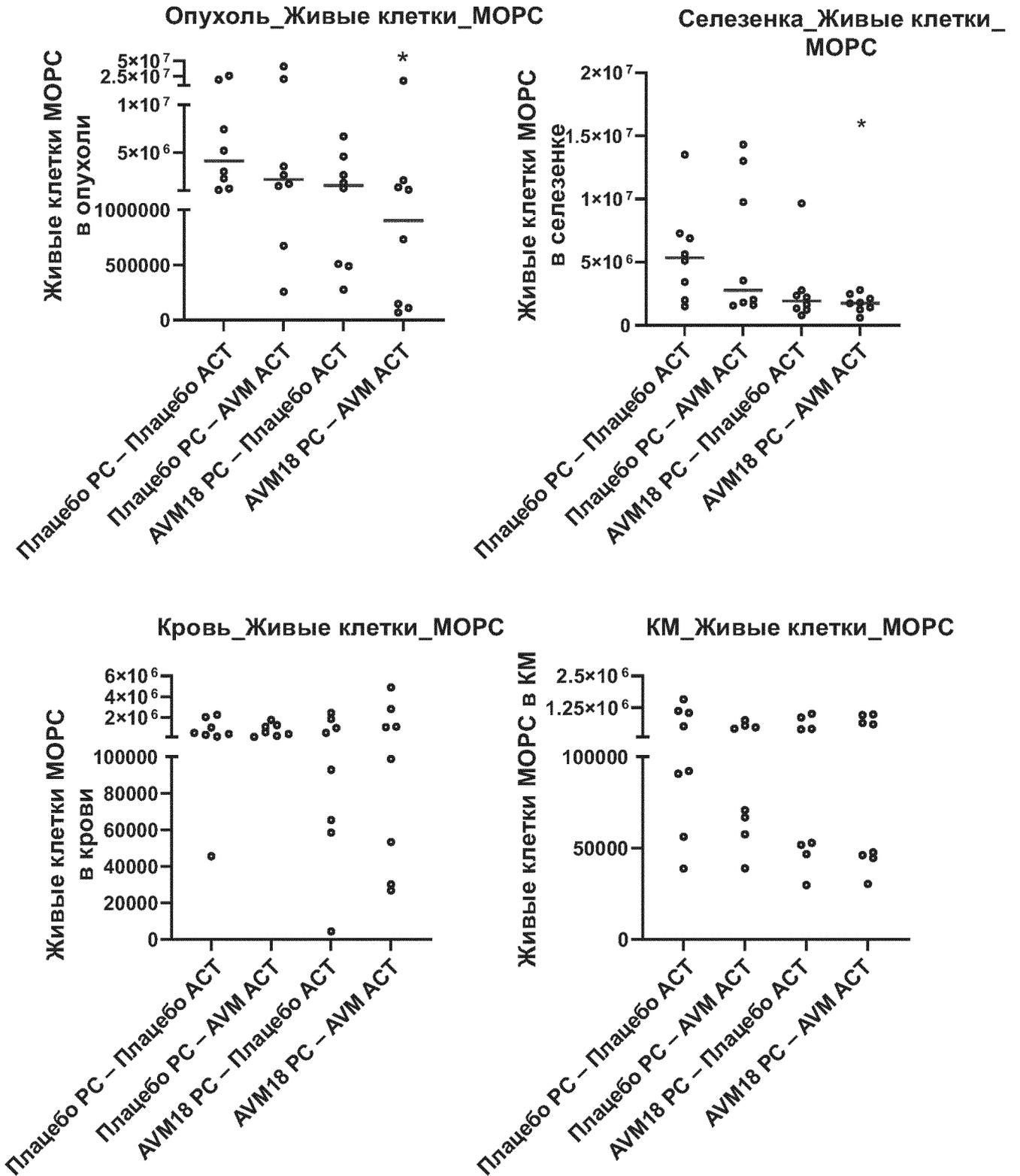


[Негейтированные]
CD45 Alexa Fluor700-A / mCd45
FITC-A

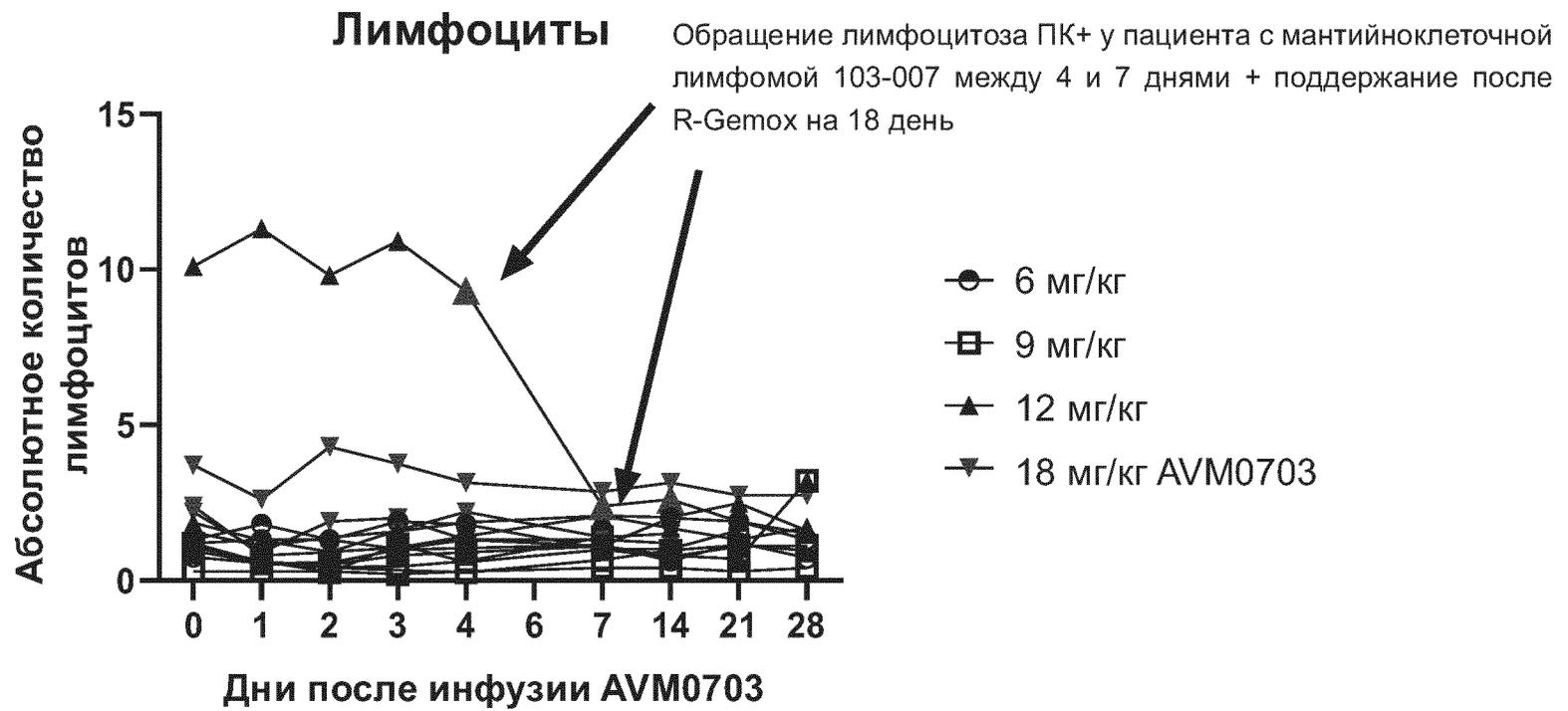


Гейт	Кол-во	%Общ.	%Гейтир.
hCD45+	32,487	7.14	7.14
mCD45+	10,937	2.41	2.41

Фиг. 40

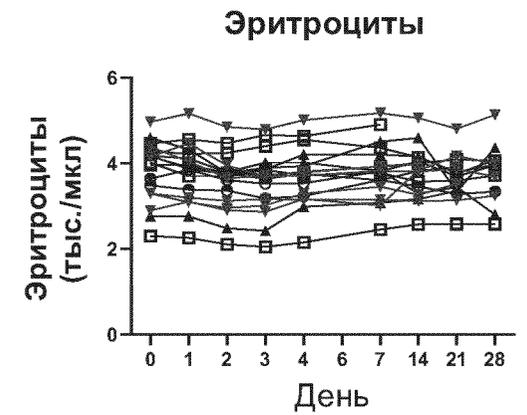
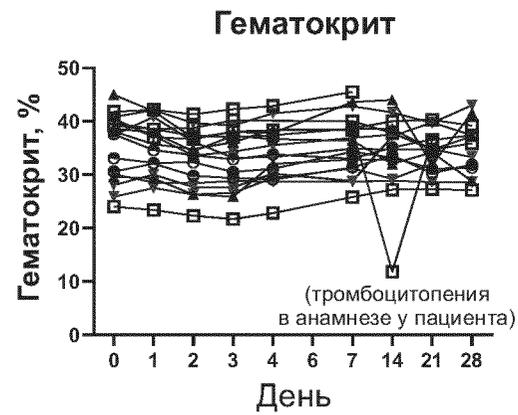
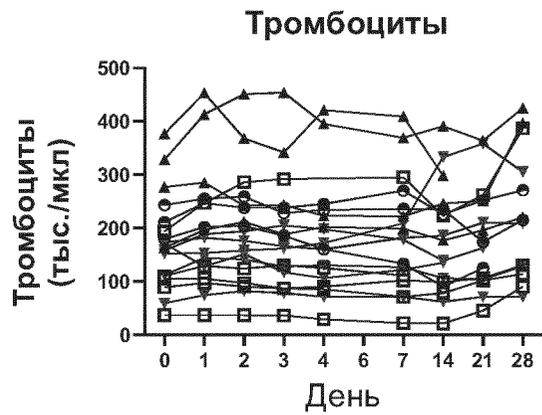
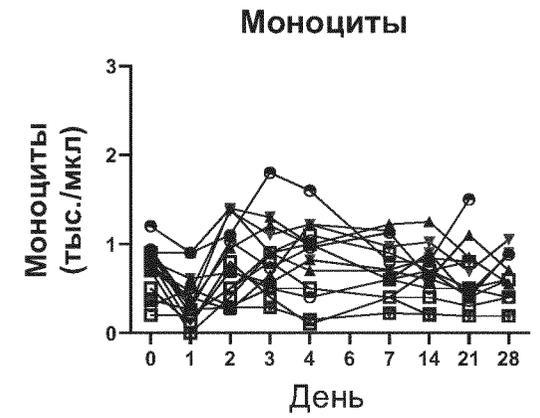
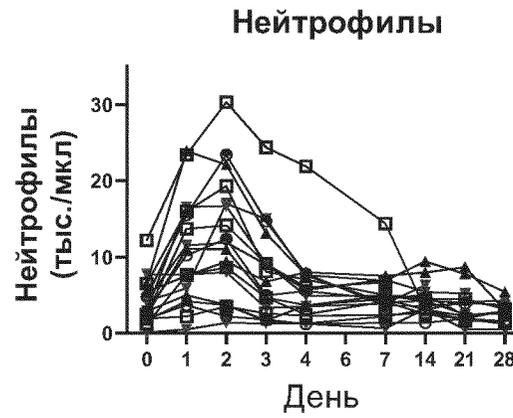
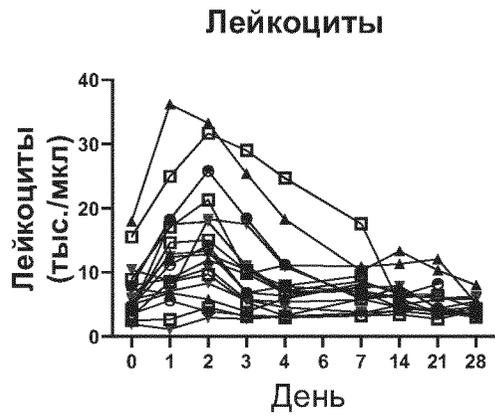


Фиг. 41



Фиг. 42

- 6 мг/кг
- 9 мг/кг
- ▲ 12 мг/кг
- ▼ 18 мг/кг AVM0703



Фиг. 43

