



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 111727373 A

(43) 申请公布日 2020.09.29

(21) 申请号 201880086744.6

(22) 申请日 2018.11.30

(30) 优先权数据

62/593,043 2017.11.30 US

62/752,010 2018.10.29 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2020.07.16

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/063255 2018.11.30

(87) PCT国际申请的公布数据

W02019/108900 EN 2019.06.06

(71) 申请人 诺华股份有限公司

地址 瑞士巴塞尔

申请人 宾夕法尼亚大学托管会

(72) 发明人 I·普鲁泰亚努-马利尼奇

K·曼斯菲尔德 B·恩格斯

J·J·梅勒霍斯特 A·D·科恩

E·A·斯塔德莫尔 A·加法尔

M·C·米伦 J·A·弗拉伊塔

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 史文静 黄革生

(51) Int.Cl.

G01N 33/50 (2006.01)

G01N 33/574 (2006.01)

权利要求书29页 说明书328页

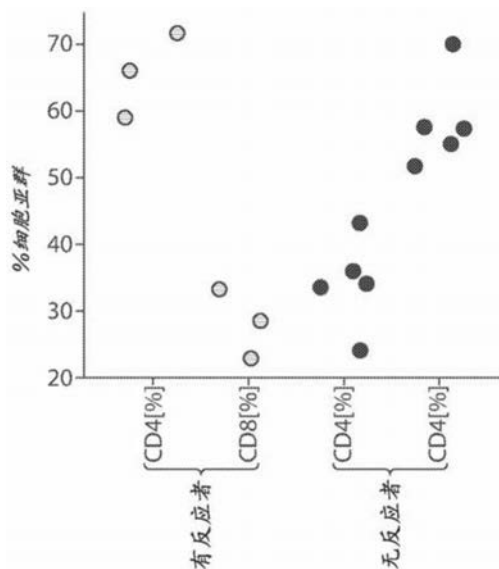
序列表(电子公布) 附图108页

(54) 发明名称

靶向BCMA的嵌合抗原受体及其用途

(57) 摘要

本发明提供了用于治疗与BCMA表达相关的疾病的组合物和方法。本发明还涉及施用靶向BCMA的嵌合抗原受体(CAR)疗法和另外的治疗剂的方法。



1. 一种评价或预测受试者对表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性的方法,其中所述受试者患有与BCMA表达相关的疾病,所述方法包括:

获取以下中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值:

(i) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)、开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中,相对于CD8+免疫效应细胞(例如CD8+ T细胞)的水平或活性的CD4+免疫效应细胞(例如CD4+ T细胞)的水平或活性,

(ii) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD8+ Tscm(干细胞记忆T细胞)的水平或活性,

(iii) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的水平或活性,

(iv) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性,

(v) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性,或者

(vi) 在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中,来自所述受试者的接种细胞的增殖,例如,如通过第9天的群体倍增(PDL9)所测量的,其中:

(a) (i)-(vi)中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值,例如无反应者参考值相比的增加指示或预测所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性增加;或者

(b) (i)-(vi)中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值,例如有反应者参考值相比的降低指示或预测所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性降低;

从而评价或预测所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性。

2. 如权利要求1所述的方法,其中(i)-(vi)中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值例如无反应者参考值相比的增加指示或预测以下中的一项、两项、三项或全部:

(a) 所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性增加;

(b) 所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的有反应者;

(c) 所述受试者适合于所述表达BCMA CAR的细胞疗法;或者

(d) 所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增增加,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

3. 如权利要求1或2所述的方法,其中(i)-(vi)中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值例如有反应者参考值相比的降低指示或预测以下中的一项、两项、三项或全部:

(a) 所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性降低;

(b) 所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的无反应者;或者

(c) 所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增降低,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

4. 如权利要求1-3中任一项所述的方法,其中相对于CD8+免疫效应细胞(例如,CD8+ T细胞)的水平或活性的CD4+免疫效应细胞(例如,CD4+ T细胞)的水平或活性的值包括CD4+免疫效应细胞(例如,CD4+ T细胞)的量与CD8+免疫效应细胞(例如CD8+ T细胞)的量的比率,例如,如通过本文披露的测定(例如流式细胞术)所测量的。

5. 如权利要求4所述的方法,其中所述比率为:

(1) 大于或等于1(例如1与5之间,例如1与3.5之间);或者

(2) 大于或等于1.6(例如,1.6与5之间,例如,1.6与3.5之间),

指示或预测以下中的一项、两项、三项或全部:

(a) 所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性增加;

(b) 所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的有反应者;

(c) 所述受试者适合于所述表达BCMA CAR的细胞疗法;或者

(d) 所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增增加,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

6. 如权利要求4或5所述的方法,其中所述比率小于1(例如,在0.001与1之间)指示或预测以下中的一项、两项或全部:

(a) 所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性降低;

(b) 所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的无反应者;或者

(c) 所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增降低,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

7. 如权利要求1-6中任一项所述的方法,其中CD8+ Tscm(干细胞记忆T细胞)的水平或活性的值包括CD8+ T细胞中CD8+ Tscm(干细胞记忆T细胞)的百分比,例如,如通过本文披露的测定例如流式细胞术所测量的。

8. 如权利要求1-7中任一项所述的方法,其中HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的水平或活性的值包括CD8+ T细胞中HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的百分比,例如,如通过本文披露的测定例如流式细胞术所测量的。

9. 如权利要求8所述的方法,其中CD8+ T细胞中HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的百分比大于或等于25%(例如在30%与90%之间,例如在35%与85%之间,例如在40%与80%之间,例如在45%与75%之间,例如在50%与75%之间)指示或预测以下中的一项、两项、三项或全部:

(a) 所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性增加;

(b) 所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的有反应者;

(c) 所述受试者适合于所述表达BCMA CAR的细胞疗法;或者

(d) 所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增增加,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

10. 如权利要求8或9所述的方法,其中CD8+ T细胞中HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的百分比小于25%(例如在0.1%与25%之间,例如在0.1%与22%之间,例如在0.1%与20%之

间,例如在0.1%与18%之间,例如在0.1%与15%之间)指示或预测以下中的一项、两项、或全部:

(a) 所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性降低;

(b) 所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的无反应者;或者

(c) 所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增降低,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

11. 如权利要求1-10中任一项所述的方法,其中CD45R0-CD27+CD8+细胞的水平或活性的值包括CD8+ T细胞中CD45R0-CD27+CD8+细胞的百分比,例如,如通过本文披露的测定例如流式细胞术所测量的。

12. 如权利要求11所述的方法,其中CD8+ T细胞中CD45R0-CD27+CD8+细胞的百分比大于或等于20% (例如在20%与90%之间,例如在20%与80%之间,例如在20%与70%之间,例如在20%与60%之间)指示或预测以下中的一项、两项、三项或全部:

(a) 所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性增加;

(b) 所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的有反应者;

(c) 所述受试者适合于所述表达BCMA CAR的细胞疗法;或者

(d) 所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增增加,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

13. 如权利要求11或12所述的方法,其中CD8+ T细胞中CD45R0-CD27+CD8+细胞的百分比小于20% (例如在0.1%与20%之间,例如在0.1%与18%之间,例如在0.1%与15%之间,例如在0.1%与12%之间,例如在0.1%与10%之间)指示或预测以下中的一项、两项、或全部:

(a) 所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性降低;

(b) 所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的无反应者;或者

(c) 所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增降低,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

14. 如权利要求1-13中任一项所述的方法,其中CCR7+CD45R0-CD27+CD8+细胞的水平或活性的值包括CD8+ T细胞中CCR7+CD45R0-CD27+CD8+细胞的百分比,例如,如通过本文披露的测定例如流式细胞术所测量的。

15. 如权利要求14所述的方法,其中CD8+ T细胞中CCR7+CD45R0-CD27+CD8+细胞的百分比大于或等于15% (例如在15%与90%之间,例如在15%与80%之间,例如在15%与70%之间,例如在15%与60%之间,例如在15%与50%之间)指示或预测以下中的一项、两项、三项或全部:

(a) 所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性增加;

(b) 所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的有反应者;

(c) 所述受试者适合于所述表达BCMA CAR的细胞疗法;或者

(d) 所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增增加,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

16. 如权利要求14或15所述的方法,其中CD8+ T细胞中CCR7+CD45R0-CD27+CD8+细胞的百分比小于15% (例如在0.1%与15%之间,例如在0.1%与12%之间,例如在0.1%与10%

之间,例如在0.1%与8%之间)指示或预测以下中的一项、两项、或全部:

(a) 所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性降低;

(b) 所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的无反应者;或者

(c) 所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增降低,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

17. 如权利要求1-16中任一项所述的方法,其中在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中来自所述受试者的接种细胞的增殖的值包括在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中来自所述受试者的接种细胞的倍数扩增(例如,制造结束时相对于制造开始时的总细胞计数),例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如通过细胞计数所测量的。

18. 如权利要求1-17中任一项所述的方法,所述方法还包括进行以下:

使用来自所述受试者的细胞(例如T细胞)制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法,并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法;或者

在以下情况下,向所述受试者施用,例如开始施用或继续施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法:

(a) 指示或预测所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性增加;

(b) 指示或预测所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的有反应者;

(c) 指示或预测所述受试者适合于所述表达BCMA CAR的细胞疗法;或者

(d) 指示或预测所述表达BCMA CAR的细胞疗法在所述受试者中具有增加的扩增,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

19. 如权利要求1-17中任一项所述的方法,所述方法还包括进行以下中的一项、两项、三项、四项、五项、六项、七项或全部:

向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法的经改变的给药方案(例如,与参考给药方案相比具有更高剂量和/或更频繁施用的给药方案);

向所述受试者施用第二疗法(例如,不是所述表达BCMA CAR的细胞疗法的第二疗法);

向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法;

中止施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法,并任选地向所述受试者施用第二疗法;

修改所述表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在引入编码BCMA CAR的核酸之前相对于CD8+免疫效应细胞(CD8+ T细胞)富集CD4+免疫效应细胞(例如CD4+ T细胞),并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;

修改所述表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在引入编码BCMA CAR的核酸之前富集CD8+ Tscm(例如HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞、CD45R0-CD27+CD8+细胞或CCR7+CD45R0-CD27+CD8+细胞),并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;

修改所述表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中增加来自所述受试者的接种细胞的增殖,并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;或者

在以下情况下,向所述受试者施用预治疗,其中所述预治疗增加了所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)、开始制造所述表达BCMA

CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品)中,或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中,CD4+免疫效应细胞(例如,CD4+ T细胞)的量与CD8+免疫效应细胞(例如,CD8+ T细胞)的量的比率,例如,所述预处理将所述比率增加到大于或等于1.6(例如在1.6与5之间,例如在1.6与3.5之间);使用来自所述受试者的细胞(例如,T细胞)制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法;并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法:

(a) 指示或预测所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性降低;

(b) 指示或预测所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的无反应者;或者

(c) 指示或预测所述表达BCMA CAR的细胞疗法在所述受试者中具有降低的扩增,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

20. 一种治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括:

响应于以下中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值,例如无反应者参考值相比的增加:

(i) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)、开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中,相对于CD8+免疫效应细胞(例如CD8+ T细胞)的水平或活性的CD4+免疫效应细胞(例如CD4+ T细胞)的水平或活性,

(ii) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD8+ Tscm(干细胞记忆T细胞)的水平或活性,

(iii) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的水平或活性,

(iv) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性,

(v) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性,或者

(vi) 在制造表达BCMA CAR的细胞疗法过程中,来自所述受试者的接种细胞的增殖,进行以下:

使用来自所述受试者的细胞(例如,T细胞)制造表达BCMA CAR的细胞疗法,并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法;或者

向所述受试者施用,例如开始施用或继续施用表达BCMA CAR的细胞疗法,从而治疗患有与BCMA表达相关的疾病的所述受试者。

21. 一种治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括:

响应于以下中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值,例如有反应者参考

值相比的降低：

(i) 所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）、开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中，相对于CD8+免疫效应细胞（例如CD8+ T细胞）的水平或活性的CD4+免疫效应细胞（例如CD4+ T细胞）的水平或活性，

(ii) 所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，CD8+ Tscm（干细胞记忆T细胞）的水平或活性，

(iii) 所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的水平或活性，

(iv) 所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性，

(v) 所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性，或者

(vi) 在制造表达BCMA CAR的细胞疗法过程中，来自所述受试者的接种细胞的增殖，进行以下中的一项、两项、三项、四项、五项、六项、七项或全部：

向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法的经改变的给药方案（例如，与参考给药方案相比具有更高剂量和/或更频繁施用的给药方案）；

向所述受试者施用第二疗法（例如，不是表达BCMA CAR的细胞疗法的第二疗法）；

向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法；

中止施用表达BCMA CAR的细胞疗法，并任选地向所述受试者施用第二疗法；

修改表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法，例如，在引入编码BCMA CAR的核酸之前相对于CD8+免疫效应细胞（CD8+ T细胞）富集CD4+免疫效应细胞（例如CD4+ T细胞），并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者；

修改表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法，例如，在引入编码BCMA CAR的核酸之前富集CD8+ Tscm（例如HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞、CD45RO-CD27+CD8+细胞或CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞），并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者；

修改所述表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法，例如，在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中增加来自所述受试者的接种细胞的增殖，并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者；或者

向所述受试者施用预处理，其中所述预处理增加了所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）、开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中，CD4+免疫效应细胞（例

如,CD4+ T细胞)的量与CD8+免疫效应细胞(例如,CD8+ T细胞)的量的比率,例如,所述预处理将所述比率增加到大于或等于1.6(例如在1.6与5之间,例如在1.6与3.5之间);使用来自所述受试者的细胞(例如,T细胞)制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法;并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法,

从而治疗患有与所述与BCMA表达相关的疾病的所述受试者。

22.如权利要求20所述的方法,所述方包括:响应于(i)-(vi)中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值的增加,鉴定或预测以下中的一项、两项、三项或全部:

(a)所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性增加;

(b)所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的有反应者;

(c)所述受试者适合于所述表达BCMA CAR的细胞疗法;或者

(d)所述表达BCMA CAR的细胞疗法在所述受试者中具有增加的扩增,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

23.如权利要求21所述的方法,所述方包括:响应于(i)-(vi)中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值的降低,鉴定或预测以下中的一项、两项或全部:

(a)所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性降低;

(b)所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的无反应者;或者

(c)所述表达BCMA CAR的细胞疗法在所述受试者中具有降低的扩增,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

24.如权利要求20-23中任一项所述的方法,其中相对于CD8+免疫效应细胞(例如,CD8+ T细胞)的水平或活性的CD4+免疫效应细胞(例如,CD4+ T细胞)的水平或活性的值包括CD4+免疫效应细胞(例如,CD4+ T细胞)的量与CD8+免疫效应细胞(例如CD8+ T细胞)的量的比率,例如,如通过本文披露的测定(例如流式细胞术)所测量的。

25.如权利要求24所述的方法,所述方包括:

响应于以下比率:

(1)大于或等于1(例如1与5之间,例如1与3.5之间);或者

(2)大于或等于1.6(例如,在1.6与5之间,例如在1.6与3.5之间),进行以下:

使用来自所述受试者的细胞(例如,T细胞)制造表达BCMA CAR的细胞疗法,并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法;或者

向所述受试者施用,例如开始施用或继续施用表达BCMA CAR的细胞疗法。

26.如权利要求24或25所述的方法,所述方法包括:

响应于小于1(例如在0.001与1之间)的比率,进行以下中的一项、两项、三项、四项、五项、六项、七项或全部:

向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法的经改变的给药方案(例如,与参考给药方案相比具有更高剂量和/或更频繁施用的给药方案);

向所述受试者施用第二疗法(例如,不是表达BCMA CAR的细胞疗法的第二疗法);

向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法;

中止施用表达BCMA CAR的细胞疗法,并任选地向所述受试者施用第二疗法;

修改表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在引入编码BCMA CAR的核酸之前相对于CD8+免疫效应细胞(CD8+ T细胞)富集CD4+免疫效应细胞(例如CD4+ T细胞),并将由所

述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者；

修改表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法，例如，在引入编码BCMA CAR的核酸之前富集CD8⁺ Tscm (例如HLADR-CD95+CD27+CD8⁺细胞、CD45RO-CD27+CD8⁺细胞或CCR7+CD45RO-CD27+CD8⁺细胞)，并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者；

修改所述表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法，例如，在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中增加来自所述受试者的接种细胞的增殖，并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者；或者

向所述受试者施用预处理，其中所述预处理增加了所述受试者中，例如来自所述受试者的样品 (例如，单采样品 (例如，白细胞单采样品)、开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物 (例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品)) 中，或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中，CD4⁺免疫效应细胞 (例如，CD4⁺ T细胞) 的量与CD8⁺免疫效应细胞 (例如，CD8⁺ T细胞) 的量的比率，例如，所述预处理将所述比率增加到大于或等于1.6 (例如在1.6与5之间，例如在1.6与3.5之间)；使用来自所述受试者的细胞 (例如，T细胞) 制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法；并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法。

27. 如权利要求20-26中任一项所述的方法，其中CD8⁺ Tscm (干细胞记忆T细胞) 的水平或活性的值包括CD8⁺ T细胞中CD8⁺ Tscm (干细胞记忆T细胞) 的百分比，例如，如通过本文披露的测定例如流式细胞术所测量的。

28. 如权利要求20-27中任一项所述的方法，其中HLADR-CD95+CD27+CD8⁺细胞的水平或活性的值包括CD8⁺ T细胞中HLADR-CD95+CD27+CD8⁺细胞的百分比，例如，如通过本文披露的测定例如流式细胞术所测量的。

29. 如权利要求28所述的方法，所述方包括：

响应于CD8⁺ T细胞中HLADR-CD95+CD27+CD8⁺细胞的百分比大于或等于25% (例如在30%与90%之间，例如在35%与85%之间，例如在40%与80%之间，例如在45%与75%之间，例如在50%与75%之间)，进行以下：

使用来自所述受试者的细胞 (例如，T细胞) 制造表达BCMA CAR的细胞疗法，并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法；或者

向所述受试者施用，例如开始施用或继续施用表达BCMA CAR的细胞疗法。

30. 如权利要求28或29所述的方法，所述方法包括：

响应于CD8⁺ T细胞中HLADR-CD95+CD27+CD8⁺细胞的百分比小于25% (例如在0.1%与25%之间，例如在0.1%与22%之间，例如在0.1%与20%之间，例如在0.1%与18%之间，例如在0.1%与15%之间)，进行以下中的一项、两项、三项、四项、五项、六项、七项或全部：

向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法的经改变的给药方案 (例如，与参考给药方案相比具有更高剂量和/或更频繁施用的给药方案)；

向所述受试者施用第二疗法 (例如，不是表达BCMA CAR的细胞疗法的第二疗法)；

向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法；

中止施用表达BCMA CAR的细胞疗法，并任选地向所述受试者施用第二疗法；

修改表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法，例如，在引入编码BCMA CAR的核酸之前相

对于CD8+免疫效应细胞(CD8+ T细胞)富集CD4+免疫效应细胞(例如CD4+ T细胞),并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;

修改表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在引入编码BCMA CAR的核酸之前富集CD8+ Tscm(例如HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞、CD45RO-CD27+CD8+细胞或CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞),并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;

修改所述表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中增加来自所述受试者的接种细胞的增殖,并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;或者

向所述受试者施用预治疗,其中所述预治疗增加了所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)、开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中,CD4+免疫效应细胞(例如,CD4+ T细胞)的量与CD8+免疫效应细胞(例如,CD8+ T细胞)的量的比率,例如,所述预治疗将所述比率增加到大于或等于1.6(例如在1.6与5之间,例如在1.6与3.5之间);使用来自所述受试者的细胞(例如,T细胞)制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法;并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法。

31.如权利要求20-30中任一项所述的方法,其中CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性的值包括CD8+ T细胞中CD45RO-CD27+CD8+细胞的百分比,例如,如通过本文披露的测定例如流式细胞术所测量的。

32.如权利要求31所述的方法,所述方包括:

响应于CD8+ T细胞中CD45RO-CD27+CD8+细胞的百分比大于或等于20%(例如在20%与90%之间,例如在20%与80%之间,例如在20%与70%之间,例如在20%与60%之间),进行以下:

使用来自所述受试者的细胞(例如,T细胞)制造表达BCMA CAR的细胞疗法,并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法;或者

向所述受试者施用,例如开始施用或继续施用表达BCMA CAR的细胞疗法。

33.如权利要求31或32所述的方法,所述方法包括:

响应于CD8+ T细胞中CD45RO-CD27+CD8+细胞的百分比小于20%(例如在0.1%与20%之间,例如在0.1%与18%之间,例如在0.1%与15%之间,例如在0.1%与12%之间,例如在0.1%与10%之间),进行以下中的一项、两项、三项、四项、五项、六项、七项或全部:

向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法的经改变的给药方案(例如,与参考给药方案相比具有更高剂量和/或更频繁施用的给药方案);

向所述受试者施用第二疗法(例如,不是表达BCMA CAR的细胞疗法的第二疗法);

向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法;

中止施用表达BCMA CAR的细胞疗法,并任选地向所述受试者施用第二疗法;

修改表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在引入编码BCMA CAR的核酸之前相对于CD8+免疫效应细胞(CD8+ T细胞)富集CD4+免疫效应细胞(例如CD4+ T细胞),并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;

修改表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在引入编码BCMA CAR的核酸之前富集CD8⁺ Tscm (例如HLADR-CD95+CD27+CD8⁺细胞、CD45RO-CD27+CD8⁺细胞或CCR7+CD45RO-CD27+CD8⁺细胞),并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;

修改所述表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中增加来自所述受试者的接种细胞的增殖,并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;或者

向所述受试者施用预治疗,其中所述预治疗增加了所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)、开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中,CD4⁺免疫效应细胞(例如,CD4⁺ T细胞)的量与CD8⁺免疫效应细胞(例如,CD8⁺ T细胞)的量的比率,例如,所述预治疗将所述比率增加到大于或等于1.6(例如在1.6与5之间,例如在1.6与3.5之间);使用来自所述受试者的细胞(例如,T细胞)制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法;并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法。

34.如权利要求20-33中任一项所述的方法,其中CCR7+CD45RO-CD27+CD8⁺细胞的水平或活性的值包括CD8⁺ T细胞中CCR7+CD45RO-CD27+CD8⁺细胞的百分比,例如,如通过本文披露的测定例如流式细胞术所测量的。

35.如权利要求34所述的方法,所述方包括:

响应于CD8⁺ T细胞中CCR7+CD45RO-CD27+CD8⁺细胞的百分比大于或等于15%(例如在15%与90%之间,例如在15%与80%之间,例如在15%与70%之间,例如在15%与60%之间,例如在15%与50%之间),进行以下:

使用来自所述受试者的细胞(例如,T细胞)制造表达BCMA CAR的细胞疗法,并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法;或者

向所述受试者施用,例如开始施用或继续施用表达BCMA CAR的细胞疗法。

36.如权利要求34或35所述的方法,所述方法包括:

响应于CD8⁺ T细胞中CCR7+CD45RO-CD27+CD8⁺细胞的百分比小于15%(例如在0.1%与15%之间,例如在0.1%与12%之间,例如在0.1%与10%之间,例如在0.1%与8%之间),进行以下中的一项、两项、三项、四项、五项、六项、七项或全部:

向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法的经改变的给药方案(例如,与参考给药方案相比具有更高剂量和/或更频繁施用的给药方案);

向所述受试者施用第二疗法(例如,不是表达BCMA CAR的细胞疗法的第二疗法);

向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法;

中止施用表达BCMA CAR的细胞疗法,并任选地向所述受试者施用第二疗法;

修改表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在引入编码BCMA CAR的核酸之前相对于CD8⁺免疫效应细胞(CD8⁺ T细胞)富集CD4⁺免疫效应细胞(例如CD4⁺ T细胞),并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;

修改表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在引入编码BCMA CAR的核酸之前富集CD8⁺ Tscm (例如HLADR-CD95+CD27+CD8⁺细胞、CD45RO-CD27+CD8⁺细胞或CCR7+CD45RO-

CD27+CD8+细胞),并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;

修改所述表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中增加来自所述受试者的接种细胞的增殖,并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;或者

向所述受试者施用预治疗,其中所述预治疗增加了所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)、开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中,CD4+免疫效应细胞(例如,CD4+ T细胞)的量与CD8+免疫效应细胞(例如,CD8+ T细胞)的量的比率,例如,所述预治疗将所述比率增加到大于或等于1.6(例如在1.6与5之间,例如在1.6与3.5之间);使用来自所述受试者的细胞(例如,T细胞)制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法;并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法。

37.如权利要求20-36中任一项所述的方法,其中在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中来自所述受试者的接种细胞的增殖的值包括在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中来自所述受试者的接种细胞的倍数扩增(例如,制造结束时相对于制造开始时的总细胞计数),例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如通过细胞计数所测量的。

38.一种评价或预测受试者中表达BCMA CAR的细胞疗法的效力的方法,其中所述受试者患有与BCMA表达相关的疾病,并且其中所述表达BCMA CAR的细胞疗法使用来自所述受试者的细胞(例如T细胞)制造,所述方法包括:

获取以下中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值:

(i)所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)、开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中,相对于CD8+免疫效应细胞(例如CD8+ T细胞)的水平或活性的CD4+免疫效应细胞(例如CD4+ T细胞)的水平或活性,

(ii)所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD8+ Tscm(干细胞记忆T细胞)的水平或活性,

(iii)所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的水平或活性,

(iv)所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性,

(v)所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性,或者

(vi)在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中,来自所述受试者的接种细胞的增

殖,例如,如通过第9天的群体倍增(PDL9)所测量的,其中:

(a) (i) - (vi) 中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值,例如无反应者参考值相比的增加指示或预测所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的效力增加;或者

(b) (i) - (vi) 中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值,例如有反应者参考值相比的降低指示或预测所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的效力降低;

从而评价或预测所述表达BCMA CAR的细胞疗法的效力。

39. 如权利要求38所述的方法,其中(i) - (vi) 中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值(例如,无反应者参考值)相比的增加指示或预测所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增增加,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

40. 如权利要求38或39所述的方法,其中(i) - (vi) 中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值,例如有反应者参考值相比的降低指示或预测所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增降低,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

41. 一种制造表达BCMA CAR的细胞疗法的方法,其中所述表达BCMA CAR的细胞疗法使用来自受试者的细胞(例如T细胞)制造,所述方法包括:

获取以下中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值:

(i) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)、开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中,相对于CD8+免疫效应细胞(例如CD8+ T细胞)的水平或活性的CD4+免疫效应细胞(例如CD4+ T细胞)的水平或活性,

(ii) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD8+ Tscm(干细胞记忆T细胞)的水平或活性,

(iii) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的水平或活性,

(iv) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性,

(v) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性,或者

(vi) 在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中,来自所述受试者的接种细胞的增殖,例如,如通过第9天的群体倍增(PDL9)所测量的,其中:

响应于(i) - (vi) 中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值(例如,无反应者参考值)相比的增加,使用来自受试者的细胞制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法。

42. 一种制造表达BCMA CAR的细胞疗法的方法,其中所述表达BCMA CAR的细胞疗法使

用来自受试者的细胞(例如T细胞)制造,所述方法包括:

获取以下中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值:

(i) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)、开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中,相对于CD8+免疫效应细胞(例如CD8+ T细胞)的水平或活性的CD4+免疫效应细胞(例如CD4+ T细胞)的水平或活性,

(ii) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD8+ Tscm(干细胞记忆T细胞)的水平或活性,

(iii) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的水平或活性,

(iv) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性,

(v) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性,或者

(vi) 在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中,来自所述受试者的接种细胞的增殖,例如,如通过第9天的群体倍增(PDL9)所测量的,其中:

响应于(i)-(vi)中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值,例如有反应者参考值相比的降低,进行以下中的一项、两项、三项或全部:

修改所述表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在引入编码BCMA CAR的核酸之前相对于CD8+免疫效应细胞(CD8+ T细胞)富集CD4+免疫效应细胞(例如CD4+ T细胞);

修改所述表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在引入编码BCMA CAR的核酸之前富集CD8+ Tscm(例如HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞、CD45RO-CD27+CD8+细胞或CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞);

修改所述表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中增加来自所述受试者的接种细胞的增殖;或者

向所述受试者施用预治疗,其中所述预治疗增加了所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)、开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中,CD4+免疫效应细胞(例如,CD4+ T细胞)的量与CD8+免疫效应细胞(例如,CD8+ T细胞)的量的比率,例如,所述预治疗将所述比率增加到大于或等于1.6(例如在1.6与5之间,例如在1.6与3.5之间);并使用来自所述受试者的细胞(例如,T细胞)制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法。

43. 如权利要求38-42中任一项所述的方法,其中相对于CD8+免疫效应细胞(例如,CD8+ T细胞)的水平或活性的CD4+免疫效应细胞(例如,CD4+ T细胞)的水平或活性的值包括CD4+

免疫效应细胞(例如,CD4+ T细胞)的量与CD8+免疫效应细胞(例如CD8+ T细胞)的量的比率,例如,如通过本文披露的测定(例如流式细胞术)所测量的。

44. 如权利要求38-43中任一项所述的方法,其中CD8+ Tscm(干细胞记忆T细胞)的水平或活性的值包括CD8+ T细胞中CD8+ Tscm(干细胞记忆T细胞)的百分比,例如,如通过本文披露的测定例如流式细胞术所测量的。

45. 如权利要求38-44中任一项所述的方法,其中HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的水平或活性的值包括CD8+ T细胞中HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的百分比,例如,如通过本文披露的测定例如流式细胞术所测量的。

46. 如权利要求38至45中任一项所述的方法,所述CD45R0-CD27+CD8+细胞的水平或活性的值包括CD8+ T细胞中CD45R0-CD27+CD8+细胞的百分比,例如,如通过本文披露的测定例如流式细胞术所测量的。

47. 如权利要求38-46中任一项所述的方法,其中CCR7+CD45R0-CD27+CD8+细胞的水平或活性的值包括CD8+ T细胞中CCR7+CD45R0-CD27+CD8+细胞的百分比,例如,如通过本文披露的测定例如流式细胞术所测量的。

48. 如权利要求38至47中任一项所述的方法,在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中,来自所述受试者的接种细胞的增殖的值包括在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中来自所述受试者的接种细胞的倍数扩增(例如,制造结束时相对于制造开始时的总细胞计数),例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如通过细胞计数所测量的。

49. 如权利要求1-48中任一项所述的方法,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与以下中的一项、两项或所有组合向所述受试者施用:

(1) 增加包含所述CAR核酸或CAR多肽的细胞的功效的药剂;

(2) 改善与包含所述CAR核酸或CAR多肽的细胞的施用相关的一种或多种副作用的药剂;

(3) 治疗与BCMA表达相关的疾病的药剂。

50. 如权利要求1-49中任一项所述的方法,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与具有式(I)的化合物(COF1)组合向所述受试者施用,其中所述COF1是:



或其药学上可接受的盐、酯、水合物、溶剂化物、或互变异构体,其中:

X是O或S;

R¹是C₁-C₆烷基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基、C₁-C₆杂烷基、碳环基、杂环基、芳基、或杂芳基,其中每个任选地被一个或多个R⁴取代;

R^{2a}和R^{2b}中的每个独立地是氢或C₁-C₆烷基;或R^{2a}和R^{2b}连同与它们所附接的碳原子形成羰基基团或硫代羰基基团;

每个R³独立地是C₁-C₆烷基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基、C₁-C₆杂烷基、卤代、氰基、-C(O)R^A、-C(O)OR^B、-OR^B、-N(R^C)(R^D)、-C(O)N(R^C)(R^D)、-N(R^C)C(O)R^A、-S(O)_xR^E、-S(O)_xN(R^C)(R^D)、或-N(R^C)S(O)_xR^E,其中每个烷基、烯基、炔基、和杂烷基独立地且任选地被一个或多个R⁶取代;

每个 R^4 独立地是 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_1 - C_6 杂烷基、卤代、氰基、氧代、 $-C(O)R^A$ 、 $-C(O)OR^B$ 、 $-OR^B$ 、 $-N(R^C)(R^D)$ 、 $-C(O)N(R^C)(R^D)$ 、 $-N(R^C)C(O)R^A$ 、 $-S(O)_xR^E$ 、 $-S(O)_xN(R^C)(R^D)$ 、 $-N(R^C)S(O)_xR^E$ 、碳环基、杂环基、芳基、或杂芳基，其中每个烷基、烯基、炔基、杂烷基、碳环基、杂环基、芳基、和杂芳基独立地且任选地被一个或多个 R^7 取代；

R^A 、 R^B 、 R^C 、 R^D 、和 R^E 中的每个独立地是氢或 C_1 - C_6 烷基；

每个 R^6 独立地是 C_1 - C_6 烷基、氧代、氰基、 $-OR^B$ 、 $-N(R^C)(R^D)$ 、 $-C(O)N(R^C)(R^D)$ 、 $-N(R^C)C(O)R^A$ 、芳基、或杂芳基，其中每个芳基和杂芳基独立地且任选地被一个或多个 R^8 取代；

每个 R^7 独立地是卤代、氧代、氰基、 $-OR^B$ 、 $-N(R^C)(R^D)$ 、 $-C(O)N(R^C)(R^D)$ 、或 $-N(R^C)C(O)R^A$ ；

每个 R^8 独立地是 C_1 - C_6 烷基、氰基、 $-OR^B$ 、 $-N(R^C)(R^D)$ 、 $-C(O)N(R^C)(R^D)$ 、或 $-N(R^C)C(O)R^A$ ；

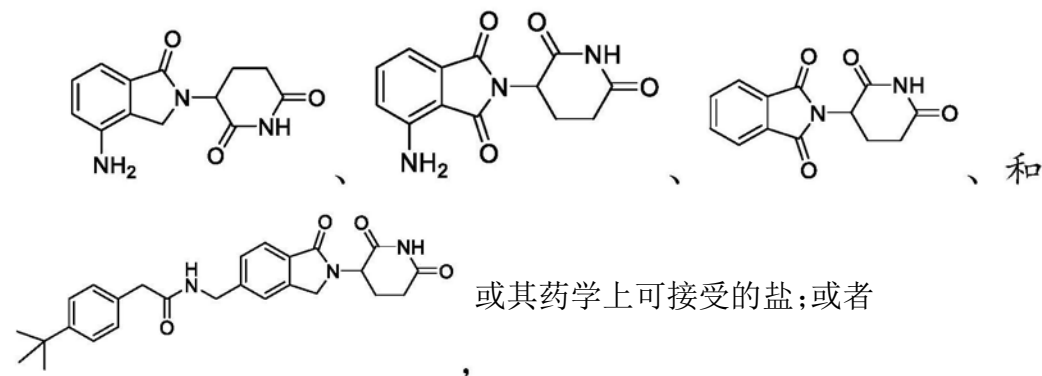
n 是0、1、2、3或4；并且

x 是0、1或2，任选地其中：

(1) 所述COF1是免疫调节酰亚胺药物(IMiD)或其药学上可接受的盐；

(2) 所述COF1选自由以下组成的组：来那度胺、泊马度胺、沙利度胺和2-(4-(叔丁基)苯基)-N-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)甲基)乙酰胺，或其药学上可接受的盐；

(3) 所述COF1选自由以下组成的组：



(4) 所述COF1是来那度胺或其药学上可接受的盐。

51. 如权利要求1-50中任一项所述的方法，所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与激酶抑制剂组合向所述受试者施用，所述激酶抑制剂例如BTK抑制剂，例如依鲁替尼。

52. 如权利要求1-51中任一项所述的方法，所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与第二表达CAR的细胞疗法组合向所述受试者施用，任选地，其中所述第二表达CAR的细胞疗法是：

(1) 表达CD19 CAR的细胞疗法，例如本文披露的表达CD19 CAR的细胞疗法，例如CTL119或CTL019，任选地，其中所述表达CD19 CAR的细胞疗法在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后，例如在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后所述受试者中的CD19表达增加后施用；

(2) 表达CD20 CAR的细胞疗法，例如本文披露的表达CD20 CAR的细胞疗法，任选地，其中所述表达CD20 CAR的细胞疗法在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后，例如在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后所述受试者中的CD20表达增加后施用；

(3) 表达CD22 CAR的细胞疗法，例如本文披露的表达CD22 CAR的细胞疗法，任选地，其中所述表达CD22 CAR的细胞疗法在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后，例如在施用所述

表达BCMA CAR的细胞疗法后所述受试者中的CD22表达增加后施用；

(4) 表达CAR的细胞疗法,所述疗法包含表达第一CAR和第二CAR的细胞,其中所述第一CAR是BCMA CAR(例如,本文披露的BCMA CAR),任选地,其中所述第二CAR选自自由以下组成的组:CD19 CAR(例如本文披露的CD19 CAR)、CD20 CAR(例如本文披露的CD20CAR)和CD22 CAR(例如本文披露的CD22 CAR);或者

(5) 表达CAR的细胞疗法,所述疗法包含表达与第一抗原和第二抗原结合的多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞,其中所述第一抗原是BCMA,任选地,其中所述第二抗原选自自由CD19、CD20和CD22组成的组。

53. 如权利要求1-52中任一项所述的方法,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与CD19抑制剂例如本文披露的CD19抑制剂组合向所述受试者施用,任选地,其中所述CD19抑制剂在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后,例如在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后所述受试者中的CD19表达增加后施用。

54. 如权利要求1-53中任一项所述的方法,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与CD20抑制剂例如本文披露的CD20抑制剂组合向所述受试者施用,任选地,其中所述CD20抑制剂是结合至CD20和CD3的多特异性抗体分子,例如双特异性抗体分子,例如THG338,任选地,其中所述CD20抑制剂在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后,例如在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后所述受试者中的CD20达增加后施用。

55. 如权利要求1-54中任一项所述的方法,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与CD22抑制剂例如本文披露的CD22抑制剂组合向所述受试者施用,任选地,其中所述CD22抑制剂在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后,例如在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后所述受试者中的CD22表达增加后施用。

56. 如权利要求1-55中任一项所述的方法,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与结合至Fc受体样2 (FCRL2) 或Fc受体样5 (FCRL5) 的分子组合向所述受试者施用,任选地,其中所述分子为:

(1) 表达CAR的细胞疗法,其包含表达结合至FCRL2或FCRL5的CAR的细胞;或者

(2) 与第一抗原和第二抗原结合的多特异性抗体分子,例如双特异性抗体分子,其中所述第一抗原是FCRL2或FCRL5,任选地,其中所述第二抗原是CD3。

57. 如权利要求1-56中任一项所述的方法,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与白介素15 (IL-15) 多肽、白介素15受体 α (IL-15Ra) 多肽或白细胞介素IL-15多肽和IL-15Ra多肽的组合(例如hetIL-15) 组合向所述受试者施用。

58. 如权利要求1-57中任一项所述的方法,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与TGF β 抑制剂组合向所述受试者施用。

59. 如权利要求1-58中任一项所述的方法,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与EGFR^{mut}-酪氨酸激酶抑制剂(TKI) 例如EGF816组合向所述受试者施用。

60. 如权利要求1-59中任一项所述的方法,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与腺苷A2AR拮抗剂组合向所述受试者施用,任选地,其中:

(1) 所述腺苷A2AR拮抗剂选自自由以下组成的组:PBF509、CPI444、AZD4635、维帕迪南、GBV-2034和AB928;或者

(2) 所述腺苷A2AR拮抗剂选自自由以下组成的组:5-溴代-2,6-二-(1H-吡唑-1-基) 嘧啶-

4-胺；(S)-7-(5-甲基咪喃-2-基)-3-((6-(((四氢咪喃-3-基)氧基)甲基)吡啶-2-基)甲基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-胺；(R)-7-(5-甲基咪喃-2-基)-3-((6-(((四氢咪喃-3-基)氧基)甲基)吡啶-2-基)甲基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-胺或其外消旋物；7-(5-甲基咪喃-2-基)-3-((6-(((四氢咪喃-3-基)氧基)甲基)吡啶-2-基)甲基)-3H-[1,2,3]三唑[4,5-d]嘧啶-5-胺；和6-(2-氯代-6-甲基吡啶-4-基)-5-(4-氟苯基)-1,2,4-三嗪-3-胺。

61. 如权利要求1-60中任一项所述的方法，所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与抗CD73抗体分子例如本文披露的抗CD73抗体分子组合向所述受试者施用。

62. 如权利要求1-61中任一项所述的方法，所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与检查点抑制剂组合向所述受试者施用，任选地，其中所述检查点抑制剂是：

(1) PD-1抑制剂，任选地，其中所述PD-1抑制剂选自自由PDR001、纳武单抗、派姆单抗、匹利珠单抗、MEDI0680、REGN2810、TSR-042、PF-06801591和AMP-224组成的组，任选地，其中所述PD-1抑制剂增加所述受试者中的表达BCMA CAR的细胞的扩增；

(2) PD-L1抑制剂，任选地，其中所述PD-L1抑制剂选自自由FAZ053阿特殊单抗、阿维鲁单抗、度伐单抗和BMS-936559组成的组，任选地，其中所述PD-L1抑制剂增加所述受试者中的表达BCMA CAR的细胞的扩增；

(3) LAG-3抑制剂，任选地，其中所述LAG-3抑制剂选自自由LAG525、BMS-986016、TSR-033、MK-4280和REGN3767组成的组；或者

(4) TIM-3抑制剂，任选地，其中所述TIM-3抑制剂选自自由MGB453、TSR-022和LY3321367组成的组。

63. 如权利要求1-62中任一项所述的方法，所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与结合至CD32B的抗体分子组合向所述受试者施用。

64. 如权利要求1-63中任一项所述的方法，所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与结合IL-17的抗体分子，例如结合至IL-17的拮抗抗体分子，例如CJM112组合向所述受试者施用。

65. 如权利要求1-64中任一项所述的方法，所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与结合至IL-1 β 的抗体分子组合向所述受试者施用。

66. 如权利要求1-65中任一项所述的方法，所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与吡唑胺2,3-双加氧酶(IDO)和/或色氨酸2,3-双加氧酶(TDO)的抑制剂，例如ID01抑制剂组合向所述受试者施用，任选地，其中所述IDO和/或TDO抑制剂选自：

(1) INCB24360、吡唑西莫德、NLG919、依多司他、NLG919或F001287；或者

(2) (4E)-4-[(3-氯代-4-氟苯胺基)-亚硝基亚甲基]-1,2,5-噁二唑-3-胺、1-甲基-D-色氨酸、 α -环己基-5H-咪唑并[5,1-a]异吡唑-5-乙醇、或1-甲基-色氨酸的D异构体。

67. 一种治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法，所述方法包括向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法，其中所述第二疗法是：

(1) 表达CD19 CAR的细胞疗法，例如本文披露的表达CD19 CAR的细胞疗法，例如CTL119或CTL019，任选地，其中所述表达CD19 CAR的细胞疗法在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后，例如在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后所述受试者中的CD19表达增加后施用；

(2) 表达CD20 CAR的细胞疗法，例如本文披露的表达CD20 CAR的细胞疗法，任选地，其

中所述表达CD20 CAR的细胞疗法在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后,例如在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后所述受试者中的CD20表达增加后施用;

(3) 表达CD22 CAR的细胞疗法,例如本文披露的表达CD22 CAR的细胞疗法,任选地,其中所述表达CD22 CAR的细胞疗法在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后,例如在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后所述受试者中的CD22表达增加后施用;

(4) 表达CAR的细胞疗法,所述疗法包含表达第一CAR和第二CAR的细胞,其中所述第一CAR是BCMA CAR(例如,本文披露的BCMA CAR),任选地,其中所述第二CAR选自自由以下组成的组:CD19 CAR(例如本文披露的CD19 CAR)、CD20 CAR(例如本文披露的CD20CAR)和CD22 CAR(例如本文披露的CD22 CAR);或者

(5) 表达CAR的细胞疗法,所述疗法包含表达与第一抗原和第二抗原结合的多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞,其中所述第一抗原是BCMA,任选地,其中所述第二抗原选自自由CD19、CD20和CD22组成的组。

68. 一种治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法,其中所述第二疗法是:

(1) CD19抑制剂,例如本文披露的CD19抑制剂,任选地,其中所述CD19抑制剂在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后,例如在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后所述受试者中的CD19表达增加后施用;

(2) CD20抑制剂,例如本文披露的CD20抑制剂,任选地,其中所述CD20抑制剂是结合至CD20和CD3的多特异性抗体分子,例如双特异性抗体分子,例如THG338,任选地,其中所述CD20抑制剂在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后,例如在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后所述受试者中的CD20表达增加后施用;或者

(3) CD22抑制剂,例如本文披露的CD22抑制剂,任选地,其中所述CD22抑制剂在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后,例如在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后所述受试者中的CD22表达增加后施用。

69. 一种治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法,其中所述第二疗法是结合至Fc受体样2 (FCRL2)或Fc受体样5 (FCRL5)的分子,任选地,其中所述分子是:

(1) 表达CAR的细胞疗法,其包含表达结合至FCRL2或FCRL5的CAR的细胞;或者

(2) 与第一抗原和第二抗原结合的多特异性抗体分子,例如双特异性抗体分子,其中所述第一抗原是FCRL2或FCRL5,任选地,其中所述第二抗原是CD3。

70. 一种治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法,其中所述第二疗法是TGF β 的抑制剂。

71. 一种治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法,其中所述第二疗法是EGFR^{mut}-酪氨酸激酶抑制剂(TKI),例如EGF816。

72. 一种治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法,其中所述第二疗法是腺苷A2AR拮抗剂,任选地,其中:

(1) 所述腺苷A2AR拮抗剂选自自由以下组成的组:PBF509、CPI444、AZD4635、维帕迪南、

GBV-2034和AB928;或者

(2) 所述腺苷A2AR拮抗剂选自自由以下组成的组:5-溴代-2,6-二-(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺;(S)-7-(5-甲基咪喃-2-基)-3-((6-(((四氢咪喃-3-基)氧基)甲基)吡啶-2-基)甲基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-胺;(R)-7-(5-甲基咪喃-2-基)-3-((6-(((四氢咪喃-3-基)氧基)甲基)吡啶-2-基)甲基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-胺或其外消旋物;7-(5-甲基咪喃-2-基)-3-((6-(((四氢咪喃-3-基)氧基)甲基)吡啶-2-基)甲基)-3H-[1,2,3]三唑[4,5-d]嘧啶-5-胺;和6-(2-氯代-6-甲基吡啶-4-基)-5-(4-氟苯基)-1,2,4-三嗪-3-胺。

73. 一种治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法,其中所述第二疗法是抗CD73抗体分子,例如本文披露的抗CD73抗体分子。

74. 一种治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法,其中所述第二疗法是检查点抑制剂,任选地,其中所述检查点抑制剂是:

(1) PD-1抑制剂,任选地,其中所述PD-1抑制剂选自自由PDR001、纳武单抗、派姆单抗、匹利珠单抗、MEDI0680、REGN2810、TSR-042、PF-06801591和AMP-224组成的组,任选地,所述PD-1抑制剂在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后,例如在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后所述受试者中的PD-1或PD-L1表达增加后施用,任选地,其中所述PD-1抑制剂增加所述受试者中的表达BCMA CAR的细胞的扩增;

(2) PD-L1抑制剂,任选地,其中PD-L1抑制剂选自自由FAZ053、阿特殊单抗、阿维鲁单抗、度伐单抗和BMS-936559组成的组,任选地,其中所述PD-L1抑制剂在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后,例如在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后所述受试者中的PD-1或PD-L1表达增加后施用,任选地,其中所述PD-L1抑制剂增加所述受试者中的表达BCMA CAR的细胞的扩增;

(3) LAG-3抑制剂,任选地,其中所述LAG-3抑制剂选自自由LAG525、BMS-986016、TSR-033、MK-4280和REGN3767组成的组,任选地,其中所述LAG-3抑制剂在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后,例如,在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后受试者中的LAG-3表达增加后施用;或者

(4) TIM-3抑制剂,任选地,其中所述TIM-3抑制剂选自自由MGB453、TSR-022和LY3321367组成的组,任选地,其中所述TIM-3抑制剂在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后,例如在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后所述受试者中的TIM-3表达增加后施用。

75. 一种治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法,其中所述第二疗法是结合至CD32B的抗体分子。

76. 一种治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法,其中所述第二疗法是结合至IL-17的抗体分子,例如结合至IL-17的拮抗抗体分子,例如CJM112。

77. 一种治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法,其中所述第二疗法是结合至IL-1 β 的抗体分

子。

78. 一种治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法,其中所述第二疗法是吲哚胺2,3-双加氧酶(IDO)和/或色氨酸2,3-双加氧酶(TDO)的抑制剂,例如IDO1抑制剂,任选地,其中所述IDO和/或TDO的抑制剂选自:

(1) INCB24360、吲哚西莫德、NLG919、依多司他、NLG919或F001287;或者

(2) (4E)-4-[(3-氯代-4-氟苯胺基)-亚硝基亚甲基]-1,2,5-噁二唑-3-胺、1-甲基-D-色氨酸、 α -环己基-5H-咪唑并[5,1-a]异吲哚-5-乙醇、或1-甲基-色氨酸的D异构体,任选地,其中:

所述IDO和/或TDO的抑制剂在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之后,例如在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法后所述受试者中的IDO和/或TDO表达增加之后施用。

79. 如权利要求67-78中任一项所述的方法,其中所述第二疗法在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法的之前、同时或之后施用。

80. 一种治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,其中所述受试者已经接受或正在接受表达BCMA CAR的细胞疗法,所述方法包括:

响应于在所述受试者开始接受所述表达BCMA CAR的细胞疗法后至少一个时间点时所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如活检样品,例如骨髓活检样品)中的抗原的水平或活性的值相对于参考值的增加,其中所述参考值为:

(i) 在所述至少一个时间点之前,所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如活检样品,例如骨髓活检样品)中的抗原的水平或活性(例如,所述受试者开始接受表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者中的抗原的水平或活性,或所述受试者开始接受所述表达BCMA CAR的细胞疗法之后但在所述至少一个时间点之前所述受试者中的抗原的水平或活性);

(ii) 在患有与BCMA表达相关的疾病的不同受试者中的抗原的水平或活性;或者

(iii) 在患有与BCMA表达相关的疾病的受试者群体中的抗原的平均水平或活性,

向所述受试者施用所述抗原的抑制剂,其中:

(1) 所述抗原是CD19,并且所述抗原的抑制剂是CD19抑制剂,任选地,其中所述CD19抑制剂是:

(a) 表达CD19 CAR的细胞疗法,例如本文披露的表达CD19CAR的细胞疗法,例如CTL119或CTL019;

(b) 表达CAR的细胞疗法,其包含表达第一CAR和第二CAR的细胞,其中所述第一CAR是BCMA CAR(例如本文披露的BCMA CAR),并且所述第二CAR是CD19 CAR(例如本文披露的CD19 CAR);或者

(c) 表达CAR的细胞疗法,其包含表达多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞,其中所述多特异性CAR与BCMA和CD19结合,

(2) 所述抗原是CD20,并且所述抗原的抑制剂是CD20抑制剂,任选地,其中所述CD20抑制剂是:

(d) 表达CD20 CAR的细胞疗法,例如本文披露的表达CD20CAR的细胞疗法;

(e) 表达CAR的细胞疗法,其包含表达第一CAR和第二CAR的细胞,其中所述第一CAR是

BCMA CAR (例如本文披露的BCMA CAR), 并且所述第二CAR是CD20 CAR (例如本文披露的CD20 CAR);

(f) 表达CAR的细胞疗法, 其包含表达多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞, 其中所述多特异性CAR与BCMA和CD20结合; 或者

(g) 多特异性抗体分子, 例如双特异性抗体分子, 例如结合至CD20和CD3的双特异性抗体分子, 例如THG338,

(3) 所述抗原是CD22, 并且所述抗原的抑制剂是CD22抑制剂, 任选地, 其中所述CD22抑制剂是:

(h) 表达CD22 CAR的细胞疗法, 例如本文披露的表达CD22CAR的细胞疗法;

(i) 表达CAR的细胞疗法, 其包含表达第一CAR和第二CAR的细胞, 其中所述第一CAR是BCMA CAR (例如本文披露的BCMA CAR), 并且所述第二CAR是CD22 CAR (例如本文披露的CD22 CAR); 或者

(j) 表达CAR的细胞疗法, 其包含表达多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞, 其中所述多特异性CAR与BCMA和CD22结合,

(4) 所述抗原是PD1或PD-L1, 并且所述抗原的抑制剂是抗PD1抗体分子或抗PD-L1抗体分子, 任选地, 其中所述抗原的抑制剂是:

(k) PDR001、纳武单抗、派姆单抗、匹利珠单抗、MEDI0680、REGN2810、TSR-042、PF-06801591或AMP-224; 或者

(l) FAZ053、阿特殊单抗、阿维鲁单抗、度伐单抗或BMS-936559,

(5) 所述抗原是IDO或TDO, 并且所述抗原的抑制剂是IDO和/或TDO的抑制剂, 任选地, 其中所述IDO和/或TDO的抑制剂是:

(m) INCB24360、吡啶西莫德、NLG919、依多司他、NLG919或F001287; 或者

(n) (4E)-4-[(3-氯代-4-氟苯胺基)-亚硝基亚甲基]-1,2,5-噁二唑-3-胺、1-甲基-D-色氨酸、 α -环己基-5H-咪唑并[5,1-a]异吡啶-5-乙醇或1-甲基-色氨酸的D异构体, 或

(6) 所述抗原是TGF- β , 并且所述抗原的抑制剂是TGF- β 抑制剂。

81. 一种治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法, 其中所述受试者已经接受或正在接受表达BCMA CAR的细胞疗法, 所述方法包括:

在所述受试者开始接受所述表达BCMA CAR的细胞疗法后至少一个时间点, 获取所述受试者中, 例如来自所述受试者的样品 (例如活检样品, 例如骨髓活检样品) 中的抗原的水平或活性的值,

响应于所述值相对于参考值的增加, 其中所述参考值是:

(i) 在所述至少一个时间点之前, 所述受试者中, 例如来自所述受试者的样品 (例如活检样品, 例如骨髓活检样品) 中的抗原的水平或活性 (例如, 所述受试者开始接受表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者中的抗原的水平或活性, 或所述受试者开始接受所述表达BCMA CAR的细胞疗法之后但在所述至少一个时间点之前所述受试者中的抗原的水平或活性);

(ii) 在患有与BCMA表达相关的疾病的不同受试者中的抗原的水平或活性; 或者

(iii) 在患有与BCMA表达相关的疾病的受试者群体中的抗原的平均水平或活性,

向所述受试者施用所述抗原的抑制剂, 其中:

(1) 所述抗原是CD19, 并且所述抗原的抑制剂是CD19抑制剂, 任选地, 其中所述CD19抑制剂是:

(a) 表达CD19 CAR的细胞疗法, 例如本文披露的表达CD19CAR的细胞疗法, 例如CTL119或CTL019;

(b) 表达CAR的细胞疗法, 其包含表达第一CAR和第二CAR的细胞, 其中所述第一CAR是BCMA CAR (例如本文披露的BCMA CAR), 并且所述第二CAR是CD19 CAR (例如本文披露的CD19 CAR); 或者

(c) 表达CAR的细胞疗法, 其包含表达多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞, 其中所述多特异性CAR与BCMA和CD19结合,

(2) 所述抗原是CD20, 并且所述抗原的抑制剂是CD20抑制剂, 任选地, 其中所述CD20抑制剂是:

(d) 表达CD20 CAR的细胞疗法, 例如本文披露的表达CD20CAR的细胞疗法;

(e) 表达CAR的细胞疗法, 其包含表达第一CAR和第二CAR的细胞, 其中所述第一CAR是BCMA CAR (例如本文披露的BCMA CAR), 并且所述第二CAR是CD20 CAR (例如本文披露的CD20 CAR);

(f) 表达CAR的细胞疗法, 其包含表达多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞, 其中所述多特异性CAR与BCMA和CD20结合; 或者

(g) 多特异性抗体分子, 例如双特异性抗体分子, 例如结合至CD20和CD3的双特异性抗体分子, 例如THG338,

(3) 所述抗原是CD22, 并且所述抗原的抑制剂是CD22抑制剂, 任选地, 其中所述CD22抑制剂是:

(h) 表达CD22 CAR的细胞疗法, 例如本文披露的表达CD22CAR的细胞疗法;

(i) 表达CAR的细胞疗法, 其包含表达第一CAR和第二CAR的细胞, 其中所述第一CAR是BCMA CAR (例如本文披露的BCMA CAR), 并且所述第二CAR是CD22 CAR (例如本文披露的CD22 CAR); 或者

(j) 表达CAR的细胞疗法, 其包含表达多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞, 其中所述多特异性CAR与BCMA和CD22结合,

(4) 所述抗原是PD1或PD-L1, 并且所述抗原的抑制剂是抗PD1抗体分子或抗PD-L1抗体分子, 任选地, 其中所述抗原的抑制剂是:

(k) PDR001、纳武单抗、派姆单抗、匹利珠单抗、MEDI0680、REGN2810、TSR-042、PF-06801591或AMP-224; 或者

(l) FAZ053、阿特殊单抗、阿维鲁单抗、度伐单抗或BMS-936559,

(5) 所述抗原是IDO或TDO, 并且所述抗原的抑制剂是IDO和/或TDO的抑制剂, 任选地, 其中所述IDO和/或TDO的抑制剂是:

(m) INCB24360、吲哚西莫德、NLG919、依多司他、NLG919或F001287; 或者

(n) (4E)-4-[(3-氯代-4-氟苯胺基)-亚硝基亚甲基]-1,2,5-噁二唑-3-胺、1-甲基-D-色氨酸、 α -环己基-5H-咪唑并[5,1-a]异吲哚-5-乙醇或1-甲基-色氨酸的D异构体, 或

(6) 所述抗原是TGF- β , 并且所述抗原的抑制剂是TGF- β 抑制剂。

82. 一种治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法, 所述方法包括:

向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法，

响应于在所述受试者开始接受所述表达BCMA CAR的细胞疗法后至少一个时间点时所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如活检样品，例如骨髓活检样品）中的抗原的水平或活性的值相对于参考值的增加，其中所述参考值为：

(i) 在所述至少一个时间点之前，所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如活检样品，例如骨髓活检样品）中的抗原的水平或活性（例如，所述受试者开始接受表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者中的抗原的水平或活性，或所述受试者开始接受所述表达BCMA CAR的细胞疗法之后但在所述至少一个时间点之前所述受试者中的抗原的水平或活性）；

(ii) 在患有与BCMA表达相关的疾病的不同受试者中的抗原的水平或活性；或者

(iii) 在患有与BCMA表达相关的疾病的受试者群体中的抗原的平均水平或活性，

向所述受试者施用所述抗原的抑制剂，其中：

(1) 所述抗原是CD19，并且所述抗原的抑制剂是CD19抑制剂，任选地，其中所述CD19抑制剂是：

(a) 表达CD19 CAR的细胞疗法，例如本文披露的表达CD19CAR的细胞疗法，例如CTL119或CTL019；

(b) 表达CAR的细胞疗法，其包含表达第一CAR和第二CAR的细胞，其中所述第一CAR是BCMA CAR（例如本文披露的BCMA CAR），并且所述第二CAR是CD19 CAR（例如本文披露的CD19 CAR）；或者

(c) 表达CAR的细胞疗法，其包含表达多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞，其中所述多特异性CAR与BCMA和CD19结合，

(2) 所述抗原是CD20，并且所述抗原的抑制剂是CD20抑制剂，任选地，其中所述CD20抑制剂是：

(d) 表达CD20 CAR的细胞疗法，例如本文披露的表达CD20CAR的细胞疗法；

(e) 表达CAR的细胞疗法，其包含表达第一CAR和第二CAR的细胞，其中所述第一CAR是BCMA CAR（例如本文披露的BCMA CAR），并且所述第二CAR是CD20 CAR（例如本文披露的CD20 CAR）；

(f) 表达CAR的细胞疗法，其包含表达多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞，其中所述多特异性CAR与BCMA和CD20结合；或者

(g) 多特异性抗体分子，例如双特异性抗体分子，例如结合至CD20和CD3的双特异性抗体分子，例如THG338，

(3) 所述抗原是CD22，并且所述抗原的抑制剂是CD22抑制剂，任选地，其中所述CD22抑制剂是：

(h) 表达CD22 CAR的细胞疗法，例如本文披露的表达CD22CAR的细胞疗法；

(i) 表达CAR的细胞疗法，其包含表达第一CAR和第二CAR的细胞，其中所述第一CAR是BCMA CAR（例如本文披露的BCMA CAR），并且所述第二CAR是CD22 CAR（例如本文披露的CD22 CAR）；或者

(j) 表达CAR的细胞疗法，其包含表达多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞，其中所述多特异性CAR与BCMA和CD22结合，

(4) 所述抗原是PD1或PD-L1,并且所述抗原的抑制剂是抗PD1抗体分子或抗PD-L1抗体分子,任选地,其中所述抗原的抑制剂是:

(k) PDR001、纳武单抗、派姆单抗、匹利珠单抗、MEDI0680、REGN2810、TSR-042、PF-06801591或AMP-224;或者

(l) FAZ053、阿特殊单抗、阿维鲁单抗、度伐单抗或BMS-936559,

(5) 所述抗原是IDO或TDO,并且所述抗原的抑制剂是IDO和/或TDO的抑制剂,任选地,其中所述IDO和/或TDO的抑制剂是:

(m) INCB24360、吡啶西莫德、NLG919、依多司他、NLG919或F001287;或者

(n) (4E)-4-[(3-氯代-4-氟苯胺基)-亚硝基亚甲基]-1,2,5-噁二唑-3-胺、1-甲基-D-色氨酸、 α -环己基-5H-咪唑并[5,1-a]异吡啶-5-乙醇或1-甲基-色氨酸的D异构体,或

(6) 所述抗原是TGF- β ,并且所述抗原的抑制剂是TGF- β 抑制剂。

83. 一种治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括:

向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法,

在所述受试者开始接受所述表达BCMA CAR的细胞疗法后至少一个时间点,获取所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如活检样品,例如骨髓活检样品)中的抗原的水平或活性的值,

响应于所述值相对于参考值的增加,其中所述参考值是:

(i) 在所述至少一个时间点之前,所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如活检样品,例如骨髓活检样品)中的抗原的水平或活性(例如,所述受试者开始接受表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者中的抗原的水平或活性,或所述受试者开始接受所述表达BCMA CAR的细胞疗法之后但在所述至少一个时间点之前所述受试者中的抗原的水平或活性);

(ii) 在患有与BCMA表达相关的疾病的不同受试者中的抗原的水平或活性;或者

(iii) 在患有与BCMA表达相关的疾病的受试者群体中的抗原的平均水平或活性,

向所述受试者施用所述抗原的抑制剂,其中:

(1) 所述抗原是CD19,并且所述抗原的抑制剂是CD19抑制剂,任选地,其中所述CD19抑制剂是:

(a) 表达CD19 CAR的细胞疗法,例如本文披露的表达CD19CAR的细胞疗法,例如CTL119或CTL019;

(b) 表达CAR的细胞疗法,其包含表达第一CAR和第二CAR的细胞,其中所述第一CAR是BCMA CAR(例如本文披露的BCMA CAR),并且所述第二CAR是CD19 CAR(例如本文披露的CD19 CAR);或者

(c) 表达CAR的细胞疗法,其包含表达多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞,其中所述多特异性CAR与BCMA和CD19结合,

(2) 所述抗原是CD20,并且所述抗原的抑制剂是CD20抑制剂,任选地,其中所述CD20抑制剂是:

(d) 表达CD20 CAR的细胞疗法,例如本文披露的表达CD20CAR的细胞疗法;

(e) 表达CAR的细胞疗法,其包含表达第一CAR和第二CAR的细胞,其中所述第一CAR是BCMA CAR(例如本文披露的BCMA CAR),并且所述第二CAR是CD20 CAR(例如本文披露的CD20

CAR) ;

(f) 表达CAR的细胞疗法,其包含表达多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞,其中所述多特异性CAR与BCMA和CD20结合;或者

(g) 多特异性抗体分子,例如双特异性抗体分子,例如结合至CD20和CD3的双特异性抗体分子,例如THG338,

(3) 所述抗原是CD22,并且所述抗原的抑制剂是CD22抑制剂,任选地,其中所述CD22抑制剂是:

(h) 表达CD22 CAR的细胞疗法,例如本文披露的表达CD22CAR的细胞疗法;

(i) 表达CAR的细胞疗法,其包含表达第一CAR和第二CAR的细胞,其中所述第一CAR是BCMA CAR(例如本文披露的BCMA CAR),并且所述第二CAR是CD22 CAR(例如本文披露的CD22 CAR);或者

(j) 表达CAR的细胞疗法,其包含表达多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞,其中所述多特异性CAR与BCMA和CD22结合,

(4) 所述抗原是PD1或PD-L1,并且所述抗原的抑制剂是抗PD1抗体分子或抗PD-L1抗体分子,任选地,其中所述抗原的抑制剂是:

(k) PDR001、纳武单抗、派姆单抗、匹利珠单抗、MEDI0680、REGN2810、TSR-042、PF-06801591或AMP-224;或者

(l) FAZ053、阿特殊单抗、阿维鲁单抗、度伐单抗或BMS-936559,

(5) 所述抗原是IDO或TDO,并且所述抗原的抑制剂是IDO和/或TDO的抑制剂,任选地,其中所述IDO和/或TDO的抑制剂是:

(m) INCB24360、吡啶西莫德、NLG919、依多司他、NLG919或F001287;或者

(n) (4E)-4-[(3-氯代-4-氟苯胺基)-亚硝基亚甲基]-1,2,5-噁二唑-3-胺、1-甲基-D-色氨酸、 α -环己基-5H-咪唑并[5,1-a]异吡啶-5-乙醇或1-甲基-色氨酸的D异构体,或

(6) 所述抗原是TGF- β ,并且所述抗原的抑制剂是TGF- β 抑制剂。

84. 如权利要求80-83中任一项所述的方法,其中所述抗原的水平或活性的值包括所述受试者中,例如来自受试者的样品(例如活检样品,例如骨髓活检样品)中所述抗原的表达水平,如通过本文所述的测定例如免疫组织化学所测量的。

85. 如权利要求80-84中任一项所述的方法,其中所述至少一个时间点是在所述受试者开始接受所述表达BCMA CAR的细胞疗法之后的5、10、15、20、25、28、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80或90天。

86. 如权利要求80-85中任一项所述的方法,其中在所述受试者开始接受所述表达BCMA CAR的细胞疗法后,所述受试者经历BCMA表达降低。

87. 如权利要求1-86中任一项所述的方法,其中所述表达BCMA CAR的细胞疗法包含表达BCMA CAR的细胞,其中:

(i) 所述BCMA CAR包含表3或5中列出的重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2和HCDR3中的一个或多个(例如,全部三个)和/或表4或5中列出的轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3中的一个或多个(例如,全部三个),或与其具有95%-99%同一性的序列;

(ii) 所述BCMA CAR包含表2或5中列出的重链可变区(VH)和/或表2或5中列出的轻链可变区(VL),或与其具有95%-99%同一性的序列;

(iii) 所述BCMA CAR包含表2或5中列出的BCMA scFv结构域氨基酸序列(例如,SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:129、SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:131、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:134、SEQ ID NO:135、SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:137、SEQ ID NO:138、SEQ ID NO:139、SEQ ID NO:140、SEQ ID NO:141、SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:143、SEQ ID NO:144、SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:146、SEQ ID NO:147、SEQ ID NO:148和SEQ ID NO:149)或与其具有95%-99%同一性的序列;

(iv) 所述BCMA CAR包含表2或表5中列出的全长BCMA CAR氨基酸序列(例如,SEQ ID NO:109的残基22-483、SEQ ID NO:99的残基22-490、SEQ ID NO:100的残基22-488、SEQ ID NO:101的残基22-487、SEQ ID NO:102的残基22-493、SEQ ID NO:103的残基22-490、SEQ ID NO:104的残基22-491、SEQ ID NO:105的残基22-482、SEQ ID NO:106的残基22-483、SEQ ID NO:107的残基22-485、SEQ ID NO:108的残基22-483、SEQ ID NO:110的残基22-490、SEQ ID NO:111的残基22-483、SEQ ID NO:112的残基22-484、SEQ ID NO:113的残基22-485、SEQ ID NO:213的残基22-487、SEQ ID NO:214的残基23-489、SEQ ID NO:215的残基22-490、SEQ ID NO:216的残基22-484、SEQ ID NO:217的残基22-485、SEQ ID NO:218的残基22-489、SEQ ID NO:219的残基22-497、SEQ ID NO:220的残基22-492、SEQ ID NO:221的残基22-490、SEQ ID NO:222的残基22-485、SEQ ID NO:223的残基22-492、SEQ ID NO:224的残基22-492、SEQ ID NO:225的残基22-483、SEQ ID NO:226的残基22-490、SEQ ID NO:227的残基22-485、SEQ ID NO:228的残基22-486、SEQ ID NO:229的残基22-492、SEQ ID NO:230的残基22-488、SEQ ID NO:231的残基22-488、SEQ ID NO:232的残基22-495、SEQ ID NO:233的残基22-490),或与其具有95%-99%同一性的序列;或者

(v) 所述BCMA CAR由表2或5中列出的核酸序列编码(例如,SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:150、SEQ ID NO:151、SEQ ID NO:152、SEQ ID NO:153、SEQ ID NO:154、SEQ ID NO:155、SEQ ID NO:156、SEQ ID NO:157、SEQ ID NO:158、SEQ ID NO:159、SEQ ID NO:160、SEQ ID NO:161、SEQ ID NO:162、SEQ ID NO:163、SEQ ID NO:164、SEQ ID NO:165、SEQ ID NO:166、SEQ ID NO:167、SEQ ID NO:168、SEQ ID NO:169、SEQ ID NO:170)或与其具有95%-99%同一性的序列。

88. 如权利要求1-87中任一项所述的方法,其中所述与BCMA表达相关的疾病是癌症,任选地,其中所述癌症是血液学癌症。

89. 如权利要求1-88中任一项所述的方法,其中所述与BCMA表达相关的疾病是选自以下一种或多种的急性白血病: B细胞急性淋巴细胞性白血病(“BALL”)、T细胞急性淋巴细胞性白血病(“TALL”)、急性淋巴细胞性白血病(ALL)、慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、B细胞幼淋巴细胞性白血病、母细胞性浆细胞样树突状细胞瘤、伯基特淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病、小细胞或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴组织增生症、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常和骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞性淋巴瘤、浆母细胞性浆细胞

样树突状细胞瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、前列腺癌(例如,去势抵抗性或治疗抵抗性前列腺癌或转移性前列腺癌)、胰腺癌、肺癌、浆细胞增殖性障碍(例如,无症状性骨髓瘤(冒烟型多发性骨髓瘤或惰性骨髓瘤)、意义未明的单克隆丙种球蛋白血症(MGUS)、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、浆细胞瘤(例如,浆细胞恶性增生、孤立性骨髓瘤、孤立性浆细胞瘤、髓外浆细胞瘤和多发性浆细胞瘤)、全身性淀粉样蛋白轻链淀粉样变性、以及POEMS综合征(也称为克罗-富克斯综合征、高月病和PEP综合征)),或其组合。

90. 如权利要求1-89中任一项所述的方法,其中所述与BCMA表达相关的疾病是ALL、CLL、DLBCL或多发性骨髓瘤。

91. 如权利要求1-90中任一项所述的方法,其中所述受试者是人类患者。

92. 一种在治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法中使用的表达BCMA CAR的细胞疗法,所述方法包括:

响应于以下中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值,例如无反应者参考值相比的增加:

(i) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)、开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中,相对于CD8+免疫效应细胞(例如CD8+ T细胞)的水平或活性的CD4+免疫效应细胞(例如CD4+ T细胞)的水平或活性,

(ii) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD8+ Tscm(干细胞记忆T细胞)的水平或活性,

(iii) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的水平或活性,

(iv) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性,

(v) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性,或者

(vi) 在制造表达BCMA CAR的细胞疗法过程中,来自所述受试者的接种细胞的增殖,进行以下:

使用来自所述受试者的细胞(例如,T细胞)制造表达BCMA CAR的细胞疗法,并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法;或者

向所述受试者施用,例如开始施用或继续施用表达BCMA CAR的细胞疗法,

从而治疗患有所述与BCMA表达相关的疾病的所述受试者。

93. 一种在治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法中使用的表达BCMA CAR的细胞疗法,所述方法包括:

响应于以下中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值,例如有反应者参考

值相比的降低：

(i) 所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）、开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中，相对于CD8+免疫效应细胞（例如CD8+ T细胞）的水平或活性的CD4+免疫效应细胞（例如CD4+ T细胞）的水平或活性，

(ii) 所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，CD8+ Tscm（干细胞记忆T细胞）的水平或活性，

(iii) 所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的水平或活性，

(iv) 所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性，

(v) 所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性，或者

(vi) 在制造表达BCMA CAR的细胞疗法过程中，来自所述受试者的接种细胞的增殖，进行以下中的一项、两项、三项、四项、五项、六项、七项或全部：

向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法的经改变的给药方案（例如，与参考给药方案相比具有更高剂量和/或更频繁施用的给药方案）；

向所述受试者施用第二疗法（例如，不是表达BCMA CAR的细胞疗法的第二疗法）；

向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法；

中止施用表达BCMA CAR的细胞疗法，并任选地向所述受试者施用第二疗法；

修改表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法，例如，在引入编码BCMA CAR的核酸之前相对于CD8+免疫效应细胞（CD8+ T细胞）富集CD4+免疫效应细胞（例如CD4+ T细胞），并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者；

修改表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法，例如，在引入编码BCMA CAR的核酸之前富集CD8+ Tscm（例如HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞、CD45RO-CD27+CD8+细胞或CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞），并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者；

修改所述表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法，例如，在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中增加来自所述受试者的接种细胞的增殖，并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者；或者

向所述受试者施用预处理，其中所述预处理增加了所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）、开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中，CD4+免疫效应细胞（例

如,CD4⁺ T细胞)的量与CD8⁺免疫效应细胞(例如,CD8⁺ T细胞)的量的比率,例如,所述预处理将所述比率增加到大于或等于1.6(例如在1.6与5之间,例如在1.6与3.5之间);使用来自所述受试者的细胞(例如,T细胞)制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法;并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法,

从而治疗患有所述与BCMA表达相关的疾病的所述受试者。

靶向BCMA的嵌合抗原受体及其用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2017年11月30日提交的美国序列号62/593,043和2018年10月29日提交的美国序列号62/752,010的优先权,它们每一者的内容通过引用以其整体并入本文。

[0003] 序列表

[0004] 本申请含有已经以ASCII格式电子递交的序列表并且所述序列表特此通过引用以其整体并入。所述ASCII副本创建于2018年11月28日,名称为N2067-7137WO_SL.txt并且大小为1,411,518字节。

技术领域

[0005] 本发明一般涉及经工程化以表达靶向B细胞成熟抗原蛋白(BCMA)的嵌合抗原受体的细胞的用途,任选地将其与另外的治疗剂组合,用于治疗与BCMA表达相关的疾病。本发明进一步描述了BCMA靶向疗法的预后生物标记物。

背景技术

[0006] BCMA是在B细胞谱系的细胞上表达的肿瘤坏死家族受体(TNFR)成员。BCMA表达在具有长寿的浆细胞命运的终末分化的B细胞(包括浆细胞、浆母细胞和激活的B细胞和记忆B细胞的亚群)上是最高的。BCMA参与介导浆细胞的存活以维持长期体液免疫。BCMA的表达最近已与许多癌症、自身免疫性障碍和感染性疾病关联。BCMA表达增加的癌症包括一些血液系统癌症,如多发性骨髓瘤(MM)、霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、各种白血病(例如慢性淋巴细胞性白血病(CLL))和胶质母细胞瘤。

[0007] 考虑到对靶向诸如癌症等的疾病的改善的策略的持续需求,非常需要用于改善靶向BCMA的治疗剂的新组合物和方法,例如抗BCMA嵌合抗原受体(CAR)疗法。

发明内容

[0008] 本披露的特征至少部分地在于治疗与B细胞成熟抗原(BCMA,也称为TNFRSF17、BCM或CD269)的表达相关的疾病或障碍的方法。在某些实施例中,所述障碍是癌症,例如血液学癌症。在一些实施例中,本披露的特征在于表达BCMA CAR的细胞疗法,例如作为单一疗法或与另外的治疗剂的组合疗法。在一些实施例中,表达BCMA CAR的细胞疗法是表达结合BCMA的CAR分子的细胞(例如细胞群)。在一些实施例中,与单独的任一种疗法相比,组合疗法维持或具有更好的临床有效性。在一个实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法和所述另外的治疗剂以单一剂型或以两种或更多种剂型存在。在一个实施例中,本文提供了包含表达BCMA CAR的细胞疗法和另外的治疗剂的组合物用作药物。在一个实施例中,本文提供了包含表达BCMA CAR的细胞疗法和另外的治疗剂的组合物,用于治疗与BCMA表达相关的疾病。在一个方面,本文提供了一种试剂盒,所述试剂盒包含表达BCMA CAR的细胞疗法和另外的治疗剂。在一些实施例中,本披露的另外的特征在于评价或预测受试者对表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性的方法,或评价或预测表达BCMA CAR的细胞疗法在受试者中的效力的方

法。在一些实施例中，基于从患者样品中获取生物标记物的水平来制造或施用靶向BCMA的CAR疗法。

[0009] 在一个方面，本发明的特征在于预测受试者中BCMA CAR T细胞体内扩增的方法。在另一个方面，本文所述的特征在于预测受试者对BCMA CAR T细胞的反应性的方法。在一些实施例中，从受试者分离的白细胞单采产物中较高的CD4⁺:CD8⁺ T细胞比率可用于预测受试者中BCMA CAR T细胞的更大的体内扩增和/或受试者对BCMA CAR T细胞的更大的临床反应。在一些实施例中，从受试者分离的白细胞单采产物中较低的CD4⁺:CD8⁺ T细胞比率可用于预测受试者中BCMA CAR T细胞的更弱的体内扩增和/或受试者对BCMA CAR T细胞的更弱的临床反应。在一些实施例中，在开始制造BCMA CAR T细胞时的细胞培养物中（例如，在去除单核细胞后的白细胞单采产物中）更高的CD4⁺:CD8⁺ T细胞比率可用于预测受试者中BCMA CAR T细胞的更大的体内扩增和/或受试者对BCMA CAR T细胞的更大的临床反应。在一些实施例中，在开始制造BCMA CAR T细胞时的细胞培养物中（例如，在去除单核细胞后的白细胞单采产物中）更低的CD4⁺:CD8⁺ T细胞比率可用于预测受试者中BCMA CAR T细胞的更弱的体内扩增和/或受试者对BCMA CAR T细胞的更弱的临床反应。在一些实施例中，施用BCMA CAR T细胞之前，受试者外周血和/或骨髓中更高的CD4⁺:CD8⁺ T细胞比率可用于预测受试者中BCMA CAR T细胞的更大的体内扩增。在一些实施例中，施用BCMA CAR T细胞之前，受试者外周血和/或骨髓中更低的CD4⁺:CD8⁺ T细胞比率可用于预测受试者中BCMA CAR T细胞的更弱的体内扩增。

[0010] 在一些实施例中，从受试者分离的白细胞单采产物中更高频率的“早期记忆”表型的CD8⁺ T细胞（例如更高频率的CD45RO⁻CD27⁺CD8⁺ T细胞）可用于预测受试者中BCMA CAR T细胞的更大的体内扩增和/或受试者对BCMA CAR T细胞的更大的临床反应。在一些实施例中，从受试者分离的白细胞单采产物中更低频率的“早期记忆”表型的CD8⁺ T细胞（例如更低频率的CD45RO⁻CD27⁺CD8⁺ T细胞）可用于预测受试者中BCMA CAR T细胞的更弱的体内扩增和/或受试者对BCMA CAR T细胞的更弱的临床反应。

[0011] 在一些实施例中，在制造BCMA CAR T细胞过程中来自受试者的接种细胞的更大的体外扩增可用于预测受试者中BCMA CAR T细胞的更大的体内扩增。在一些实施例中，在制造BCMA CAR T细胞过程中来自受试者的接种细胞的更弱的体外扩增可用于预测受试者中BCMA CAR T细胞的更弱的体内扩增。

[0012] 在一个方面，本文提供了评价或预测受试者对表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性的方法，其中所述受试者患有与BCMA表达相关的疾病，所述方法包括：

[0013] 获取以下中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值：

[0014] (i) 所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）、开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中，相对于CD8⁺免疫效应细胞（例如CD8⁺ T细胞）的水平或活性的CD4⁺免疫效应细胞（例如CD4⁺ T细胞）的水平或活性，

[0015] (ii) 所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，CD8⁺ T_{scm}（干细胞记忆T细胞）的水平或活性，

[0016] (iii) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的水平或活性,

[0017] (iv) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性,

[0018] (v) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性,或者

[0019] (vi) 在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中,来自所述受试者的接种细胞的增殖,例如,如通过第9天的群体倍增(PDL9)所测量的,其中:

[0020] (a) (i)-(vi) 中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值,例如无反应者参考值相比的增加指示或预测所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性增加;或者

[0021] (b) (i)-(vi) 中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值,例如有反应者参考值相比的降低指示或预测所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性降低;

[0022] 从而评价或预测所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性。

[0023] 在一些实施例中,所述方法包括获取受试者中,例如来自受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)、开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,或者在施用表达BCMA CAR的细胞疗法之前受试者的外周血和/或骨髓中,相对于CD8+免疫效应细胞(例如CD8+ T细胞)的水平或活性的CD4+免疫效应细胞(例如CD4+ T细胞)的水平或活性的值。在一些实施例中,所述方法包括获取受试者中,例如来自受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD8+ Tscm(干细胞记忆T细胞)的水平或活性的值。在一些实施例中,所述方法包括获取受试者中,例如来自受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的水平或活性的值。在一些实施例中,所述方法包括获取受试者中,例如来自受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性的值。在一些实施例中,所述方法包括获取受试者中,例如来自受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性的值。在一些实施例中,所述方法包括在制造表达BCMA CAR的细胞疗法过程中(例如,到第9天的群体倍增(PDL9))获取来自受试者的接种细胞的增殖的值。

[0024] 在一些实施例中,(i)-(vi) 中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值(例如,无反应者参考值)相比的增加指示或预测受试者对表达BCMA CAR的细胞疗法的反应

性增加。在一些实施例中，(i) - (vi) 中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值（例如，有反应者参考值）相比的降低指示或预测受试者对表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性降低。

[0025] 在一些实施例中，(i) - (vi) 中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值（例如，无反应者参考值）相比的增加指示或预测以下中的一项、两项、三项或全部：

[0026] (a) 所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性增加；

[0027] (b) 所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的有反应者；

[0028] (c) 所述受试者适合于所述表达BCMA CAR的细胞疗法；或者

[0029] (d) 所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增增加，例如，如通过本文披露的测定所测量的，例如，如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

[0030] 在一些实施例中，(i) - (vi) 中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值（例如，无反应者参考值）相比的增加指示或预测受试者对表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性增加。在一些实施例中，(i) - (vi) 中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值（例如，无反应者参考值）相比的增加指示或预测受试者是表达BCMA CAR的细胞疗法的有反应者。在一些实施例中，(i) - (vi) 中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值（例如，无反应者参考值）相比的增加指示或预测受试者适合于表达BCMA CAR的细胞疗法。在一些实施例中，(i) - (vi) 中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值（例如，无反应者参考值）相比的增加指示或预测受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增增加，例如，如通过本文披露的测定所测量的，例如，如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

[0031] 在一些实施例中，(i) - (vi) 中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值（例如，有反应者参考值）相比的降低指示或预测以下中的一项、两项、三项或全部：

[0032] (a) 所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性降低；

[0033] (b) 所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的无反应者；或者

[0034] (c) 所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增降低，例如，如通过本文披露的测定所测量的，例如，如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

[0035] 在一些实施例中，(i) - (vi) 中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值（例如，有反应者参考值）相比的降低指示或预测受试者对表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性降低。在一些实施例中，(i) - (vi) 中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值（例如，有反应者参考值）相比的降低指示或预测受试者是表达BCMA CAR的细胞疗法的无反应者。在一些实施例中，(i) - (vi) 中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值（例如，有反应者参考值）相比的降低指示或预测受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增降低，例如，如通过本文披露的测定所测量的，例如，如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

[0036] 在一些实施例中，相对于CD8+免疫效应细胞（例如，CD8+ T细胞）的水平或活性的CD4+免疫效应细胞（例如，CD4+ T细胞）的水平或活性的值包括CD4+免疫效应细胞（例如，CD4+ T细胞）的量与CD8+免疫效应细胞（例如CD8+ T细胞）的量的比率，例如，如通过本文披露的测定（例如流式细胞术）所测量的。在一些实施例中，

[0037] 在一些实施例中，所述比率：

- [0038] (1) 大于或等于1 (例如1与5之间, 例如1与3.5之间); 或者
- [0039] (2) 大于或等于1.6 (例如, 1.6与5之间, 例如, 1.6与3.5之间), 指示或预测以下中的一项、两项、三项或全部:
- [0040] (a) 所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性增加;
- [0041] (b) 所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的有反应者;
- [0042] (c) 所述受试者适合于所述表达BCMA CAR的细胞疗法; 或者
- [0043] (d) 所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增增加, 例如, 如通过本文披露的测定所测量的, 例如, 如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。
- [0044] 在一些实施例中, 所述比率小于1 (例如, 在0.001与1之间) 指示或预测以下中的一项、两项或全部:
- [0045] (a) 所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性降低;
- [0046] (b) 所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的无反应者; 或者
- [0047] (c) 所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增降低, 例如, 如通过本文披露的测定所测量的, 例如, 如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。
- [0048] 在一些实施例中, CD8⁺ T_{scm} (干细胞记忆T细胞) 的水平或活性的值包括CD8⁺ T细胞中CD8⁺ T_{scm} (干细胞记忆T细胞) 的百分比, 例如, 如通过本文披露的测定 (例如, 流式细胞术) 所测量的。
- [0049] 在一些实施例中, HLADR-CD95+CD27+CD8⁺细胞的水平或活性的值包括CD8⁺ T细胞中HLADR-CD95+CD27+CD8⁺细胞的百分比, 例如, 如通过本文披露的测定 (例如, 流式细胞术) 所测量的。
- [0050] 在一些实施例中, CD8⁺ T细胞中HLADR-CD95+CD27+CD8⁺细胞的百分比大于或等于25% (例如在30%与90%之间, 例如在35%与85%之间, 例如在40%与80%之间, 例如在45%与75%之间, 例如在50%与75%之间) 指示或预测以下中的一项、两项、三项或全部:
- [0051] (a) 所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性增加;
- [0052] (b) 所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的有反应者;
- [0053] (c) 所述受试者适合于所述表达BCMA CAR的细胞疗法; 或者
- [0054] (d) 所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增增加, 例如, 如通过本文披露的测定所测量的, 例如, 如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。
- [0055] 在一些实施例中, CD8⁺ T细胞中HLADR-CD95+CD27+CD8⁺细胞的百分比小于25% (例如在0.1%与25%之间, 例如在0.1%与22%之间, 例如在0.1%与20%之间, 例如在0.1%与18%之间, 例如在0.1%与15%之间) 指示或预测以下中的一项、两项、或全部:
- [0056] (a) 所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性降低;
- [0057] (b) 所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的无反应者; 或者
- [0058] (c) 所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增降低, 例如, 如通过本文披露的测定所测量的, 例如, 如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。
- [0059] 在一些实施例中, CD45RO-CD27+CD8⁺细胞的水平或活性的值包括CD8⁺ T细胞中CD45RO-CD27+CD8⁺细胞的百分比, 例如, 如通过本文披露的测定 (例如, 流式细胞术) 所测量的。
- [0060] 在一些实施例中, CD8⁺ T细胞中CD45RO-CD27+CD8⁺细胞的百分比大于或等于20%

(例如在20%与90%之间,例如在20%与80%之间,例如在20%与70%之间,例如在20%与60%之间)指示或预测以下中的一项、两项、三项或全部:

[0061] (a) 所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性增加;

[0062] (b) 所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的有反应者;

[0063] (c) 所述受试者适合于所述表达BCMA CAR的细胞疗法;或者

[0064] (d) 所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增增加,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

[0065] 在一些实施例中,CD8⁺ T细胞中CD45RO-CD27+CD8⁺细胞的百分比小于20%(例如在0.1%与20%之间,例如在0.1%与18%之间,例如在0.1%与15%之间,例如在0.1%与12%之间,例如在0.1%与10%之间)指示或预测以下中的一项、两项、或全部:

[0066] (a) 所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性降低;

[0067] (b) 所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的无反应者;或者

[0068] (c) 所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增降低,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

[0069] 在一些实施例中,CCR7+CD45RO-CD27+CD8⁺细胞的水平或活性的值包括CD8⁺ T细胞中CCR7+CD45RO-CD27+CD8⁺细胞的百分比,例如,如通过本文披露的测定(例如,流式细胞术)所测量的。

[0070] 在一些实施例中,CD8⁺ T细胞中CCR7+CD45RO-CD27+CD8⁺细胞的百分比大于或等于15%(例如在15%与90%之间,例如在15%与80%之间,例如在15%与70%之间,例如在15%与60%之间,例如在15%与50%之间)指示或预测以下中的一项、两项、三项或全部:

[0071] (a) 所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性增加;

[0072] (b) 所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的有反应者;

[0073] (c) 所述受试者适合于所述表达BCMA CAR的细胞疗法;或者

[0074] (d) 所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增增加,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

[0075] 在一些实施例中,CD8⁺ T细胞中CCR7+CD45RO-CD27+CD8⁺细胞的百分比小于15%(例如在0.1%与15%之间,例如在0.1%与12%之间,例如在0.1%与10%之间,例如在0.1%与8%之间)指示或预测以下中的一项、两项、或全部:

[0076] (a) 所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性降低;

[0077] (b) 所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的无反应者;或者

[0078] (c) 所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增降低,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

[0079] 在一些实施例中,在制造表达BCMA CAR的细胞疗法过程中来自受试者的接种细胞的增殖的值包括在制造表达BCMA CAR的细胞疗法过程中来自受试者的接种细胞的倍数扩增(例如,制造结束时相对于制造开始时的总细胞计数),例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如通过细胞计数所测量的。

[0080] 在一些实施例中,所述方法进一步包括进行以下:

[0081] 使用来自所述受试者的细胞(例如T细胞)制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法,并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法;或者

[0082] 在以下情况下,向所述受试者施用,例如开始施用或继续施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法:

[0083] (a) 指示或预测所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性增加;

[0084] (b) 指示或预测所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的有反应者;

[0085] (c) 指示或预测所述受试者适合于所述表达BCMA CAR的细胞疗法;或者

[0086] (d) 指示或预测所述表达BCMA CAR的细胞疗法在所述受试者中具有增加的扩增,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

[0087] 在一些实施例中,所述方法进一步包括进行以下中的一项、两项、三项、四项、五项、六项、七项或全部:

[0088] 向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法的经改变的给药方案(例如,与参考给药方案相比具有更高剂量和/或更频繁施用的给药方案);

[0089] 向所述受试者施用第二疗法(例如,不是所述表达BCMA CAR的细胞疗法的第二疗法);

[0090] 向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法;

[0091] 中止施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法,并任选地向所述受试者施用第二疗法;

[0092] 修改所述表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在引入编码BCMA CAR的核酸之前相对于CD8+免疫效应细胞(CD8+ T细胞)富集CD4+免疫效应细胞(例如CD4+ T细胞),并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;

[0093] 修改所述表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在引入编码BCMA CAR的核酸之前富集CD8+ Tscm(例如HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞、CD45RO-CD27+CD8+细胞或CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞),并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;

[0094] 修改所述表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中增加来自所述受试者的接种细胞的增殖,并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;或者

[0095] 在以下情况下,向所述受试者施用预治疗,其中所述预治疗增加了所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)、开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品)中,或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中,CD4+免疫效应细胞(例如,CD4+ T细胞)的量与CD8+免疫效应细胞(例如,CD8+ T细胞)的量的比率,例如,所述预治疗将所述比率增加到大于或等于1.6(例如在1.6与5之间,例如在1.6与3.5之间);使用来自所述受试者的细胞(例如,T细胞)制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法;并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法:

[0096] (a) 指示或预测所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性降低;

[0097] (b) 指示或预测所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的无反应者;或者

[0098] (c) 指示或预测所述表达BCMA CAR的细胞疗法在所述受试者中具有降低的扩增,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

[0099] 在一个方面,本文披露了治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方包括:

[0100] 响应于以下中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值,例如无反应者参考值相比的增加:

[0101] (i) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)、开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中,相对于CD8+免疫效应细胞(例如CD8+ T细胞)的水平或活性的CD4+免疫效应细胞(例如CD4+ T细胞)的水平或活性,

[0102] (ii) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD8+ Tscm(干细胞记忆T细胞)的水平或活性,

[0103] (iii) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的水平或活性,

[0104] (iv) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性,

[0105] (v) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性,或者

[0106] (vi) 在制造表达BCMA CAR的细胞疗法过程中,来自所述受试者的接种细胞的增殖,

[0107] 进行以下:

[0108] 使用来自所述受试者的细胞(例如,T细胞)制造表达BCMA CAR的细胞疗法,并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法;或者

[0109] 向所述受试者施用,例如开始施用或继续施用表达BCMA CAR的细胞疗法,

[0110] 从而治疗患有所述与BCMA表达相关的疾病的所述受试者。

[0111] 在一些实施例中,所述方法包括:响应于(i)-(vi)中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值增加,鉴定或预测以下中的一项、两项、三项或全部:

[0112] (a) 所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性增加;

[0113] (b) 所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的有反应者;

[0114] (c) 所述受试者适合于所述表达BCMA CAR的细胞疗法;或者

[0115] (d) 所述表达BCMA CAR的细胞疗法在所述受试者中具有增加的扩增,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

[0116] 在一个方面,本文披露了治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方包括:

[0117] 响应于以下中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值,例如有反应者

参考值相比的降低：

[0118] (i) 所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）、开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中，相对于CD8⁺免疫效应细胞（例如CD8⁺ T细胞）的水平或活性的CD4⁺免疫效应细胞（例如CD4⁺ T细胞）的水平或活性，

[0119] (ii) 所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，CD8⁺ Tscm（干细胞记忆T细胞）的水平或活性，

[0120] (iii) 所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，HLADR-CD95+CD27+CD8⁺细胞的水平或活性，

[0121] (iv) 所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，CD45RO-CD27+CD8⁺细胞的水平或活性，

[0122] (v) 所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，CCR7+CD45RO-CD27+CD8⁺细胞的水平或活性，或者

[0123] (vi) 在制造表达BCMA CAR的细胞疗法过程中，来自所述受试者的接种细胞的增殖，

[0124] 进行以下中的一项、两项、三项、四项、五项、六项、七项或全部：

[0125] 向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法的经改变的给药方案（例如，与参考给药方案相比具有更高剂量和/或更频繁施用的给药方案）；

[0126] 向所述受试者施用第二疗法（例如，不是表达BCMA CAR的细胞疗法的第二疗法）；

[0127] 向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法；

[0128] 中止施用表达BCMA CAR的细胞疗法，并任选地向所述受试者施用第二疗法；

[0129] 修改表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法，例如，在引入编码BCMA CAR的核酸之前相对于CD8⁺免疫效应细胞（CD8⁺ T细胞）富集CD4⁺免疫效应细胞（例如CD4⁺ T细胞），并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者；

[0130] 修改表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法，例如，在引入编码BCMA CAR的核酸之前富集CD8⁺ Tscm（例如HLADR-CD95+CD27+CD8⁺细胞、CD45RO-CD27+CD8⁺细胞或CCR7+CD45RO-CD27+CD8⁺细胞），并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者；

[0131] 修改所述表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法，例如，在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中增加来自所述受试者的接种细胞的增殖，并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者；或者

[0132] 向所述受试者施用预处理，其中所述预处理增加了所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）、开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，或者在施用

所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中,CD4+免疫效应细胞(例如,CD4+ T细胞)的量与CD8+免疫效应细胞(例如,CD8+ T细胞)的量的比率,例如,所述预处理将所述比率增加到大于或等于1.6(例如在1.6与5之间,例如在1.6与3.5之间);使用来自所述受试者的细胞(例如,T细胞)制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法;并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法,

[0133] 从而治疗患有所述与BCMA表达相关的疾病的所述受试者。

[0134] 在一些实施例中,所述方法包括:响应于(i)-(vi)中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值的降低,鉴定或预测以下中的一项、两项或全部:

[0135] (a) 所述受试者对所述表达BCMA CAR的细胞疗法的反应性降低;

[0136] (b) 所述受试者为所述表达BCMA CAR的细胞疗法的无反应者;或者

[0137] (c) 所述表达BCMA CAR的细胞疗法在所述受试者中具有降低的扩增,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

[0138] 在一些实施例中,相对于CD8+免疫效应细胞(例如,CD8+ T细胞)的水平或活性的CD4+免疫效应细胞(例如,CD4+ T细胞)的水平或活性的值包括CD4+免疫效应细胞(例如,CD4+ T细胞)的量与CD8+免疫效应细胞(例如CD8+ T细胞)的量的比率,例如,如通过本文披露的测定(例如流式细胞术)所测量的。

[0139] 在一些实施例中,所述方法包括:

[0140] 响应于以下比率:

[0141] (1) 大于或等于1(例如1与5之间,例如1与3.5之间);或者

[0142] (2) 大于或等于1.6(例如,在1.6与5之间,例如在1.6与3.5之间),进行以下:

[0143] 使用来自所述受试者的细胞(例如,T细胞)制造表达BCMA CAR的细胞疗法,并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法;或者

[0144] 向所述受试者施用,例如开始施用或继续施用表达BCMA CAR的细胞疗法。

[0145] 在一些实施例中,所述方法包括:

[0146] 响应于小于1(例如在0.001与1之间)的比率,进行以下中的一项、两项、三项、四项、五项、六项、七项或全部:

[0147] 向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法的经改变的给药方案(例如,与参考给药方案相比具有更高剂量和/或更频繁施用的给药方案);

[0148] 向所述受试者施用第二疗法(例如,不是表达BCMA CAR的细胞疗法的第二疗法);

[0149] 向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法;

[0150] 中止施用表达BCMA CAR的细胞疗法,并任选地向所述受试者施用第二疗法;

[0151] 修改表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在引入编码BCMA CAR的核酸之前相对于CD8+免疫效应细胞(CD8+ T细胞)富集CD4+免疫效应细胞(例如CD4+ T细胞),并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;

[0152] 修改表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在引入编码BCMA CAR的核酸之前富集CD8+ Tscm(例如HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞、CD45R0-CD27+CD8+细胞或CCR7+CD45R0-CD27+CD8+细胞),并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;

[0153] 修改所述表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中增加来自所述受试者的接种细胞的增殖,并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;或者

[0154] 向所述受试者施用预处理,其中所述预处理增加了所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)、开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中,CD4+免疫效应细胞(例如,CD4+ T细胞)的量与CD8+免疫效应细胞(例如,CD8+ T细胞)的量的比率,例如,所述预处理将所述比率增加到大于或等于1.6(例如在1.6与5之间,例如在1.6与3.5之间);使用来自所述受试者的细胞(例如,T细胞)制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法;并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法。

[0155] 在一些实施例中,CD8+ T_{scm}(干细胞记忆T细胞)的水平或活性的值包括CD8+ T细胞中CD8+ T_{scm}(干细胞记忆T细胞)的百分比,例如,如通过本文披露的测定(例如,流式细胞术)所测量的。

[0156] 在一些实施例中,HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的水平或活性的值包括CD8+ T细胞中HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的百分比,例如,如通过本文披露的测定(例如,流式细胞术)所测量的。

[0157] 在一些实施例中,所述方法包括:

[0158] 响应于CD8+ T细胞中HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的百分比大于或等于25%(例如在30%与90%之间,例如在35%与85%之间,例如在40%与80%之间,例如在45%与75%之间,例如在50%与75%之间),进行以下:

[0159] 使用来自所述受试者的细胞(例如,T细胞)制造表达BCMA CAR的细胞疗法,并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法;或者

[0160] 向所述受试者施用,例如开始施用或继续施用表达BCMA CAR的细胞疗法。

[0161] 在一些实施例中,所述方法包括:

[0162] 响应于CD8+ T细胞中HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的百分比小于25%(例如在0.1%与25%之间,例如在0.1%与22%之间,例如在0.1%与20%之间,例如在0.1%与18%之间,例如在0.1%与15%之间),进行以下中的一项、两项、三项、四项、五项、六项、七项或全部:

[0163] 向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法的经改变的给药方案(例如,与参考给药方案相比具有更高剂量和/或更频繁施用的给药方案);

[0164] 向所述受试者施用第二疗法(例如,不是表达BCMA CAR的细胞疗法的第二疗法);

[0165] 向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法;

[0166] 中止施用表达BCMA CAR的细胞疗法,并任选地向所述受试者施用第二疗法;

[0167] 修改表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在引入编码BCMA CAR的核酸之前相对于CD8+免疫效应细胞(CD8+ T细胞)富集CD4+免疫效应细胞(例如CD4+ T细胞),并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;

[0168] 修改表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在引入编码BCMA CAR的核酸之前富集CD8+ T_{scm}(例如HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞、CD45R0-CD27+CD8+细胞或CCR7+

CD45RO-CD27+CD8+细胞),并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;

[0169] 修改所述表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中增加来自所述受试者的接种细胞的增殖,并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;或者

[0170] 向所述受试者施用预处理,其中所述预处理增加了所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)、开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中,CD4+免疫效应细胞(例如,CD4+T 细胞)的量与CD8+免疫效应细胞(例如,CD8+T 细胞)的量的比率,例如,所述预处理将所述比率增加到大于或等于1.6(例如在1.6与5之间,例如在1.6与3.5之间);使用来自所述受试者的细胞(例如,T细胞)制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法;并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法。

[0171] 在一些实施例中,CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性的值包括CD8+T 细胞中CD45RO-CD27+CD8+细胞的百分比,例如,如通过本文披露的测定(例如,流式细胞术)所测量的。

[0172] 在一些实施例中,所述方法包括:

[0173] 响应于CD8+ T细胞中CD45RO-CD27+CD8+细胞的百分比大于或等于20%(例如在20%与90%之间,例如在20%与80%之间,例如在20%与70%之间,例如在20%与60%之间),进行以下:

[0174] 使用来自所述受试者的细胞(例如,T细胞)制造表达BCMA CAR的细胞疗法,并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法;或者

[0175] 向所述受试者施用,例如开始施用或继续施用表达BCMA CAR的细胞疗法。

[0176] 在一些实施例中,所述方法包括:

[0177] 响应于CD8+ T细胞中CD45RO-CD27+CD8+细胞的百分比小于20%(例如在0.1%与20%之间,例如在0.1%与18%之间,例如在0.1%与15%之间,例如在0.1%与12%之间,例如在0.1%与10%之间),进行以下中的一项、两项、三项、四项、五项、六项、七项或全部:

[0178] 向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法的经改变的给药方案(例如,与参考给药方案相比具有更高剂量和/或更频繁施用的给药方案);

[0179] 向所述受试者施用第二疗法(例如,不是表达BCMA CAR的细胞疗法的第二疗法);

[0180] 向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法;

[0181] 中止施用表达BCMA CAR的细胞疗法,并任选地向所述受试者施用第二疗法;

[0182] 修改表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在引入编码BCMA CAR的核酸之前相对于CD8+免疫效应细胞(CD8+ T细胞)富集CD4+免疫效应细胞(例如CD4+ T细胞),并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;

[0183] 修改表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在引入编码BCMA CAR的核酸之前富集CD8+ Tscm(例如HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞、CD45RO-CD27+CD8+细胞或CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞),并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;

[0184] 修改所述表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中增加来自所述受试者的接种细胞的增殖,并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;或者

[0185] 向所述受试者施用预处理,其中所述预处理增加了所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)、开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中,CD4+免疫效应细胞(例如,CD4+ T细胞)的量与CD8+免疫效应细胞(例如,CD8+ T细胞)的量的比率,例如,所述预处理将所述比率增加到大于或等于1.6(例如在1.6与5之间,例如在1.6与3.5之间);使用来自所述受试者的细胞(例如,T细胞)制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法;并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法。

[0186] 在一些实施例中,CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性的值包括CD8+ T细胞中CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞的百分比,例如,如通过本文披露的测定(例如,流式细胞术)所测量的。

[0187] 在一些实施例中,所述方法包括:

[0188] 响应于CD8+ T细胞中CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞的百分比大于或等于15%(例如在15%与90%之间,例如在15%与80%之间,例如在15%与70%之间,例如在15%与60%之间,例如在15%与50%之间),进行以下:

[0189] 使用来自所述受试者的细胞(例如,T细胞)制造表达BCMA CAR的细胞疗法,并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法;或者

[0190] 向所述受试者施用,例如开始施用或继续施用表达BCMA CAR的细胞疗法。

[0191] 在一些实施例中,所述方法包括:

[0192] 响应于CD8+ T细胞中CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞的百分比小于15%(例如在0.1%与15%之间,例如在0.1%与12%之间,例如在0.1%与10%之间,例如在0.1%与8%之间),进行以下中的一项、两项、三项、四项、五项、六项、七项或全部:

[0193] 向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法的经改变的给药方案(例如,与参考给药方案相比具有更高剂量和/或更频繁施用的给药方案);

[0194] 向所述受试者施用第二疗法(例如,不是表达BCMA CAR的细胞疗法的第二疗法);

[0195] 向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法;

[0196] 中止施用表达BCMA CAR的细胞疗法,并任选地向所述受试者施用第二疗法;

[0197] 修改表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在引入编码BCMA CAR的核酸之前相对于CD8+免疫效应细胞(CD8+ T细胞)富集CD4+免疫效应细胞(例如CD4+ T细胞),并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;

[0198] 修改表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在引入编码BCMA CAR的核酸之前富集CD8+ Tscm(例如HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞、CD45RO-CD27+CD8+细胞或CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞),并将由所述经修改的制造方法产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者;

[0199] 修改所述表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中增加来自所述受试者的接种细胞的增殖,并将由所述经修改的制造方法

产生的所述表达BCMA CAR的细胞疗法施用于所述受试者；或者

[0200] 向所述受试者施用预处理，其中所述预处理增加了所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）、开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中，CD4+免疫效应细胞（例如，CD4+ T细胞）的量与CD8+免疫效应细胞（例如，CD8+ T细胞）的量的比率，例如，所述预处理将所述比率增加到大于或等于1.6（例如在1.6与5之间，例如在1.6与3.5之间）；使用来自所述受试者的细胞（例如，T细胞）制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法；并向所述受试者施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法。

[0201] 在一些实施例中，在制造表达BCMA CAR的细胞疗法过程中来自受试者的接种细胞的增殖的值包括在制造表达BCMA CAR的细胞疗法过程中来自受试者的接种细胞的倍数扩增（例如，制造结束时相对于制造开始时的总细胞计数），例如，如通过本文披露的测定所测量的，例如，如通过细胞计数所测量的。

[0202] 在一个方面，本文提供了评价或预测受试者中表达BCMA CAR的细胞疗法的效力的方法，其中所述受试者患有与BCMA表达相关的疾病，并且其中所述表达BCMA CAR的细胞疗法使用来自受试者的细胞（例如T细胞）制造，所述方法包括：

[0203] 获取以下中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值：

[0204] (i) 所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）、开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中，相对于CD8+免疫效应细胞（例如CD8+ T细胞）的水平或活性的CD4+免疫效应细胞（例如CD4+ T细胞）的水平或活性，

[0205] (ii) 所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，CD8+ Tscm（干细胞记忆T细胞）的水平或活性，

[0206] (iii) 所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的水平或活性，

[0207] (iv) 所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性，

[0208] (v) 所述受试者中，例如来自所述受试者的样品（例如，单采样品（例如，白细胞单采样品）或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物（例如，使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品））中，CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性，或者

[0209] (vi) 在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中，来自所述受试者的接种细胞的增殖，例如，如通过第9天的群体倍增 (PDL9) 所测量的，其中：

[0210] (a) (i) - (vi) 中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值，例如无反应者参考值相比的增加指示或预测所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的效力增加；或者

[0211] (b) (i) - (vi) 中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值,例如有反应者参考值相比的降低指示或预测所述受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的效力降低;

[0212] 从而评价或预测所述表达BCMA CAR的细胞疗法的效力。

[0213] 在一些实施例中,所述方法包括获取受试者中,例如来自受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)、开始制造表达BCMACAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,或者在施用表达BCMA CAR的细胞疗法之前受试者的外周血和/或骨髓中,相对于CD8+免疫效应细胞(例如CD8+ T细胞)的水平或活性的CD4+免疫效应细胞(例如CD4+ T细胞)的水平或活性的值。在一些实施例中,所述方法包括获取受试者中,例如来自受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD8+ Tscm(干细胞记忆T细胞)的水平或活性的值。在一些实施例中,所述方法包括获取受试者中,例如来自受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的水平或活性的值。在一些实施例中,所述方法包括获取受试者中,例如来自受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性的值。在一些实施例中,所述方法包括获取受试者中,例如来自受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性的值。在一些实施例中,所述方法包括在制造表达BCMA CAR的细胞疗法过程中(例如,到第9天的群体倍增(PDL9))获取来自受试者的接种细胞的增殖的值。

[0214] 在一些实施例中,(i) - (vi) 中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值(例如,无反应者参考值)相比的增加指示或预测受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增增加,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

[0215] 在一些实施例中,(i) - (vi) 中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值(例如,有反应者参考值)相比的降低指示或预测受试者中所述表达BCMA CAR的细胞疗法的扩增降低,例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如使用qPCR通过每 μg DNA的CAR转基因的拷贝数所测量的。

[0216] 在一个方面,本文披露了制造表达BCMA CAR的细胞疗法的方法,其中所述表达BCMA CAR的细胞疗法使用来自受试者的细胞(例如T细胞)制造,所述方法包括:

[0217] 获取以下中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值:

[0218] (i) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)、开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中,相对于CD8+免疫效应细胞(例如CD8+ T细胞)的水平或活性的CD4+免疫效应细胞(例如CD4+ T细胞)的水平或活性,

[0219] (ii) 所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单

采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD8+ Tscm(干细胞记忆T细胞)的水平或活性,

[0220] (iii)所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的水平或活性,

[0221] (iv)所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD45R0-CD27+CD8+细胞的水平或活性,

[0222] (v)所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CCR7+CD45R0-CD27+CD8+细胞的水平或活性,或者

[0223] (vi)在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中,来自所述受试者的接种细胞的增殖,例如,如通过第9天的群体倍增(PDL9)所测量的,其中:

[0224] 响应于(i)-(vi)中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值(例如,无反应者参考值)相比的增加,使用来自受试者的细胞制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法。

[0225] 在一些实施例中,所述方法包括获取受试者中,例如来自受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)、开始制造表达BCMACAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,或者在施用表达BCMA CAR的细胞疗法之前受试者的外周血和/或骨髓中,相对于CD8+免疫效应细胞(例如CD8+ T细胞)的水平或活性的CD4+免疫效应细胞(例如CD4+ T细胞)的水平或活性的值。在一些实施例中,所述方法包括获取受试者中,例如来自受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD8+ Tscm(干细胞记忆T细胞)的水平或活性的值。在一些实施例中,所述方法包括获取受试者中,例如来自受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的水平或活性的值。在一些实施例中,所述方法包括获取受试者中,例如来自受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD45R0-CD27+CD8+细胞的水平或活性的值。在一些实施例中,所述方法包括获取受试者中,例如来自受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CCR7+CD45R0-CD27+CD8+细胞的水平或活性的值。在一些实施例中,所述方法包括在制造表达BCMA CAR的细胞疗法过程中(例如,到第9天的群体倍增(PDL9))获取来自受试者的接种细胞的增殖的值。

[0226] 在一个方面,本文提供了制造表达BCMA CAR的细胞疗法的方法,其中所述表达BCMA CAR的细胞疗法使用来自受试者的细胞(例如T细胞)制造,所述方法包括:

[0227] 获取以下中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值:

[0228] (i)所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)、开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除

单核细胞后的白细胞单采样品))中,或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中,相对于CD8+免疫效应细胞(例如CD8+ T细胞)的水平或活性的CD4+免疫效应细胞(例如CD4+ T细胞)的水平或活性,

[0229] (ii)所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD8+ Tscm(干细胞记忆T细胞)的水平或活性,

[0230] (iii)所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的水平或活性,

[0231] (iv)所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性,

[0232] (v)所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞的水平或活性,或者

[0233] (vi)在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中,来自所述受试者的接种细胞的增殖,例如,如通过第9天的群体倍增(PDL9)所测量的,其中:

[0234] 响应于(i)-(vi)中的一个、两个、三个、四个、五个或全部的值与参考值,例如有反应者参考值相比的降低,进行以下中的一项、两项、三项或全部:

[0235] 修改所述表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在引入编码BCMA CAR的核酸之前相对于CD8+免疫效应细胞(CD8+ T细胞)富集CD4+免疫效应细胞(例如CD4+ T细胞);

[0236] 修改所述表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在引入编码BCMA CAR的核酸之前富集CD8+ Tscm(例如HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞、CD45RO-CD27+CD8+细胞或CCR7+CD45RO-CD27+CD8+细胞);

[0237] 修改所述表达BCMA CAR的细胞疗法的制造方法,例如,在制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法过程中增加来自所述受试者的接种细胞的增殖;或者

[0238] 向所述受试者施用预处理,其中所述预处理增加了所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)、开始制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,或者在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者的外周血和/或骨髓中,CD4+免疫效应细胞(例如,CD4+ T细胞)的量与CD8+免疫效应细胞(例如,CD8+ T细胞)的量的比率,例如,所述预处理将所述比率增加到大于或等于1.6(例如在1.6与5之间,例如在1.6与3.5之间);并使用来自所述受试者的细胞(例如,T细胞)制造所述表达BCMA CAR的细胞疗法。

[0239] 在一些实施例中,所述方法包括获取受试者中,例如来自受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)、开始制造表达BCMACAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,或者在施用表达BCMA CAR的细胞疗法之前受试者的外周血和/或骨髓中,相对于CD8+免疫效应细胞(例如CD8+ T细胞)的水平或活性的CD4+免疫效应细胞(例如CD4+ T细胞)的水平或活性的值。在一些实施例中,所述方法包括获取受试者中,例如来自受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或

开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD8+ Tscm(干细胞记忆T细胞)的水平或活性的值。在一些实施例中,所述方法包括获取受试者中,例如来自受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的水平或活性的值。在一些实施例中,所述方法包括获取受试者中,例如来自受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CD45R0-CD27+CD8+细胞的水平或活性的值。在一些实施例中,所述方法包括获取受试者中,例如来自受试者的样品(例如,单采样品(例如,白细胞单采样品)或开始制造表达BCMA CAR的细胞疗法时的接种培养物(例如,使用淘洗法去除单核细胞后的白细胞单采样品))中,CCR7+CD45R0-CD27+CD8+细胞的水平或活性的值。在一些实施例中,所述方法包括在制造表达BCMA CAR的细胞疗法过程中(例如,到第9天的群体倍增(PDL9))获取来自受试者的接种细胞的增殖的值。

[0240] 在一些实施例中,相对于CD8+免疫效应细胞(例如,CD8+ T细胞)的水平或活性的CD4+免疫效应细胞(例如,CD4+ T细胞)的水平或活性的值包括CD4+免疫效应细胞(例如,CD4+ T细胞)的量与CD8+免疫效应细胞(例如CD8+ T细胞)的量的比率,例如,如通过本文披露的测定(例如流式细胞术)所测量的。

[0241] 在一些实施例中,CD8+ Tscm(干细胞记忆T细胞)的水平或活性的值包括CD8+ T细胞中CD8+ Tscm(干细胞记忆T细胞)的百分比,例如,如通过本文披露的测定(例如,流式细胞术)所测量的。

[0242] 在一些实施例中,HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的水平或活性的值包括CD8+ T细胞中HLADR-CD95+CD27+CD8+细胞的百分比,例如,如通过本文披露的测定(例如,流式细胞术)所测量的。

[0243] 在一些实施例中,CD45R0-CD27+CD8+细胞的水平或活性的值包括CD8+ T细胞中CD45R0-CD27+CD8+细胞的百分比,例如,如通过本文披露的测定(例如,流式细胞术)所测量的。

[0244] 在一些实施例中,CCR7+CD45R0-CD27+CD8+细胞的水平或活性的值包括CD8+ T细胞中CCR7+CD45R0-CD27+CD8+细胞的百分比,例如,如通过本文披露的测定(例如,流式细胞术)所测量的。

[0245] 在一些实施例中,在制造表达BCMA CAR的细胞疗法过程中来自受试者的接种细胞的增殖的值包括在制造表达BCMA CAR的细胞疗法过程中来自受试者的接种细胞的倍数扩增(例如,制造结束时相对于制造开始时的总细胞计数),例如,如通过本文披露的测定所测量的,例如,如通过细胞计数所测量的。

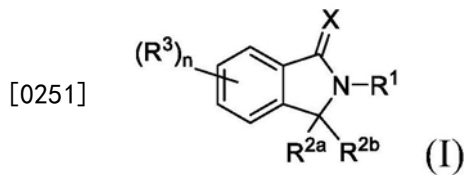
[0246] 在前述方面的某些实施例中,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与以下一项、两项或所有项组合向受试者施用:

[0247] (1) 增加包含所述CAR核酸或CAR多肽的细胞的功效的药剂;

[0248] (2) 改善与包含所述CAR核酸或CAR多肽的细胞的施用相关的一种或多种副作用的药剂;

[0249] (3) 治疗与BCMA表达相关的疾病的药剂。

[0250] 在前述方面的某些实施例中,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与具有式(I)的化合物(COF1)组合向受试者施用,其中所述COF1是:



[0252] 或其药学上可接受的盐、酯、水合物、溶剂化物、或互变异构体,其中:

[0253] X是O或S;

[0254] R¹是C₁-C₆烷基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基、C₁-C₆杂烷基、碳环基、杂环基、芳基、或杂芳基,其中每个任选地被一个或多个R⁴取代;

[0255] R^{2a}和R^{2b}中的每个独立地是氢或C₁-C₆烷基;或R^{2a}和R^{2b}连同与它们所附接的碳原子形成羰基基团或硫代羰基基团;

[0256] 每个R³独立地是C₁-C₆烷基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基、C₁-C₆杂烷基、卤代、氰基、-C(O)R^A、-C(O)OR^B、-OR^B、-N(R^C)(R^D)、-C(O)N(R^C)(R^D)、-N(R^C)C(O)R^A、-S(O)_xR^E、-S(O)_xN(R^C)(R^D)、或-N(R^C)S(O)_xR^E,其中每个烷基、烯基、炔基、和杂烷基独立地且任选地被一个或多个R⁶取代;

[0257] 每个R⁴独立地是C₁-C₆烷基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基、C₁-C₆杂烷基、卤代、氰基、氧代、-C(O)R^A、-C(O)OR^B、-OR^B、-N(R^C)(R^D)、-C(O)N(R^C)(R^D)、-N(R^C)C(O)R^A、-S(O)_xR^E、-S(O)_xN(R^C)(R^D)、-N(R^C)S(O)_xR^E、碳环基、杂环基、芳基、或杂芳基,其中每个烷基、烯基、炔基、杂烷基、碳环基、杂环基、芳基、和杂芳基独立地且任选地被一个或多个R⁷取代;

[0258] R^A、R^B、R^C、R^D、和R^E中的每个独立地是氢或C₁-C₆烷基;

[0259] 每个R⁶独立地是C₁-C₆烷基、氧代、氰基、-OR^B、-N(R^C)(R^D)、-C(O)N(R^C)(R^D)、-N(R^C)C(O)R^A、芳基、或杂芳基,其中每个芳基和杂芳基独立地且任选地被一个或多个R⁸取代;

[0260] 每个R⁷独立地是卤代、氧代、氰基、-OR^B、-N(R^C)(R^D)、-C(O)N(R^C)(R^D)、或-N(R^C)C(O)R^A;

[0261] 每个R⁸独立地是C₁-C₆烷基、氰基、-OR^B、-N(R^C)(R^D)、-C(O)N(R^C)(R^D)、或-N(R^C)C(O)R^A;

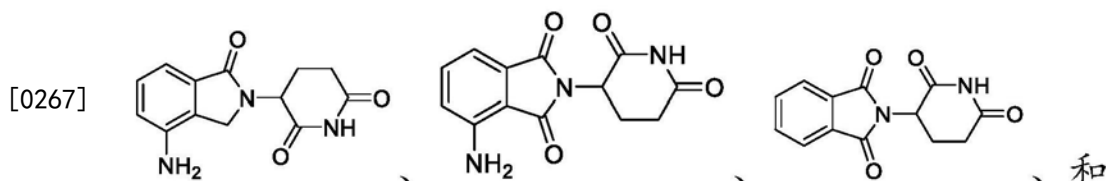
[0262] n是0、1、2、3或4;并且

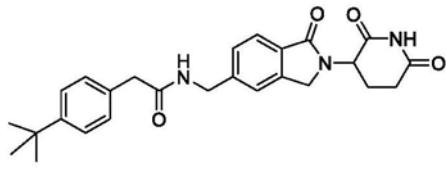
[0263] x是0、1或2,任选地其中:

[0264] (1)所述COF1是免疫调节酰亚胺药物(IMiD)或其药学上可接受的盐;

[0265] (2)所述COF1选自由以下组成的组:来那度胺、泊马度胺、沙利度胺和2-(4-(叔丁基)苯基)-N-((2-(2,6-二氧化哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)甲基)乙酰胺,或其药学上可接受的盐;

[0266] (3)所述COF1选自由以下组成的组:





或其药学上可接受的盐；或者

[0268] (4) 所述COF1是来那度胺或其药学上可接受的盐。

[0269] 在前述方面的某些实施例中，所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与激酶抑制剂(例如BTK抑制剂，例如依鲁替尼)组合向受试者施用。

[0270] 在前述方面的某些实施例中，所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与第二种表达CAR的细胞疗法组合向受试者施用。

[0271] 在一些实施例中，所述第二种表达CAR的细胞疗法是表达CD19 CAR的细胞疗法，例如本文披露的表达CD19 CAR的细胞疗法，例如CTL119或CTL019。在一些实施例中，所述表达CD19 CAR的细胞疗法是在施用表达BCMA CAR的细胞疗法之后进行的，例如，在施用表达BCMA CAR的细胞疗法后受试者体内CD19表达增加之后。在一些实施例中，所述表达CD19 CAR的细胞疗法包含表达CD19 CAR的细胞(例如细胞群)。在一些实施例中，所述CD19 CAR包含表8、9或10中披露的氨基酸序列(例如，表8、9或10中披露的CDR、scFv或全长氨基酸序列)，或与其具有至少约85%、90%、95%、99%或更高的同一性的序列，和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失(例如保守取代)的序列。

[0272] 在一些实施例中，所述第二种表达CAR的细胞疗法是表达CD20 CAR的细胞疗法，例如本文披露的表达CD20 CAR的细胞疗法。在一些实施例中，所述表达CD20 CAR的细胞疗法是在施用表达BCMA CAR的细胞疗法之后进行的，例如，在施用表达BCMA CAR的细胞疗法后受试者体内CD20表达增加之后。在一些实施例中，所述表达CD20 CAR的细胞疗法包含表达CD20 CAR的细胞(例如细胞群)。在一些实施例中，所述CD20 CAR包含表11、12或13中披露的氨基酸序列(例如，表11、12或13中披露的CDR、scFv或全长氨基酸序列)，或与其具有至少约85%、90%、95%、99%或更高的同一性的序列，和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失(例如保守取代)的序列。

[0273] 在一些实施例中，所述第二种表达CAR的细胞疗法是表达CD22 CAR的细胞疗法，例如本文披露的表达CD22 CAR的细胞疗法。在一些实施例中，所述表达CD22 CAR的细胞疗法是在施用表达BCMA CAR的细胞疗法之后进行的，例如，在施用表达BCMA CAR的细胞疗法后受试者体内CD22表达增加之后。在一些实施例中，所述表达CD22 CAR的细胞疗法包含表达CD22 CAR的细胞(例如细胞群)。在一些实施例中，所述CD22 CAR包含表14或15中披露的氨基酸序列(例如，表14或15中披露的CDR、scFv或全长氨基酸序列)，或与其具有至少约85%、90%、95%、99%或更高的同一性的序列，和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失(例如保守取代)的序列。

[0274] 在一些实施例中，所述第二种表达CAR的细胞疗法是包含表达第一CAR和第二CAR的细胞的表达CAR的细胞疗法，其中所述第一CAR是BCMA CAR(例如，本文披露的BCMA CAR)。在一些实施例中，所述第二CAR选自由CD19 CAR(例如，本文披露的CD19 CAR)、CD20 CAR(例如，本文披露的CD20 CAR)和CD22 CAR(例如，本文披露的CD22 CAR)组成的组。在一些实施例中，所述第二CAR是CD19 CAR(例如，本文披露的CD19 CAR)。在一些实施例中，所述表达CD19 CAR的细胞疗法包含表达CD19 CAR的细胞(例如细胞群)。在一些实施例中，所述CD19

CAR包含表8、9或10中披露的氨基酸序列(例如,表8、9或10中披露的CDR、scFv或全长氨基酸序列),或与其具有至少约85%、90%、95%、99%或更高的同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失(例如保守取代)的序列。在一些实施例中,所述第二CAR是CD20 CAR(例如,本文披露的CD20 CAR)。在一些实施例中,所述CD20 CAR包含表11、12或13中披露的氨基酸序列(例如,表11、12或13中披露的CDR、scFv或全长氨基酸序列),或与其具有至少约85%、90%、95%、99%或更高的同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失(例如保守取代)的序列。在一些实施例中,所述第二CAR是CD22 CAR(例如,本文披露的CD22 CAR)。在一些实施例中,所述CD22 CAR包含表14或15中披露的氨基酸序列(例如,表14或15中披露的CDR、scFv或全长氨基酸序列),或与其具有至少约85%、90%、95%、99%或更高的同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失(例如保守取代)的序列。

[0275] 在一些实施例中,所述第二种表达CAR的细胞疗法是包含表达多特异性CAR(例如双特异性CAR)的细胞的表达CAR的细胞疗法,所述多特异性CAR与第一抗原和第二抗原结合,其中所述第一抗原是BCMA。在一些实施例中,所述第二抗原选自由CD19、CD20和CD22组成的组。在一些实施例中,所述第二抗原是CD19。在一些实施例中,所述第二抗原是CD20。在一些实施例中,所述第二抗原是CD22。

[0276] 在前述方面的某些实施例中,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与CD19抑制剂(例如本文披露的CD19抑制剂)组合向受试者施用。在一些实施例中,所述CD19抑制剂在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之后(例如在施用表达BCMA CAR的细胞疗法后受试者体内CD19表达增加之后)施用。

[0277] 在前述方面的某些实施例中,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与CD20抑制剂(例如本文披露的CD20抑制剂)组合向受试者施用。在一些实施例中,所述CD20抑制剂是多特异性抗体分子,例如双特异性抗体分子,例如结合至CD20和CD3的双特异性抗体分子,例如THG338。在一些实施例中,所述CD20抑制剂在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之后(例如在施用表达BCMA CAR的细胞疗法后受试者体内CD20表达增加之后)施用。

[0278] 在前述方面的某些实施例中,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与CD22抑制剂(例如本文披露的CD22抑制剂)组合向受试者施用。在一些实施例中,所述CD22抑制剂在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之后(例如在施用表达BCMA CAR的细胞疗法后受试者体内CD22表达增加之后)施用。

[0279] 在前述方面的某些实施例中,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与结合至Fc受体样2 (FCRL2) 或Fc受体样5 (FCRL5) 的分子组合向受试者施用。在一些实施例中,所述分子是包含表达CAR(结合至FCRL2或FCRL5)的细胞的表达CAR的细胞疗法。在一些实施例中,所述分子是与第一抗原和第二抗原结合的多特异性抗体分子,例如双特异性抗体分子,其中所述第一抗原是FCRL2或FCRL5,任选地其中所述第二抗原是CD3。

[0280] 在前述方面的某些实施例中,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与白介素15 (IL-15) 多肽、白介素15受体 α (IL-15Ra) 多肽、或白细胞介素IL-15多肽和IL-15Ra多肽的组合(例如hetIL-15)进行组合向受试者施用。

[0281] 在前述方面的某些实施例中,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与TGF β 抑制剂组合向受试者施用。

[0282] 在前述方面的某些实施例中,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与EGFR抑制剂(例如EGFR^{mut}-酪氨酸激酶抑制剂(TKI))组合向受试者施用。在一些实施例中,所述EGFR抑制剂是EGF816。在一些实施例中,所述EGFR抑制剂是(R,E)-N-(7-氯代-1-(1-(4-(二甲基氨基)丁基-2-烯酰)氮杂卓-3-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)-2-甲基异烟酰胺。在一些实施例中,所述EGFR抑制剂是表27中披露的化合物A40。

[0283] 在前述方面的某些实施例中,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与腺苷A2AR拮抗剂组合向受试者施用。在一些实施例中,腺苷A2AR拮抗剂选自由以下组成的组:PBF509、CPI444、AZD4635、维帕迪南(Vipadenant)、GBV-2034和AB928。在一些实施例中,所述腺苷A2AR拮抗剂选自由以下组成的组:5-溴代-2,6-二-(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺;(S)-7-(5-甲基咪喃-2-基)-3-((6-(((四氢咪喃-3-基)氧基)甲基)吡啶-2-基)甲基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-胺;(R)-7-(5-甲基咪喃-2-基)-3-((6-(((四氢咪喃-3-基)氧基)甲基)吡啶-2-基)甲基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-胺或其外消旋物;7-(5-甲基咪喃-2-基)-3-((6-(((四氢咪喃-3-基)氧基)甲基)吡啶-2-基)甲基)-3H-[1,2,3]三唑[4,5-d]嘧啶-5-胺;和6-(2-氯代-6-甲基吡啶-4-基)-5-(4-氟苯基)-1,2,4-三嗪-3-胺。

[0284] 在前述方面的某些实施例中,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与抗CD73抗体分子(例如本文披露的抗CD73抗体分子)组合向受试者施用。

[0285] 在前述方面的某些实施例中,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与检查点抑制剂组合向受试者施用。在一些实施例中,所述检查点抑制剂是PD-1抑制剂。在一些实施例中,PD-1抑制剂选自由PDR001、纳武单抗、派姆单抗、匹地利珠单抗(pidilizumab)、MEDI0680、REGN2810、TSR-042、PF-06801591和AMP-224组成的组。在一些实施例中,所述PD-1抑制剂增加受试者体内表达BCMA CAR的细胞的扩增,例如,至少1、2、3、4或5周,例如,至少1、2、3、4、5、10、15、20、25或30倍。在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞在施用所述PD-1抑制剂之前施用于受试者。在一些实施例中,在施用所述PD-1抑制剂时,所述表达BCMA CAR的细胞在受试者体内不扩增或具有极小的扩增(例如,不超过1、2、3、4、5或10倍扩增)。在一些实施例中,所述检查点抑制剂是PD-L1抑制剂。在一些实施例中,PD-L1抑制剂选自由FAZ053、阿特珠单抗(Atezolizumab)、阿维鲁单抗(Avelumab)、度伐鲁单抗(Durvalumab)、和BMS-936559组成的组。在一些实施例中,所述PD-L1抑制剂增加受试者体内表达BCMA CAR的细胞的扩增,例如,至少1、2、3、4或5周,例如,至少1、2、3、4、5、10、15、20、25或30倍。在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞在施用所述PD-L1抑制剂之前施用于受试者。在一些实施例中,在施用所述PD-L1抑制剂时,所述表达BCMA CAR的细胞在受试者体内不扩增或具有极小的扩增(例如,不超过1、2、3、4、5或10倍扩增)。在一些实施例中,所述检查点抑制剂是LAG-3抑制剂。在一些实施例中LAG-3抑制剂选自由LAG525、BMS-986016、TSR-033、MK-4280和REGN3767组成的组。在一些实施例中,所述检查点抑制剂是TIM-3抑制剂。在一些实施例中,所述TIM-3抑制剂选自由MGB453、TSR-022和LY3321367组成的组。

[0286] 在前述方面的某些实施例中,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与结合CD32B的抗体分子组合向受试者施用。

[0287] 在前述方面的某些实施例中,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与结合IL-17的抗体分子(例如结合IL-17的拮抗抗体分子,例如CJM112)组合向受试者施用。

[0288] 在前述方面的某些实施例中,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与结

合IL-1 β 的抗体分子组合向受试者施用。

[0289] 在前述方面的某些实施例中,所述方法包括将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与吡啶胺2,3-双加氧酶(IDO)和/或色氨酸2,3-双加氧酶(TDO)的抑制剂(例如IDO1抑制剂)组合向受试者施用。在一些实施例中,所述IDO和/或TDO的抑制剂是INCB24360、吡啶莫德、NLG919、依多司他、NLG919或F001287。在一些实施例中,所述IDO和/或TDO的抑制剂是(4E)-4-[(3-氯代-4-氟苯胺基)-亚硝基亚甲基]-1,2,5-噁二唑-3-胺、1-甲基-D-色氨酸、 α -环己基-5H-咪唑并[5,1-a]异吡啶-5-乙醇或1-甲基-色氨酸的D异构体。

[0290] 在一个方面,本文披露了治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法。在一些实施例中,所述第二疗法是表达CD19 CAR的细胞疗法,例如本文披露的表达CD19 CAR的细胞疗法,例如CTL119或CTL019。在一些实施例中,所述表达CD19 CAR的细胞疗法是在施用表达BCMA CAR的细胞疗法之后进行的,例如,在施用表达BCMA CAR的细胞疗法后受试者体内CD19表达增加之后。在一些实施例中,所述表达CD19 CAR的细胞疗法包含表达CD19 CAR的细胞(例如细胞群)。在一些实施例中,所述CD19 CAR包含表8、9或10中披露的氨基酸序列(例如,表8、9或10中披露的CDR、scFv或全长氨基酸序列),或与其具有至少约85%、90%、95%、99%或更高的同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失(例如保守取代)的序列。

[0291] 在一些实施例中,所述第二疗法是表达CD20 CAR的细胞疗法,例如本文披露的表达CD20 CAR的细胞疗法。在一些实施例中,所述表达CD20 CAR的细胞疗法是在施用表达BCMA CAR的细胞疗法之后进行的,例如,在施用表达BCMA CAR的细胞疗法后受试者体内CD20表达增加之后。在一些实施例中,所述表达CD20 CAR的细胞疗法包含表达CD20 CAR的细胞(例如细胞群)。在一些实施例中,所述CD20 CAR包含表11、12或13中披露的氨基酸序列(例如,表11、12或13中披露的CDR、scFv或全长氨基酸序列),或与其具有至少约85%、90%、95%、99%或更高的同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失(例如保守取代)的序列。

[0292] 在一些实施例中,所述第二疗法是表达CD22 CAR的细胞疗法,例如本文披露的表达CD22 CAR的细胞疗法。在一些实施例中,所述表达CD22 CAR的细胞疗法是在施用表达BCMA CAR的细胞疗法之后进行的,例如,在施用表达BCMA CAR的细胞疗法后受试者体内CD22表达增加之后。在一些实施例中,所述表达CD22 CAR的细胞疗法包含表达CD22 CAR的细胞(例如细胞群)。在一些实施例中,所述CD22 CAR包含表14或15中披露的氨基酸序列(例如,表14或15中披露的CDR、scFv或全长氨基酸序列),或与其具有至少约85%、90%、95%、99%或更高的同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失(例如保守取代)的序列。

[0293] 在一些实施例中,所述第二疗法是包含表达第一CAR和第二CAR的细胞的表达CAR的细胞疗法,其中所述第一CAR是BCMA CAR(例如,本文披露的BCMA CAR)。在一些实施例中,所述第二CAR选自由CD19 CAR(例如,本文披露的CD19 CAR)、CD20 CAR(例如,本文披露的CD20 CAR)和CD22 CAR(例如,本文披露的CD22 CAR)组成的组。在一些实施例中,所述第二CAR是CD19 CAR(例如,本文披露的CD19 CAR)。在一些实施例中,所述表达CD19 CAR的细胞疗法包含表达CD19 CAR的细胞(例如细胞群)。在一些实施例中,所述CD19 CAR包含表8、9或

10中披露的氨基酸序列(例如,表8、9或10中披露的CDR、scFv或全长氨基酸序列),或与其具有至少约85%、90%、95%、99%或更高的同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失(例如保守取代)的序列。在一些实施例中,所述第二CAR是CD20 CAR(例如,本文披露的CD20 CAR)。在一些实施例中,所述CD20 CAR包含表11、12或13中披露的氨基酸序列(例如,表11、12或13中披露的CDR、scFv或全长氨基酸序列),或与其具有至少约85%、90%、95%、99%或更高的同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失(例如保守取代)的序列。在一些实施例中,所述第二CAR是CD22 CAR(例如,本文披露的CD22CAR)。在一些实施例中,所述CD22 CAR包含表14或15中披露的氨基酸序列(例如,表14或15中披露的CDR、scFv或全长氨基酸序列),或与其具有至少约85%、90%、95%、99%或更高的同一性的序列,和/或具有一个、两个、三个或更多个取代、插入或缺失(例如保守取代)的序列。

[0294] 在一些实施例中,所述第二疗法是包含表达多特异性CAR(例如双特异性CAR)的细胞的表达CAR的细胞疗法,所述多特异性CAR与第一抗原和第二抗原结合,其中所述第一抗原是BCMA。在一些实施例中,所述第二抗原选自由CD19、CD20和CD22组成的组。在一些实施例中,所述第二抗原是CD19。在一些实施例中,所述第二抗原是CD20。在一些实施例中,所述第二抗原是CD22。

[0295] 在一个方面,本文披露了治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法。在一些实施例中,所述第二疗法是CD19抑制剂,例如本文披露的CD19抑制剂。在一些实施例中,所述CD19抑制剂在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之后(例如在施用表达BCMA CAR的细胞疗法后受试者体内CD19表达增加之后)施用。

[0296] 在一些实施例中,所述第二疗法是CD20抑制剂,例如本文披露的CD20抑制剂。在一些实施例中,所述CD20抑制剂是多特异性抗体分子,例如双特异性抗体分子,例如结合至CD20和CD3的双特异性抗体分子,例如THG338。在一些实施例中,所述CD20抑制剂在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之后(例如在施用表达BCMA CAR的细胞疗法后受试者体内CD20表达增加之后)施用。

[0297] 在一些实施例中,所述第二疗法是CD22抑制剂,例如本文披露的CD22抑制剂。在一些实施例中,所述CD22抑制剂在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之后(例如在施用表达BCMA CAR的细胞疗法后受试者体内CD22表达增加之后)施用。

[0298] 在一个方面,本文披露了治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法,其中所述第二疗法是结合至Fc受体样2 (FCRL2) 或Fc受体样5 (FCRL5) 的分子。在一些实施例中,所述分子是包含表达CAR(结合至FCRL2或FCRL5) 的细胞的表达CAR的细胞疗法。在一些实施例中,所述分子是与第一抗原和第二抗原结合的多特异性抗体分子,例如双特异性抗体分子,其中所述第一抗原是FCRL2或FCRL5,任选地其中所述第二抗原是CD3。

[0299] 在一个方面,本文披露了治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法,其中所述第二疗法是TGFβ抑制剂。

[0300] 在一个方面,本文披露了治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述

方法包括向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法,其中所述第二疗法是EGFR抑制剂,例如EGFR^{mut}-酪氨酸激酶抑制剂(TKI)。在一些实施例中,所述EGFR抑制剂是EGF816。在一些实施例中,所述EGFR抑制剂是(R,E)-N-(7-氯代-1-(1-(4-(二甲基氨基)丁基-2-烯酰)氮杂卓-3-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)-2-甲基异烟酰胺。在一些实施例中,所述EGFR抑制剂是表27中披露的化合物A40。

[0301] 在一个方面,本文披露了治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法,其中所述第二疗法是腺苷A2AR拮抗剂。在一些实施例中,腺苷A2AR拮抗剂选自以下组成的组:PBF509、CPI444、AZD4635、维帕迪南(Vipadenant)、GBV-2034和AB928。在一些实施例中,所述腺苷A2AR拮抗剂选自以下组成的组:5-溴代-2,6-二-(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺;(S)-7-(5-甲基咪喃-2-基)-3-((6-((四氢咪喃-3-基)氧基)甲基)吡啶-2-基)甲基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-胺;(R)-7-(5-甲基咪喃-2-基)-3-((6-((四氢咪喃-3-基)氧基)甲基)吡啶-2-基)甲基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-胺或其外消旋物;7-(5-甲基咪喃-2-基)-3-((6-((四氢咪喃-3-基)氧基)甲基)吡啶-2-基)甲基)-3H-[1,2,3]三唑[4,5-d]嘧啶-5-胺;和6-(2-氯代-6-甲基吡啶-4-基)-5-(4-氟苯基)-1,2,4-三嗪-3-胺。

[0302] 在一个方面,本文披露了治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法,其中所述第二疗法是抗CD73抗体分子,例如本文披露的抗CD73抗体分子。

[0303] 在一个方面,本文披露了治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法,其中所述第二疗法是检查点拮抗剂。在一些实施例中,所述检查点抑制剂是PD-1抑制剂。在一些实施例中,PD-1抑制剂选自PDR001、纳武单抗、派姆单抗、匹地利珠单抗(pidilizumab)、MEDI0680、REGN2810、TSR-042、PF-06801591和AMP-224组成的组。在一些实施例中,所述PD-1抑制剂在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之后(例如在施用表达BCMA CAR的细胞疗法后受试者体内PD-1或PD-L1表达增加之后)施用。在一些实施例中,所述PD-1抑制剂增加受试者体内表达BCMA CAR的细胞的扩增,例如,至少1、2、3、4或5周,例如,至少1、2、3、4、5、10、15、20、25或30倍。在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞在施用所述PD-1抑制剂之前施用于受试者。在一些实施例中,在施用所述PD-1抑制剂时,所述表达BCMA CAR的细胞在受试者体内不扩增或具有极小的扩增(例如,不超过1、2、3、4、5或10倍扩增)。在一些实施例中,所述检查点抑制剂是PD-L1抑制剂。在一些实施例中,PD-L1抑制剂选自FAZ053、阿特殊单抗(Atezolizumab)、阿维鲁单抗(Avelumab)、度伐鲁单抗(Durvalumab)、和BMS-936559组成的组。在一些实施例中,所述PD-L1抑制剂在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之后(例如在施用表达BCMA CAR的细胞疗法后受试者体内PD-1或PD-L1表达增加之后)施用。在一些实施例中,所述PD-L1抑制剂增加受试者体内表达BCMA CAR的细胞的扩增,例如,至少1、2、3、4或5周,例如,至少1、2、3、4、5、10、15、20、25或30倍。在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞在施用所述PD-L1抑制剂之前施用于受试者。在一些实施例中,在施用所述PD-L1抑制剂时,所述表达BCMA CAR的细胞在受试者体内不扩增或具有极小的扩增(例如,不超过1、2、3、4、5或10倍扩增)。在一些实施例中,所述检查点抑制剂是LAG-3抑制剂。在一些实施例中LAG-3抑制剂选自LAG525、BMS-986016、TSR-033、MK-4280和REGN3767组成的组。在一些实

施例中,所述LAG-3抑制剂在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之后(例如在施用表达BCMA CAR的细胞疗法后受试者体内LAG-3表达增加之后)施用。在一些实施例中,所述检查点抑制剂是TIM-3抑制剂。在一些实施例中,所述TIM-3抑制剂选自由MGB453、TSR-022和LY3321367组成的组。在一些实施例中,所述TIM-3抑制剂在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之后(例如在施用表达BCMA CAR的细胞疗法后受试者体内TIM-3表达增加之后)施用。

[0304] 在一个方面,本文披露了治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法,其中所述第二疗法是结合至CD32B的抗体分子。

[0305] 在一个方面,本文披露了治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法,其中所述第二疗法是结合至IL-17的抗体分子,例如结合IL-17的拮抗抗体分子,例如CJM112。

[0306] 在一个方面,本文披露了治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法,其中所述第二疗法是结合至IL-1 β 的抗体分子。

[0307] 在一个方面,本文披露了治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法,其中所述第二疗法是吡啶胺2,3-双加氧酶(IDO)和/或色氨酸2,3-双加氧酶(TDO)的抑制剂,例如IDO1抑制剂。在一些实施例中,所述IDO和/或TDO的抑制剂是INCB24360、吡啶莫德、NLG919、依多司他、NLG919或F001287。在一些实施例中,所述IDO和/或TDO的抑制剂是(4E)-4-[(3-氯代-4-氟苯基)-亚硝基亚甲基]-1,2,5-噁二唑-3-胺、1-甲基-D-色氨酸、 α -环己基-5H-咪唑并[5,1-a]异吡啶-5-乙醇或1-甲基-色氨酸的D异构体。在一些实施例中,所述IDO和/或TDO的抑制剂在施用所述表达BCMA CAR的细胞疗法之后,例如在施用表达BCMA CAR的细胞疗法后受试者体内IDO和/或TDO表达增加之后施用。

[0308] 在前述方面的某些实施例中,所述第二疗法在表达BCMA CAR的细胞疗法的施用之前、同时或之后施用。

[0309] 在一个方面,本文披露了一种治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,其中所述受试者已经接受或正在接受表达BCMA CAR的细胞疗法,所述方法包括:

[0310] 响应于在所述受试者开始接受所述表达BCMA CAR的细胞疗法后至少一个时间点时所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如活检样品,例如骨髓活检样品)中的抗原的水平或活性的值相对于参考值的增加,其中所述参考值为:

[0311] (i) 在所述至少一个时间点之前,所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如活检样品,例如骨髓活检样品)中的抗原的水平或活性(例如,所述受试者开始接受表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者中的抗原的水平或活性,或所述受试者开始接受所述表达BCMA CAR的细胞疗法之后但在所述至少一个时间点之前所述受试者中的抗原的水平或活性);

[0312] (ii) 在患有与BCMA表达相关的疾病的不同受试者中的抗原的水平或活性;或者

[0313] (iii) 在患有与BCMA表达相关的疾病的受试者群体中的抗原的平均水平或活性,

[0314] 向所述受试者施用所述抗原的抑制剂,其中:

[0315] (1) 所述抗原是CD19,并且所述抗原的抑制剂是CD19抑制剂,任选地,其中所述

CD19抑制剂是：

[0316] (a) 表达CD19 CAR的细胞疗法，例如本文披露的表达CD19 CAR的细胞疗法，例如CTL119或CTL019；

[0317] (b) 表达CAR的细胞疗法，其包含表达第一CAR和第二CAR的细胞，其中所述第一CAR是BCMA CAR (例如本文披露的BCMA CAR)，并且所述第二CAR是CD19 CAR (例如本文披露的CD19 CAR)；或者

[0318] (c) 表达CAR的细胞疗法，其包含表达多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞，其中所述多特异性CAR与BCMA和CD19结合，

[0319] (2) 所述抗原是CD20，并且所述抗原的抑制剂是CD20抑制剂，任选地，其中所述CD20抑制剂是：

[0320] (d) 表达CD20 CAR的细胞疗法，例如本文披露的表达CD20 CAR的细胞疗法；

[0321] (e) 表达CAR的细胞疗法，其包含表达第一CAR和第二CAR的细胞，其中所述第一CAR是BCMA CAR (例如本文披露的BCMA CAR)，并且所述第二CAR是CD20 CAR (例如本文披露的CD20 CAR)；

[0322] (f) 表达CAR的细胞疗法，其包含表达多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞，其中所述多特异性CAR与BCMA和CD20结合，或者

[0323] (g) 多特异性抗体分子，例如双特异性抗体分子，例如结合至CD20和CD3的双特异性抗体分子，例如THG338，

[0324] (3) 所述抗原是CD22，并且所述抗原的抑制剂是CD22抑制剂，任选地，其中所述CD22抑制剂是：

[0325] (h) 表达CD22 CAR的细胞疗法，例如本文披露的表达CD22 CAR的细胞疗法；

[0326] (i) 表达CAR的细胞疗法，其包含表达第一CAR和第二CAR的细胞，其中所述第一CAR是BCMA CAR (例如本文披露的BCMA CAR)，并且所述第二CAR是CD22 CAR (例如本文披露的CD22 CAR)；或者

[0327] (j) 表达CAR的细胞疗法，其包含表达多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞，其中所述多特异性CAR与BCMA和CD22结合，

[0328] (4) 所述抗原是PD1或PD-L1，并且所述抗原的抑制剂是抗PD1抗体分子或抗PD-L1抗体分子，任选地，其中所述抗原的抑制剂是：

[0329] (k) PDR001、纳武单抗、派姆单抗、匹利珠单抗、MEDI0680、REGN2810、TSR-042、PF-06801591或AMP-224；或者

[0330] (1) FAZ053、阿特殊单抗、阿维鲁单抗、度伐单抗或BMS-936559，

[0331] (5) 所述抗原是IDO或TDO，并且所述抗原的抑制剂是IDO和/或TDO的抑制剂，任选地，其中所述IDO和/或TDO的抑制剂是：

[0332] (m) INCB24360、吡啶西莫德、NLG919、依多司他、NLG919或F001287；或者

[0333] (n) (4E)-4-[(3-氯代-4-氟苯胺基)-亚硝基亚甲基]-1,2,5-噁二唑-3-胺、1-甲基-D-色氨酸、 α -环己基-5H-咪唑并[5,1-a]异吡啶-5-乙醇或1-甲基-色氨酸的D异构体，或

[0334] (6) 所述抗原是TGF- β ，并且所述抗原的抑制剂是TGF- β 抑制剂。

[0335] 在一个方面，本文披露了一种治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法，其中所述受试者已经接受或正在接受表达BCMA CAR的细胞疗法，所述方法包括：

[0336] 在所述受试者开始接受所述表达BCMA CAR的细胞疗法后至少一个时间点,获取所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如活检样品,例如骨髓活检样品)中的抗原的水平或活性的值,

[0337] 响应于所述值相对于参考值的增加,其中所述参考值是:

[0338] (i) 在所述至少一个时间点之前,所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如活检样品,例如骨髓活检样品)中的抗原的水平或活性(例如,所述受试者开始接受表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者中的抗原的水平或活性,或所述受试者开始接受所述表达BCMA CAR的细胞疗法之后但在所述至少一个时间点之前所述受试者中的抗原的水平或活性);

[0339] (ii) 在患有与BCMA表达相关的疾病的不同受试者中的抗原的水平或活性;或者

[0340] (iii) 在患有与BCMA表达相关的疾病的受试者群体中的抗原的平均水平或活性,

[0341] 向所述受试者施用所述抗原的抑制剂,其中:

[0342] (1) 所述抗原是CD19,并且所述抗原的抑制剂是CD19抑制剂,任选地,其中所述CD19抑制剂是:

[0343] (a) 表达CD19 CAR的细胞疗法,例如本文披露的表达CD19 CAR的细胞疗法,例如CTL119或CTL019;

[0344] (b) 表达CAR的细胞疗法,其包含表达第一CAR和第二CAR的细胞,其中所述第一CAR是BCMA CAR(例如本文披露的BCMA CAR),并且所述第二CAR是CD19 CAR(例如本文披露的CD19 CAR);或者

[0345] (c) 表达CAR的细胞疗法,其包含表达多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞,其中所述多特异性CAR与BCMA和CD19结合,

[0346] (2) 所述抗原是CD20,并且所述抗原的抑制剂是CD20抑制剂,任选地,其中所述CD20抑制剂是:

[0347] (d) 表达CD20 CAR的细胞疗法,例如本文披露的表达CD20 CAR的细胞疗法;

[0348] (e) 表达CAR的细胞疗法,其包含表达第一CAR和第二CAR的细胞,其中所述第一CAR是BCMA CAR(例如本文披露的BCMA CAR),并且所述第二CAR是CD20 CAR(例如本文披露的CD20 CAR);

[0349] (f) 表达CAR的细胞疗法,其包含表达多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞,其中所述多特异性CAR与BCMA和CD20结合,或者

[0350] (g) 多特异性抗体分子,例如双特异性抗体分子,例如结合至CD20和CD3的双特异性抗体分子,例如THG338,

[0351] (3) 所述抗原是CD22,并且所述抗原的抑制剂是CD22抑制剂,任选地,其中所述CD22抑制剂是:

[0352] (h) 表达CD22 CAR的细胞疗法,例如本文披露的表达CD22 CAR的细胞疗法;

[0353] (i) 表达CAR的细胞疗法,其包含表达第一CAR和第二CAR的细胞,其中所述第一CAR是BCMA CAR(例如本文披露的BCMA CAR),并且所述第二CAR是CD22 CAR(例如本文披露的CD22 CAR);或者

[0354] (j) 表达CAR的细胞疗法,其包含表达多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞,其中所述多特异性CAR与BCMA和CD22结合,

[0355] (4) 所述抗原是PD1或PD-L1,并且所述抗原的抑制剂是抗PD1抗体分子或抗PD-L1抗体分子,任选地,其中所述抗原的抑制剂是:

[0356] (k) PDR001、纳武单抗、派姆单抗、匹利珠单抗、MEDI0680、REGN2810、TSR-042、PF-06801591或AMP-224;或者

[0357] (1) FAZ053、阿特珠单抗、阿维鲁单抗、度伐单抗或BMS-936559,

[0358] (5) 所述抗原是IDO或TDO,并且所述抗原的抑制剂是IDO和/或TDO的抑制剂,任选地,其中所述IDO和/或TDO的抑制剂是:

[0359] (m) INCB24360、吡哌西莫德、NLG919、依多司他、NLG919或F001287;或者

[0360] (n) (4E)-4-[(3-氯代-4-氟苯胺基)-亚硝基亚甲基]-1,2,5-噁二唑-3-胺、1-甲基-D-色氨酸、 α -环己基-5H-咪唑并[5,1-a]异吡啶-5-乙醇或1-甲基-色氨酸的D异构体,或

[0361] (6) 所述抗原是TGF- β ,并且所述抗原的抑制剂是TGF- β 抑制剂。

[0362] 在一个方面,本文披露了治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方包括:

[0363] 向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法,

[0364] 响应于在所述受试者开始接受所述表达BCMA CAR的细胞疗法后至少一个时间点时所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如活检样品,例如骨髓活检样品)中的抗原的水平或活性的值相对于参考值的增加,其中所述参考值为:

[0365] (i) 在所述至少一个时间点之前,所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如活检样品,例如骨髓活检样品)中的抗原的水平或活性(例如,所述受试者开始接受表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者中的抗原的水平或活性,或所述受试者开始接受所述表达BCMACAR的细胞疗法之后但在所述至少一个时间点之前所述受试者中的抗原的水平或活性);

[0366] (ii) 在患有与BCMA表达相关的疾病的不同受试者中的抗原的水平或活性;或者

[0367] (iii) 在患有与BCMA表达相关的疾病的受试者群体中的抗原的平均水平或活性,

[0368] 向所述受试者施用所述抗原的抑制剂,其中:

[0369] (1) 所述抗原是CD19,并且所述抗原的抑制剂是CD19抑制剂,任选地,其中所述CD19抑制剂是:

[0370] (a) 表达CD19 CAR的细胞疗法,例如本文披露的表达CD19 CAR的细胞疗法,例如CTL119或CTL019;

[0371] (b) 表达CAR的细胞疗法,其包含表达第一CAR和第二CAR的细胞,其中所述第一CAR是BCMA CAR(例如本文披露的BCMA CAR),并且所述第二CAR是CD19 CAR(例如本文披露的CD19 CAR);或者

[0372] (c) 表达CAR的细胞疗法,其包含表达多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞,其中所述多特异性CAR与BCMA和CD19结合,

[0373] (2) 所述抗原是CD20,并且所述抗原的抑制剂是CD20抑制剂,任选地,其中所述CD20抑制剂是:

[0374] (d) 表达CD20 CAR的细胞疗法,例如本文披露的表达CD20 CAR的细胞疗法;

[0375] (e) 表达CAR的细胞疗法,其包含表达第一CAR和第二CAR的细胞,其中所述第一CAR是BCMA CAR(例如本文披露的BCMA CAR),并且所述第二CAR是CD20 CAR(例如本文披露的

CD20 CAR) ;

[0376] (f) 表达CAR的细胞疗法,其包含表达多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞,其中所述多特异性CAR与BCMA和CD20结合,或者

[0377] (g) 多特异性抗体分子,例如双特异性抗体分子,例如结合至CD20和CD3的双特异性抗体分子,例如THG338,

[0378] (3) 所述抗原是CD22,并且所述抗原的抑制剂是CD22抑制剂,任选地,其中所述CD22抑制剂是:

[0379] (h) 表达CD22 CAR的细胞疗法,例如本文披露的表达CD22 CAR的细胞疗法;

[0380] (i) 表达CAR的细胞疗法,其包含表达第一CAR和第二CAR的细胞,其中所述第一CAR是BCMA CAR (例如本文披露的BCMA CAR),并且所述第二CAR是CD22 CAR (例如本文披露的CD22 CAR);或者

[0381] (j) 表达CAR的细胞疗法,其包含表达多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞,其中所述多特异性CAR与BCMA和CD22结合,

[0382] (4) 所述抗原是PD1或PD-L1,并且所述抗原的抑制剂是抗PD1抗体分子或抗PD-L1抗体分子,任选地,其中所述抗原的抑制剂是:

[0383] (k) PDR001、纳武单抗、派姆单抗、匹利珠单抗、MEDI0680、REGN2810、TSR-042、PF-06801591或AMP-224;或者

[0384] (l) FAZ053、阿特珠单抗、阿维鲁单抗、度伐单抗或BMS-936559,

[0385] (5) 所述抗原是IDO或TDO,并且所述抗原的抑制剂是IDO和/或TDO的抑制剂,任选地,其中所述IDO和/或TDO的抑制剂是:

[0386] (m) INCB24360、吡啶西莫德、NLG919、依多司他、NLG919或F001287;或者

[0387] (n) (4E)-4-[(3-氯代-4-氟苯胺基)-亚硝基亚甲基]-1,2,5-噁二唑-3-胺、1-甲基-D-色氨酸、 α -环己基-5H-咪唑并[5,1-a]异吡啶-5-乙醇或1-甲基-色氨酸的D异构体,或

[0388] (6) 所述抗原是TGF- β ,并且所述抗原的抑制剂是TGF- β 抑制剂。

[0389] 在一个方面,本文披露了治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方包括:

[0390] 向所述受试者施用表达BCMA CAR的细胞疗法,

[0391] 在所述受试者开始接受所述表达BCMA CAR的细胞疗法后至少一个时间点,获取所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如活检样品,例如骨髓活检样品)中的抗原的水平或活性的值,

[0392] 响应于所述值相对于参考值的增加,其中所述参考值是:

[0393] (i) 在所述至少一个时间点之前,所述受试者中,例如来自所述受试者的样品(例如活检样品,例如骨髓活检样品)中的抗原的水平或活性(例如,所述受试者开始接受表达BCMA CAR的细胞疗法之前所述受试者中的抗原的水平或活性,或所述受试者开始接受所述表达BCMACAR的细胞疗法之后但在所述至少一个时间点之前所述受试者中的抗原的水平或活性);

[0394] (ii) 在患有与BCMA表达相关的疾病的不同受试者中的抗原的水平或活性;或者

[0395] (iii) 在患有与BCMA表达相关的疾病的受试者群体中的抗原的平均水平或活性,

[0396] 向所述受试者施用所述抗原的抑制剂,其中:

[0397] (1) 所述抗原是CD19, 并且所述抗原的抑制剂是CD19抑制剂, 任选地, 其中所述CD19抑制剂是:

[0398] (a) 表达CD19 CAR的细胞疗法, 例如本文披露的表达CD19 CAR的细胞疗法, 例如CTL119或CTL019;

[0399] (b) 表达CAR的细胞疗法, 其包含表达第一CAR和第二CAR的细胞, 其中所述第一CAR是BCMA CAR (例如本文披露的BCMA CAR), 并且所述第二CAR是CD19 CAR (例如本文披露的CD19 CAR); 或者

[0400] (c) 表达CAR的细胞疗法, 其包含表达多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞, 其中所述多特异性CAR与BCMA和CD19结合,

[0401] (2) 所述抗原是CD20, 并且所述抗原的抑制剂是CD20抑制剂, 任选地, 其中所述CD20抑制剂是:

[0402] (d) 表达CD20 CAR的细胞疗法, 例如本文披露的表达CD20 CAR的细胞疗法;

[0403] (e) 表达CAR的细胞疗法, 其包含表达第一CAR和第二CAR的细胞, 其中所述第一CAR是BCMA CAR (例如本文披露的BCMA CAR), 并且所述第二CAR是CD20 CAR (例如本文披露的CD20 CAR);

[0404] (f) 表达CAR的细胞疗法, 其包含表达多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞, 其中所述多特异性CAR与BCMA和CD20结合, 或者

[0405] (g) 多特异性抗体分子, 例如双特异性抗体分子, 例如结合至CD20和CD3的双特异性抗体分子, 例如THG338,

[0406] (3) 所述抗原是CD22, 并且所述抗原的抑制剂是CD22抑制剂, 任选地, 其中所述CD22抑制剂是:

[0407] (h) 表达CD22 CAR的细胞疗法, 例如本文披露的表达CD22 CAR的细胞疗法;

[0408] (i) 表达CAR的细胞疗法, 其包含表达第一CAR和第二CAR的细胞, 其中所述第一CAR是BCMA CAR (例如本文披露的BCMA CAR), 并且所述第二CAR是CD22 CAR (例如本文披露的CD22 CAR); 或者

[0409] (j) 表达CAR的细胞疗法, 其包含表达多特异性CAR例如双特异性CAR的细胞, 其中所述多特异性CAR与BCMA和CD22结合,

[0410] (4) 所述抗原是PD1或PD-L1, 并且所述抗原的抑制剂是抗PD1抗体分子或抗PD-L1抗体分子, 任选地, 其中所述抗原的抑制剂是:

[0411] (k) PDR001、纳武单抗、派姆单抗、匹利珠单抗、MEDI0680、REGN2810、TSR-042、PF-06801591或AMP-224; 或者

[0412] (l) FAZ053、阿特珠单抗、阿维鲁单抗、度伐单抗或BMS-936559,

[0413] (5) 所述抗原是IDO或TDO, 并且所述抗原的抑制剂是IDO和/或TDO的抑制剂, 任选地, 其中所述IDO和/或TDO的抑制剂是:

[0414] (m) INCB24360、吡啶西莫德、NLG919、依多司他、NLG919或F001287; 或者

[0415] (n) (4E)-4-[(3-氯代-4-氟苯胺基)-亚硝基亚甲基]-1,2,5-噁二唑-3-胺、1-甲基-D-色氨酸、 α -环己基-5H-咪唑并[5,1-a]异吡啶-5-乙醇或1-甲基-色氨酸的D异构体, 或

[0416] (6) 所述抗原是TGF- β , 并且所述抗原的抑制剂是TGF- β 抑制剂。

[0417] 在前述方面的某些实施例中, 所述抗原的水平或活性的值包括受试者中, 例如, 来

自受试者的样品(例如活检样品,例如骨髓活检样品)中所述抗原的表达水平,如通过本文所述的测定(例如免疫组织化学)所测量的。

[0418] 在一些实施例中,所述至少一个时间点是在受试者开始接受表达BCMA CAR的细胞疗法之后的5、10、15、20、25、28、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80或90天。

[0419] 在一些实施例中,在受试者开始接受表达BCMA CAR的细胞疗法后,受试者发生BCMA表达降低。

[0420] 在所述方面的某些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法包含表达BCMA CAR的细胞。在一些实施例中,所述BCMA CAR包含表3或5中列出的重链互补决定区1(HCDR1)、HCDR2和HCDR3中的一个或多个(例如,全部三个)和/或表4或5中列出的轻链互补决定区1(LCDR1)、LCDR2和LCDR3中的一个或多个(例如,全部三个),或与其具有95%-99%同一性的序列。在一些实施例中,所述BCMA CAR包含表2或5中列出的重链可变区(VH)和/或表2或5中列出的轻链可变区(VL),或与其具有95%-99%同一性的序列。在一些实施例中,所述BCMA CAR包含表2或5中列出的BCMA scFv结构域氨基酸序列(例如,SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:129、SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:131、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:134、SEQ ID NO:135、SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:137、SEQ ID NO:138、SEQ ID NO:139、SEQ ID NO:140、SEQ ID NO:141、SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:143、SEQ ID NO:144、SEQ ID NO:145、SEQ ID NO:146、SEQ ID NO:147、SEQ ID NO:148和SEQ ID NO:149)或与其具有95%-99%同一性的序列。在一些实施例中,所述BCMA CAR包含表2或表5中列出的全长BCMA CAR氨基酸序列(例如,SEQ ID NO:109的残基22-483、SEQ ID NO:99的残基22-490、SEQ ID NO:100的残基22-488、SEQ ID NO:101的残基22-487、SEQ ID NO:102的残基22-493、SEQ ID NO:103的残基22-490、SEQ ID NO:104的残基22-491、SEQ ID NO:105的残基22-482、SEQ ID NO:106的残基22-483、SEQ ID NO:107的残基22-485、SEQ ID NO:108的残基22-483、SEQ ID NO:110的残基22-490、SEQ ID NO:111的残基22-483、SEQ ID NO:112的残基22-484、SEQ ID NO:113的残基22-485、SEQ ID NO:213的残基22-487、SEQ ID NO:214的残基23-489、SEQ ID NO:215的残基22-490、SEQ ID NO:216的残基22-484、SEQ ID NO:217的残基22-485、SEQ ID NO:218的残基22-489、SEQ ID NO:219的残基22-497、SEQ ID NO:220的残基22-492、SEQ ID NO:221的残基22-490、SEQ ID NO:222的残基22-485、SEQ ID NO:223的残基22-492、SEQ ID NO:224的残基22-492、SEQ ID NO:225的残基22-483、SEQ ID NO:226的残基22-490、SEQ ID NO:227的残基22-485、SEQ ID NO:228的残基22-486、SEQ ID NO:229的残基22-492、SEQ ID NO:230的残基22-488、SEQ ID NO:231的残基22-488、SEQ ID NO:232的残基22-495、SEQ ID NO:233的残基22-490),或与其具有95%-99%同一性的序列。在一些实施例中,所述BCMA CAR由表2或5中列出的核酸序列编码(例如,SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:150、SEQ ID NO:151、SEQ ID NO:152、SEQ ID NO:153、SEQ ID NO:154、SEQ ID NO:155、SEQ ID NO:156、SEQ ID NO:157、SEQ ID NO:158、SEQ ID NO:159、SEQ ID NO:160、SEQ ID NO:161、SEQ ID NO:162、SEQ ID NO:163、SEQ

ID NO:164、SEQ ID NO:165、SEQ ID NO:166、SEQ ID NO:167、SEQ ID NO:168、SEQ ID NO:169、SEQ ID NO:170) 或与其具有95%–99%同一性的序列。

[0421] 在所述方面的某些实施例中,所述与BCMA表达相关的疾病是癌症,任选地,其中所述癌症是血液学癌症。在一些实施例中,所述与BCMA表达相关的疾病是选自以下一种或多种的急性白血病: B细胞急性淋巴细胞性白血病(“BALL”)、T细胞急性淋巴细胞性白血病(“TALL”)、急性淋巴细胞性白血病(ALL)、慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、B细胞幼淋巴细胞性白血病、母细胞性浆细胞样树突状细胞瘤、伯基特淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病、小细胞或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴瘤组织增生症、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常和骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞性淋巴瘤、浆母细胞性浆细胞样树突状细胞瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、前列腺癌(例如,去势抵抗性或治疗抵抗性前列腺癌或转移性前列腺癌)、胰腺癌、肺癌、浆细胞增殖性障碍(例如,无症状性骨髓瘤(冒烟型多发性骨髓瘤或惰性骨髓瘤)、意义未明的单克隆丙种球蛋白血症(MGUS)、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、浆细胞瘤(例如,浆细胞恶性增生、孤立性骨髓瘤、孤立性浆细胞瘤、髓外浆细胞瘤和多发性浆细胞瘤)、全身性淀粉样蛋白轻链淀粉样变性、以及POEMS综合征(也称为克罗-富克斯综合征、高月病和PEP综合征)),或其组合。在一些实施例中,所述与BCMA表达相关的疾病是ALL、CLL、DLBCL或多发性骨髓瘤。在一些实施例中,所述受试者是人类患者。

[0422] 材料、方法和实例仅是说明性的而不旨在限制。

[0423] 标题、小标题或编号或字母元素,例如(a)、(b)、(i)等仅为了便于阅读而呈现。在本文件中使用标题或编号或字母元素不要求步骤或元素以字母顺序进行,或者步骤或元素必须彼此离散。

[0424] 本文所提及的所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献通过引用以其整体并入。

[0425] 根据说明书和附图并且如权利要求书,本发明的其他特征、目标和优点将是清楚的。

附图说明

[0426] 本专利或申请文件包含至少一个彩色附图。带有彩色附图的本专利或专利申请公布的副本在请求并支付了必要费用后由专利局提供。

[0427] 图1A和1B是一对图,其显示了从后来被确定为对CART-BCMA输注治疗的有反应者($R, N_R=3$)或无反应者($NR, N_{NR}=5$)的多发性骨髓瘤患者获取的单样品中的CD3⁺ T细胞中CD4⁺或CD8⁺ T细胞的百分比(图1A)和CD4:CD8 T细胞比率(图1B)。这些数据证明,与无反应者相比,有反应者单样品中CD4⁺ T细胞百分比更高,而CD8⁺ T细胞的百分比更低(因此CD4:CD8比率更高)。发现大于约1.6的CD4:CD8比率预测对CART-BCMA有反应。

[0428] 图2A、2B和2C是如下的图,其显示与无反应者($NR, N_{NR}=5$)相比,从后来被确定为CART-BCMA有反应者($R, N_R=3$)的多发性骨髓瘤患者获取的单样品中的CD8⁺ T细胞中HLADR-CD95+CD27+CD8⁺ T细胞(图2A)、CD45RO-CD27+CD8⁺ T细胞(图2B)或CCR7+CD45RO-CD27+CD8⁺ T(图2C)的百分比更高。显示了每个图的P-值。

[0429] 图3是一系列图像,其显示了在CART-BCMA施用前(“Pre”)以及输注后第28天和第

90天(“3个月”),从患者13、患者14、患者15、患者16和患者17获取的骨髓芯活检组织中,通过免疫组织化学(IHC)测定的CD138⁺细胞定位。实例中提供了用CART-BCMA治疗的患者结果,并且在本文中称为如下:疾病进展(PD);疾病稳定(SD);微小反应(MR);部分反应(PR);以及非常好的部分反应(VGPR)。从患者13获取的治疗前、第28天和第90天样品分别具有1%、0%和0%的CD138⁺ MM细胞浸润。从患者14获取的治疗前样品和第28天样品分别具有80%和90%的CD138⁺ MM细胞浸润。从患者15获取的治疗前、第28天和第90天样品分别具有95%、5%和10%的CD138⁺ MM细胞浸润。从患者16获取的治疗前、第28天和第90天样品分别具有50%、5%和75%的CD138⁺ MM细胞浸润。从患者17获取的治疗前、第28天和第90天样品分别具有50%、5%和75%的CD138⁺ MM细胞浸润。

[0430] 图4是一系列图像,其显示了在CART-BCMA施用前(“Pre”)以及输注后第28天和第90天(“3个月”),从患者13、患者14、患者15、患者16和患者17获取的骨髓芯活检组织中,通过IHC测定的BCMA蛋白表达。

[0431] 图5是一系列图像,其显示了在CART-BCMA施用前从患者13、患者14、患者15、患者16和患者17获取的骨髓芯活检组织中,通过IHC测定的BCMA蛋白表达与通过原位杂交(ISH)测定的BCMA mRNA水平之间的比较。

[0432] 图6A、6B和6C是一系列图像,其显示了在CART-BCMA施用前(“Pre”)以及输注后第28天和第90天(“3个月”)从患者15(图6A)、患者16(图6B)和患者17(图6C)获取的骨髓芯活检组织中,通过IHC测定的BCMA蛋白质表达、通过ISH测定的BCMA mRNA水平以及通过ISH测定的CART-BCMA mRNA水平。

[0433] 图7A、7B和7C是一系列图像,其显示了在CART-BCMA施用前(“Pre”)以及输注后第28天和第90天(“3个月”),从患者15(图7A)、患者16(图7B)和患者17(图7C)获取的骨髓芯活检组织中,通过ISH测定的IDO1、IFN- γ 和TGF β mRNA水平。图7D和7E是一系列图像,其显示了在CART-BCMA施用前(“Pre”)以及输注后第10天和第28天,从患者19(图7D)和患者20(图7E)获取的活检组织中,通过ISH测定的CAR、IFN- γ 和IDO1 mRNA水平。

[0434] 图8A、8B和8C是一系列图像,其显示了在CART-BCMA施用前(“Pre”)以及输注后第28天和第90天(“3个月”),从患者15(图8A)、患者16(图8B)和患者17(图8C)获取的骨髓芯活检组织中,通过IHC测定的PD-L1、PD1、CD3和FoxP3蛋白质表达水平。图8D和8E是一系列图像,其显示了在CART-BCMA施用前(“Pre”)以及输注后第10天和第28天,从患者19(图8D)和患者20(图8E)获取的活检组织中,通过IHC测定的PD1、PD-L1和FoxP3蛋白表达。

[0435] 图9是一系列图像,其显示了在CART-BCMA施用前(“Pre”)以及输注后第28天和第90天(“3个月”),从患者13、患者14、患者15、患者16和患者17获取的骨髓芯活检组织中,通过IHC测定的CD19蛋白表达。

[0436] 图10是一系列图像,其显示了在CART-BCMA施用前(“Pre”)以及输注后第28天和第90天(“3个月”),从患者13、患者14、患者15、患者16和患者17获取的骨髓芯活检组织中,通过IHC测定的CD20蛋白表达。

[0437] 图11A和11B是一系列未混合光谱的伪荧光显微图像,其显示了在CAR-BCMA施用前(“Pre”)和输注后第90天(“3M”),从患者15获取的骨髓芯活检组织中,BCMA阳性细胞和CD19阳性细胞是单独的群体。

[0438] 图12A和12B是一系列未混合光谱的伪荧光显微图像,其显示了在分别从患者15和

患者17获取的治疗前骨髓活检组织中存在CD19+CD34^{dim}细胞群。

[0439] 图13是一系列未混合光谱的伪荧光显微图像,其显示了在从患者15获取的治疗前骨髓活检组织中,CD19群体可变地为CD138+和CD138-。

[0440] 图14是如下的图,其比较了在植入和施用PBS、未转导的T细胞(“UTD”)或用工具CAR(“J6MO”)、BCMA-4、BCMA-9、BCMA-10(“MCM998”)、BCMA-13或BCMA-15转导的T细胞后,KMS11肿瘤模型中肿瘤负荷的水平。BCMA-10证明最有效力的抗肿瘤活性。

[0441] 图15是显示临床试验(NCT编号:NCT02546167;UPCC 14415)设计的图解,所述临床试验旨在评估在患有多发性骨髓瘤的成年患者中输注表达CART-BCMA的自体T细胞的安全性和可行性。

[0442] 图16A是显示MM患者疾病特征的表。图16B是显示在MM患者中由于疾病和既往疗法而存在基线淋巴细胞减少症的表。

[0443] 图17A、17B和17C是分别显示群组1、群组2和群组3的患者反应的图。

[0444] 图18A和18B是一系列图,其显示了分别在群组1患者和群组2/3患者中通过流式细胞术评价的CART-BCMA的扩增。

[0445] 图19A和19B是一系列图,其显示了分别在群组1患者和群组2/3患者中通过PCR评价的CART-BCMA的扩增。曲线图显示了在CART输注后的相应天(x轴),从患者血液中分离出的每 μg DNA中检测到的CART基因的数量(y轴)。

[0446] 图20A和20B是显示BCMA扩增可能与临床结果相关的图。

[0447] 图21A、21B、21C和21D是显示与无反应者相比,在有反应者中输注后不同时间点的CAR阳性(CAR+) CD4/CD8细胞的分数的图。

[0448] 图22是一系列图,其显示了在输注CART-BCMA后各个时间点的细胞因子表达水平的变化。每个图中的y轴显示从第0天起的倍数变化。每个图中的x轴显示CART-BCMA输注后的天数。

[0449] 图23A和23B是显示在输注CART-BCMA后各个时间点IL-6表达变化的图。每个图中的y轴显示从第0天起的倍数变化。每个图中的x轴显示CART-BCMA输注后的天数。

[0450] 图24A和24B是显示在输注CART-BCMA后各个时间点IFN- γ 表达变化的图。每个图中的y轴显示从第0天起的倍数变化。每个图中的x轴显示CART-BCMA输注后的天数。

[0451] 图25A和25B是显示14名正常供体(图25A)和12名骨髓瘤患者(图25B)中的BCMA血清水平的图。

[0452] 图26A、26B、26C和26D是显示在输注CART-BCMA后的各个时间点的血清BCMA水平的图。图26A和26B中的y轴显示外周血(PB)血清BCMA水平。图26C和26D中的y轴显示PB血清BCMA水平相对于基线的倍数变化。每个图中的x轴显示CART-BCMA输注后的天数。

[0453] 图27A、27B和27C是显示从接受CART-BCMA治疗的三名多发性骨髓瘤患者收集的数据的图。左侧的y轴显示CD4+或CD8+CART细胞的百分比。右侧的y轴显示通过qPCR评价的血清BCMA水平(ng/mL)或每 μg DNA的CART拷贝数(BBz)。

[0454] 图28A和28B是显示正常供体(图28A)和多发性骨髓瘤(MM)患者(图28B)的CD4+ T细胞亚群的图。图28C和28D是显示正常供体(图28C)和MM患者(图28D)的CD8+ T细胞亚群的图。图28E和28F是如下的图,其分别显示在从MM患者获取的单样品中的CD4+和CD8+ T细胞亚群(带斜杠的点代表无反应者,并且白色的点代表有反应者)。

[0455] 图29是一系列图,其显示了从MM患者获取的单样品中的T细胞分化。x轴显示CD45RO表达,并且y轴显示CCR7表达。左上象限中的信号指示幼稚细胞表型;右上象限中的信号指示中央记忆(T_{CM})表型;右下象限中的信号指示效应记忆(T_{EM})表型;左下象限中的信号指示 T_{EMRA} 。CR代表完全反应。PD代表疾病进展。VGPR代表非常好的部分反应。

[0456] 图30A和30B是一对图,其显示了在从MM患者获取的单样品中的CD4⁺和CD8⁺ T细胞亚群(带斜杠的点代表无反应者,并且白色的点代表有反应者)。

[0457] 图31是显示治疗方案的图。

[0458] 图32A、32B和32C是显示临床结果的一组图。图32A是斯怀默曲线图(Swimmer's plot showing),其显示了每个受试者的最好反应和无进展生存期(PFS)。箭头指示正在发生的反应。图32B是受试者03的一对PET/CT扫描图像,其显示了治疗后髓外疾病和恶性胸腔积液的消退。图32C是卡普兰-梅尔曲线图,其显示了群组1的总体生存率。MR=最小反应;MRD=最小残留病;PR=部分反应;PD=疾病进展;sCR=严格的完全反应;SD=疾病稳定。

[0459] 图33A、33B和33C是显示CART-BCMA扩增和持久性的一组图。图33A是一组图,其描绘了每个受试者外周血中随时间变化的CART-BCMA细胞水平,如通过流式细胞术(CD3⁺ T细胞内的%CAR⁺,▲,左轴)和CAR序列的定量PCR(■,右轴)所测量的。图33B为代表性的流式细胞术曲线图。图33B是如下的图,其显示了通过qPCR得到的峰值CART-BCMA水平与反应相关:≥PR与<PR的中位数分别为102507和4187个拷贝/ μg DNA ($p=0.016$,曼-惠特尼)。图33C是如下的图,其显示了AUC-28(在输注后的前28天期间通过qPCR得到的CART-BCMA水平的曲线下面积)与反应相关:≥PR与<PR的中位数分别为885181和26183(拷贝)(天)/ μg DNA ($p=0.016$,曼-惠特尼)。

[0460] 图34是一组图,其显示了CART-BCMA输注后的可溶性BCMA(sBCMA)、BAFF、APRIL水平和B细胞频率。对如上所指示的每个受试者通过ELISA在CART-BCMA输注之前和之后测量sBCMA、BAFF和APRIL的外周血血清水平(ng/ml ,左轴)。临床反应最深的受试者(01(sCR)、03(VGPR)、15(VGPR))的sBCMA下降最大,而BAFF和APRIL则对等增加。在指示的时间点通过流式细胞术评估外周血B细胞频率(CD45+CD14-门控的%CD19⁺,右轴)。

[0461] 图35是一组直方图,其显示了在CART-BCMA输注之前和之后通过流式细胞术在每个受试者的骨髓抽吸物中门控MM细胞上得到的BCMA表达。阴影直方图显示BCMA;实心直方图显示FMO(荧光减一)对照。除非另有说明,输注后的时间点是第28天。表37列出了每个受试者的表达BCMA的细胞的百分比以及平均BCMA荧光强度(MFI)。注意受试者03在复发时的BCMA表达降低(D164)。代表性门控见图42。

[0462] 图36A、36B、36C和36D是显示体内CART-BCMA扩增的预测因子的一组图。刚采集后的单采产物中(图36A)和开始制造时(即在用以减少单核细胞污染的淘洗步骤之后)的接种培养物中(图36B)的CD4⁺与CD8⁺ T细胞比率(CD4/CD8比率)通过流式细胞术确定。根据制造开始和结束时的总细胞计数计算体外倍数扩增(图36C)。通过流式细胞术评估单采产物中具有CD45RO-CD27⁺表型的CD8⁺ T细胞的比例(图36D)。制造前的CD4/CD8比率和CD45RO-CD27⁺CD8⁺ T细胞的频率以及体外扩增的程度与输注后体内CART-BCMA扩增的峰值相关(显示了斯皮尔曼相关系数 r 和 p -值)。

[0463] 图37是显示受试者登记的CONSORT图解。

[0464] 图38是显示CART-BCMA细胞的代表性门控和染色的一组图。显示了首次CART-BCMA

输注后+7天来自受试者01的外周血的染色。如下对细胞进行门控：通过前向和侧向散射，然后是单重态，然后是CD45+CD14-白细胞，然后是T细胞(CD3+CD19-)。使用生物素化的重组人BCMA-Fc和链霉亲和素-PE鉴定CART-BCMA+细胞。阴性对照是带有链霉亲和素-PE的FMO(荧光减一)管(缺少生物素化的BCMA-Fc)。通过从带有生物素化的BCMA-Fc的管中的CAR+细胞中减去FMO管中的CAR+细胞来计算表达CART-BCMA的CD3+ T细胞的%(即,在该实例中为 $34.7-0.9=33.8$)。通过对HLA-DR进行染色来鉴定CART-BCMA+细胞的激活状态(右下图)。通过将%HLA-DR+除以(%HLA-DR+加%HLA-DR-)来计算在每个时间点激活的CAR+细胞的%(即在该实例中为 $32.9/(32.9+1.5)=95.6\%$)。

[0465] 图39是显示每个受试者的CART-BCMA+ T细胞的绝对数量的一组图。使用以下公式： $(ALC) (\%CD45+CD14-) (\%CD3+CD19-) (\%CAR+)/10000$ ，根据绝对淋巴细胞计数(ALC,根据临床全血细胞计数(CBC)差异报告)和CART-BCMA流式细胞术结果(图38)估算每 μl 血液中CD3+CAR+细胞的绝对数量。例如,对于受试者01,在第7天,ALC为 0.08×10^3 个细胞/ μl 。在此时间点,循环CAR+ T细胞的绝对数量估算为 $(0.08) (48.3) (72.1) (33.8)/10000=0.019 \times 10^3$ 个细胞/ μl 。

[0466] 图40是显示CART-BCMA治疗后血清细胞因子变化的一组图。通过Luminex测定在多个时间点评估了30种外周血细胞因子的水平。描绘了在最初的28天中所选细胞因子的变化。反应最深的受试者(01、03、15)的细胞因子倍数增加最大,典型地在峰值CART-BCMA扩增时或紧临峰值CART-BCMA扩增之前。

[0467] 图41A和41B是一对图,其显示了基线可溶性BCMA(sBCMA)水平、峰值扩增和反应。治疗前通过ELISA测量sBCMA的外周血血清水平。图41A是如下的图,其显示基线sBCMA水平与通过qPCR得到的CART-BCMA的峰值扩增不显著相关(斯皮尔曼相关性 $r=0.43, p=0.25$)。图41B是如下的图,其显示sBCMA的基线水平与反应不显著相关($p=0.56$,曼-惠特尼检验)。

[0468] 图42是一组图,其显示了骨髓瘤细胞和BCMA染色的代表性门控。如下对骨髓抽吸物细胞进行门控:通过前向和侧向散射,然后通过单线态,然后在CD3-CD14-细胞上。如下来鉴定骨髓瘤细胞:首先通过在CD38^{hi}细胞上进行门控,然后通过使用CD19、CD56和 κ/λ 染色在克隆浆细胞上进行门控。在该实例中,骨髓瘤细胞是CD19-CD56+ κ 。使用缺少抗BCMA抗体的FMO管来确定%BCMA+。

[0469] 图43A和43B是一对图,其显示了显示基线MM细胞上BCMA表达、峰值扩增和反应。骨髓瘤细胞治疗前的BCMA平均荧光强度(MFI)与通过qPCR得到的峰值CART-BCMA扩增无相关性(斯皮尔曼相关性 $r=0.45, p=0.27$) (图43A),与反应也不显著相关($p=0.25$,曼-惠特尼检验) (图43B)。一名受试者(07)没有可用的治疗前样品。

[0470] 图44A和44B是显示了B细胞恶性细胞系上的BCMA表达的一组图。图44A是显示了每个细胞系上的BCMA表面表达的一组直方图。阴影直方图指示用PE标记的抗BCMA抗体进行的染色,并且实心直方图显示相应的同种型对照染色。在图44B中,对表达进行了定量,并针对测试的每种细胞系绘制抗体结合能力(ABC)曲线图。

[0471] 图45A是如下的图,其显示了诱导后群组和复发/难治群组中的CD27+CD45RO-CD8+细胞%。图45B是如下的图,其显示了诱导后群组和复发/难治群组中的CD4/CD8比率。图45C是如下的图,其显示了诱导后群组和复发/难治性群组中第9天的体外群体倍增。

[0472] 图46是显示治疗方案的图。BM asp/Bx=骨髓抽吸和活检;Cytosan=环磷酰胺;D

=天;Lenti=慢病毒;Wk=周。

[0473] 图47A-47C是一组斯怀默曲线图,其显示了在群组1(单独的 $1-5 \times 10^8$ CART-BCMA细胞)(图47A)、群组2(环磷酰胺(Cy)+ $1-5 \times 10^7$ CART-BCMA细胞)(图47B)和群组3(Cy+ $1-5 \times 10^8$ CART-BCMA细胞)(图47C)中,每个受试者的最好反应和无进展生存期(PFS)。箭头指示正在发生的反应。图47D是显示基于群组卡普兰-梅尔曲线图的总体存活率(OS)的图。MR=最小反应;MRD=最小残留病;PR=部分反应;PD=疾病进展;sCR=严格的完全反应;SD=疾病稳定。

[0474] 图48A-48D是显示CART-BCMA扩增和持久性的图。图48A-48C是显示每个群组的外周血中随时间变化的CART-BCMA细胞水平(如通过CAR序列的定量PCR所测量的)的图。图48D是显示每个受试者(受试者34除外,无法获得该受试者的峰值数据)通过qPCR得到的峰值CART-BCMA水平的图。各群组之间的中位峰值CART-BCMA水平(灰色条)无显著差异(曼-惠特尼)。

[0475] 图49A-49I是显示与CRS严重程度和神经毒性相关的血清细胞因子的图。通过Luminex测定测量了直至第28天的血清细胞因子浓度,以pg/ml计。图49A-49E:在未接受托珠单抗的没有细胞因子释放综合征(CRS)、1级CRS或2级CRS的受试者(0-2级CRS)与接受托珠单抗的3-4级CRS或2级CRS的受试者(3-4级或2级CRS+托珠单抗)之间,比较了每种细胞因子的相对于基线的峰值倍数增加中位数。与CRS严重程度最显著相关的细胞因子是IL-6(图49A)、IFN- γ (图49B)、IL-2R α (图49C)、MIP-1 α (图49D)和IL-15(图49E)。图49F-49I:在没有神经毒性的受试者(无Ntx)和具有任何等级的神经毒性的受试者(任何Ntx)之间,比较了每种细胞因子的相对于基线的峰值倍数增加中位数。与神经毒性最显著相关的细胞因子是IL-6(图49F)、IFN- γ (图49G)、IL-1RA(图49H)和MIP-1 α (图49I)。星形描绘有3-4级神经毒性的受试者。显示了通过曼-惠特尼检验得出的精确p-值。水平线描绘中位数。IFN- γ =干扰素 γ ;IL-1RA=白介素1受体拮抗剂;IL-2R α =白介素2受体 α ;IL-6=白介素6;IL-15=白介素15。MIP-1 α =巨噬细胞炎性蛋白1 α 。

[0476] 图50A-50D是如下的图,其显示在CART-BCMA输注之前和之后可溶性BCMA(sBCMA)、BAFF和APRIL浓度以及在MM细胞上的BCMA表达。图50A:与一组健康供体(HD,n=6)相比,受试者(sub)的sBCMA和APRIL的基线外周血血清浓度分别显著增加和降低($p=0.017$, <0.001 ,曼-惠特尼)。基线BAFF浓度没有显著差异。描绘了中位浓度。图50B:CART-BCMA输注后血液学有反应者(PR/VGPR/CR/sCR)比无反应者(MR/SD/PD)中连续sBCMA浓度下降更显著。描绘了平均浓度(ng/ml)+SEM。*根据非配对t检验 $p<0.05$ 。图50C:通过流式细胞术得到的MM细胞上的BCMA表达的代表性实例。门控策略见图42。FMO=荧光减一。图50D:在18名受试者的可评价的连续骨髓抽吸物中,MM细胞上随时间变化的BCMA平均荧光强度(MFI)。有反应者在治疗前(pre-tx)和第28天(D28)(4000对比944, $p=0.02$,配对t检验)之间的中位MFI有显著差异,而无反应者则没有(2704对比2140, $p=0.19$)。有反应者在治疗前和第90天(D90)之间的中位MFI无显著差异(4000对比2022, $p=0.26$)。*受试者15在D28没有可检测到的MM细胞。#受试者03在D45没有可检测到的MM细胞(D28未进行),在D90的MM细胞太少,无法表征。描绘了在D90时间点的D164骨髓。

[0477] 图51A-51I是显示体内CART-BCMA扩增和反应的预测因子的图。通过qPCR测量的峰值血液CART-BCMA扩增(图51A)以及前28天的总CART-BCMA扩增(以曲线下面积(AUC)计算)

(图51B)均与临床反应相关。较高的峰值CART-BCMA扩增(图51C)和反应(图51D)也与定义为需要托珠单抗的3/4级或2级的更严重的CRS相关。通过流式细胞术确定的白细胞单采产物中更高的CD4⁺与CD8⁺ T细胞比率(CD4/CD8比率)也与峰值扩增(图51E)和反应(图51F)相关,而在制造过程中测量为接种细胞的倍数增加的体外增殖仅与峰值扩增相关(图51G),而与反应无关($p=0.54$,曼-惠特尼检验,数据未显示)。图51H-I:白细胞单采产物中具有CD45RO-CD27⁺表型的CD8⁺ T细胞的更高比例与峰值CART-BCMA扩增显著相关(图51H),并且在较低程度上与反应相关(图51I)。对于图51A、51B、51C、51F和51I,通过曼-惠特尼检验进行分析;线代表中位值。对于图51D,通过费希尔精确检验进行分析。对于图51E、51G和51H,通过斯皮尔曼相关性进行分析。

[0478] 图52是显示受试者登记的CONSORT图解。ALC=绝对淋巴细胞计数。

[0479] 图53A-53D是显示经治疗的受试者的另外的临床结果的图。图53A:具有部分反应(PR)或更好的所有受试者的反应持续时间(DOR)。图53B:所有受试者的总生存率(OS)。图53C:按群组的无进展生存期(PFS)。图53D:所有受试者的PFS。通过卡普兰-梅尔方法得出的曲线。

[0480] 图54A-54C是显示群组1(图54A)、群组2(图54B)或群组3(图54C)的CART-BCMA细胞的扩增的图。描绘了每个受试者的所有外周血CD3⁺ T细胞内CAR⁺ T细胞的频率,如通过流式细胞术所测量的。

[0481] 图55是显示在CART-BCMA治疗后血清细胞因子变化的一组图。通过Luminex测定在多个时间点评估了外周血细胞因子的浓度(pg/ml)。按群组显示了输注后最初28天中最频繁升高的细胞因子相对于基线的峰值倍数增加。

[0482] 图56A-56L是显示峰值CART-BCMA扩增与基线临床特征、基线BCMA表达或sBCMA浓度无关的图。通过qPCR得到的峰值CART-BCMA水平(拷贝数/ μ g基因组DNA)与以下因素不显著相关:登记时的年龄(中位数以上或以下)(图56A);自诊断起的年数(中位数以上或以下)(图56B);通过FISH发现的de117p的存在或通过测序发现的TP53突变(图56C);治疗线的数量(#)(中位数以上或以下)(图56D);对2种蛋白酶体抑制剂(PI)、2种免疫调节药物(IMiD)和达雷木单抗(dara)具有五重难治性(图56E);在恰白细胞单采术之前接受包含IMiD(图56F)、PI(图56G)、达雷木单抗(图56H)或环磷酰胺(Cytoxan)(图56I)的疗法;治疗前的骨髓浆细胞的百分比(%BM PC)(图56J);BM PC上的基线BCMA平均荧光强度(MFI)(图56K);或基线血清可溶性BCMA(sBCMA)浓度(图56L)。对于图56A-56I,通过曼-惠特尼检验进行分析;线代表中位值。对于图56J-56L,通过斯皮尔曼相关性进行分析。

[0483] 图57A-57L是显示反应与基线临床特征、基线BCMA表达或sBCMA浓度无关的图。临床反应(\geq 部分反应(PR))与以下因素不显著相关:登记时的年龄(图57A);自诊断起的年数(图57B);通过FISH发现的de117p的存在或通过测序发现的TP53突变(图57C);治疗线的数量(#)(图57D);对2种蛋白酶体抑制剂(PI)、2种免疫调节药物(IMiD)和达雷木单抗(dara)具有五重难治性(图57E);在恰白细胞单采术之前接受包含IMiD、PI、达雷木单抗或环磷酰胺(Cytoxan)(图57F-57I)的方案;治疗前的骨髓浆细胞的百分比(%BMPC)(图57J);BM PC上的基线BCMA平均荧光强度(MFI)(图57K);或基线血清可溶性BCMA(sBCMA)浓度(图57L)。对于图57C、57E-57I,通过费希尔精确检验进行分析。对于图57A、57B、57D、57J-57L,通过曼-惠特尼检验进行分析;线代表中位值。

具体实施方式

[0484] 定义

[0485] 除非另外定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有本发明所属领域的普通技术人员通常所理解的相同的含义。

[0486] 如本文所用的,所述术语“BCMA”是指B细胞成熟抗原。BCMA(也称为TNFRSF17,BCM或CD269)是肿瘤坏死受体(TNFR)家族的成员,并且主要在终末分化的B细胞(例如记忆B细胞)和浆细胞上表达。其配体称为TNF家族(BAFF)的B细胞激活物和增殖诱导配体(APRIL)。BCMA参与介导浆细胞的存活以维持长期体液免疫。BCMA的基因在16号染色体上编码,产生长度为994个核苷酸的初级mRNA转录物(NCBI登录号NM_001192.2),其编码184个氨基酸的蛋白质(NP_001183.2)。已经描述了衍生自BCMA基因座的第二反义转录物,其可以在调节BCMA表达中起作用。(Laabi Y.等人,Nucleic Acids Res.[核酸研究],1994,22:1147-1154)。已经描述了具有未知意义的另外的转录物变体(Smirnova AS等人Mol Immunol.[分子免疫学],2008,45(4):1179-1183。已经鉴定出第二同种型,也称为TV4(Uniprot标识Q02223-2)。如本文所用,“BCMA”包括含有突变例如点突变的蛋白质,全长野生型BCMA的片段、插入、缺失和剪接变体。

[0487] 如本文所用,术语“CD19”是指分化簇19蛋白,它是在白血病前体细胞上可检测的抗原决定簇。人和鼠氨基酸和核酸序列可以在公共数据库中找到,例如GenBank、UniProt和Swiss-Prot。例如,人CD19的氨基酸序列可以作为UniProt/Swiss-Prot登录号P15391找到,并且编码人CD19的核苷酸序列可以登录号NM_001178098找到。如本文所用,“CD19”包括含有突变的蛋白质,例如全长野生型CD19的点突变、片段、插入、缺失和剪接变体。CD19在大多数B谱系癌症(包括例如急性淋巴母细胞白血病、慢性淋巴细胞性白血病和非霍奇金淋巴瘤)上表达。具有表达CD19的其他细胞在下文“与CD19表达相关的疾病”的定义中提供。它也是B细胞祖细胞的早期标记物。参见例如,Nicholson等人Mol. Immunol.[分子免疫学]34(16-17):1157-1165(1997)。在一个方面,CART的抗原结合部分识别并结合CD19蛋白的细胞外结构域内的抗原。在一个方面,CD19蛋白在癌细胞上表达。

[0488] 术语“一个/种(a/an)”是指一个/种或多于一个/种(即,至少一个/种)该冠词的语法宾语。通过举例,“一个元件”意指一个元件或多于一个元件。

[0489] 当指可测量的值如量、时距等时,术语“约”意在涵盖与规定值 $\pm 20\%$ 或在一些情况下 $\pm 10\%$ 、或在一些情况下 $\pm 5\%$ 、或在一些情况下 $\pm 1\%$ 、或在一些情况下 $\pm 0.1\%$ 的变化,因为此类变化适于进行所披露的方法。

[0490] 术语“嵌合抗原受体”或者“CAR”是指重组多肽构建体,所述重组多肽构建体至少包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和包含源自如下定义的刺激分子的功能性信号传导结构域的胞质信号传导结构域(本文还称为“细胞内信号传导结构域”)。在一些实施例中,CAR多肽构建体中的结构域在同一多肽链中,例如包含嵌合融合蛋白。在一些实施例中,例如,如在如本文所述的RCAR中所提供,CAR多肽构建体中的结构域彼此不连续,例如在不同的多肽链中。

[0491] 在一个方面中,CAR的刺激分子是与T细胞受体复合物相关的 ζ 链。在一个方面,胞质信号传导结构域包含初级信号传导结构域(例如CD3- ζ 的初级信号传导结构域)。在一个方面,胞质信号传导结构域进一步包含源自如下定义的至少一种共刺激分子的一个或多个

功能性信号传导结构域。在一个方面,共刺激分子选自4 1BB(即CD137)、CD27、ICOS、和/或CD28。在一个方面,CAR包含嵌合融合蛋白(其包含细胞外抗原识别结构域)、跨膜结构域和细胞内信号传导结构域(其包含衍生自刺激分子的功能信号传导结构域)。在一个方面,CAR包含嵌合融合蛋白(其包含细胞外抗原识别结构域)、跨膜结构域和细胞内信号传导结构域(其包含衍生自共刺激分子的功能信号传导结构域和衍生自刺激分子的功能信号传导结构域)。在一个方面,CAR包含嵌合融合蛋白(其包含细胞外抗原识别结构域)、跨膜结构域和细胞内信号传导结构域(其包含衍生自一种或多种共刺激分子的两个功能信号传导结构域和衍生自刺激分子的功能信号传导结构域)。在一个方面,CAR包含嵌合融合蛋白(其包含细胞外抗原识别结构域)、跨膜结构域和细胞内信号传导结构域(其包含衍生自一种或多种共刺激分子的至少两个功能信号传导结构域和衍生自刺激分子的功能信号传导结构域)。在一个方面,CAR包含CAR融合蛋白的氨基末端(N-ter)处的任选前导序列。在一个方面,CAR还包含在细胞外抗原识别结构域的N末端的前导序列,其中前导序列任选地在细胞加工和CAR定位至细胞膜期间从抗原识别结构域(例如,scFv)切割。

[0492] 包含靶向特定肿瘤标记物X的抗原结合结构域(例如,scFv(单结构域抗体)或TCR(例如,TCR α 结合结构域或TCR β 结合结构域))的CAR(其中X可以是如本文所述的肿瘤标记物)也称为XCAR。例如,包含靶向BCMA的抗原结合结构域的CAR被称为BCMACAR。CAR可以在任何细胞中表达,例如,如本文所述的免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)。

[0493] 术语“信号传导结构域”是指蛋白质的功能性部分,其通过在细胞内传递信息以通过产生第二信使或通过响应于此类信使而用作效应子,经由定义的信号传导途径调控细胞活性起作用。

[0494] 如本文所用,术语“抗体”是指源自免疫球蛋白分子的蛋白质或多肽序列,该蛋白质或多肽序列与抗原特异性结合。抗体可以是多克隆或单克隆、多链或单链、或完整免疫球蛋白,并且可以衍生自天然来源或来自重组来源。抗体可以是免疫球蛋白分子的四聚体。

[0495] 术语“抗体片段”是指完整抗体或其重组变体的至少一部分,并且是指足以赋予抗体片段识别和特异性结合靶标(如抗原)的抗原结合结构域(例如完整抗体的抗原决定可变区)。抗体片段的实例包括但不限于Fab、Fab'、F(ab')₂和Fv片段、scFv抗体片段、线性抗体、单结构域抗体(如sdAb(VL或VH))、骆驼科VHH结构域和由如二价片段的抗体片段形成的多特异性分子,该二价片段包含在铰链区通过二硫桥连接的两个或更多个(例如两个)Fab片段,或所连接的抗体的两个或更多个(例如两个)分离的CDR或其他表位结合片段。抗体片段也可以掺入单结构域抗体、多抗体、微抗体、纳米抗体、细胞内抗体、双抗体、三抗体、四抗体、v-NAR和双scFv中(参见例如,Hollinger和Hudson,Nature Biotechnology[自然生物技术]23:1126-1136,2005)。还可以将抗体片段移植到基于多肽如纤连蛋白III型(Fn3)的支架中(参见美国专利号6,703,199,其描述了纤连蛋白多肽微型抗体)。

[0496] 术语“scFv”是指融合蛋白,该融合蛋白包含至少一个包含轻链可变区的抗体片段和至少一个包含重链可变区的抗体片段,其中该轻链和重链可变区通过短的柔性多肽接头连续地连接,并且能够表达为单链多肽,并且其中该scFv保留了衍生其的完整抗体的特异性。除非另有说明,否则如本文所用,scFv可以例如相对于多肽的N末端和C末端以任何顺序具有VL和VH可变区,所述scFv可以包含VL-接头-VH或者可以包含VH-接头-VL。

[0497] 如本文所用,所述术语“互补决定区”或“CDR”是指赋予抗原特异性和结合亲和力

的抗体可变区内的氨基酸的序列。例如,一般来说,每个重链可变区中存在三个CDR(例如HCDR1、HCDR2、和HCDR3),并且每个轻链可变区中存在三个CDR(LCDR1、LCDR2、和LCDR3)。给定CDR的精确氨基酸序列边界可以使用许多众所周知的方案中的任一种来确定,这些方案包括由以下文献描述的那些:Kabat等人(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest”[具有免疫学重要性的蛋白序列],第5版,美国国立卫生研究院,公共卫生事业部,马里兰州贝塞斯达市(“Kabat”编号方案);Al-Lazikani等人,(1997) JMB 273,927-948(“Chothia”编号方案)、或其组合。在Kabat编号方案下,在一些实施例中,重链可变结构域(VH)中的CDR氨基酸残基编号为31-35(HCDR1)、50-65(HCDR2)和95-102(HCDR3);轻链可变结构域(VL)中的CDR氨基酸残基编号为24-34(LCDR1)、50-56(LCDR2)和89-97(LCDR3)。在Chothia编号方案下,在一些实施例中,将VH中的CDR氨基酸编号为26-32(HCDR1)、52-56(HCDR2)和95-102(HCDR3);并且将VL中的CDR氨基酸残基编号为26-32(LCDR1)、50-52(LCDR2)和91-96(LCDR3)。在组合的Kabat和Chothia编号方案中,在一些实施例中,CDR对应于为Kabat CDR、Chothia CDR或两者的一部分的氨基酸残基。例如,在一些实施例中,这些CDR对应于VH(例如哺乳动物VH,例如人VH)中的氨基酸残基26-35(HCDR1)、50-65(HCDR2)和95-102(HCDR3),以及VL(例如哺乳动物VL,例如人VL)中的氨基酸残基24-34(LCDR1)、50-56(LCDR2)和89-97(LCDR3)。

[0498] 包含抗体或其抗体片段的本发明的CAR组合物的部分可以以多种形式存在,例如其中抗原结合结构域表达为多肽链(包括例如单结构域抗体片段(sdAb)、单链抗体(scFv),或例如人源化抗体)的一部分(Harlow等人,1999,于:Using Antibodies:A Laboratory Manual[使用抗体:实验室手册],Cold Spring Harbor Laboratory Press[冷泉港实验室出版社],NY[纽约];Harlow等人,1989,于:Antibodies:A Laboratory Manual[抗体:实验室手册],Cold Spring Harbor[冷泉港],New York[纽约];Houston等人,1988, Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]85:5879-5883;Bird等人,1988, Science[科学]242:423-426)。在一个方面,本发明的CAR组合物的抗原结合结构域包含抗体片段。在另一个方面,CAR包含含有scFv的抗体片段。

[0499] 如本文所用,术语“结合结构域”或“抗体分子”(在本文中也称为“抗靶标(例如,BCMA)结合结构域”)是指包含至少一个免疫球蛋白可变结构域序列的蛋白质,例如免疫球蛋白链或其片段。术语“结合结构域”或“抗体分子”涵盖抗体和抗体片段。在一个实施例中,抗体分子是多特异性抗体分子,例如其包含多个免疫球蛋白可变结构域序列,其中所述多个中的第一免疫球蛋白可变结构域序列对第一表位具有结合特异性并且所述多个中的第二免疫球蛋白可变结构域序列对第二表位具有结合特异性。在一个实施例中,多特异性抗体分子是双特异性抗体分子。双特异性抗体对不多于两种抗原具有特异性。双特异性抗体分子的特征在于具有对第一表位的结合特异性的第一免疫球蛋白可变结构域序列、和具有对第二表位的结合特异性的第二免疫球蛋白可变结构域序列。术语“抗体重链”是指抗体分子中天然存在的构象中存在的两种类型多肽链中较大的一种,并且通常决定抗体所属的类别。

[0500] 术语“抗体轻链”是指抗体分子中天然存在的构象中存在的两种类型多肽链中较小的一种。 κ (kappa) 和 λ (lambda) 轻链是指两种主要的抗体轻链同种型。

[0501] 术语“重组抗体”是指使用重组DNA技术产生的抗体,例如像由噬菌体或酵母表达

系统表达的抗体。该术语还应解释为意指通过合成编码抗体的DNA分子和表达抗体蛋白的DNA分子或指定抗体的氨基酸序列产生的抗体,其中该DNA或氨基酸序列已经使用本领域可得和熟知的重组DNA或氨基酸序列技术获得。

[0502] 术语“抗原”或“Ag”是指引起免疫反应的分子。免疫反应可以涉及抗体产生或特定免疫活性细胞的激活或两者。技术人员将理解实际上包括所有蛋白质或肽的任何大分子都可以充当抗原。此外,抗原可以衍生自重组或基因组DNA。技术人员将理解包含编码引发免疫反应的蛋白质的核苷酸序列或部分核苷酸序列的任何DNA都因此编码“抗原”(当该术语在本文中使用时)。此外,本领域技术人员将理解抗原不需要仅由基因的全长核苷酸序列编码。显而易见的是,本发明包括但不限于使用多于一种基因的部分核苷酸序列,并且这些核苷酸序列以各种组合排列以编码引发所希望的免疫反应的多肽。另外,技术人员将理解抗原根本不需要由“基因”编码。显而易见的是,抗原可以合成产生或可以衍生自生物样品,或者可以是除多肽外的大分子。这种生物样品可以包括但不限于组织样品、肿瘤样品、细胞或具有其他生物组分的流体。

[0503] 术语“抗肿瘤作用”是指可以通过各种手段(包括但不限于例如减小肿瘤体积、减少肿瘤细胞数量、减少肿瘤转移数量、增加预期寿命、减少肿瘤细胞增殖、减少肿瘤细胞存活、或改善与癌性病征相关的各种生理症状)表现的生物学作用。“抗肿瘤作用”也可以通过本发明的肽、多核苷酸、细胞和抗体首先预防肿瘤发生的能力来表现。

[0504] 术语“抗癌作用”是指可以通过各种手段显现的生物学作用,包括但不限于例如肿瘤体积减少、癌细胞数量减少、转移数量减少、预期寿命延长、癌细胞增殖减少、癌细胞存活率降低、或改善与癌症相关的各种生理症状。“抗癌作用”还可以通过肽、多核苷酸、细胞和抗体首先预防癌症发生的能力来显现。术语“抗肿瘤作用”是指可以通过各种手段显现的生物学作用,包括但不限于例如肿瘤体积减少、肿瘤细胞数量减少、肿瘤细胞增殖减少、或肿瘤细胞存活率降低。术语“自体的”是指衍生自与后来将其重新引入个体中的同一个体的任何材料。

[0505] 术语“同种异体的”是指衍生自与引入材料的个体相同的物种的不同动物的任何材料。当一个或多个基因座处的基因不相同,称两个或更多个体彼此是同种异体的。在一些方面,来自相同物种的个体的同种异体材料可以在遗传上充分不同以抗原性地相互作用。

[0506] 术语“异种的”是指源自不同物种的动物的移植体。

[0507] 如本文所用,术语“单采血(apheresis)”是指本领域公认的体外过程,通过该过程,供体或患者的血液从该供体或患者移出并穿过分离出一种或多种所选择的特定成分的装置,并返回其余部分至该供体或患者的循环(例如,通过再输送)。因此,在“单采样品”的上下文中是指使用单采获得的样品。

[0508] 术语“组合”是指呈一个剂量单位形式的固定组合;或组合施用,其中本发明的化合物与组合配偶物(partner)(例如下文所解释的另一种药物,也称为“治疗剂”或“共药剂(co-agent)”)可以在同一时间独立地施用或在时间间隔内分开地施用,特别是在这些时间间隔允许组合配偶物显示协作(例如协同)效应的情况下。单个组分可以包装在一个试剂盒中或分开包装。可在施用之前将一种或两种组分(例如粉末或液体)重构或稀释至所需剂量。如本文所用,术语“共同施用”或“组合施用”等意指涵盖向有需要的单个受试者(例如患

者)施用所选择的组合配偶物,并且旨在包括其中药剂不一定通过相同的施用途径施用或同时施用的治疗方案。如本文所用的术语“药物组合”意指由多于一种活性成分的混合或组合所产生的产品,并且包括活性成分的固定和非固定组合两者。术语“固定组合”意指活性成分(例如本发明的化合物和组合配偶体)以单一实体或剂量的形式同时地施用给患者。术语“非固定组合”意指活性成分(例如本发明的化合物和组合配偶体)作为分开的实体同时地、并行地或顺序地施用给患者(没有特定的时间限制),其中这种施用在患者体内提供治疗有效水平的两种化合物。后者也适用于鸡尾酒疗法,例如三种或更多种活性成分的施用。

[0509] 术语“癌症”是指以异常细胞的快速和不受控制的生长为特征的疾病。癌细胞可以局部或通过血流和淋巴系统扩散到身体的其他部位。本文描述了各种癌症的实例,并且包括但不限于乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌、宫颈癌、皮肤癌、胰腺癌、结肠直肠癌、肾癌、肝癌、脑癌、淋巴瘤、白血病、肺癌等。通过本文所述的方法治疗的优选的癌症包括多发性骨髓瘤、霍奇金淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤。

[0510] 术语“肿瘤”和“癌症”在本文中可互换使用,例如,这两个术语包括实体和液体,例如弥散或循环肿瘤。如本文所用,所述术语“癌症”或“肿瘤”包括恶化前以及恶性癌症和肿瘤。

[0511] “衍生自”(当该术语在本文中使用时)指示第一分子和第二分子之间的关系。它通常是指第一分子和第二分子之间的结构相似性,并不暗示或包括对源自第二分子的第一分子的过程或来源的限制。例如,在衍生自CD3 ζ 分子的细胞内信号传导结构域的情况下,细胞内信号传导结构域保留足够的CD3 ζ 结构,使得其具有所需的功能,即在适当条件下产生信号的能力。它没有暗示或包括对产生细胞内信号传导结构域的特定过程的限制,例如,它并不意指为了提供细胞内信号传导结构域,必须从CD3 ζ 序列开始并删除不需要的序列,或强加突变,以到达细胞内信号传导结构域。

[0512] 短语“与BCMA表达相关的疾病”包括但不限于与表达BCMA(例如野生型或突变型BCMA)的细胞相关的疾病或与表达BCMA(例如野生型或突变型BCMA)的细胞相关的病症,包括例如增殖性疾病(如癌症或恶性肿瘤)或癌前病症(如骨髓增生异常、骨髓增生异常综合征或白血病前期);或者与表达BCMA(例如野生型或突变型BCMA)的细胞相关的非癌症相关适应症。为避免疑义,与BCMA表达相关的疾病可包括与目前不表达BCMA(例如,因为比如由于用靶向BCMA的分子例如本文所述的BCMA抑制剂进行治疗导致BCMA表达已被下调)但曾经表达BCMA的细胞相关的病症。在一个方面,与BCMA(例如野生型或突变型BCMA)表达相关的癌症是血液癌。在一个方面,该血液癌症是白血病或淋巴瘤。在一个方面,与BCMA(例如野生型或突变型BCMA)表达相关的癌症是分化的血浆B细胞的恶性肿瘤。在一个方面,与BCMA(例如野生型或突变型BCMA)表达相关的癌症包括癌症和恶性肿瘤,包括但不限于:例如一种或多种急性白血病,其包括但不限于例如B细胞急性淋巴细胞性白血病(“BALL”)、T细胞急性淋巴细胞性白血病(“TALL”)、急性淋巴细胞性白血病(ALL);一种或多种慢性白血病,包括但不限于例如慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)。与BCMA(例如野生型或突变型BCMA)表达相关的另外的癌症或血液病症包括但不限于例如B细胞幼淋巴细胞性白血病、母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤、伯基特淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞性白血病、小细胞或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴组织增生症、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常和骨髓增生异常综合征、非

霍奇金淋巴瘤、浆母细胞性淋巴瘤、浆细胞样树突细胞肿瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、和“白血病前期”（这是由髓系血细胞的无效产生(或发育不良)联合的血液病症的多样化集合)等等。在一些实施例中，癌症是多发性骨髓瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤或胶质母细胞瘤。在实施例中，与BCMA表达相关的疾病包括浆细胞增殖性障碍，例如无症状骨髓瘤(冒烟型多发性骨髓瘤或惰性骨髓瘤)、意义未明的单克隆丙种球蛋白病(MGUS)、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、浆细胞瘤(例如恶性浆细胞病、单发性骨髓瘤、单发性浆细胞瘤、髓外浆细胞瘤和多发性浆细胞瘤)、系统性淀粉样蛋白轻链淀粉样变性、和POEMS综合征(也称为克罗-富克斯综合征、高月病、和PEP综合征)。与BCMA表达相关的其他疾病(例如野生型或突变型BCMA)表达包括但不限于例如非典型和/或非经典癌症、恶性肿瘤、与BCMA的表达相关的癌前病症或增殖性疾病(例如野生型或突变型BCMA)，例如本文所述的癌症，例如前列腺癌(例如去势抗性治疗抗性前列腺癌或转移前列腺癌)、胰腺癌、或肺癌。

[0513] 与BCMA(例如野生型或突变BCMA)相关的非癌症相关病症包括病毒感染，例如，HIV；真菌感染，例如新型隐球菌(*C. neoformans*)；自身免疫性疾病，例如类风湿关节炎、系统性红斑狼疮(SLE或狼疮)、寻常型天疱疮和干燥综合征；炎症性肠病、溃疡性结肠炎；与粘膜免疫有关的移植有关同种异体免疫障碍；以及对其中体液免疫很重要的生物制剂(例如因子VIII)的有害免疫反应。在实施例中，与BCMA表达相关的非癌症相关适应症包括但不限于例如自身免疫性疾病(例如狼疮)、炎症障碍(变态反应和哮喘)和移植。在一些实施例中，表达肿瘤抗原的细胞表达或在任何时间表达编码肿瘤抗原的mRNA。在一个实施例中，表达肿瘤抗原的细胞产生肿瘤抗原蛋白(例如野生型或突变体)，并且肿瘤抗原蛋白可以以正常水平或降低的水平存在。在一个实施例中，表达肿瘤抗原的细胞在一个时间点产生可检测水平的肿瘤抗原蛋白，并且随后基本上不产生可检测的肿瘤抗原蛋白。

[0514] 术语“保守序列修饰”是指不显著影响或改变含有氨基酸序列的抗体或抗体片段的结合特征的氨基酸修饰。此类保守修饰包括氨基酸取代、添加和缺失。可以通过本领域已知的标准技术(如定点诱变和PCR介导的诱变)将修饰引入本发明的抗体或抗体片段中。保守置换是其中氨基酸残基被具有相似侧链的氨基酸残基置换的置换。具有类似侧链的氨基酸残基的家族已在本领域中进行了定义。这些家族包括具有以下项的氨基酸：碱性侧链(例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如天冬氨酸、谷氨酸)、不带电荷的极性侧链(例如甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸、色氨酸)、非极性的侧链(例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸)、 β -分支侧链(例如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)、以及芳香族侧链(例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。因此，本发明的CAR内的一个或多个氨基酸残基可以被来自相同侧链家族的其他氨基酸残基替代，并且可以使用本文描述的功能测定测试改变的CAR。

[0515] 术语“刺激”是指通过刺激分子(例如，TCR/CD3复合物)与其同源配体的结合诱导初级反应，从而介导信号转导事件，如但不限于经由TCR/CD3复合物的信号转导。刺激可以介导某些分子的改变的表达，如TGF- β 的下调、和/或细胞骨架结构的重构等。

[0516] 术语“刺激分子”是指由T细胞表达的分子，其针对T细胞信号传导途径的至少一方面提供以刺激方式调节TCR复合物的初级激活的一个或多个初级胞质信号传导序列。在一些实施例中，CAR内的含ITAM的结构域独立于内源性TCR复合物重现初级TCR的信号传导。在一个方面，初级信号通过例如TCR/CD3复合物与负载肽的MHC分子的结合而引发，并且其

导致T细胞反应(包括但不限于增殖、激活、分化等)的介导。以刺激方式起作用的初级胞质信号传导序列(也称为“初级信号传导结构域”)可以含有被称为基于免疫受体酪氨酸的激活基序或ITAM的信号传导基序。在本发明中特别有用的含有ITAM的初级胞质信号传导序列的实例包括但不限于源自TCR ζ 、FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD5、CD22、CD79a、CD79b、CD278(也称为“ICOS”)、Fc ϵ RI和CD66d、DAP10和DAP12的那些。在本发明的特定CAR中,本发明的任何一种或多种CAR中的细胞内信号传导结构域包含细胞内信号传导序列,例如CD3- ζ 的初级信号传导序列。术语“抗原呈递细胞”或“APC”是指免疫系统细胞如辅助细胞(例如,B细胞、树突细胞等),所述免疫系统细胞在其表面上展示与主要组织相容性复合物(MHC)复合的外源抗原。T细胞可以使用它们的T细胞受体(TCR)识别这些复合物。APC处理抗原并将它们呈递给T细胞。

[0517] 如本文所用的术语“细胞内信号传导结构域”是指分子的细胞内部分。在实施例中,细胞内信号结构域转导效应功能信号并指导细胞执行特化功能。虽然可以采用整个细胞内信号传导结构域,但在许多情况下不必使用整个链。就使用细胞内信号传导结构域的截短部分而言,可以使用这种截短部分代替完整链,只要截短部分可转导效应子功能信号即可。因此,术语细胞内信号传导结构域意在包括足以转导效应子功能信号的细胞内信号传导结构域的任何截短部分。

[0518] 细胞内信号传导结构域产生信号,该信号促进含有CAR的细胞(例如CART细胞)的免疫效应子功能。免疫效应子功能的实例,例如在CART细胞中,包括细胞溶解活性和辅助活性(包括分泌细胞因子)。

[0519] 在一个实施例中,细胞内信号传导结构域可以包含初级细胞内信号传导结构域。示例性初级细胞内信号传导结构域包含衍生自负责初级刺激、或抗原依赖性模拟的分子的那些。在一个实施例中,细胞内信号传导结构域可以包含共刺激细胞内结构域。示例性共刺激细胞内信号传导结构域包含衍生自负责共刺激信号、或抗原非依赖性刺激的分子的那些。例如,在CART的情况下,初级细胞内信号传导结构域可以包括T细胞受体的胞质序列,并且共刺激细胞内信号传导结构域可以包括来自共受体或共刺激分子的胞质序列。

[0520] 初级细胞内信号传导结构域可以包含被称为基于免疫受体酪氨酸的激活基序或ITAM的信号传导基序。含有ITAM的初级胞质信号传导序列的实例包括但不限于源自CD3 ζ 、FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD5、CD22、CD79a、CD79b、CD278(也称为“ICOS”)、Fc ϵ RI、CD66d、DAP10和DAP12的那些。

[0521] 术语“ ζ ”或者“ ζ 链”、“CD3- ζ ”或“TCR- ζ ”是指CD247。Swiss-Prot登录号P20963提供了示例性的人CD3 ζ 氨基酸序列。“ ζ 刺激结构域”或者“CD3- ζ 刺激结构域”或“TCR- ζ 刺激结构域”是指CD3- ζ 或其变体的刺激结构域(例如,具有突变(例如,点突变)、片段、插入或缺失的分子)。在一个实施例中, ζ 的胞质结构域包含GenBank登录号BAG36664.1或其变体的残基52至164(例如,具有突变(例如,点突变)、片段、插入或缺失的分子)。在一个实施例中,“ ζ 刺激结构域”或“CD3- ζ 刺激结构域”是SEQ ID NO:1027或1030提供的序列或其变体(例如,具有突变(例如,点突变)、片段、插入或缺失的分子)。

[0522] 术语“共刺激分子”是指T细胞上的同源结合配偶体,该同源结合配偶体与共刺激配体特异性地结合,从而介导T细胞的共刺激反应,如但不限于增殖。共刺激分子是有效免疫反应所需的除抗原受体或其配体以外的细胞表面分子。共刺激分子包括但不限于MHC I

类分子、TNF受体蛋白、免疫球蛋白样蛋白、细胞因子受体、整联蛋白、信号传导淋巴细胞激活分子(SLAM蛋白)、激活性NK细胞受体、BTLA、To11配体受体、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、LFA-1(CD11a/CD18)、4-1BB(CD137)、B7-H3、CDS、ICAM-1、ICOS(CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM(LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8 α 、CD8 β 、IL2R β 、IL2R γ 、IL7R α 、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a和与CD83特异性结合的配体。

[0523] 共刺激细胞内信号传导结构域是指共刺激分子的细胞内部分。

[0524] 细胞内信号传导结构域可以包含其来源的分子的整个细胞内部分或整个天然细胞内信号传导结构域或其功能性片段。

[0525] 术语“4-1BB”是指CD137或肿瘤坏死因子受体超家族成员9。Swiss-Prot登录号P20963提供了示例性的人4-1BB氨基酸序列。“4-1BB共刺激结构域”是指4-1BB的共刺激结构域或其变体(例如,具有突变(例如,点突变)、片段、插入或缺失的分子)。在一个实施例中,“4-1BB共刺激结构域”是SEQ ID NO:1022提供的序列或其变体(例如,具有突变(例如,点突变)、片段、插入或缺失的分子)。

[0526] 当该术语在本文中使用时,“免疫效应细胞”是指参与免疫反应(例如促进免疫效应子反应)的细胞。免疫效应细胞的实例包括T细胞,例如 α/β T细胞和 γ/δ T细胞、B细胞、天然杀伤(NK)细胞、天然杀伤T(NKT)细胞、肥大细胞和骨髓衍生的吞噬细胞。

[0527] 当该术语在本文中使用时,“免疫效应子功能或免疫效应子反应”是指例如免疫效应细胞的增强或促进靶细胞的免疫攻击的功能或反应。例如,免疫效应子功能或反应是指促进靶细胞的杀伤或抑制生长或增殖的T或NK细胞的特性。在T细胞的情况下,初级刺激和共刺激是免疫效应子功能或反应的实例。

[0528] 术语“效应子功能”是指细胞的特化功能。例如,T细胞的效应子功能可以是细胞溶解活性或辅助活性(包括细胞因子的分泌)。

[0529] 术语“编码”是指多核苷酸(如基因、cDNA或mRNA)中特定核苷酸序列用作在生物过程中用于合成具有确定核苷酸序列(例如,rRNA、tRNA和mRNA)或确定氨基酸序列的其他聚合物和大分子的模板的固有特性,以及由此产生的生物学特性。因此,如果与基因对应的mRNA的转录和翻译在细胞或其他生物系统中产生蛋白质,则该基因、cDNA或RNA编码该蛋白质。编码链(其核苷酸序列与mRNA序列相同并且通常在序列表中提供)和非编码链(用作基因或cDNA转录的模板)都可以称为编码蛋白质或者该基因或cDNA的其他产物。

[0530] 除非另外说明,否则“编码氨基酸序列的核苷酸序列”包括彼此呈简并形式且编码相同氨基酸序列的所有核苷酸序列。短语编码蛋白质或RNA的核苷酸序列还可以包含内含子,其程度为编码该蛋白质的核苷酸序列可以在某些形式中含有一个或多个内含子。

[0531] 术语“有效量”或“治疗有效量”在本文中可互换使用,并且是指如本文描述的化合物、配制品、材料或组合物的有效于实现特定的生物学结果的量。

[0532] 术语“内源的”是指来自生物体、细胞、组织或系统或在其内部产生的任何材料。

[0533] 术语“外源的”是指从生物体、细胞、组织或系统引入或在其外部产生的任何材料。

[0534] 术语“表达”是指由启动子驱动的特定核苷酸序列的转录和/或翻译。

[0535] 术语“转移载体”是指包含分离的核酸并且可用于向细胞内部递送该分离的核酸的物质组合物。许多载体在本领域中是已知的,包括但不限于线性多核苷酸、与离子化合物或两亲化合物相关的多核苷酸、质粒、以及病毒。因此,术语“转移载体”包括自主复制的质粒或病毒。该术语还应当解释为进一步包括促进将核酸转移到细胞中的非质粒和非病毒化合物,例如像聚赖氨酸化合物、脂质体等。病毒转移载体的实例包括但不限于腺病毒载体、腺相关病毒载体、逆转录病毒载体、慢病毒载体等。

[0536] 术语“表达载体”是指包含重组多核苷酸的载体,该重组多核苷酸包含与有待表达的核苷酸序列可操作地连接的表达控制序列。表达载体包含足够的用于表达的顺式作用元件;用于表达的其他元件可以由宿主细胞提供或在体外表达系统中提供。表达载体包括本领域已知的所有表达载体,包括掺入重组多核苷酸的粘粒、质粒(例如,裸露的或包含在脂质体中)和病毒(例如,慢病毒、逆转录病毒、腺病毒和腺相关病毒)。

[0537] 术语“慢病毒”是指逆转录病毒科的一个属。慢病毒在逆转录病毒中是独特的,能够感染非分裂细胞;它们可以将显著量的遗传信息递送到宿主细胞的DNA中,因此它们是基因递送载体的最有效方法中的一种。HIV、SIV、和FIV都是慢病毒的实例。

[0538] 术语“慢病毒载体”是指衍生自慢病毒基因组的至少一部分的载体,尤其包括如下提供的自灭活慢病毒载体:Milone等人,Mol. Ther. [分子疗法]17(8):1453-1464(2009)。可以在临床中使用的慢病毒载体的其他实例包括但不限于例如来自牛津生物医药公司(Oxford BioMedica)的 LENTIVECTOR®基因递送技术、来自Lentigen公司的 LENTIMAX™载体系统等。非临床类型的慢病毒载体也是可得的并且是本领域技术人员已知的。

[0539] 术语“同源的”或“同一性”是指两个聚合分子之间,例如两个核酸分子(如两个DNA分子或两个RNA分子)之间或两个多肽分子之间的亚基序列同一性。当这两个分子中的亚基位置被相同的单体亚基占据时;例如,如果两个DNA分子的每一个中的位置被腺嘌呤占据,则它们在所述位置是同源的或相同的。两个序列之间的同源性是匹配位置或同源位置的数量直接函数;例如,如果两个序列中这些位置的一半(例如,长度为10个亚基的聚合物中的5个位置)是同源的,则这两个序列是50%同源的;如果这些位置的90%(例如,10个中的9个)是匹配的或同源的,则这两个序列是90%同源的。

[0540] 非人(例如鼠)抗体的“人源化”形式是嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其片段(如Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂或抗体的其他抗原结合子序列),其含有来自非人免疫球蛋白的最小序列。在大多数情况下,人源化抗体及其抗体片段是人免疫球蛋白(受体抗体或抗体片段),其中来自受体的互补决定区(CDR)的残基被具有所希望的特异性、亲和力、和能力的来自非人物种(供体抗体)如小鼠、大鼠或兔的CDR的残基置换。在一些情况下,人免疫球蛋白的Fv框架区(FR)残基由相应非人残基置换。此外,人源化抗体/抗体片段可以包含既不在受体抗体中也不在导入的CDR或框架序列中发现的残基。这些修饰可以进一步改进和优化抗体或抗体片段性能。通常,人源化抗体或其抗体片段将包含基本上所有如下项:至少一个(典型地两个)可变结构域,其中所有或基本上所有CDR区对应于非人免疫球蛋白的那些CDR

区,且FR区的所有或显著一部分是人免疫球蛋白序列的那些。人源化抗体或抗体片段还可以包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分,典型地是人免疫球蛋白的恒定区的至少一部分。有关进一步的细节,参见Jones等人,Nature[自然],321:522-525,1986;Reichmann等人,Nature[自然],332:323-329,1988;Presta,Curr.Op.Struct.Biol.[结构生物学现状],2:593-596,1992。

[0541] “完全人”是指如下免疫球蛋白,如抗体或抗体片段,其中整个分子是人起源或由与抗体或免疫球蛋白的人形式相同的氨基酸序列组成。

[0542] 术语“分离的”意指从天然状态改变的或去除的。例如,天然存在于活体动物中的核酸或肽不是“分离的”,但是与其天然状态的共存材料部分或完全分开的相同核酸或肽是“分离的”。分离的核酸或蛋白质能以基本上纯化的形式存在,或者可以存在于非天然环境(例如像宿主细胞)中。

[0543] 在本发明的上下文中,使用以下对常见核酸碱基的缩写。“A”是指腺苷,“C”是指胞嘧啶,“G”是指鸟苷,“T”是指胸苷,并且“U”是指尿苷。

[0544] 术语“可操作地连接”或“转录控制”是指调控序列和异源核酸序列之间的导致后者的表达的功能性连接。例如,当第一核酸序列被放置成与第二核酸序列有功能关系时,该第一核酸序列与该第二核酸序列可操作地连接。例如,如果启动子影响编码序列的转录或表达,则该启动子与该编码序列可操作地连接。可操作地连接的DNA序列可以彼此邻接,并且例如在需要连接两个蛋白质编码区的情况下,它们处于同一阅读框中。

[0545] 术语“肠胃外”施用免疫原性组合物包括例如皮下(s.c.)、静脉内(i.v.)、肌肉内(i.m.)、或胸骨内注射、肿瘤内或输注技术。

[0546] 术语“核酸”或“多核苷酸”是指单链或双链形式的脱氧核糖核酸(DNA)或核糖核酸(RNA)及其聚合物。除非特别限定,否则所述术语涵盖含有已知的天然核苷酸类似物的核酸,所述核酸具有与参考核酸相似的结合特性并且以与天然存在的核苷酸相似的方式进行代谢。除非另有指示,否则特定核酸序列还隐含地涵盖其保守修饰的变体(例如简并密码子置换,例如保守置换)、等位基因、直向同源物、SNP和互补序列以及明确指示的序列。具体地,简并密码子取代,例如保守取代,可以通过产生如下序列而获得,在这些序列中,一个或多个所选的(或全部)密码子的第三位被混合碱基和/或脱氧肌苷残基取代(Batzer等人,Nucleic Acid Res[核酸研究].19:5081(1991);Ohtsuka等人,J.Biol.Chem[生物化学杂志].260:2605-2608(1985);和Rossolini等人,Mol.Cell.Probes[分子与细胞探针]8:91-98(1994))。

[0547] 术语“肽”、“多肽”和“蛋白质”可互换使用,并且是指包含由肽键共价连接的氨基酸残基的化合物。蛋白质或肽必须含有至少两个氨基酸,并且对可构成蛋白质或肽序列的氨基酸的最大数量没有限制。多肽包括包含由肽键彼此相连的两个或更多个氨基酸的任何肽或蛋白质。如本文所用,所述术语是指短链,例如其在本领域中通常也称为肽、寡肽和寡聚体;并且还是指较长的链,其在本领域中通常称为蛋白质,所述蛋白质存在有很多类型。“多肽”包括例如生物活性片段、基本上同源的多肽、寡肽、同源二聚体、异源二聚体、多肽的变体、经修饰的多肽、衍生物、类似物、融合蛋白等。多肽包括天然肽、重组肽或其组合。

[0548] 术语“启动子”是指启动多核苷酸序列的特异性转录所需的由细胞合成机器或引入的合成机器所识别的DNA序列。

[0549] 术语“启动子/调控序列”是指表达与启动子/调控序列可操作地连接的基因产物所需的核酸序列。在一些情况下,该序列可以是核心启动子序列,并且在其他情况下,该序列还可以包含增强子序列和表达基因产物所需的其他调控元件。启动子/调控序列可以是例如以组织特异性方式表达基因产物的启动子/调控序列。

[0550] 术语“组成型”启动子是指当与编码或指定基因产物的多核苷酸可操作地连接时,在细胞的大多数或全部生理条件下致使基因产物在细胞中产生的核苷酸序列。

[0551] 术语“诱导型”启动子是指当与编码或指定基因产物的多核苷酸可操作地连接时,基本上仅在对应于启动子的诱导物存在于细胞中时才致使基因产物在细胞中产生的核苷酸序列。

[0552] 术语“组织特异性”启动子是指当与编码或由基因指定的多核苷酸可操作地连接时,基本上仅在细胞是对应于启动子的组织类型的细胞时才致使基因产物在细胞中产生的核苷酸序列。

[0553] 术语“癌症相关抗原”或“肿瘤抗原”可互换地指在癌细胞表面上完全或作为片段(例如,MHC/肽)表达的分子(典型地是蛋白质、碳水化合物或脂质),并且其可用于优先将药理学药剂靶向癌细胞。在一些实施例中,肿瘤抗原是由正常细胞和癌细胞两者表达的标记物,例如谱系标记物,例如B细胞上的CD19。在一些实施例中,肿瘤抗原是与正常细胞相比在癌细胞中过表达的细胞表面分子,例如,与正常细胞相比,1倍过表达、2倍过表达、3倍过表达或更多。在一些实施例中,肿瘤抗原是在癌细胞中不适当合成的细胞表面分子,例如,与正常细胞上表达的分子相比含有缺失、添加或突变的分子。在一些实施例中,肿瘤抗原将仅在癌细胞的细胞表面上完全或作为片段(例如,MHC/肽)表达,并且不在正常细胞的表面上合成或表达。在一些实施例中,本发明的CAR包括包含结合MHC呈递的肽的抗原结合结构域(例如抗体或抗体片段)的CAR。通常,衍生自内源性蛋白质的肽填充主要组织相容性复合物(MHC) I类分子的口袋,并且被CD8⁺ T淋巴细胞上的T细胞受体(TCR)识别。MHC I类复合物由所有有核细胞组成型表达。在癌症中,病毒特异性和/或肿瘤特异性肽/MHC复合物代表用于免疫疗法的独特类别的细胞表面靶标。已经描述了在人白细胞抗原(HLA)-A1或HLA-A2的上下文中靶向源自病毒或肿瘤抗原的肽的TCR样抗体(参见,例如,Sastry等人,J Virol.[病毒学杂志]2011 85(5):1935-1942;Sergeeva等人,Blood[血液],2011 117(16):4262-4272;Verma等人,J Immunol[免疫学杂志]2010 184(4):2156-2165;Willemsen等人,Gene Ther[基因治疗]20018(21):1601-1608;Dao等人,Sci Transl Med[科学·转化医学]2013 5(176):176ra33;Tassev等人,Cancer Gene Ther[癌症基因疗法]2012 19(2):84-100)。例如,可以从筛选文库(如人scFv噬菌体展示文库)鉴定TCR样抗体。

[0554] 术语“支持肿瘤的抗原”或“支持癌症的抗原”可互换地指在细胞表面上表达的分子(典型地是蛋白质、碳水化合物或脂质),所述细胞本身不是癌性的、但例如通过促进其生长或存活、例如对免疫细胞的抗性而支持癌细胞。这种类型的示例性细胞包括基质细胞和骨髓源性的抑制细胞(MDSC)。支持肿瘤的抗原本身不需要在支持肿瘤细胞中发挥作用,只要所述抗原存在于支持癌细胞的细胞上。

[0555] 如在scFv的语境中使用的术语“柔性多肽接头”或“接头”是指由单独或组合使用的氨基酸(如甘氨酸和/或丝氨酸)残基组成的,以将可变重链区和可变轻链区连接在一起的肽接头。在一个实施例中,柔性多肽接头是Gly/Ser接头并且包含氨基酸序列(Gly-Gly-

Gly-Ser)_n (SEQ ID NO:1038), 其中n是等于或大于1的正整数。例如, n=1、n=2、n=3、n=4、n=5并且n=6、n=7、n=8、n=9并且n=10。在一个实施例中, 柔性多肽接头包括但不限于(Gly₄ Ser)₄ (SEQ ID NO:1039) 或(Gly₄ Ser)₃ (SEQ ID NO:1040)。在另一个实施例中, 接头包括(Gly₂ Ser)、(Gly Ser) 或(Gly₃ Ser) (SEQ ID NO:1041) 的多个重复。描述于WO 2012/138475中的接头也包括在本发明的范围内, 该专利通过引用并入本文。

[0556] 如本文所用, 5'帽(也称为RNA帽、RNA 7-甲基鸟苷帽或RNA m7G帽)是在转录开始后不久添加到真核信使RNA的“前”端或5'端的经修饰的鸟嘌呤核苷酸。5'帽由与第一转录核苷酸连接的末端基团组成。它的存在对于被核糖体识别和被保护免于RNA酶至关重要。帽添加与转录偶联, 并且共转录地发生, 使得每个都影响另一个。在转录开始后不久, 合成的mRNA的5'端被与RNA聚合酶相关的帽合成复合物结合。这种酶复合物催化mRNA加帽所需的化学反应。合成作为多步生物化学反应进行。可以修饰加帽部分以调制mRNA的功能, 如其稳定性或翻译效率。

[0557] 如本文所用, “体外转录的RNA”是指已在体外合成的RNA, 优选mRNA。通常, 体外转录的RNA由体外转录载体产生。体外转录载体包含用于产生体外转录的RNA的模板。

[0558] 如本文所用, “聚(A)”是通过聚腺苷酸化与mRNA附接的一系列腺苷。在用于瞬时表达的构建体的优选实施例中, 聚A为50个与5000个之间(SEQ ID NO:1043), 优选大于64个, 更优选大于100个, 最优选大于300个或400个(SEQ ID NO:2024)。聚(A)序列可以被化学修饰或酶促修饰以调制mRNA功能, 如定位、稳定性或翻译效率。

[0559] 如本文所用, “聚腺苷酸化”是指聚腺苷酰基部分或其经修饰的变体与信使RNA分子的共价连接。在真核生物中, 大多数信使RNA (mRNA) 分子在3'端被聚腺苷酸化。3'聚(A)尾是通过酶(聚腺苷酸聚合酶)的作用添加到前mRNA上的腺嘌呤核苷酸(通常数百个)的长序列。在高等真核生物中, 将聚(A)尾添加到含有特定序列(聚腺苷酸化信号)的转录物上。聚(A)尾和与其结合的蛋白质有助于保护mRNA免于被外切核酸酶降解。聚腺苷酸化对于转录终止、从细胞核输出mRNA以及翻译也是重要的。聚腺苷酸化在DNA转录成RNA后立即在细胞核中发生, 但另外也可稍后在胞质中发生。在转录已经终止后, 通过与RNA聚合酶缔合的核酸内切酶复合物的作用切割mRNA链。切割位点通常被表征为切割位点附近存在碱基序列AAUAAA。在mRNA被切割后, 腺苷残基被添加到切割位点处的游离3'端上。

[0560] 如本文所用, “瞬时”是指非整合转基因的持续数小时、数天或数周的表达, 其中表达的时间段小于在整合到基因组中或包含在宿主细胞中的稳定质粒复制子内的情况下基因的表达的时间段。

[0561] 如本文所用, 术语“治疗(treat、treatment和treating)”是指减少或改善增殖性障碍的进展、严重程度和/或持续时间, 或者改善增殖性障碍的一种或多种症状(优选地, 一种或多种可辨别的症状), 这由施用一种或多种疗法(例如一种或多种治疗剂, 如本发明的CAR)引起。在具体的实施例中, 术语“治疗(treat、treatment和treating)”是指改善增殖性障碍的至少一种可测量的物理参数, 如肿瘤的生长, 这不一定是患者可辨别的。在其他实施例中, 术语“治疗(treat、treatment和treating)”是指通过例如稳定可辨别的症状来物理地, 或通过例如稳定物理参数来生理地, 或通过两者, 抑制增殖性障碍的进展。在其他实施例中, 所述术语“治疗(treat、treatment和treating)”是指减少或稳定肿瘤大小或癌细胞计数。

[0562] 术语“信号转导途径”是指在多种信号转导分子之间的生物化学关系,这些信号转导分子在信号从细胞的部分传递至细胞的另一部分中发挥作用。短语“细胞表面受体”包括能够接收信号并且传递信号跨过细胞膜的分子以及分子复合物。

[0563] 术语“受试者”旨在包括可以在其中引发免疫反应的活生物体(例如,哺乳动物、人)。

[0564] 术语“基本上纯化的”细胞是指本质上不含其他细胞类型的细胞。基本上纯化的细胞还指已经与其天然存在状态下正常相关的其他细胞类型分离的细胞。在一些情况下,基本上纯化的细胞群是指同质的细胞群。在其他情况下,该术语仅指已经与其天然状态下天然相关的细胞分离的细胞。在一些方面,在体外培养细胞。在其他方面,不在体外培养细胞。

[0565] 如本文所用的术语“治疗剂”意指治疗。通过减少、抑制、缓解或根除疾病状态来获得治疗效果。

[0566] 如本文所用的术语“预防”意指对疾病或疾病状态的预防或保护性治疗。

[0567] 在本发明的上下文中,“肿瘤抗原”或“过度增殖性障碍抗原”或“与过度增殖性障碍相关的抗原”是指特异性过度增殖性障碍常见的抗原。在某些方面,本发明的过度增殖性障碍抗原源自癌症,包括但不限于原发性或转移性黑色素瘤、胸腺瘤、淋巴瘤、肉瘤、肺癌、肝癌、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、白血病、子宫癌、宫颈癌、膀胱癌、肾癌和腺癌(如乳腺癌、前列腺癌(例如,去势抵抗性或治疗抵抗性前列腺癌或转移性前列腺癌)、卵巢癌、胰腺癌等等)或者浆细胞增殖性障碍,例如无症状性骨髓瘤(冒烟型多发性骨髓瘤或惰性骨髓瘤)、意义未明的单克隆丙种球蛋白血症(MGUS)、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、浆细胞瘤(例如,浆细胞恶性增殖、孤立性骨髓瘤、孤立性浆细胞瘤、髓外浆细胞瘤和多发性浆细胞瘤)、全身性淀粉样蛋白轻链淀粉样变性、和POEMS综合征(也称为克罗-富克斯综合征、高月病和PEP综合征)。

[0568] 术语“转染的”或“转化的”或“转导的”是指将外源核酸转移或引入宿主细胞中的过程。“转染的”或“转化的”或“转导的”细胞是已用外源核酸转染、转化或转导的细胞。细胞包括原代主题细胞及其子代。

[0569] 术语“特异性结合”是指抗体或配体,其识别并结合样品中存在的同源结合配偶体(例如,存在于T细胞上的刺激和/或共刺激分子)蛋白质,但是其中抗体或配体基本上不识别或结合样品中的其他分子。

[0570] 如本文所用,“可调节的嵌合抗原受体(RCAR)”是指一组多肽(在最简单的实施例中典型地为两个),当在免疫效应细胞中时这些多肽为细胞提供针对靶细胞(典型地是癌细胞)的特异性,并且具有细胞内信号产生。在一些实施例中,RCAR包含至少细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和胞质信号传导结构域(本文中也称为“细胞内信号传导结构域”),该胞质信号传导结构域包含源自刺激分子和/或本文在CAR分子的语境中定义的共刺激分子的功能性信号传导结构域。在一些实施例中,RCAR中的多肽组并不是相互连续的,例如在不同的多肽链中。在一些实施例中,RCAR包括二聚化开关,该二聚化开关在存在二聚化分子时可以将多肽彼此偶联,例如可以将抗原结合结构域偶联至细胞内信号传导结构域。在一些实施例中,RCAR在如本文所述的细胞(例如免疫效应细胞),例如表达RCAR的细胞(本文还称为“RCARX细胞”)中表达。在一个实施例中,RCARX细胞是T细胞,并且被称为RCART细胞。在一个实施例中,RCARX细胞是NK细胞,并且被称为RCARN细胞。RCAR可以为表达RCAR的细胞提供

对靶细胞(典型地是癌细胞)的特异性,并且具有可调节的细胞内信号产生或增殖,这可以优化表达RCAR的细胞的免疫效应特性。在实施例中,RCAR细胞至少部分地依赖于抗原结合结构域,以提供对包含由该抗原结合结构域结合的抗原的靶细胞的特异性。

[0571] 当该术语在本文中使用时,“膜锚”或“膜系链结构域”是指足以将细胞外或细胞内结构域锚定到质膜的多肽或部分(例如肉豆蔻酰基)。

[0572] 当该术语在本文中使用时(例如当提及RCAR时),“开关结构域”是指实体(典型地是基于多肽的实体),该实体在二聚化分子存在下与另一个开关结构域缔合。该缔合导致连接到(例如融合到)第一开关结构域的第一实体和连接到(例如融合到)第二开关结构域的第二实体的功能偶联。第一开关结构域和第二开关结构域统称为二聚化开关。在实施例中,第一开关结构域和第二开关结构域彼此相同,例如它们是具有相同伯氨基酸序列的多肽,并且统称为同源二聚化开关。在实施例中,第一开关结构域和第二开关结构域彼此不同,例如它们是具有不同伯氨基酸序列的多肽,并且统称为异源二聚化开关。在实施例中,所述开关是细胞内的。在实施例中,所述开关是细胞外的。在实施例中,开关结构域是基于多肽(例如基于FKBP或FRB)的实体,并且二聚化分子是小分子(例如雷帕霉素类似物(rapalogue))。在实施例中,开关结构域是基于多肽的实体(例如结合myc肽的scFv),并且二聚化分子是多肽、其片段、或多肽的多聚体,例如结合一个或多个myc scFv的myc配体或myc配体的多聚体。在实施例中,开关结构域是基于多肽的实体(例如myc受体),并且二聚化分子是抗体或其片段,例如myc抗体。

[0573] 当该术语在本文中使用时(例如当提及RCAR时),“二聚化分子”是指促进第一开关结构域与第二开关结构域缔合的分子。在实施例中,二聚化分子不在受试者中天然发生,或者不以导致显著二聚化的浓度发生。在实施例中,二聚化分子是小分子,例如雷帕霉素(Rapamycin)或rapalogue,例如RAD001。

[0574] 术语“生物等效的”是指产生与参考剂量或参考量的参考化合物(例如,RAD001)产生的效果等同的效果所需的除参考化合物(例如,RAD001)之外的药剂的量。在一个实施例中,所述效果是mTOR抑制水平,例如,如通过P70 S6激酶抑制测量的,例如,如在体内或体外测定中评估的,例如,如通过本文所述的测定(例如Boulay测定,或通过蛋白质印迹进行的磷酸化S6水平的测量)所测量的。在一个实施例中,效果是如通过细胞分选所测量的PD-1阳性/PD-1阴性T细胞比率的变化。在一个实施例中,mTOR抑制剂的生物等效量或剂量是实现与参考化合物的参考剂量或参考量相同水平的P70 S6激酶抑制的量或剂量。在一个实施例中,mTOR抑制剂的生物等效量或剂量是实现与参考化合物的参考剂量或参考量相同水平的PD-1阳性/PD-1阴性T细胞比率变化的量或剂量。

[0575] 当与mTOR抑制剂(例如变构mTOR抑制剂,例如RAD001或雷帕霉素,或催化性mTOR抑制剂)联合使用时,术语“低免疫增强剂量”是指mTOR抑制剂部分但不是完全抑制mTOR活性的剂量,例如,如通过P70 S6激酶活性的抑制所测量的。本文讨论了用于评价mTOR活性的方法,例如通过抑制P70 S6激酶。剂量不足以导致完全免疫抑制,但足以增强免疫反应。在一个实施例中,mTOR抑制剂的低免疫增强剂量导致PD-1阳性免疫效应细胞(例如T细胞或NK细胞)数量的减少和/或PD-1阴性免疫效应细胞(例如T细胞或NK细胞)数量的增加,或PD-1阴性免疫效应细胞(例如T细胞或NK细胞)/PD-1阳性免疫效应细胞(例如T细胞或NK细胞)的比率增加。

[0576] 在一个实施例中,低免疫增强剂量的mTOR抑制剂导致初始T细胞的数量增加。在一个实施例中,低免疫增强剂量的mTOR抑制剂导致以下中的一个或多个:

[0577] 以下标记物中的一个或多个例如在记忆T细胞(例如,记忆T细胞前体)上的表达增加:CD62L高、CD127高、CD27+和BCL2,例如记忆T细胞(例如记忆T细胞前体)上;

[0578] KLRG1在例如记忆T细胞(例如,记忆T细胞前体)上的表达减少;并且

[0579] 记忆T细胞前体,例如具有以下特征中的任一个或组合的细胞的数量增加:增加的CD62L高、增加的CD127高、增加的CD27+、降低的KLRG1以及增加的BCL2;

[0580] 其中,例如,与未治疗的受试者相比,例如至少瞬时地发生上述任何变化。

[0581] 如本文所用的“难治性”是指对治疗无应答的疾病,例如癌症。在实施例中,难治性癌症可以在治疗开始之前或治疗开始时对治疗具有抗性。在其他实施例中,难治性癌症可能在治疗期间变得有抗性。难治性癌症也称为抗性癌症。

[0582] 如本文所用的“复发的”或“复发”是指疾病(例如癌症)或疾病的体征和症状(如改善或响应期之后,例如在疗法(例如癌症疗法)的先前治疗后的癌症)的再现。例如,反应期可能涉及癌细胞水平降低至低于某一阈值,例如低于20%、15%、10%、5%、4%、3%、2%、或1%。再现可能涉及癌细胞水平升高超过某一阈值,例如高于20%、15%、10%、5%、4%、3%、2%、或1%。

[0583] 在一个方面,疗法的“有反应者”可以是在接受所述疗法后具有完全反应、非常好的部分反应或部分反应的受试者。在一个方面,疗法的“无反应者”可以是在接受所述疗法后具有微小反应、疾病稳定或疾病进展的受试者。在一些实施例中,所述受试者患有多发性骨髓瘤,并且所述受试者对多发性骨髓瘤疗法的反应是基于IMWG 2016标准来确定的,例如,如Kumar等人,Lancet Oncol.[柳叶刀肿瘤学]17,e328-346(2016)中所披露的,其通过引用以其整体并入本文,例如如表7中所述。

[0584] 范围:贯穿本披露,能以范围形式呈现本发明的各个方面。应该理解的是,范围形式的描述仅仅是为了方便以及简洁,不应该被理解为对本发明范围的不灵活的限制。因此,范围的描述应当被认为是具有确切披露的所有可能的子范围以及该范围内的单独数值。例如,范围如从1至6的描述应当被认为是具有确切披露的子范围,如从1至3、从1至4、从1至5、从2至4、从2至6、从3至6等,以及该范围内的单独数字,例如1、2、2.7、3、4、5、5.3、和6。作为另一个实例,范围如95%-99%同一性包括具有95%、96%、97%、98%或99%同一性,并且包括如96%-99%、96%-98%、96%-97%、97%-99%、97%-98%和98%-99%同一性的子范围。无论范围的宽度如何,这都适用。

[0585] 当该术语在本文中使用时,“基因编辑系统”是指指导和影响由所述系统靶向的基因组DNA位点处或附近的一种或多种核酸的改变(例如缺失)的系统,例如一种或多种分子。基因编辑系统是本领域中已知的,并且在下文更全面地描述。

[0586] 以下更详细地描述特定官能团和化学术语的定义。化学元素根据元素周期表,CAS版本,Handbook of Chemistry and Physics[物理化学手册],第75版,内封面进行鉴定,并且具体官能团通常如其中所述被定义。另外,有机化学的一般原理,以及特定的功能部分和反应性,描述于Thomas Sorrell,Organic Chemistry[有机化学],University Science Books[大学科学书籍],索萨利托,1999;Smith and March,March's Advanced Organic Chemistry[March的高级有机化学],第5版,John Wiley&Sons,Inc.[约翰威利父子公司],

纽约,2001;Larock,Comprehensive Organic Transformations[有机官能团转换],VCH Publishers,Inc.[VCH出版公司],纽约,1989;和Carruthers,Some Modern Methods of Organic Synthesis[有机合成的一些现代方法],第3版,Cambridge University Press[剑桥大学出版社],剑桥,1987。

[0587] 如本文所用的术语“烷基”是指一价饱和的直链或支链烃,如1-12、1-10或1-6个碳原子的直链或支链基团,在本文中分别称为 C_1-C_{12} 烷基、 C_1-C_{10} 烷基和 C_1-C_6 烷基。烷基的实例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、仲戊基、异戊基、叔丁基、正戊基、新戊基、正己基、仲己基等。

[0588] 如本文所用的术语“烯基”和“炔基”是指在长度和可能的取代方面与上述烷基类似但分别含有至少一个双键或三键的不饱和脂肪族基团。示例性的烯基包括但不限于 $-CH=CH_2$ 和 $-CH_2CH=CH_2$ 。

[0589] 如本文所用的术语“芳基”是指单环、双环或多环烃环系统,其中至少一个环是芳族环。代表性的芳基包括完全芳族的环系统,如苯基(例如 (C_6) 芳基)、萘基(例如 (C_{10}) 芳基)和蒽基(例如 (C_{14}) 芳基),以及如下环系统,所述环系统中芳族碳环融合至一个或多个非芳族碳环,如茚满基、邻苯二甲酰亚胺基、萘二甲酰亚胺基(naphthimidyl)或四氢萘基等。

[0590] 如本文所用的术语“碳环基”是指含有3-18个碳原子的单环或融合、螺-融合和/或桥接的双环或多环烃环系统,其中每个环是完全饱和的或含有一个或多个不饱和的单元,但其中没有环是芳族环。代表性的碳环基包括环烷基(例如环戊基、环丁基、环戊基、环己基等)和环烯基(例如环戊烯基、环己烯基、环戊二烯基等)。

[0591] 如本文所用的术语“羰基”是指 $-C=O$ 。

[0592] 如本文所用的术语“氰基”是指 $-CN$ 。

[0593] 如本文所用的术语“卤代(halo)”或“卤素(halogen)”是指氟(氟代, $-F$)、氯(氯代, $-Cl$)、溴(溴代, $-Br$)、或碘(碘代, $-I$)。

[0594] 如本文所用的术语“杂烷基”是指单价饱和的直链或支链烷基链,其中所述链中的至少一个碳原子被杂原子如O、S或N取代,条件是在取代后,所述链包含至少一个碳原子。在一些实施例中,杂烷基基团可以包含例如1-12、1-10或1-6个碳原子,在本文中称为 C_1-C_{12} 杂烷基、 C_1-C_{10} 杂烷基和 C_1-C_6 杂烷基。在某些情况下,杂烷基基团包含1、2、3或4个独立选择的杂原子,代替所述烷基链中1、2、3或4个单独的碳原子。代表性的杂烷基包括 $-CH_2NHC(O)CH_3$ 、 $-CH_2CH_2OCH_3$ 、 $-CH_2CH_2NHCH_3$ 、 $-CH_2CH_2N(CH_3)CH_3$ 等。

[0595] 如本文所用的术语“杂芳基”是指单环、双环或多环系统,其中至少一个环是芳族环并且包含杂原子;并且其中没有其他环是杂环基(如下定义)。代表性的杂芳基基团包括环系统,其中(i)每个环包含杂原子并且是芳族的,例如咪唑基、噁唑基、噻唑基、三唑基、吡咯基、呋喃基、噻吩基吡唑基、吡啶基、吡嗪基、哒嗪基、嘧啶基、吲哚基、嘌呤基、萘啶基和蝶啶基;(ii)每个环是芳族的或碳环基,至少一个芳族环包含杂原子并且至少一个其他环是烃环,或例如吲哚基、异吲哚基、苯并噻吩基、苯并呋喃基、二苯并呋喃基、吲唑基、苯并咪唑基、苯并噻唑基、喹啉基、异喹啉基、肉桂啉基、酞菁基、喹啉基、喹啉基、咪唑基、吡啶基、吩嗪基、吩噻嗪基、苯恶嗪基、吡啶并[2,3-b]-1,4-噁嗪-3(4H)-酮、噻唑并-[4,5-c]-吡啶基、4,5,6,7-四氢噻吩并[2,3-c]吡啶基、5,6-二氢-4H-噻吩并[2,3-c]吡咯基、4,5,6,7,8-四氢喹啉基和5,6,7,8-四氢异喹啉基;以及(iii)每个环是芳族的或碳环基,并且至少一

个芳族环与另一个芳族环例如4H-喹啉基共有桥头杂原子。在某些实施例中,所述杂芳基是单环或双环,其中每个所述环含有5或6个环原子,其中1、2、3或4个所述环原子是独立地选自N、O和S的杂原子。

[0596] 如本文所用的术语“杂环基”是指单环或融合、螺融合和/或桥接的双环和多环系统,其中至少一个环是饱和或部分不饱和的(但不是芳族的)并且包含杂原子。杂环基可以在产生稳定结构的任何杂原子或碳原子处附接至其侧基,并且任何所述环原子可以任选地被取代。代表性的杂环基包括环系统,其中(i)每个环是非芳族的并且至少一个环包含杂原子,例如四氢呋喃基、四氢噻吩基、吡咯烷基、吡咯烷基、哌啶基、吡咯烷基、十氢喹啉基、噁唑烷基、哌嗪基、二噁烷基、二氮杂卓基、氧氮杂卓基、噻氮杂卓基、吗啉基和奎宁环基;(ii)至少一个环是非芳族的并且包含杂原子,并且至少一个其他的环是芳族碳环,例如1,2,3,4-四氢喹啉基;(iii)至少一个环是非芳族的并且包含杂原子,并且至少一个其他的环是芳族的并且包含杂原子,例如3,4-二氢-1H-吡喃并[4,3-c]吡啶基和1,2,3,4-四氢-2,6-萘啶基。在某些实施例中,所述杂环基是单环或双环,其中每个所述环含有3-7个环原子,其中1、2、3或4个所述环原子是独立地选自N、O和S的杂原子。

[0597] 如本文所述,本发明的化合物可以含有“任选地取代的”部分。通常,术语“取代的”,无论前面是否有术语“任选地”,是指指定部分的一个或多个氢被合适的取代基取代。除非另有说明,否则“任选地取代的”基团可在该基团的每个可取代位置上具有合适的取代基,并且当任何给定结构中的多于一个位置可被多于一个选自指定基团的取代基取代时,在每个位置的取代基可相同或不同。在本发明中设想的取代基的组合优选地是导致形成稳定或化学上可行的化合物的那些。如本文所用,术语“稳定的”是指当经受允许其产生、检测以及在某些实施例中其回收、纯化以及用于一种或多种本文所披露的目的的用途的条件时,不会被实质改变的化合物。

[0598] 如本文所用的术语“氧代”是指=O。

[0599] 如本文所用的术语“硫代羰基”是指C=S。

[0600] 如本文所用,术语“药学上可接受的盐”是指在合理的医学判断的范围内适合用于与人类和低级动物的组织接触,而没有不适当的毒性、刺激、过敏反应等,并且与合理的益处/风险比相称的那些盐。药学上可接受的盐在本领域中是熟知的。例如,Berge等人在J.PharmaceuticalSciences[药物科学杂志](1977)66,1-19(通过引用并入本文)中详细地描述了药学上可接受的盐。本发明化合物的药学上可接受的盐包括衍生自合适的无机和有机酸和碱的那些。药学上可接受的无毒的酸加成盐的实例有,与无机酸如盐酸、氢溴酸、磷酸、硫酸和高氯酸或与有机酸如乙酸、草酸、马来酸、酒石酸、柠檬酸、琥珀酸、或丙二酸形成的氨基的盐,或通过使用本领域已知的其他方法如离子交换形成的氨基的盐。其他药学上可接受的盐包括己二酸盐、海藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯磺酸钠、苯甲酸盐、硫酸氢钠、硼酸盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸钠、柠檬酸盐、环戊酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、甲酸盐、富马酸盐、葡萄糖酸盐、甘油磷酸酯、葡萄糖酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、碘化氢盐、2-羟基乙磺酸盐、乳糖醛酸盐、乳酸盐、月桂酸盐、十二烷基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、氨酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、对甲苯磺酸盐、十一酸盐、戊酸盐等。衍生自适

当的碱的盐包括碱金属盐、碱土金属盐、铵盐和 $N^+(C_{1-4}\text{烷基})_4^-$ 盐。代表性的碱金属或碱土金属盐包括钠、锂、钾、钙、镁等。另外的药学上可接受的盐在适当时包括无毒的铵、季铵和使用抗衡离子例如卤离子、氢氧根、羧酸根、硫酸根、磷酸根、硝酸根、低级烷基磺酸根和芳基磺酸根形成的胺阳离子。

[0601] 术语“溶剂化物”是指通常通过溶剂分解反应与溶剂缔合的化合物形式。此物理性缔合可包括氢键合。常规的溶剂包括水、甲醇、乙醇、乙酸、DMSO、THF、乙醚等。式(I)、式(I-a)和/或式(II)的化合物可以例如以结晶形式制备,并且可以被溶剂化。合适的溶剂化物包括药学上可接受的溶剂化物,并且进一步包括化学计量的溶剂化物和化学计量的溶剂化物。在某些情况下,溶剂化物能够分离(例如当一种或多种溶剂分子掺入结晶固体的晶格中时)。“溶剂化物”涵盖溶液相和可分离的溶剂化物两者。代表性的溶剂化物包括水合物、乙醇化物和甲醇化物。

[0602] 术语“水合物”是指与水缔合的化合物。典型地,化合物的水合物中包含的水分子的数量与水合物中的化合物分子的数量处于确定的比率。因此,化合物的水合物可以由例如通式 $R \cdot x H_2O$ 表示,其中R为化合物且x为大于0的数字。给定的化合物可以形成多于一种类型的水合物,包括例如一水合物(x为1)、低级水合物(x为大于0且小于1的数字,例如半水合物($R \cdot 0.5H_2O$))和多水合物(x为大于1的数字,例如,二水合物($R \cdot 2H_2O$)和六水合物($R \cdot 6H_2O$))。

[0603] 应当理解,具有相同分子式但是在其原子键合的性质或顺序或其原子空间排列上不同的化合物被称为“异构体”。其原子的空间排列不同的异构体称为“立体异构体”。

[0604] 不互为镜像的立体异构体称为“非对映异构体”,且互为非重叠镜像的立体异构体称为“对映异构体”。例如,当化合物的中心不对称时,它会键合到四个不同的基团上,并且可能有一对对映异构体。对映异构体的特征在于其不对称中心的绝对构型,并由Cahn和Prelog的R序列和S序列规则描述,或由分子旋转偏振光平面的方式描述,称为右旋或左旋(即分别为(+)或(-)-异构体)。手性化合物可以单独的对映体或其混合物的形式存在。包含等比例对映异构体的混合物称为“外消旋混合物”。

[0605] 术语“互变异构体”是指具有可互换形式的特定化合物结构并且在氢原子和电子移位方面变化的化合物。因此,两种结构可以通过 π 电子和原子(通常是H)的运动处于平衡。例如,烯醇和酮是互变异构体,因为通过用酸或碱的处理它们快速地相互转化。互变异构的另一个实例是苯基硝基甲烷的酸-和硝基-形式,它们同样是通过用酸或碱处理而形成的。

[0606] 互变异构形式可以与获得目的化合物的最优化学反应性和生物活性相关。

[0607] 除非另有说明,否则本文描绘的结构还意在包括该结构的所有异构(例如,对映异构、非对映异构和几何(或构象))形式;例如,每个非对称中心的R和S构型,Z和E双键异构体,以及Z和E构象异构体。因此,本发明化合物的单一立体化学异构体以及对映异构体,非对映异构体和几何(或构象)混合物都在本发明的范围内。除非另有说明,否则本发明化合物的所有互变异构形式都在本发明的范围内。另外,除非另有说明,否则本文描绘的结构还意在包括仅在一个或多个同位素富集的原子存在下不同的化合物。例如,具有本发明结构的化合物,包括用氘或氚替换氢,或用富含 ^{13}C -或 ^{14}C -的碳替换碳,都在本发明的范围内。这样的化合物例如可用作分析工具,用作生物学测定中的探针或用作根据本发明的治疗剂。

[0608] 在特定对映体是优选的情况下,在一些实施例中,它可以基本上不含相应的对映

体,并且也可以称为“光学富集的”提供。如本文所用,“光学富集的”意指化合物由显著更大比例的一种对映异构体组成。在某些实施例中,化合物由按重量计至少约90%的优选的对映异构体组成。在其他实施例中,化合物由按重量计至少约95%、98%或99%的优选的对映异构体组成。优选的对映异构体可以通过本领域技术人员已知的任何方法(包括手性高压液相色谱(HPLC)和手性盐的形成和结晶)从外消旋混合物中分离,或通过不对称合成制备。参见,例如,Jacques等人,Enantiomers,Racemates and Resolutions[对映体、外消旋体和拆分物](Wiley Interscience[威利跨学科],纽约,1981);Wilen等人,Tetrahedron[四面体]33:2725(1977);Eliel,E.L.Stereochemistry of Carbon Compounds[碳化合物的立体化学](McGraw-Hill,NY,1962);Wilen,S.H.Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions[拆分剂和光学拆分物表]第268页(E.L.Eliel,Ed.[编],Univ.of Notre Dame Press[诺特丹大学出版社],诺特丹,IN 1972)。

[0609] 本文的组合物和方法的各个方面在下文进一步详细描述。另外的定义在整个申请书中陈述。

[0610] 详细描述

[0611] 本发明至少部分地提供了一种治疗患有与BCMA表达相关的疾病的受试者的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的表达与BCMA结合的CAR分子的细胞(“表达BCMA CAR的细胞”(例如细胞群)。在一些实施例中,所述与BCMA表达相关的疾病是血液癌症,例如ALL、CLL、DLBCL或多发性骨髓瘤。在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法基于从患者样品中获取生物标记物的水平施用。在一些实施例中,将所述表达BCMA CAR的细胞疗法与第二疗法组合施用于受试者。在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法和第二疗法同时或顺序施用。

[0612] 嵌合抗原受体(CAR)

[0613] 在一个方面,本文披露了使用表达CAR分子的细胞(例如细胞群)的方法。在一个方面,示例性CAR构建体包含任选的前导序列(例如,本文所述的前导序列)、抗原结合结构域(例如,本文所述的抗原结合结构域)、铰链(例如,本文所述的铰链区)、跨膜结构域(例如,本文所述的跨膜结构域)、和细胞内刺激结构域(例如,本文所述的细胞内刺激结构域)。在一个方面,示例性CAR构建体包含任选前导序列(例如本文所述的前导序列)、细胞外抗原结合结构域(例如本文所述的抗原结合结构域)、铰链(例如本文所述的铰链区)、跨膜结构域(例如本文所述的跨膜结构域)、细胞内共刺激信号传导结构域(例如本文所述的共刺激信号传导结构域)和/或细胞内初级信号传导结构域(例如本文所述的初级信号传导结构域)。

[0614] 可以作为本文所述的CAR分子的一部分的各种组分的非限制性实例的序列在表1中列出,其中aa代表氨基酸,na代表编码相应肽的核酸。

[0615] 表1.CAR的不同组分的序列(aa-氨基酸序列,na-核酸序列)。

[0616]

SEQ ID NO:	描述	序列
1007	EF-1 启动子	CGTGAGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGC CCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTTCGGCAATTGAA CCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGT GATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAG AACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTTCG CAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGG TTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTGCGTG CCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATC CCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCTT GCGCTTAAGGAGCCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTG GCCTGGGCGCTGGGGCCGCCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCT TCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAA AATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTTCTGGCAAGATA GTCTTGTAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTCCGGT TTTTGGGGCCCGGGCGGGCGACGGGGCCCCTGCGTCCCAGCG CACATGTTTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAG AATCGGACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGT GCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGGC AAGGCTGGCCCCGGTCGGCACCAGTTGCGTGAGCGGAAAGATG GCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAATGGAGGAC GCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAA GGAAAAGGGCCTTTCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTC CACGGAGTACCGGGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTC GAGCTTTTGGAGTACGTCGCTTTTAGGTTGGGGGGAGGGGTTT

		TATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGACTGAA GTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAAATTTG CCCTTTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGAC AGTGGTTCAAAGTTTTTTTTCTTCCATTCAGGTGTCGTGA
1008	前导序列 (aa)	MALPVTALLLPLALLLHAARP
1009	前导序列 (na)	ATGGCCCTGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGC TGCTGCATGCCGCTAGACCC
1010	前导序列 (na)	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTC TGCTCCACGCCGCTCGGCC
1011	CD8 铰链 (aa)	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD
1012	CD8 铰链 (na)	ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACC ATCGCGTCGCAGCCCCGTGCCCTGCGCCCAGAGGCGTGCCGG CCAGCGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGGCTGGACTT CGCCTGTGAT
[0617] 1013	Ig4 铰链(aa)	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGDGFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSLGKM
1014	Ig4 铰链(na)	GAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCTTGCCCTGCCCCCG AGTTCCTGGGCGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCAAGCC CAAGGACACCCTGATGATCAGCCGACCCCGAGGTGACCTG TGTGGTGGTGGACGTGTCCAGGAGACCCCGAGGTCCAGTT CAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGAC CAAGCCCCGGGAGGAGCAGTTCAATAGCACCTACCGGGTGGT GTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAA GGAATACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCAGCAG CATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGGG AGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCCAAGAGGAGATGA CCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCT ACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAG CCCGAGAACAACACTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGC

[0618]

		GACGGCAGCTTCTTCTGTACAGCCGGCTGACCGTGGACAAG AGCCGGTGGCAGGAGGGCAACGTCTTTAGCTGCTCCGTGATG CACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGC CTGTCCCTGGGCAAGATG
1015	IgD 铰链 (aa)	RWPESPKAQASSVPTAQPQAEGLAKATTAPATTRNTGRGEEK KKEKEKEEQEERETKTPECPSTQPLGVYLLTPAVQDLWLRDKA TFTCFVVGSDLKDAHLTWEVAGKVPTGGVEEGLLERHSNGSQS QHSRLTLPRSLWNAGTSVTCTLNHPSLPPQRLMALREPAAQAPV KLSLNLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPNILLMWLEDQREVNTS GFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAPPSPQATYTCVVSHEDS RTLLNASRSLEVSIVTDH
1016	IgD 铰链 (na)	AGGTGGCCCGAAAGTCCCAAGGCCAGGCATCTAGTGTTCCT ACTGCACAGCCCCAGGCAGAAGGCAGCCTAGCCAAAGCTACT ACTGCACCTGCCACTACGCGCAATACTGGCCGTGGCGGGGAG GAGAAGAAAAGGAGAAAGAGAAAGAAGAAGAACAGGAAGAGA GGGAGACCAAGACCCCTGAATGTCCATCCCATAACCAGCCGC TGGGCGTCTATCTCTTGACTCCCGCAGTACAGGACTTGTGGCT TAGAGATAAGGCCACCTTTACATGTTTCGTCGTGGGCTCTGAC CTGAAGGATGCCATTTGACTTGGGAGGTTGCCGAAAGGTA CCCACAGGGGGGGTTGAGGAAGGGTTGCTGGAGCGCCATTCC AATGGCTCTCAGAGCCAGCACTCAAGACTCACCTTCCGAGA TCCCTGTGGAACGCCGGGACCTCTGTACATGTACTCTAAATC ATCCTAGCCTGCCCCACAGCGTCTGATGGCCCTTAGAGAGC CAGCCGCCAGGCACCAGTTAAGCTTAGCCTGAATCTGCTCG CCAGTAGTGATCCCCAGAGGCCGCCAGCTGGCTCTTATGCG AAGTGTCCGGCTTTAGCCCGCCAACATCTTGCTCATGTGGCT GGAGGACCAGCGAGAAGTGAACACCAGCGGCTTCGCTCCAGC CCGGCCCCACCCAGCCGGGTTCTACCACATTCTGGGCCTGG AGTGTCTTAAGGGTCCCAGCACCACTAGCCCCAGCCAGCC ACATACACCTGTGTTGTGTCCCATGAAGATAGCAGGACCCTG CTAAATGCTTCTAGGAGTCTGGAGGTTTCTACGTGACTGACC ATT
1017	GS 铰链/接 头 (aa)	GGGSGGGGS

[0619]

1018	GS 铰链/接头 (na)	GGTGGCGGAGGTTCTGGAGGTGGAGGTTC
1019	CD8 跨膜 (TM) (aa)	IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
1020	CD8 跨膜 (TM) (na)	ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTC TCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACTGC
1021	CD8 TM (na)	ATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGC TGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGT
1022	4-1BB 细胞内结构域 (aa)	KRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
1023	4-1BB 细胞内结构域 (na)	AAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCA TTTATGAGACCAGTACAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGT AGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACT G
1024	4-1BB 细胞内结构域 (na)	AAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCC TTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGT TCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTG
1025	CD27 (aa)	QRRKYRSNKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPAC SP
1026	CD27 (na)	AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTACTACATGAAC ATGACTCCCCGCCGCCCGGGCCACCCGCAAGCATTACCAG CCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC
1027	CD3- ζ (aa)	RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKG HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR
1028	CD3- ζ (na)	AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCGCGTACAA GCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACG AAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGG ACCCTGAGATGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAG GAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGA GGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGG GCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCA CCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCC CTCGC

[0620]

1029	CD3-ζ (na)	CGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAG CAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGG AGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGA CCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAG AGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAA GCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGG CAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCAC CAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCC TCGG
1030	CD3-ζ (aa)	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKG HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR
1031	CD3-ζ (na)	AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACCAG CAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGA AGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGA CCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGG AAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAG GCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGG CAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCAC CAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCC TCGC
1032	接头	GGGGS
1033	接头	GGTGGCGGAGGTTCTGGAGGTGGAGGTTC
1034	PD-1 细胞外 结构域 (aa)	Pgwfldspdrpwnpptsfpallvvtgednatfcsfsntsesfvlnwyrmspsnqtdklaafpedrs ppgqdcfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylcaislapkaqikeslraelrvterraevptahp spsprpagqfqlv
1035	PD-1 细胞外 结构域 (na)	Cccggatggtttctggactctcggatcgcccgtggaatcccccaaccttctaccggcactcttggt gtgactgagggcgataatcgacctcactgctcgttccaacacctccgaatcattcgtgctgaact ggtaccgcatgagcccgtcaaccagaccgacaagctcgccgcttccggaagatcggtcgcaac cgggacaggattgctgggtccgctgactcaactgccgaatggcagagactccacatgagcgtggtc cgcgctagggcaaacgactccgggacctactgtcggagccatctcgtggcgctaaaggccaa atcaaagagactgagggccgaactgagagtgaccgagcgagactgaggtgccaactgcacat ccatcccatcgctcggcctcggggcagttcagacctggtc
1036	具有信号的 PD-1 CAR	Malpvtallplalllhaarppgwfldspdrpwnpptsfpallvvtgednatfcsfsntsesfvlnwy rmspsnqtdklaafpedrsppgqdcfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylcaislapkaqik

[0621]

	(aa)	eslraelrvterraevptahpspsprpagqfqlvtttpaprppptpaptiasqplslrpeacrpaaggav htrgldfacdiyiwaplagtcgvllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcsrfpeee eggcelrvkfsrsadapaykqqnqlynelnlgrrreydvldkrrgrdpemggkprknppqegly nelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr
1037	PD-1 CAR (na)	Atggccctccctgtcactgccctgcttccccctgcactcctgctccaccgcctagaccaccggg atggtttctggactctccggatcgcctgggaatcccccaacctctcaccggcactcttggtgtgactg aggcgataatgcgacctcactgctcgttctccaacacctccgaatcattcgtgtaactggtaccg catgagcccgtcaaaccagaccgacaagctcgcgcgttccggaagatcggtcgcaaccgggaca ggattgtcgggtccgctgactcaactgccgaatggcagagactccacatgagcgtggtccgcgcta ggcgaacgactccgggacctactgtcggagccatctcgtggcgctaaggcccaatcaaag agagcttgaggccgaactgagagtgaccgagcagagctgaggtgccaactgcacatccatccc catcgctcggcctgcggggcagttcagaccctggtcagaccactccggcggcggcccaccga ctccggccccaaactatcgcgagccagccctgctgctgaggccggaagcatgccccctgccggc gaggtgctgtgcataccggggattggacttgcacatctacattgggtcctctcggcgaa ctgtggcgtgctcctctgtcctggtcatccctgtactgcaagcggggcggaaaaagcttctgta catttcaagcagccctcatgagggccgtgcaaaccaccagaggaggacggttctcctcggcgt tccccgaagaggaagaaggaggttcgagctgcgcgtgaagtctccggagcggcagcggccc gcctataagcagggccagaaccagctgtacaacgaactgaacctgggacggcgggaagagtacgat gtgctggacaagcggcggcgggacccccgaatggcgggaagcctagagaagaaccctc aggaaggcctgtataacgagctgcagaaggacaagatggccgaggcctactccgaaattgggatga agggagagcggcggaggggaaagggcacgacggcctgtaccaaggactgtccaccggcaccaa ggacacatac gatccctgcacatgcaggccctccccctcgc
1038	接头	(Gly-Gly-Gly-Ser) _n , 其中 n = 1-10
1039	接头	(Gly ₄ Ser) ₄
1040	接头	(Gly ₄ Ser) ₃
1041	接头	(Gly ₃ Ser)
1042	接头	ASGGGSGGRASGGGS
1043	聚 A	[a] ₅₀₋₅₀₀₀
1044	PD1 CAR (aa)	<u>Pgwfldspdrpwnpptfspallvvtgednatftcsfsntsesfvlnwyrmspsnqtdklaafpedrs</u> <u>qpgqdcfrvtqlpngrdfhmsvrrrandsgtylcgaislapkaqikeslraelrvterraevptahp</u> <u>spsprpagqfqlvtttpaprppptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagt</u> <u>cgvllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcsrfpeeeeggcelrvkfsrsadapay</u> <u>kqqnqlynelnlgrrreydvldkrrgrdpemggkprknppqeglynelqkdkmaeayseigm</u> <u>kgerrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr</u>
1045	ICOS 细胞内	TKKKYSSSVHDPNGEYMFMRVNTAKKSRLTDVTL

	结构域 (aa)	
[0622]	1046 ICOS 细胞内 结构域 (na)	ACAAAAAGAAGTATTCATCCAGTGTGCACGACCCTAACGGT GAATACATGTTTCATGAGAGCAGTGAACACAGCCAAAAAATCC AGACTCACAGATGTGACCCTA
	1047 ICOS TM 结 构域 (aa)	TTTTAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD FWLPIGCAAFVVVVCILGCILICWL
	1048 ICOS TM 结 构域 (na)	ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACC ATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCGTGCCGG CCAGCGGCGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGGCTGGACTT CGCCTGTGATTTCTGGTTACCCATAGGATGTGCAGCCTTTGTT GTAGTCTGCATTTTGGGATGCATACTTATTTGTTGGCTT
	1049 CD28 细胞内 结构域 (aa)	RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS
	1050 CD28 细胞内 结构域 (na)	AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAAC ATGACTCCCCGCCGCCCGGGCCACCCGCAAGCATTACCAG CCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC

[0623] CAR抗原结合结构域

[0624] 在一个方面,包含抗原结合结构域的CAR的一部分包含靶向肿瘤抗原(例如,本文所述的肿瘤抗原)的抗原结合结构域。在一些实施例中,所述抗原结合结构域结合至:CD19; CD123; CD22; CD30; CD171; CS-1; C型凝集素样分子-1, CD33; 表皮生长因子受体变体III (EGFRvIII); 神经节苷脂G2 (GD2); 神经节苷脂GD3; TNF受体家族成员; B细胞成熟抗原 (BCMA); Tn抗原 ((Tn-Ag) 或 (GalNAc α -Ser/Thr)); 前列腺特异性膜抗原 (PSMA); 受体酪氨酸激酶样孤儿受体1 (ROR1); Fms样酪氨酸激酶3 (FLT3); 肿瘤相关糖蛋白72 (TAG72); CD38; CD44v6; 癌胚抗原 (CEA); 上皮细胞粘附分子 (EPCAM); B7H3 (CD276); KIT (CD117); 白细胞介素13受体亚基 α 2; 间皮素; 白细胞介素11受体 α (IL-11Ra); 前列腺干细胞抗原 (PSCA); 蛋白酶丝氨酸21; 血管内皮生长因子受体2 (VEGFR2); Lewis (Y) 抗原; CD24; 血小板衍生生长因子受体 β (PDGFR- β); 阶段特异性胚胎抗原4 (SSEA-4); CD20; 叶酸受体 α ; 受体酪氨酸蛋白激酶 ERBB2 (Her2/neu); 粘蛋白1, 细胞表面相关 (MUC1); 表皮生长因子受体 (EGFR); 神经细胞粘附分子 (NCAM); 前列腺酶; 前列腺酸性磷酸酶 (PAP); 伸长因子2突变 (ELF2M); 肾上腺素B2; 成纤维细胞活化蛋白 α (FAP); 胰岛素样生长因子1受体 (IGF-I受体), 碳酸酐酶IX (CAIX); 蛋白酶体 (前体, 巨蛋白因子) 亚基, β 型, 9 (LMP2); 糖蛋白100 (gp100); 由断点簇区 (BCR) 和 Abelson鼠白血病病毒癌基因同源物1 (Ab1) 组成的癌基因融合蛋白 (bcr-ab1); 酪氨酸酶; 肾上腺素A型受体2 (EphA2); 岩藻糖基GM1; 唾液酸Lewis粘附分子 (sLe); 神经节苷脂GM3; 转谷氨酰胺酶5 (TGS5); 高分子量黑色素瘤相关抗原 (HMWMAA); o-乙酰-GD2神经节苷脂 (OAcGD2); 叶酸受体 β ; 肿瘤内皮标记物1 (TEM1/CD248); 肿瘤内皮标记物7相关 (TEM7R); 克劳丁6 (CLDN6); 促甲状腺激素受体 (TSHR); G蛋白偶联受体C类5组, D组 (GPCR5D); 染色体X开放阅读框61 (CXORF61); CD97; CD179a; 间变性淋巴瘤激酶 (ALK); 聚唾液酸; 胎盘特异性1 (PLAC1); globoH糖神经酰胺 (GloboH) 的六糖部分; 乳腺分化抗原 (NY-BR-1); 尿激酶2

(UPK2);甲型肝炎病毒细胞受体1(HAVCR1);肾上腺素受体 β 3(ADRB3);泛连接蛋白3(PANX3);G蛋白偶联受体20(GPR20);淋巴细胞抗原6复合物,位点K9(LY6K);嗅觉受体51E2(OR51E2);TCR γ 交替阅读框蛋白(TARP);Wilms肿瘤蛋白(WT1);癌/睾丸抗原1(NY-ESO-1);癌/睾丸抗原2(LAGE-1a);黑色素瘤相关抗原1(MAGE-A1);ETS易位变异基因6,位于12p染色体(ETV6-AML);精子蛋白17(SPA17);X抗原家族,成员1A(XAGE1);血管生成素结合细胞表面受体2(Tie2);黑色素瘤癌睾丸抗原-1(MAD-CT-1);黑色素瘤癌睾丸抗原-2(MAD-CT-2);Fos相关抗原1;肿瘤蛋白p53(p53);p53突变体;前列腺素;存活素;端粒酶;前列腺癌肿瘤抗原-1,T细胞识别黑色素瘤抗原1;大鼠肉瘤(Ras)突变体;人端粒酶逆转录酶(hTERT);肉瘤易位断点;黑色素瘤细胞凋亡抑制剂(ML-IAP);ERG(跨膜蛋白酶,丝氨酸2(TMPS2)ETS融合基因);N-乙酰氨基葡萄糖转移酶V(NA17);成对盒蛋白Pax-3(PAX3);雄激素受体;细胞周期素B1;v-myc禽骨髓细胞瘤病毒癌基因神经母细胞瘤衍生同源物(MYCN);Ras同源家族成员C(RhoC);酪氨酸酶相关蛋白2(TRP-2);细胞色素P450 1B1(CYP1B1);CCCTC结合因子(锌指蛋白)样,T细胞识别的鳞状细胞癌抗原3(SART3);成对盒蛋白Pax-5(PAX5);前顶体素结合蛋白sp32(OY-TESE1);淋巴细胞特异性蛋白酪氨酸激酶(LCK);激酶锚定蛋白4(AKAP-4);滑膜肉瘤,X断点2(SSX2);晚期糖基化终产物受体(RAGE-1);肾遍在蛋白1(RU1);肾遍在蛋白2(RU2);豆荚蛋白;人乳头状瘤病毒E6(HPV E6);人乳头状瘤病毒E7(HPV E7);肠道羧酸酯酶;突变热休克蛋白70-2(mut hsp70-2);CD79a;CD79b;CD72;白细胞相关免疫球蛋白样受体1(LAIR1);IgA受体Fc片段(FCAR或CD89);白细胞免疫球蛋白样受体亚家族A成员2(LILRA2);CD300分子样家族成员f(CD300LF);C型凝集素结构域家族12成员A(CLEC12A);骨髓基质细胞抗原2(BST2);含有EGF样模块的粘蛋白样激素受体样2(EMR2);淋巴细胞抗原75(LY75);磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(GPC3);Fc受体样5(FCRL5);或免疫球蛋白 λ 样多肽1(IGLL1)。

[0625] 抗原结合结构域可以是与抗原结合的任何结构域,包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、重组抗体、人抗体、人源化抗体、及其功能片段,包括但不限于单结构域抗体(如骆驼来源的纳米抗体的重链可变结构域(VH)、轻链可变结构域(VL)、和可变结构域(VHH)),以及本领域已知的用作抗原结合结构域的可替代支架(如重组纤连蛋白结构域等)、T细胞受体(TCR)或其片段(例如,单链TCR)等。在一些情况下,抗原结合结构域衍生自其中最终将使用CAR的相同物种是有益的。例如,对于在人中使用,CAR的抗原结合结构域包含抗体或抗体片段的抗原结合结构域的人或人源化残基可以是有益的。

[0626] CAR跨膜结构域

[0627] 关于跨膜结构域,在各种实施例中,CAR可以设计为包含衔接至CAR的细胞外结构域的跨膜结构域。跨膜结构域可以包括与跨膜区相邻的一个或多个另外的氨基酸,例如与跨膜衍生的蛋白质的细胞外区域相关的一个或多个氨基酸(例如该细胞外区域的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10至15个氨基酸)和/或与跨膜蛋白衍生的蛋白质的细胞内区域相关的一个或多个另外的氨基酸(例如该细胞内区域的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10多至15个氨基酸)。在一个方面,跨膜结构域包含与所用的CAR的其他结构域之一相关的跨膜结构域。在一些情况下,可以选择或通过氨基酸取代修饰跨膜结构域,以避免此类域与相同或不同表面膜蛋白的跨膜结构域结合,例如以最小化与受体复合物的其他成员的相互作用。在一个方面,跨膜结构域能够与表达CAR的细胞的细胞表面上的另一种CAR同源二聚化。在一个不同的方面,跨膜

结构域的氨基酸序列可以被修饰或取代,以便最小化与存在于相同CART中的天然结合配偶体的结合结构域的相互作用。

[0628] 跨膜结构域可以衍生自天然来源或来自重组来源。在来源是天然的情况下,该结构域可以衍生自任何膜结合或跨膜蛋白。在一个方面,每当CAR结合靶标时,跨膜结构域能够将信号传导至一个或多个细胞内结构域。在本发明中特别使用的跨膜结构域可以至少包括例如T细胞受体的 α 、 β 或 ζ 链、CD28、CD27、CD3 ϵ 、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154的一个或多个跨膜区。在一些实施例中,跨膜结构域可至少包括例如KIR2DS2、OX40、CD2、CD27、LFA-1 (CD11a、CD18)、ICOS (CD278)、4-1BB (CD137)、GITR、CD40、BAFFR、HVEM (LIGHTR)、SLAMF7、NKp80 (KLRP1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD160、CD19、IL2R β 、IL2R γ 、IL7R α 、ITGA1、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、TNFR2、DNAM1 (CD226)、SLAMF4 (CD244、2B4)、CD84、CD96 (Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9 (CD229)、CD160 (BY55)、PSGL1、CD100 (SEMA4D)、SLAMF6 (NTB-A、Ly108)、SLAM (SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME (SLAMF8)、SELPLG (CD162)、LTBR、PAG/Cbp、NKG2D、NKG2C的一个或多个跨膜区。

[0629] 在一些情况下,跨膜结构域可以通过铰链(例如来自人蛋白质的铰链)附接到CAR的细胞外区域(例如CAR的抗原结合结构域)。例如,在一个实施例中,铰链可以是人Ig(免疫球蛋白)铰链(例如IgG4铰链)或CD8a铰链。在一个实施例中,所述铰链或间隔子包含SEQ ID NO:1011的氨基酸序列(例如由其组成)。在一个方面,跨膜结构域包含SEQ ID NO:1019的跨膜结构域(例如由其组成)。

[0630] 在一个方面,铰链或间隔子包含IgG4铰链。例如,在一个实施例中,铰链或间隔子包含SEQ ID NO:1013的氨基酸序列的铰链。在一些实施例中,铰链或间隔子包含由SEQ ID NO:1014的核苷酸序列编码的铰链。

[0631] 在一个方面,铰链或间隔子包含IgD铰链。例如,在一个实施例中,铰链或间隔子包含SEQ ID NO:1015的氨基酸序列的铰链。在一些实施例中,铰链或间隔子包含由SEQ ID NO:1016的核苷酸序列编码的铰链。

[0632] 在一个方面,跨膜结构域可以是重组的,在这种情况下其将主要包含疏水性残基,如亮氨酸和缬氨酸。在一个方面,可以在重组跨膜结构域的每个末端处发现苯丙氨酸、色氨酸和缬氨酸的三联体。

[0633] 任选地,长度在2与10个氨基酸之间的短的寡肽或多肽接头可以在CAR的跨膜结构域与胞质区域之间形成键联。甘氨酸-丝氨酸双联体提供特别适合的接头。例如,在一个方面,接头包含SEQ ID NO:1017的氨基酸序列。在一些实施例中,接头由SEQ ID NO:1018的核苷酸序列编码。

[0634] 在一个方面,铰链或间隔子包含KIR2DS2铰链。

[0635] 胞质结构域

[0636] CAR的胞质结构域或区包含细胞内信号传导结构域。细胞内信号传导结构域通常负责激活已引入CAR的免疫细胞的至少一种正常效应子功能。

[0637] 用于在本文所述CAR中使用的细胞内信号传导结构域的实例包括T细胞受体(TCR)和共受体的胞质序列(它们协同作用以在抗原受体接合后启动信号转导)以及这些序列

的任何衍生物或变体和任何具有相同功能能力的重组序列。

[0638] 已知仅通过TCR产生的信号不足以完全激活T细胞,并且还需要次级和/或共刺激信号。因此,可认为T细胞激活是由两种不同类别的胞质信号传导序列介导:通过TCR启动抗原依赖性初级激活的那些(初级细胞内信号传导结构域)和以抗原非依赖性方式起作用以提供次级或共刺激信号的那些(次级胞质结构域,例如共刺激结构域)。

[0639] 初级信号传导结构域以刺激方式或以抑制方式调控TCR复合物的初级激活。以刺激方式起作用的初级细胞内信号传导结构域可以含有被称为基于免疫受体酪氨酸的激活基序或ITAM的信号传导基序。

[0640] 在本发明中特别有用的含有ITAM的初级细胞内信号传导结构域的实例包括TCR ζ 、FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD5、CD22、CD79a、CD79b、CD278(也称为“ICOS”)、Fc ϵ RI、DAP10、DAP12、和CD66d。在一个实施例中,本发明的CAR包含细胞内信号传导结构域,例如CD3- ζ (例如本文所述的CD3- ζ 序列)的初级信号传导结构域。

[0641] 在一个实施例中,初级信号传导结构域包含修饰的ITAM结构域,例如与天然ITAM结构域相比具有改变的(例如,增加或减少的)活性的突变ITAM结构域。在一个实施例中,初级信号传导结构域包含含有修饰的ITAM的初级细胞内信号传导结构域,例如含有优化的和/或截短的ITAM的初级细胞内信号传导结构域。在一个实施例中,初级信号传导结构域包含一个、两个、三个、四个或更多个ITAM基序。

[0642] 共刺激信号传导结构域

[0643] CAR的细胞内信号传导结构域可以包含CD3- ζ 信号传导结构域本身,或者它可以与在本发明的CAR的背景中使用的任何其他所希望的细胞内信号传导结构域组合。例如,CAR的细胞内信号传导结构域可以包含CD3 ζ 链部分和共刺激信号传导结构域。共刺激信号传导结构域是指CAR的包含共刺激分子的细胞内结构域的部分。在一个实施例中,所述细胞内结构域被设计为包含CD3- ζ 的信号传导结构域和CD28的信号传导结构域。在一个方面,所述细胞内结构域被设计为包含CD3- ζ 的信号传导结构域和ICOS的信号传导结构域。

[0644] 共刺激分子可以是除了抗原受体或其配体以外的细胞表面分子,包含淋巴细胞对抗原的有效反应所必需的。此类分子的实例包括CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3和特异性地结合CD83的配体等。例如,已证明CD27共刺激可增强体外人CART细胞的扩增、效应子功能、和存活,并增加体内人T细胞持久性和抗肿瘤活性(Song等人Blood.[血液]2012;119(3):696-706)。此类共刺激分子的其他实例包括CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、HVEM(LIGHTR)、SLAMF7、NKp80(KLRP1)、NKp30、NKp44、NKp46、CD160、CD19、CD4、CD8 α 、CD8 β 、IL2R β 、IL2R γ 、IL7R α 、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、NKG2D、NKG2C以及PAG/Cbp。

[0645] 所述CAR的胞质部分内的细胞内信号传导序列可以按随机或指定的顺序彼此连接。任选地,短的寡肽或多肽接头,例如长度在2与10个氨基酸之间(例如2、3、4、5、6、7、8、9

或10个氨基酸),可以形成细胞内信号传导序列之间的连接。在一个实施例中,甘氨酸-丝氨酸双联体可以用作适合的接头。在一个实施例中,单个氨基酸(例如丙氨酸、甘氨酸)可以用作适合的接头。

[0646] 在一个方面,细胞内信号传导结构域被设计成包含两个或更多个(例如2、3、4、5、或更多个)共刺激信号传导结构域。在一个实施例中,两个或更多个(例如2、3、4、5、或更多个)共刺激信号传导结构域通过接头分子(例如本文描述的接头分子)分开。在一个实施例中,细胞内信号传导结构域包含两个共刺激信号传导结构域。在一些实施例中,接头分子是甘氨酸残基。在一些实施例中,接头是丙氨酸残基。

[0647] 在一个方面,细胞内信号传导结构域被设计成包含CD3- ζ 的信号传导结构域和CD28的信号传导结构域。在一个方面,细胞内信号传导结构域被设计成包含CD3- ζ 的信号传导结构域和4-1BB的信号传导结构域。在一个方面,4-1BB的信号传导结构域是SEQ ID NO:1022的信号传导结构域。在一个方面,CD3- ζ 的信号传导结构域是SEQ ID NO:1027的信号传导结构域。

[0648] 在一个方面,细胞内信号传导结构域被设计成包含CD3- ζ 的信号传导结构域和CD27的信号传导结构域。在一个方面,CD27的信号传导结构域包含SEQ ID NO:1025的氨基酸序列。在一个方面,CD27的信号传导结构域由SEQ ID NO:1026的核酸序列编码。

[0649] 在一个方面,本文描述的表达CAR的细胞可以进一步包含第二CAR,例如包括不同的抗原结合结构域(例如,针对相同的靶标或不同的靶标(例如,除本文描述的癌症相关抗原或本文描述的不同癌症相关抗原的靶标,例如,CD19、CD33、CLL-1、CD34、FLT3,或叶酸受体 β))的第二CAR。在一个实施例中,第二CAR包含针对在与癌症相关抗原相同的癌细胞类型上表达的靶标的抗原结合结构域。在一个实施例中,表达CAR的细胞包含靶向第一抗原并且包含具有共刺激信号传导结构域但不具有初级信号传导结构域的细胞内信号传导结构域的第一CAR,以及靶向第二不同的抗原并且包含具有初级信号传导结构域但不具有共刺激信号传导结构域的细胞内信号传导结构域的第二CAR。虽然不希望受理论束缚,但包含将共刺激信号传导结构域(例如,4-1BB、CD28、ICOS、CD27或OX-40)置于第一CAR上,并将初级信号传导结构域(例如,CD3 ζ)置于第二CAR上可以将CAR活性限制于表达两种靶标的细胞。在一个实施例中,表达CAR的细胞包含第一癌症相关抗原CAR,该第一癌症相关抗原CAR包含结合本文描述的靶抗原的抗原结合结构域、跨膜结构域和共刺激结构域;和第二CAR,该第二CAR靶向不同靶抗原(例如,在与第一靶抗原相同的癌细胞类型上表达的抗原)并且包含抗原结合结构域、跨膜结构域和初级信号传导结构域。在另一个实施例中,表达CAR的细胞包含第一CAR,该第一CAR包含结合本文描述的靶抗原的抗原结合结构域、跨膜结构域和初级信号传导结构域;和第二CAR,该第二CAR靶向除第一靶抗原以外的抗原(例如,在与第一靶抗原相同的癌细胞类型上表达的抗原)并且包含针对该抗原的抗原结合结构域、跨膜结构域和共刺激信号传导结构域。

[0650] 在另一个方面,本披露的特征是表达CAR的细胞(例如,CART细胞)的群体。在一些实施例中,表达CAR的细胞群包含表达不同CAR的细胞的混合物。例如,在一个实施例中,CART细胞群可包括表达CAR(所述CAR具有本文所述的癌症相关抗原的抗原结合结构域)的第一细胞和表达具有不同抗原结合结构域(例如,本文所述的不同癌症相关抗原的抗原结合结构域(例如,不同于由第一细胞表达的CAR的抗原结合结构域所结合的癌症相关抗原的

本文所述的癌症相关抗原的抗原结合结构域))的CAR的第二细胞。作为另一个实例,表达CAR的细胞群可包括表达CAR(该CAR包括本文所述的癌症相关抗原的抗原结合结构域)的第一细胞和表达CAR(该CAR包括除如本文所述的癌症相关抗原以外的靶标的抗原结合结构域)的第二细胞。在一个实施例中,表达CAR的细胞群包括,例如表达包含初级细胞内信号传导结构域的CAR的第一细胞,和表达包含次级信号传导结构域的CAR的第二细胞。

[0651] 在另一个方面,本披露的特征是一个细胞群,其中所述群体中的至少一种细胞表达具有本文所述的癌症相关抗原的抗原结合结构域的CAR;和表达另一种药剂(例如,增强表达CAR的细胞的活性的药剂)的第二细胞。例如,在一个实施例中,药剂可以是对抑制性分子进行抑制的药剂。在一些实施例中,抑制性分子(例如,PD-1)可降低表达CAR的细胞产生免疫效应子反应的能力。抑制性分子的实例包括PD-1、PD-L1、CTLA4、TIM3、CEACAM(CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I类、MHC II类、GAL9、腺苷、和TGF(例如,TGFβ)。在一个实施例中,对抑制性分子进行抑制的药剂包含第一多肽(例如,抑制性分子),该第一多肽与向细胞提供正信号的第二多肽,例如本文所述的细胞内信号传导结构域缔合。在一个实施例中,所述药剂包含例如,抑制性分子(如PD-1、PD-L1、CTLA4、TIM3、CEACAM(CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4和TGFβ、或这些中的任一者的片段)的第一多肽,和第二多肽,所述第二多肽包含本文描述的细胞内信号传导结构域(例如,包含共刺激结构域(例如,41BB、CD27、OX40或CD28,例如,如本文描述)和/或初级信号传导结构域(例如,本文所述的CD3ζ信号传导结构域)。在一个实施例中,所述药剂包含PD-1的第一多肽或其片段和本文所述的细胞内信号传导结构域(例如本文所述的CD28信号传导结构域和/或本文所述的CD3ζ信号传导结构域)的第二多肽。

[0652] BCMA CAR

[0653] 在一个方面,本文披露的CAR结合至BCMA。示例性BCMA CAR可包括WO2016/014565的表1或16中披露的序列,其通过引用并入本文。BCMA CAR构建体可包括任选的前导序列;任选的铰链结构域,例如CD8铰链结构域;跨膜结构域,例如CD8跨膜结构域;细胞内结构域,例如4-1BB细胞内结构域;和功能性信号传导结构域,例如CD3-ζ结构域。在某些实施例中,这些结构域邻接并在同一阅读框中以形成单个融合蛋白。在其他实施例中,结构域在分开的多肽中,例如,在如本文描述的RCAR分子中。

[0654] 表2-5中披露了示例性BCMA CAR分子的序列或其片段。在某些实施例中,所述全长BCMA CAR分子包含披露于表2-5中的BCMA-1、BCMA-2、BCMA-3、BCMA-4、BCMA-5、BCMA-6、BCMA-7、BCMA-8、BCMA-9、BCMA-10、BCMA-11、BCMA-12、BCMA-13、BCMA-14、BCMA-15、149362、149363、149364、149365、149366、149367、149368、149369、BCMA_EBB-C1978-A4、BCMA_EBB-C1978-G1、BCMA_EBB-C1979-C1、BCMA_EBB-C1978-C7、BCMA_EBB-C1978-D10、BCMA_EBB-C1979-C12、BCMA_EBB-C1980-G4、BCMA_EBB-C1980-D2、BCMA_EBB-C1978-A10、BCMA_EBB-C1978-D4、BCMA_EBB-C1980-A2、BCMA_EBB-C1981-C3、BCMA_EBB-C1978-G4、A7D12.2、C11D5.3、C12A3.2、或C13F12.1的一种或多种CDR、VH、VL、scFv、或全长序列、或基本上(例如,95%-99%)与其相同的序列。

[0655] 可以用于抗BCMA CAR构建体的另外的示例性BCMA靶向序列披露于WO 2017/

021450、WO 2017/011804、WO 2017/025038、WO 2016/090327、WO 2016/130598、WO 2016/210293、WO 2016/090320、WO 2016/014789、WO 2016/094304、WO 2016/154055、WO 2015/166073、WO 2015/188119、WO 2015/158671、US 9,243,058、US 8,920,776、US 9,273,141、US 7,083,785、US 9,034,324、US 2007/0049735、US 2015/0284467、US 2015/0051266、US 2015/0344844、US 2016/0131655、US 2016/0297884、US 2016/0297885、US 2017/0051308、US 2017/0051252、US 2017/0051252、WO 2016/020332、WO 2016/087531、WO 2016/079177、WO 2015/172800、WO 2017/008169、US 9,340,621、US 2013/0273055、US 2016/0176973、US 2015/0368351、US 2017/0051068、US 2016/0368988、和US 2015/0232557中,将其内容通过引用并入本文。在一些实施例中,使用来自PCT公开WO 2012/0163805 (将该公开的内容通过引用以其整体特此并入) 的VH和VL序列产生另外的示例性BCMA CAR构建体。

[0656] 表2. 示例性抗BCMA scFv结构域和BCMA CAR分子的氨基酸序列和核酸序列。还提供了每个scFv的氨基酸序列可变重链和可变轻链序列。

[0657]

名称/描述	SEQ ID NO:	序列
139109		
139109- aa ScFv 结构域	49	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRNLTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAH GGESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIQLTQSPSSLSASV GDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIK
139109- nt ScFv 结构域	64	GAAGTGCAATTGGTGAATCAGGGGGAGGACTTGTGCAGCCTGGAGGAT CGCTGAGACTGTCTATGTGCCGTGTCCGGCTTTGCCCTGTCCAACCACGG GATGTCCTGGGTCCGCCGCGCCTGGAAAGGGCCTCGAATGGGTGTCTG GGTATTGTGTACAGCGGTAGCACCTACTATGCCGCATCCGTGAAGGGGA GATTCACCATCAGCCGGGACAACCTCCAGGAACACTCTGTACCTCCAAAT GAATTCGCTGAGGCCAGAGGACACTGCCATCTACTACTGCTCCGCGCAT GGCGGAGAGTCCGACGTCTGGGGACAGGGGACCACCGTGACCGTGTCTA GCGCGTCCGGCGGAGGCGGCAGCGGGGTTCGGGCATCAGGGGGCGGCGG ATCGGACATCCAGCTCACCCAGTCCCCGAGCTCGCTGTCCGCCTCCGTG GGAGATCGGGTCACCATCACGTGCCGCGCCAGCCAGTCGATTTCTCTCT ACCTGAACCTGGTACCAACAGAAGCCCGGAAAAGCCCCGAAGCTTCTCAT CTACGCCGCTCGAGCCTGCAGTCAGGAGTGCCCTCACGGTTCTCCGGC TCCGGTTCCGGTACTGATTTACCCTGACCATTTCTCCCTGCAACCGG AGGACTTCGCTACTTACTACTGCCAGCAGTCGTACTCCACCCCTACAC TTTCGGACAAGGCACCAAGGTGCAAAATCAAG
139109- aa VH	79	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRNLTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAH

		GGESDVWGQGTTVTVSS
139109- aa VL	94	DIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIY AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTF GQGTKVEIK
139109- aa 完全 CAR	109	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFA LSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSNT LYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRA SGGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQSISSYLNWYQQKPKGA PKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSY STPYTFGQGTKVEIKTTTTAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGA VHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLY NELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA YSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139109- nt 完全 CAR	124	ATGGCCCTCCCTGTACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAATTGGTGGAATCAGGGGGAGGACTTGT GCAGCCTGGAGGATCGCTGAGACTGTCATGTGCCGTGTCCGGCTTTGCC CTGTCCAACCACGGGATGTCCTGGGTCCGCCGCGCGCCTGGAAAGGGCC TCGAATGGGTGTCCGGTATTGTGTACAGCGGTAGCACCTACTATGCCGC ATCCGTGAAGGGGAGATTCACCATCAGCCGGGACAACCTCCAGGAACACT CTGTACCTCCAAATGAATTGCTGAGGCCAGAGGACACTGCCATCTACT ACTGCTCCGCGCATGGCGGAGAGTCCGACGTCTGGGGACAGGGGACCAC CGTGACCGTGTCTAGCGCGTCCGGCGGAGGCGGCAGCGGGGTTCGGGCA TCAGGGGGCGGCGGATCGGACATCCAGCTCACCCAGTCCCCGAGCTCGC TGTCCGCTCCGTGGGAGATCGGGTACCATCACGTGCCGCGCCAGCCA GTCGATTTCTCCTACCTGAACTGGTACCAACAGAAGCCCGGAAAAGCC CCGAAGCTTCTCATCTACGCCGCTCGAGCCTGCAGTCAGGAGTGCCCT CACGGTTCTCCGGCTCCGGTTCGGTACTGATTTACCCTGACCATTTT CTCCCTGCAACCGGAGGACTTCGCTACTTACTACTGCCAGCAGTCGTAC TCCACCCCTACACTTTCGGACAAGGCACCAAGGTGCAATCAAGACCA CTACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCA GCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGAGCTGGTGGGGCC GTGCATACCCGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGGCC CTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCT TTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCC

[0658]

[0659]

		TTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCC GGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAG CCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTAC AACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGC GGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCC CCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCC TATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACG ACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGC TCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG
无前导序列的完整 CAR	392	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNGTHMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAH GGESDVWGQGTITVTVSSASGGGSGGRASGGGSDIQLTQSPSSLSASV GDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIKTTTPAP RPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGT CGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEE EEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGDLGYQ GLSTATKDTYDALHMQLPPR
无接头、无前导序列的完整 CAR	393	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNGTHMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAH GGESDVWGQGTITVTVSSDIQLTQSPSSLSASVGDRTITITCRASQSISSY LNWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE DFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLR PEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRG RKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADA PAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGDLGYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR
139103		
139103- aa ScFv 结构域	39	QVQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLGWVS GISRSGENTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRDEDTAVYYCAR SPAHYGGMDVWGQGTITVTVSSASGGGSGGRASGGGSDIVLTQSPGT LSLSPGERATLSCRASQSISSSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGASRRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDSAVYYCQQYHSSPSWTFGQGTKLEI

[0660]

		K
139103- nt ScFv 结构域	54	CAAGTGCAACTCGTGGAATCTGGTGGAGGACTCGTGCAACCCGGAAGAT CGCTTAGACTGTCTGTGCCGCCAGCGGGTTCACTTTCTCGAACTACGC GATGTCCTGGGTCCGCCAGGCACCCGAAAGGGACTCGGTTGGGTGTCC GGCATTTCGGGTCCGGCGAAAATACCTACTACGCCGACTCCGTGAAGG GCCGCTTACCATCTCAAGGGACAACAGCAAAAACACCCTGTACTTGCA AATGAACTCCCTGCGGGATGAAGATACAGCCGTGTACTATTGCGCCCGG TCGCCTGCCATTACTACGGCGGAATGGACGTCTGGGGACAGGGAACCA CTGTGACTGTGAGCAGCGCTCGGGTGGCGCGGCTCAGGGGGTCTGGGC CTCCGGGGGGGAGGGTCCGACATCGTGCTGACCCAGTCCCCGGGAACC CTGAGCCTGAGCCCGGGAGAGCGCGCACCCCTGTGATGCCGGGCATCCC AGAGCATTAGCTCCTCCTTTCTCGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGACA GGCCCCGAGGCTGCTGATCTACGGCGCTAGCAGAAGGGCTACCGGAATC CCAGACCGGTTCTCCGGCTCCGGTTCGGGACCGATTTACCCTTACTA TCTCGGCCTGGAACCTGAGGACTCCGCCGTCTACTACTGCCAGCAGTA CCACTCATCCCCGTCTGGACGTTCCGACAGGGCACCAAGCTGGAGATT AAG
139103- aa VH	69	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLGWVS GISRSGENTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRDEDTAVYYCAR SPAHHYGGMDVWGQGTITVTVSS
139103- aa VL	84	DIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSISSSFLAWYQKPGQAPRLLI YGASRRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDSAVYYCQYHSSPSW TFGQGTKLEIK
139103- aa 完全 CAR	99	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFT FSNYAMSWVRQAPGKGLGWVSGISRSGENTYYADSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRDEDTAVYYCARSPAHHYGGMDVWGQGTITVTVSSASGGGG SGGRASGGGSDIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSISSSFLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASRRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDSAVY YCQYHSSPSWTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLL LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYK QGQNQLYNELNLRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQ KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR
139103- nt 完全 CAR	114	ATGGCCCTCCCTGTCAACGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCAAGTGCAACTCGTGGAATCTGGTGGAGGACTCGT

[0661]

		<p>GCAACCCGGAAGATCGCTTAGACTGTCGTGTGCCGCCAGCGGGTTCACT TTCTCGAACTACGCGATGTCCTGGGTCCGCCAGGCACCCGAAAGGGAC TCGGTTGGGTGTCCGGCATTTCCTGGTCCGGCGAAAATACCTACTACGC CGACTCCGTGAAGGGCCGCTTACCATCTCAAGGGACAACAGCAAAAAC ACCCTGTACTTGCAAATGAACTCCCTGCGGGATGAAGATACAGCCGTGT ACTATTGCGCCCGGTGCGCTGCCATTACTACGGCGGAATGGACGTCTG GGGACAGGGAACCACTGTGACTGTCAGCAGCGCGTCCGGTGGCGGGC TCAGGGGGTCCGGCCTCCGGGGGGGAGGGTCCGACATCGTGCTGACCC AGTCCCGGGAACCCTGAGCCTGAGCCCGGGAGAGCGCGCACCCCTGTC ATGCCGGGCATCCCAGAGCATTAGCTCCTCCTTTCTCGCTGGTATCAG CAGAAGCCCGGACAGGCCCGGAGGCTGCTGATCTACGGCGCTAGCAGAA GGGCTACCAGGAATCCCAGACCGGTTCTCCGGTCCGGTCCGGGACCGA TTTCACCCTTACTATCTCGCGCCTGGAACCTGAGGACTCCGCCGTCTAC TACTGCCAGCAGTACCACTCATCCCCGTGCTGGACGTTCCGGACAGGGCA CCAAGCTGGAGATTAAGACCACTACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCC GGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGT AGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCT GCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCT GCTTTCCTACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCCGGAAGAAGCTG CTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAG AGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGGTTCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTG CGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAG CAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCCGGAGAGAGG AGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGG GAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAA AAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAAC GCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGC CACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>
139105		
139105- aa ScFv 结构域	40	<p>QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVS GISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCSV HSFLAYWGQGLVTVSSASGGGSGGRASGGGSDIVMTQTPLSLPVTP GEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYCMQALQTPYTFGQGTKVEIK</p>
139105- nt	55	<p>CAAGTGCAACTCGTCGAATCCGGTGGAGGTCTGGTCCAACCTGGTAGAA</p>

[0662]

<p>ScFv 结构域</p>		<p>GCCTGAGACTGTCGTGTGCGGCCAGCGGATTCACCTTTGATGACTATGC TATGCACTGGGTGCGGCAGGCCCCAGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGTCG GGAATTAGCTGGAACTCCGGGTCCATTGGCTACGCCGACTCCGTGAAGG GCCGCTTACCATCTCCC CGCACAACGCAAAGAACTCCCTGTACTTGCA AATGAACTCGCTCAGGGCTGAGGATACCGCGCTGTACTACTGCTCCGTG CATTCTTCTGTCCTACTGGGGACAGGGAAGTCTGGTCAACCGTGTGCGA GCGCCTCCGGCGGCGGGGGCTCGGGTGGACGGGCCTCGGGCGGAGGGGG GTCCGACATCGTGATGACCCAGACCCCGCTGAGCTTGCCCGTGACTCCC GGAGAGCCTGCATCCATCTCCTGCCGGTTCATCCAGTCCCTTCTCCACT CCAACGGATACTACCTCGACTGGTACCTCCAGAAGCCGGGACAGAG CCCTCAGCTTCTGATCTACCTGGGGTCAAATAGAGCCTCAGGAGTGCCG GATCGGTTTACGCGGATCTGGTTCGGGAACTGATTTCACTCTGAAGATTT CCCGCGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTCTACTACTGTATGCAGGCGCT GCAGACCCCTATACTTCGGCCAAGGGACGAAAGTGGAGATCAAG</p>
<p>139105- aa VH</p>	<p>70</p>	<p>QVQLVESGGGLVQPGRSLRLS CAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVS GISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCSV HSFLAYWGQGLTIVTSS</p>
<p>139105- aa VL</p>	<p>85</p>	<p>DIVMTQTPLSLPVT PGEPASISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSP QLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQ TPYTFGQGTKVEIK</p>
<p>139105- aa 完全 CAR</p>	<p>100</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVQPGRSLRLS CAASGFT FDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDN AKN SLYLQMNSLRAEDTALYYCSVHSFLAYWGQGLTIVTSSASGGGGSGGRA SGGGSDIVMTQTPLSLPVT PGEPASISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQ KPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYY CMQALQTPYTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRP AAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLY IFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFP EEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQG QNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKD KMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</p>
<p>139105- nt 完全 CAR</p>	<p>115</p>	<p>ATGGCCCTCCCTGT CACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCAAGTGCAACTCGT CGAATCCGGTGGAGGTCTGGT CCAACCTGGTAGAAGCCTGAGACTGTCGTGTGCGGCCAGCGGATTCACC TTTGATGACTATGCTATGCACTGGGTGCGGCAGGCCCCAGGAAAGGGCC TGAATGGGTGTCGGGAATTAGCTGGA ACTCCGGGTCCATTGGCTACGC</p>

[0663]

		<p>CGACTCCGTGAAGGGCCGCTTCACCATCTCCCGCGACAACGCAAAGAAC TCCCTGTACTTGCAAATGAACTCGCTCAGGGCTGAGGATAACCGCGCTGT ACTACTGCTCCGTGCATTCCCTTCTGGCCTACTGGGGACAGGGAACTCT GGTACACCGTGTGAGCGCCTCCGGCGGGGGGGCTCGGGTGGACGGGCC TCGGGCGGAGGGGGTCCGACATCGTGATGACCCAGACCCCGCTGAGCT TGCCCGTGACTCCCGGAGAGCCTGCATCCATCTCCTGCCGGTTCATCCCA GTCCCTTCTCCACTCCAACGGATAACAACCTACCTCGACTGGTACCTCCAG AAGCCGGGACAGAGCCCTCAGCTTCTGATCTACCTGGGGTCAAATAGAG CCTCAGGAGTGCCGGATCGGTTTCCAGCGGATCTGGTTTCCGGAACTGATTT CACTCTGAAGATTTCCCGCGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTCTACTAC TGTATGCAGGCGCTGCAGACCCCTATACTTTCGGCCAAGGGACGAAAG TGGAGATCAAGACCACTACCCAGCACCAGGGCCACCCACCCCGGCTCC TACCATCGCTCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCC GCAGCTGGTGGGGCCGTGCATAACCCGGGGTCTTGACTTCGCTGCGATA TCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTTCGGGGTCTGCTGCTTTC ACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCCGGAAGAAGCTGCTGTAC ATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGG ACGGCTGTTTCATGCCGGTTCAGAGAGGAGGAAGGGCGGCTGCGAACT GCGCGTGAAATTGAGCCGAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGG CAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCCGAGAGAGGAGTACG ACGTGTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGGCGGGAAGCC GCGCAGAAAGAATCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGAT AAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAA GAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAA GGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>
139111		
139111- aa ScFv 结构域	41	<p>EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNGTHMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAH GGESDVWGQGTITVTVSSASGGGSGGRASGGGSDIVMTQTPLSLSVTP GQPASISCKSSQSLLRNDGKTPLYWYLQKAGQPPQLLIYEVSNRFSGVP DRFSGSGSDFTLKI SRVEAEDVGAYYCMQNIQFSPFGGKLEIK</p>
139111- nt ScFv 结构域	56	<p>GAAGTGCAATTGTTGGAATCTGGAGGAGGACTTGTGCAGCCTGGAGGAT CACTGAGACTTTCGTGTGCGGTGTGAGGCTTCGCCCTGAGCAACCACGG CATGAGCTGGGTGCGGAGAGCCCCGGGGAAGGGTCTGGAATGGGTGTCC GGGATCGTCTACTCCGGTTCAACTTACTACGCCGCAAGCGTGAAGGGTC</p>

[0664]

		GCTTCACCATTTCCCGCGATAACTCCCGGAACACCCTGTACCTCCAAAT GAACTCCCTGCGGCCCCGAGGACACCGCCATCTACTACTGTTCCGCGCAT GGAGGAGAGTCCGATGTCTGGGGACAGGGCACTACCGTGACCGTGTCTGA GCGCCTCGGGGGGAGGAGGCTCCGGCGGTGCGCCTCCGGGGGGGTGG CAGCGACATTGTGATGACGCAGACTCCACTCTCGCTGTCCGTGACCCCG GGACAGCCCGCGTCCATCTCGTGCAAGAGCTCCCAGAGCCTGCTGAGGA ACGACGGAAAGACTCCTCTGTATTGGTACCTCCAGAAGGCTGGACAGCC CCCGCAACTGCTCATCTACGAAGTGTCAAATCGCTTCTCCGGGGTGCCG GATCGGTTTTCCGGCTCGGGATCGGGCACCGACTTCACCCTGAAAATCT CCAGGGTCGAGGCCGAGGACGTGGGAGCCTACTACTGCATGCAAAACAT CCAGTTCCTTCCCTTCGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATTAAG
139111- aa VH	71	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNGTHMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAH GGESDVWGQGTTVTVSS
139111- aa VL	86	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLRNDGKTPLYWYLQKAGQPP QLLIYEVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVIGYCMQNIQ FPSFGGGTKLEIK
139111- aa 完全 CAR	101	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFA LSNGTHMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSNT LYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRA SGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLRNDGKTPLYWYLQ KAGQPPQLLIYEVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVIGY CMQNIQFPSFGGGTKLEIKTTTTAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQ NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK MAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQLPPR
139111- nt 完全 CAR	116	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAATTGTTGGAATCTGGAGGAGGACTTGT GCAGCCTGGAGGATCACTGAGACTTTCGTGTGCGGTGTGAGGCTTCGCC CTGAGCAACCACGGCATGAGCTGGGTGCGGAGAGCCCCGGGAAGGGTC TGGAATGGGTGTCCGGGATCGTCTACTCCGGTTCAACTTACTACGCCGC AAGCGTGAAGGGTCGCTTACCATTTCCCGCGATAACTCCCGGAACACC CTGTACCTCCAAATGAACTCCCTGCGGCCCCGAGGACACCGCCATCTACT ACTGTTCCGCGCATGGAGGAGAGTCCGATGTCTGGGGACAGGGCACTAC

[0665]

		<p>CGTGACCGTGTTCGAGCGCCTCGGGGGGAGGAGGCTCCGGCGGTTCGCGCC TCCGGGGGGGGTGGCAGCGACATTGTGATGACGCAGACTCCACTCTCGC TGTCCGTGACCCCGGGACAGCCCGGTCCATCTCGTGCAAGAGCTCCCA GAGCCTGCTGAGGAACGACGGAAAGACTCCTCTGTATTGGTACCTCCAG AAGGCTGGACAGCCCCGCAACTGCTCATCTACGAAGTGTCAAATCGCT TCTCCGGGGTGCCGGATCGGTTTTCCGGCTCGGGATCGGGCACCGACTT CACCCTGAAAATCTCCAGGGTTCGAGGCCGAGGACGTGGGAGCCTACTAC TGCATGCAAAACATCCAGTTCCTTCCTTCGGCGGCGGCACAAAGCTGG AGATTAAGACCACTACCCAGCACCAGGACCACCCACCCCGGCTCCTAC CATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCA GCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCT ACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCTGCTTTCACT CGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCCGAAGAAGCTGCTGTACATC TTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACG GCTGTTTCATGCCGGTCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCG CGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAG AACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCCGAGAGAGGAGTACGACG TGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCG CAGAAAGAATCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAG ATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAG GCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGA CACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>
139100		
139100- aa ScFv 结构域	42	<p>QVQLVQSGAEVRKTTGASVKVSKASGYIFDNFGINWVRQAPGQGLEWMG WINPKNNNTNYAQKFQGRVTITADESTNTAYMEVSSLRSEDTAVYYCAR GPYYYQSYMDVWGQGTMTVSSASGGGGSGGRASGGGSDIVMTQTPLS LPVTPGEPASISCRSSQSLLSHNGYNYLNWYLQKPGQSPQLLIYLGSKR ASGVPDRFSGSGSDFTLHITRVGAEDVGVYYCMQALQTPYTFGQGTK LEIK</p>
139100- nt ScFv 结构域	57	<p>CAAGTCCAACCTCGTCCAGTCCGGCGCAGAAGTCAGAAAAACCGGTGCTA GCGTGAAAGTGTCTGCAAGGCCTCCGGCTACATTTTCGATAACTTCGG AATCAACTGGGTGAGACAGGCCCGGGCCAGGGGCTGGAATGGATGGGA TGGATCAACCCCAAGAACAACAACCAACTACGCACAGAAGTTCAGG GCCGCGTGACTATCACC GCCGATGAATCGACCAATACCGCCTACATGGA GGTGTCCTCCCTGCGGTCCGAGGACACTGCCGTGTATTACTGCGCGAGG</p>

[0666]

		GGCCATACTACTACCAAAGCTACATGGACGTCTGGGGACAGGGAACCA TGGTGACCGTGTTCATCCGCCTCCGGTGGTGGAGGCTCCGGGGGGCGGGC TTCAGGAGGCGGAGGAAGCGATATTGTGATGACCCAGACTCCGCTTAGC CTGCCCCTGACTCCTGGAGAACCGGCCTCCATTTCTGCCGGTCCTCGC AATCACTCCTGCATTCCAACGGTTACAACACTACCTGAATTGGTACCTCCA GAAGCCTGGCCAGTCGCCCCAGTTGCTGATCTATCTGGGCTCGAAGCGC GCCTCCGGGGTGCCTGACCGGTTTAGCGGATCTGGGAGCGGCACGGACT TCACTCTCCACATCACCCGCGTGGGAGCGGAGGACGTGGGAGTGTACTA CTGTATGCAGGCGCTGCAGACTCCGTACACATTCCGGACAGGGCACCAAG CTGGAGATCAAG
139100- aa VH	72	QVQLVQSGAEVRKTGASVKVSKASGYIFDNFGINWVRQAPQGLEWMG WINPKNNNTNYAQKFQGRVTITADESTNTAYMEVSSLRSEDTAVYYCAR GPYYYQSYMDVWGQGTMTVSS
139100- aa VL	87	DIVMTQTPLSLPVTPEGPASISCRSSQSLLSHNGYNYLNWYLQKPGQSP QLLIYLGSKRASGVPDRFSGSGSDFTLHITRVGAEDVGVYYCMQALQ TPYTFGQGTKLEIK
139100- aa 完全 CAR	102	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVRKTGASVKVSKASGYI FDNFGINWVRQAPQGLEWMGWINPKNNNTNYAQKFQGRVTITADESTN TAYMEVSSLRSEDTAVYYCARGPYYYQSYMDVWGQGTMTVSSASGGGG SGGRASGGGSDIVMTQTPLSLPVTPEGPASISCRSSQSLLSHNGYNYL NWYLQKPGQSPQLLIYLGSKRASGVPDRFSGSGSDFTLHITRVGAED VGVYYCMQALQTPYTFGQGTKLEIKTTTTAPRPPTPAPTIASQPLSLRP EACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCVLLLSLVITLYCKRGR KLLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAP AYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQAL PPR
139100- nt 完全 CAR	117	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCAAGTCCAACCTCGTCCAGTCCGGCGCAGAAGTCAG AAAACCGGTGCTAGCGTGAAAGTGTCTTGCAAGGCCTCCGGCTACATT TTCGATAACTTCGGAATCAACTGGGTGACACAGGCCCGGGCCAGGGGC TGGAATGGATGGGATGGATCAACCCCAAGAACAACAACCAACTACGC ACAGAAGTTCCAGGGCCGCTGACTATCACCGCCGATGAATCGACCAAT ACCGCTACATGGAGGTGTCCTCCCTGCGGTCCGAGGACACTGCCGTGT ATTACTGCGCGAGGGGCCATACTACTACCAAAGCTACATGGACGTCTG

[0667]

		<p>GGGACAGGGAACCATGGTGACCGTGTTCATCCGCTCCGGTGGTGGAGGC TCCGGGGGGCGGGCTTCAGGAGGCGGAGGAAGCGATATTGTGATGACCC AGACTCCGCTTAGCCTGCCCGTACTCCTGGAGAACCGGCCTCCATTTT CTGCCGGTCTCGCAATCACTCCTGCATTCCAACGGTTACAACACTACCTG AATTGGTACCTCCAGAAGCCTGGCCAGTCGCCCCAGTTGCTGATCTATC TGGGCTCGAAGCGCGCCTCCGGGGTGCCTGACCGGTTTAGCGGATCTGG GAGCGGCACGGACTTCACTCTCCACATCACCCGCGTGGGAGCGGAGGAC GTGGGAGTGTACTACTGTATGCAGGCGCTGCAGACTCCGTACACATTTCG GACAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGACCACTACCCAGCACCGAGGCC ACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCG GAGGCATGTAGACCCGCGAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTG ACTTCGCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGG GGTCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTTCGG AAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGA CTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGGTTCAGAGGAGGAGGA AGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCGAGCGCAGATGCTCCA GCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTC GGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGA AATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCAAGAGGGCCTGTACAAC GAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGA AAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACT CAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTG CCGCCTCGG</p>
139101		
139101- aa ScFv 结构域	43	<p>QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSDAMTWVRQAPGKGLEWVS VISGSGGTTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK LDSSGYYYARGPRYWQGTTLVTVSSASGGGSGGRASGGGSDIQLTQS PSSLSASVGDRTVITCRASQSISSYLNWYQQKPKGKAPKLLIYGASTLAS GVPARFSGSGSHTFTLTINSLQSEDSATYYCQQSYKRASFGQGTKVEI K</p>
139101- nt ScFv 结构域	58	<p>CAAGTGCAACTTCAAGAATCAGGCGGAGGACTCGTGCAGCCCGGAGGAT CATTGCGGCTCTCGTGCGCCGCTCGGGCTTACCTTCTCGAGCGACGC CATGACCTGGGTCCGCCAGGCCCGGGGAAGGGGCTGGAATGGGTGTCT GTGATTTCCGGCTCCGGGGAACTACGTACTACGCCGATTCCGTGAAAG GTCGCTTCACTATCTCCCGGACAACAGCAAGAACACCCTTTATCTGCA</p>

[0668]

		AATGAATTCCCTCCGCGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAAG CTGGACTCCTCGGGCTACTACTATGCCCCGGGGTCCGAGATACTGGGGAC AGGGAACCCTCGTGACCGTGTCTCCGCGTCCGGCGGAGGAGGGTTCGGG AGGGCGGGCCTCCGGCGGGCGGCGGTTTCGGACATCCAGCTGACCCAGTCC CCATCCTCACTGAGCGCAAGCGTGGGCGACAGAGTCACCATTACATGCA GGGCGTCCCAGAGCATCAGCTCCTACCTGAACTGGTACCAACAGAAGCC TGGAAAGGCTCCTAAGCTGTTGATCTACGGGGCTTCGACCCTGGCATCC GGGGTGCCCGCGAGGTTTAGCGGAAGCGGTAGCGGCACTCACTTCACTC TGACCATTAACAGCCTCCAGTCCGAGGATTAGCCACTTACTACTGTCA GCAGTCCTACAAGCGGGCCAGCTTCGGACAGGGCACTAAGGTCGAGATC AAG
139101- aa VH	73	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSDAMTWVRQAPGKGLEWVS VISGSGGTTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK LDSSGYYYARGPRYWQGTTLTVSS
139101- aa VL	88	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIY GASTLASGVPARFSGSGSGTHFTLTINSLQSEDSATYYCQQSYKRASFG QGTKVEIK
139101- aa 完全 CAR	103	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FSSDAMTWVRQAPGKGLEWVSVISGSGGTTYADSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKLDSSGYYYARGPRYWQGTTLTVSSASG GGGSGGRASGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSISSYLNW YQQKPGKAPKLLIYGASTLASGVPARFSGSGSGTHFTLTINSLQSEDSA TYYCQQSYKRASFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLL LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYK QGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQ KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR
139101- nt 完全 CAR	118	ATGGCCCTCCCTGTCAACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCAAGTGCAACTTCAAGAATCAGGCGGAGGACTCGT GCAGCCCGGAGGATCATTGCGGCTCTCGTGCGCCGCCTCGGGCTTACC TTCTCGAGCGACCCATGACCTGGGTCCGCCAGGCCCGGGGAAGGGGC TGGAATGGGTGTCTGTGATTTCCGGCTCCGGGGGAACACTACGTACTACGC CGATTCCGTGAAAGGTCGCTTCACTATCTCCCGGACAACAGCAAGAAC ACCCTTTATCTGCAAATGAATCCCTCCGCGCCGAGGACACCGCCGTGT ACTACTGCGCCAAGCTGGACTCCTCGGGCTACTACTATGCCCCGGGTCC

[0669]

		<p>GAGATACTGGGGACAGGGAACCCTCGTGACCGTGTCTCCGCGTCCGGC GGAGGAGGGTTCGGGAGGGCGGGCCTCCGGCGGCGGGCGGTTCCGGACATCC AGCTGACCCAGTCCCCATCTCACTGAGCGCAAGCGTGGGCGACAGAGT CACCATTACATGCAGGGCGTCCCAGAGCATCAGCTCCTACCTGAACTGG TACCAACAGAAGCCTGGAAAGGCTCCTAAGCTGTTGATCTACGGGGCTT CGACCCTGGCATCCGGGGTGCCCGCGAGGTTTAGCGGAAGCGGTAGCGG CACTCACTTCACTCTGACCATTAACAGCCTCCAGTCCGAGGATTAGCC ACTTACTACTGTGAGCAGTCTTACAAGCGGGCCAGCTTCGGACAGGGCA CTAAGGTCGAGATCAAGACCACTACCCAGCACCGAGGGCCACCCACCC GGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGT AGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCT GCGATATCTACATTTGGGCCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCT GCTTTCCTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTG CTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAG AGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGGTTCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTG CGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAG CAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACCTCAATCTTGGTTCGGAGAGAGG AGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGG GAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAA AAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAAC GCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGC CACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>
139102		
139102- aa ScFv 结构域	44	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFSNYGITWVRQAPGQGLEWMG WISAYNGNTNYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR GPYYYYMDVWGKTMVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSEIVMTQSPLSLP VTPGEPASISCRSSQSLLYSNGYNYVDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRAS GVPDRFSGSGSTDFKLQISRVEAEDVGIYYCMQGRQFPYSFGQGTKVE IK</p>
139102- nt ScFv 结构域	59	<p>CAAGTCCAACCTGGTCCAGAGCGGTGCAGAAGTGAAGAAGCCCGGAGCGA GCGTGAAAGTGTCTGCAAGGCTTCCGGGTACACCTTCTCCAACCTACGG CATCACTTGGGTGCGCCAGGCCCGGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGG TGGATTTCCGCGTACAACGGCAATACGAACCTACGCTCAGAAGTTCAGG GTAGAGTGACCATGACTAGGAACACCTCCATTTCCACCGCCTACATGGA ACTGTCCTCCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCGCCCGG</p>

[0670]

		GGACCATACTACTACTACATGGATGTCTGGGGGAAGGGGACTATGGTCA CCGTGTCATCCGCCTCGGGAGGCGGCGGATCAGGAGGACGCGCCTCTGG TGGTGGAGGATCGGAGATCGTGATGACCCAGAGCCCTCTCTCCTTGCCC GTGACTCCTGGGGAGCCCGCATCCATTTTCATGCCGGAGCTCCCAGTCAC TTCTCTACTCCAACGGCTATAACTACGTGGATTGGTACCTCCAAAAGCC GGGCCAGAGCCCGCAGCTGCTGATCTACCTGGGCTCGAACAGGGCCAGC GGAGTGCCTGACCGTTCTCCGGGTCCGGGAAGCGGGACCGACTTCAAGC TGCAAATCTCGAGAGTGGAGGCCGAGGACGTGGGAATCTACTACTGTAT GCAGGGCCGCCAGTTTCCGTACTCGTTCGGACAGGGCACCAAAGTGGAA ATCAAG
139102- aa VH	74	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFSNYGITWVRQAPGQGLEWMG WISAYNGNTNYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR GPYYYYMDVWGKGTMTVSS
139102- aa VL	89	EIVMTQSPLSLPVTPEGPASISCRSSQSLLYSNGYNYVDWYLQKPGQSP QLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFKQLISRVEAEDVGIYYCMQGRQ FPYSFGQGTKVEIK
139102- aa 完全 CAR	104	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYT FSNYGITWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKFQGRVTMTRNTSIS TAYMELSSLRSEDTAVYYCARGPYYYYMDVWGKGTMTVSSASGGGGSG GRASGGGGSEIVMTQSPLSLPVTPEGPASISCRSSQSLLYSNGYNYVDW YLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFKQLISRVEAEDVG IYYCMQGRQFPYSFGQGTKVEIKTTTTAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEA CRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKK LLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAY KQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNEL QKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPP R
139102- nt 完全 CAR	119	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCAAGTCCAAGTGGTCCAGAGCGGTGCAGAAGTGAA GAAGCCCGGAGCGAGCGTGAAAGTGTCTGCAAGGCTTCCGGGTACACC TTCTCCAAGTACGGCATCACTTGGGTGCGCCAGGCCCGGGACAGGGCC TGGAATGGATGGGGTGGATTTCGCGGTACAACGGCAATACGAAGTACGC TCAGAAGTTCAGGGTAGAGTGACCATGACTAGGAACACCTCCATTTCC ACCGCCTACATGGAAGTGTCTCCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGT ACTATTGCGCCCGGGGACCATACTACTACTACTACATGGATGTCTGGGGAA

[0671]

		<p>GGGGACTATGGTCACCGTGTTCATCCGCCTCGGGAGGCGGCGGATCAGGA GGACGCGCCTCTGGTGGTGGAGGATCGGAGATCGTGATGACCCAGAGCC CTCTCTCCTTGCCCCTGACTCCTGGGGAGCCCGCATCCATTTTCATGCCG GAGCTCCCAGTCACTTCTCTACTCCAACGGCTATAACTACGTGGATTGG TACCTCCAAAAGCCGGGCCAGAGCCCGCAGCTGCTGATCTACCTGGGCT CGAACAGGGCCAGCGGAGTGCCTGACCGGTTCTCCGGGTCCGGGAAGCGG GACCGACTTCAAGCTGCAAATCTCGAGAGTGGAGGCCGAGGACGTGGGA ATCTACTACTGTATGCAGGGCCGCCAGTTTCCGTA CTCTCGGACAGG GCACCAAAGTGGAAATCAAGACCACTACCCAGCACCAGGACCACCCAC CCCGGCTCCTACCATCGCCTCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCA TGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCG CCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTT GCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCCGGAAGAAG CTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTC AAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGGTCCAGAGGAGGAGGAAGGCGG CTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTAC AAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCCGAGAG AGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGG CGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTC CAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGG AACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCAC CGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCT CGG</p>
139104		
139104- aa ScFv 结构域	45	<p>EVQLLETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDN SRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAH GGESDVWGQGTITVTVSSASGGGSGGRASGGGSEIVLTQSPATLSVSP GESATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGA STRASGIPDRFSG SGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYGS SLTFGGGTKVEIK</p>
139104- nt ScFv 结构域	60	<p>GAAGTGCAATTGCTCGAACTGGAGGAGGTCTGGTGCAACCTGGAGGAT CACTTCGCCTGTCTGCGCCGTGTCCGGGCTTTGCCCTGTCCAACCATGG AATGAGCTGGGTCCGCCGCGCGCCGGGAAGGGCCTCGAATGGGTGTCC GGCATCGTCTACTCCGGCTCCACCTACTACGCCGCGTCCGTGAAGGGCC GGTTCACGATTTACGGGACAACCTCGCGGAACACCCTGTACCTCCAAAT GAATTCCCTTCGGCCGGAGGATACTGCCATCTACTACTGCTCCGCCAC</p>

		GGTGGCGAATCCGACGTCTGGGGCCAGGGAACCACCGTGACCGTGTCCA GCGCGTCCGGGGGAGGAGGAAGCGGGGGTAGAGCATCGGGTGGAGGCGG ATCAGAGATCGTGCTGACCCAGTCCCCCGCCACCTTGAGCGTGTACCA GGAGAGTCCGCCACCCTGTCATGCCGCGCCAGCCAGTCCGTGTCCTCCA ACCTGGCTTGGTACCAGCAGAAGCCGGGGCAGGCCCTAGACTCCTGAT CTATGGGGCGTCGACCCGGGCATCTGGAATTTCCCGATAGGTTTACGCGGA TCGGGCTCGGGCACTGACTTCACTCTGACCATCTCCTCGCTGCAAGCCG AGGACGTGGCTGTGTACTACTGTGACGAGTACGGAAGCTCCCTGACTTT CGGTGGCGGGACCAAAGTCGAGATTAAG
139104- aa VH	75	EVQLLETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNGTHMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNSTNTLYLQMNLSRPEDTAIYYCSAH GGESDVWGQGTITVTVSS
139104- aa VL	90	EIVLTQSPATLSVSPGESATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIY GASTRASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYGSSTLFG GGTKVEIK
139104- aa 完全 CAR	105	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFA LSNTHMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNSTNT LYLQMNLSRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTITVTVSSASGGGGSGGRA SGGGGSEIVLTQSPATLSVSPGESATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQA PRLLIYGASTRASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYG SSLTFFGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAV HTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPF MRPVQTTQEEDGCSCRFPSEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNLIN ELNLGRREYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAY SEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139104- nt 完全 CAR	120	ATGGCCCTCCCTGTCAACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAATTGCTCGAAACTGGAGGAGGTCTGGT GCAACCTGGAGGATCACTTCGCCTGTCTGCGCCGTGTGGGCTTTGCC CTGTCCAACCATGGAATGAGCTGGGTCCGCCGCGCGCCGGGAAGGGCC TCGAATGGGTGTCCGGCATCGTCTACTCCGGCTCCACCTACTACGCCGC GTCCGTGAAGGGCCGGTTCACGATTTACGGGACAACCTCGCGGAACACC CTGTACCTCCAAATGAATTCCTTTCGGCCGGAGGATACTGCCATCTACT ACTGCTCCGCCACGGTGGCGAATCCGACGTCTGGGGCCAGGGAACCAC CGTGACCGTGTCCAGCGCGTCCGGGGGAGGAGGAAGCGGGGGTAGAGCA TCGGGTGGAGGCGGATCAGAGATCGTGCTGACCCAGTCCCCCGCCACCT

[0672]

[0673]

		<p>TGAGCGTGTCCACCAGGAGAGTCCGCCACCCTGTCATGCCGCGCCAGCCA GTCCGTGTCTCCAACCTGGCTTGGTACCAGCAGAAGCCGGGGCAGGCC CCTAGACTCCTGATCTATGGGGCGTCGACCCGGGCATCTGGAATCCCG ATAGGTTTCAGCGGATCGGGCTCGGGCACTGACTTCACTCTGACCATCTC CTCGCTGCAAGCCGAGGACGTGGCTGTGTACTACTGTGACAGTACGGA AGCTCCCTGACTTTCGGTGGCGGGACCAAAGTCGAGATTAAGACCACTA CCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCC TCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTG CATACCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTC TGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCTGCTTTCCTCGTGATCACTCTTTA CTGTAAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTC ATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGGT TCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAATTCAGCCG CAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAAC GAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGA GAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCA AGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTAT AGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACG GACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCT TCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>
139106		
139106- aa ScFv 结构域	46	<p>EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNIHGMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRNLTLYLQMNLRPEDTAIYYCSAH GGESDVWGQGTITVTVSSASGGGSGGRASGGGSEIVMTQSPATLSVSP GERATLSCRASQSVSSKLAWYQQKPGQAPRLLMYGASIRATGIPDRFSG SSGTEFTLTISLLEPEDFAVYYCQQYIGSSSWTFGQGTKVEIK</p>
139106- nt ScFv 结构域	61	<p>GAAGTGCAATTGGTGGAACTGGAGGAGGACTTGTGCAACCTGGAGGAT CATTGAGACTGAGCTGCGCAGTGTGGGATTCGCCCTGAGCAACCATGG AATGTCCTGGGTGAGAAGGGCCCTGGAAAAGGCCTCGAATGGGTGTCA GGGATCGTGTACTCCGGTTCCTACTACTACGCCGCTCCGTGAAGGGGC GCTTCACTATCTCACGGGATAACTCCCGCAATACCCTGTACCTCCAAAT GAACAGCCTGCGGCCGGAGGATAACCGCCATCTACTACTGTTCCGCCAC GGTGGAGAGTCTGACGTCTGGGGCCAGGGAACCTACCGTGACCGTGTCT CCGCGTCCGGCGGTGGAGGGAGCGGCGGCCGCGCCAGCGGCGGCGGAGG CTCCGAGATCGTGATGACCCAGAGCCCCGCTACTCTGTGCGGTGTGCCCC</p>

		GGAGAAAGGGCGACCCTGTCCTGCCGGGCGTCGCAGTCCGTGAGCAGCA AGCTGGCTTGGTACCAGCAGAAGCCGGGCCAGGCACCACGCCTGCTTAT GTACGGTGCCTCCATTCGGGGCCACCGGAATCCCGGACCGGTTCTCGGGG TCGGGGTCCGGTACCGAGTTCACACTGACCATTTCTCGCTCGAGCCCG AGGACTTTGCCGTCTATTACTGCCAGCAGTACGGCTCCTCCTCATGGAC GTTTCGGCCAGGGGACCAAGGTCGAAATCAAG
139106- aa VH	76	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALS ^{NH} GM ^{SW} RRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISR ^{DNS} RNTLYLQ ^{MNS} LRPEDTAIYYCSAH GGESDVWGQGT ^{TVT} VSS
139106- aa VL	91	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSK ^{LAWY} Q ^Q KPGQAPRL ^{LMY} GASIRATGIPDRFSGSGSGTEFTLT ^{ISS} LEPEDFAVYYC ^Q QY ^{GSS} SWTF GQGTKVEIK
139106- aa 完全 CAR	106	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFA LSNHGM ^{SW} RRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISR ^{DNS} RNT LYLQ ^{MNS} LRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGT ^{TVT} VSSASGGGGSGGRA SGGGGSEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSK ^{LAWY} Q ^Q KPGQA PRL ^{LMY} GASIRATGIPDRFSGSGSGTEFTLT ^{ISS} LEPEDFAVYYC ^Q QY ^G SSSWTFGQGTKVEIKTTTT ^{PAP} RPPT ^{PAPT} IASQ ^{PL} SLRPEACRPAAGGA VHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQ ^G Q ^N Q ^{LY} NELNLGRREEYDVL ^{DKRR} GRDPEMGGK ^{PRR} K ^{NP} Q ^{EGL} YNELQ ^{KDK} MAEA YSEIGMKGERRRGK ^{GHD} GLYQ ^{GL} STATK ^{DY} DALHM ^Q ALPPR
139106- nt 完全 CAR	121	ATGGCCCTCCCTGTCA ^{CCG} CCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAATTGGTGGAAACTGGAGGAGGACTTGT GCAACCTGGAGGATCATTGAGACTGAGCTGCGCAGTGT ^{CGG} GATT ^{CGCC} CTGAGCAACCATGGAATGTCCTGGGT ^{CAGA} AGGGCCCTGGAAAAGGCC TCGAATGGGTGTCAGGGATCGTGTACTCCGTTCCACTTACTACGCCGC CTCCGTGAAGGGGCGCTTCACTATCTCACGGGATAACTCCCGCAATACC CTGTACCTCCAAATGAACAGCCTGCGGCCGAGGATAACCGCCATCTACT ACTGTTCCGCCACGGTGGAGAGTCTGACGTCTGGGGCCAGGGA ^{ACT} TAC CGTGACCGTGTCTCCCGCTCCGGCGGTGGAGGGAGCGGCGGCCGCGCC AGCGGCGGCGGAGGCTCCGAGATCGTGATGACCCAGAGCCCCGCTACTC TGTCGGTGT ^{CGCC} CGAGAAAGGGCGACCCTGTCCTGCCGGGCGTCGCA GTCCGTGAGCAGCAAGCTGGCTTGGTACCAGCAGAAGCCGGGCCAGGCA CCACGCCTGCTTATGTACGGTGCCTCCATTCGGGGCCACCGGAATCCCGG

[0674]

		<p>ACCGGTTCTCGGGGTCGGGGTCCGGTACCGAGTTCACACTGACCATTTCTCGCTCGAGCCCGAGGACTTTGCCGTCTATTACTGCCAGCAGTACGGCTCCTCCTCATGGACGTTCCGGCCAGGGGACCAAGGTCGAAATCAAGACCACTACCCAGCACCAGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCA GCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCC GTGCATAACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCC CTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCT TTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCC TTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCC GGTTCACAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAG CCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTAC AACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGC GGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCC CCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCC TATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACG ACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGC TCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>	
[0675]	139107		
	139107- aa ScFv 结构域	47	<p>EVQLVETGGGVVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRNLTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAH GGESDVWGQGTITVTVSSASGGGSGGRASGGGSEIVLTQSPGTLSP GERATLSCRASQSVGSTNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPDRFS GGGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSPPWTFGQGTKVEIK</p>
	139107- nt ScFv 结构域	62	<p>GAAGTGCAATTGGTGGAGACTGGAGGAGGAGTGGTGCAACCTGGAGGAA GCCTGAGACTGTGATGCGCGGTGTCCGGCTTCGCCCTCTCCAACCACGG AATGTCCTGGGTCCGCCGGGCCCTGGGAAAGGACTTGAATGGGTGTCC GGCATCGTGTACTCGGGTTCACCTACTACGCGGCCTCAGTGAAGGGCC GGTTTACTATTAGCCGCGACAACCTCCAGAAACACACTGTACCTCCAAAT GAACTCGCTGCGGCCGGAAGATAACCGCTATCTACTACTGCTCCGCCAT GGGGGAGAGTCGGACGTCTGGGGACAGGGCACCCTGTCACTGTGTCCA GCGCTTCCGGCGGTGGTGAAGCGGGGACGGGCCTCAGGAGGCGGTGG CAGCGAGATTGTGCTGACCCAGTCCCCGGGACCCTGAGCCTGTCCCCG GGAGAAAGGGCCACCCTCTCCTGTCCGGCATCCCAGTCCGTGGGGTCTA CTAACCTTGCATGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCTCGCCTGCT GATCTACGACGCGTCCAATAGAGCCACCGGCATCCCGGATCGCTTCAGC</p>

		GGAGGCGGATCGGGCACC GACTTCACCCTCACCATTTCAAGGCTGGAAC CGGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTATGGTTCGTCCCCACC CTGGACGTTTCGGCCAGGGGACTAAGGTCGAGATCAAG
139107- aa VH	77	EVQLVETGGGVVQPGGSLRLSCAVSGFALS NHGMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDN SRNTLYLQMN SLRPEDTAIYYCSAH GGESDVWGQGT TVTVSS
139107- aa VL	92	EIVLTQSPGTL SLSLSPGERATL SCRASQSVGSTNLAWYQQKPGQAPRLLI YDASNRATGIPDRFSGGGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPPW TFGQGTKVEIK
139107- aa 完全 CAR	107	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGVVQPGGSLRLSCAVSGFA LSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDN SRNT LYLQMN SLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGT TVTVSSASGGGGSGGRA SGGGGSEIVLTQSPGTL SLSLSPGERATL SCRASQSVGSTNLAWYQQKPGQ APRLLIYDASNRATGIPDRFSGGGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPPWTFGQGTKVEIKTTTT PAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACRPAAG GAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQ LYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKHGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139107- nt 完全 CAR	122	ATGGCCCTCCCTGT CACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAATTGGTGGAGACTGGAGGAGGAGTGGT GCAACCTGGAGGAAGCCTGAGACTGTCATGCGCGGTGTCGGGCTTCGCC CTCTCCAACCACGGAATGTCCTGGGTCCGCCGGGCCCCCTGGGAAAGGAC TTGAATGGGTGTCCGGCATCGTGTACTCGGGTTCCACCTACTACGCGGC CTCAGTGAAGGGCCGTTTACTATTAGCCGCGACA ACTCCAGAAACACA CTGTACCTCCAAATGAACTCGCTGCGGCCGGAAGATAACCGCTATCTACT ACTGCTCCGCCCATGGGGGAGAGTCGGACGTCTGGGGACAGGGCACCAC TGTCACTGTGTCCAGCGCTTCCGGCGGTGGTGAAGCGGGGACGGGCC TCAGGAGGCGGTGGCAGCGAGATTGTGCTGACCCAGTCCCCCGGGACCC TGAGCCTGTCCCCGGGAGAAAGGGCCACCCTCTCCTGTCTGGGCATCCCA GTCCGTGGGTCTACTAACCTTGCATGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAG GCCCCCTCGCTGCTGATCTACGACCGTCCAATAGAGCCACCGGCATCC CGGATCGCTTCAGCGGAGGCGGATCGGGCACC GACTTCACCCTCACCAT TTCAAGGCTGGAACCGGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTAT GGTTCGTCCCCACCCTGGACGTTTCGGCCAGGGGACTAAGGTCGAGATCA

[0676]

[0677]

		<p>AGACCACTACCCAGCACCAGGAGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGC CTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGT GGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTT GGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCTGCTTTCACTCGTGAT CACTCTTTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAG CAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTT CATGCCGGTTCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAA ATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAG CTCTACAACGAACTCAATCTTGGTTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGG ACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAA GAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCA GAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAG GCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTA TGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>
139108		
139108- aa ScFv 结构域	48	<p>QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSRAEDTAVYYCAR ESGDGMVWVGQTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYTLAFGQGTKVDIK</p>
139108- nt ScFv 结构域	63	<p>CAAGTGCAACTCGTGGAATCTGGTGGAGGACTCGTGAAACCTGGAGGAT CATTGAGACTGTCATGCGCGGCCTCGGGATTCACGTTCTCCGATTACTA CATGAGCTGGATTGCCAGGCTCCGGGGAAGGGACTGGAATGGGTGTCC TACATTTCTCATCCGGCTCCACCATCTACTACGCGGACTCCGTGAAGG GGAGATTACCATTAGCCGCGATAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTTCA GATGAACTCCCTGCGGGCTGAAGATACTGCCGTCTACTACTGCGCAAGG GAGAGCGGAGATGGGATGGACGTCTGGGGACAGGGTACCACTGTGACCG TGTCGTGCGCCTCCGGCGGAGGGGGTTCGGGTGGAAGGGCCAGCGGCGG CGGAGGCAGCGACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCATCGCTGTCCGCC TCCGTGGGCGACCGCGTCACCATCACATGCCGGGCTCACAGTCGATCT CCTCCTACCTCAATTGGTATCAGCAGAAGCCCCGAAAGGCCCTAAGCT TCTGATCTACGCAGCGTCCTCCCTGCAATCCGGGGTCCCATCTCGGTTC TCCGGCTCGGGCAGCGGTACCGACTTCACTCTGACCATCTCGAGCCTGC AGCCGGAGGACTTCGCCACTTACTACTGTCAGCAAAGCTACACCCTCGC GTTTGGCCAGGGCACCAAAGTGGACATCAAG</p>

<p>139108- aa VH</p>	<p>78</p>	<p>QVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSRAEDTAVYYCAR ESGDGMDVWGQGTITVTVSS</p>
<p>139108- aa VL</p>	<p>93</p>	<p>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIY AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYTLAFGQ GTKVDIK</p>
<p>139108- aa 完全 CAR</p>	<p>108</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSCAASGFT FSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKN SLYLQMNLSRAEDTAVYYCARESGDGMDVWGQGTITVTVSSASGGGGSGG RASGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ SYTLAFGQGTKVDIKTTTTAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGA VHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLY NELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA YSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQLPPR</p>
<p>139108- nt 完全 CAR</p>	<p>123</p>	<p>ATGGCCCTCCCTGTCAACGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCAAGTGCAACTCGTGGAATCTGGTGGAGGACTCGT GAAACCTGGAGGATCATTGAGACTGTCATGCGCGGCCTCGGGATTACAG TTCTCCGATTACTACATGAGCTGGATTCCGCCAGGCTCCGGGAAGGGAC TGGAATGGGTGTCTACATTTCCCTCATCCGGCTCCACCATCTACTACGC GGACTCCGTGAAGGGGAGATTACACCATTAGCCGCGATAACGCCAAGAAC AGCCTGTACCTTCAGATGAACTCCCTGCGGGCTGAAGATACTGCCGTCT ACTACTGCGCAAGGGAGAGCGGAGATGGGATGGACGTCTGGGGACAGGG TACCCTGTGACCGTGTCTCGTCCGGCCTCCGGCGGAGGGGGTTCCGGGTGGA AGGGCCAGCGCGGCGGAGGCAGCGACATCCAGATGACCCAGTCCCCCT CATCGCTGTCCGCTCCGTGGGCGACCGGTCACCATCACATGCCGGGC CTCACAGTCGATCTCCTCCTACCTCAATTGGTATCAGCAGAAGCCCGGA AAGGCCCTAAGCTTCTGATCTACGCAGCGTCCTCCCTGCAATCCGGGG TCCCATCTCGGTTCTCCGGCTCGGGCAGCGGTACCGACTTCACTCTGAC CATCTCGAGCCTGCAGCCGGAGGACTTCGCCACTTACTACTGTCAGCAA AGCTACACCCTCGCGTTTGGCCAGGGCACCAAAGTGGACATCAAGACCA CTACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCA GCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCGAGCTGGTGGGGCC GTGCATACCCGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCC</p>

[0678]

[0679]

		CTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCT TTACTGTAAGCGCGGTGCGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCC TTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCC GGTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAG CCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTAC AACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGC GGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCC CCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCC TATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACG ACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGC TCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG
139110		
139110- aa ScFv 结构域	50	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS YI SSSGNTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR STMVREDYWGQGLVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIVLTQSPSLPV TLGQPASISCKSSESLVHNSGKTYLNWFHQRPQSPRRLIYEVSNRDSG VPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHTWPGTFGQGTKLEI K
139110- nt ScFv 结构域	65	CAAGTGCAACTGGTGCAAAGCGGAGGAGGATTGGTCAAACCCGGAGGAA GCCTGAGACTGTCATGCGCGGCCTCTGGATTACCTTCTCCGATTACTA CATGTCATGGATCAGACAGGCCCGGGGAAGGGCCTCGAATGGGTGTCC TACATCTCGTCCTCCGGGAACACCATCTACTACGCCGACAGCGTGAAGG GCCGCTTTACCATTTCCCGCGACAACGCAAAGAAGTCTGCTGTACCTTCA GATGAATTCCTGCGGGCTGAAGATAACCGCGGTGACTATTGCGCCCGG TCCACTATGGTCCGGGAGGACTACTGGGGACAGGGCACACTCGTGACCG TGTCCAGCGCGAGCGGGGGTGGAGGCAGCGGTGGACGCGCCTCCGGCGG CGGCGGTTCAGACATCGTGCTGACTCAGTCGCCCCTGTCGCTGCCGGTC ACCCTGGGCCAACCGGCCTCAATTAGCTGCAAGTCTCGGAGAGCCTGG TGCACAACCTCAGGAAAGACTTACCTGAACTGGTTCATCAGCGGCCTGG ACAGTCCCCACGGAGGCTCATCTATGAAGTGTCCAACAGGGATTCTGGGG GTGCCCGACCGCTTCACTGGCTCCGGGTCCGGCACCGACTTACCTTGA AAATCTCCAGAGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGTATGCA GGGTACCCACTGGCCTGGAACCTTTGGACAAGGAACTAAGCTCGAGATT AAG
139110- aa	80	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS

<p>VH</p>		<p>YISSSGNTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR STMVREDYWGQGLVTVSS</p>
<p>139110- aa VL</p>	<p>95</p>	<p>DIVLTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSESLVHNSGKTYLNWFHQRPQSP RRLIYEVSNRDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGT HWPFTFGQGTKLEIK</p>
<p>139110- aa 完全 CAR</p>	<p>110</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFT FSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGNTIYYADSVKGRFTISRDNKN SLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSTMVREDYWGQGLVTVSSASGGGGSGG RASGGGSDIVLTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSESLVHNSGKTYLNWF HQRPQSPRRLIYEVSNRDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQGTHTWPGFTFGQGTKLEIKTTTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKL LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYK QGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQ KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR</p>
<p>139110- nt 完全 CAR</p>	<p>125</p>	<p>ATGGCCCTCCCTGTCAACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCAAGTGCAACTGGTGCAAAGCGGAGGAGGATTGGT CAAACCCGGAGGAAGCCTGAGACTGTCATGCGCGGCCTCTGGATTACCC TTCTCCGATTACTACATGTCATGGATCAGACAGGCCCGGGGAAGGGCC TCGAATGGGTGTCCTACATCTCGTCCTCCGGGAACACCATCTACTACGC CGACAGCGTGAAGGGCCGCTTTACCATTTCCCGCGACAACGCAAAGAAC TCGCTGTACCTTCAGATGAATTCCCTGCGGGCTGAAGATAACCGCGGTGT ACTATTGCGCCCGGTCCACTATGGTCCGGGAGGACTACTGGGGACAGGG CACACTCGTGACCGTGTCCAGCGCGAGCGGGGGTGGAGGCAGCGGTGGA CGCGCCTCCGGCGGCGCGGTTTCCAGACATCGTGCTGACTCAGTCGCCCC TGTCGCTGCCGGTCAACCTGGGCCAACCGGCCTCAATTAGCTGCAAGTC CTCGGAGAGCCTGGTGCACAACTCAGGAAAGACTTACCTGAACTGGTTC CATCAGCGGCCTGGACAGTCCCCACGGAGGCTCATCTATGAAGTGTCCA ACAGGGATTCCGGGGTCCCCGACCGCTTCACTGGCTCCGGGTCCGGCAC CGACTTCACCTTGAAAATCTCCAGAGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTG TACTACTGTATGCAGGGTACCCACTGGCCTGGAACCTTTGGACAAGGAA CTAAGCTCGAGATTAAGACCACTACCCACGACCCGAGGCCACCCACCCC GGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGT AGACCCGCGAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCT GCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCT</p>

[0680]

[0681]

		GCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTG CTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAG AGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGGTTCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTG CGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAG CAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGG AGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGG GAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAA AAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAAC GCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGC CACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139112		
139112- aa ScFv 结构域	51	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALS ¹ NHGMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDN ² SRNTLYLQMN ³ SLRPEDTAIYYCSAH GGESDVWGQGT ⁴ TVT ⁵ VSSASGGGSGGRASGGGSDIRLTQSPSPLSASV GDRV ⁶ TITCQASEDINKFLN ⁷ WYHQTPGKAPKLLIYDASTLQ ⁸ TGVP ⁹ SRFSG SGSGTDF ¹⁰ TLTINSLQ ¹¹ PEDIGTY ¹² YCQ ¹³ YESLPLTFGGG ¹⁴ TKVEIK
139112- nt ScFv 结构域	66	CAAGTGCAACTCGTGGAATCTGGTGGAGGACTCGTGCAACCCGGTGGAA GCCTTAGGCTGTCTGCGCCGTCAGCGGGTTTGTCTGAGCAACCATGG AATGTCCTGGGTCCGCCGGGCACCGGAAAAGGGCTGGAATGGGTGTCC GGCATCGTGTACAGCGGGTCAACCTATTACGCCGCGTCCGTGAAGGGCA GATTCACTATCTCAAGAGACAACAGCCGGAACACCCTGTACTTGCAAT GAATTCCTGCGCCCCGAGGACACCGCCATCTACTACTGCTCCGCCAC GGAGGAGAGTCGGACGTGTGGGGCCAGGGAACGACTGTGACTGTGTCCA GCGCATCAGGAGGGGTGGTTCGGGCGGCCGGGCCTCGGGGGAGGAGG TTCCGACATTCGGCTGACCCAGTCCCCGTCCCCACTGTCCGCCTCCGTC GGCGACCGCGTGACCATCACTTGTGAGGCGTCCGAGGACATTAACAAGT TCCTGAACTGGTACCACCAGACCCCTGGAAAGGCCCCCAAGCTGCTGAT CTACGATGCCTCGACCCTTCAA ¹ ACTGGAGTGCCTAGCCGGTTCTCCGGG TCCGGCTCCGGCACTGATTTCACTCTGACCATCAACTCATTGCAGCCGG AAGATATCGGGACCTACTATTGCCAGCAGTACGAATCCCTCCCGCTCAC ATTCCGGCGGGGAACCAAGGTCGAGATTAAG
139112- aa VH	81	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALS ¹ NHGMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDN ² SRNTLYLQMN ³ SLRPEDTAIYYCSAH GGESDVWGQGT ⁴ TVT ⁵ VSS
139112- aa	96	DIRLTQSPSPLSASV ¹ GDRV ² TITCQASEDINKFLN ³ WYHQTPGKAPKLLIY

<p>VL</p>		<p>DASTLQTVPSRFRSGSGSGTDFTLTINSLQPEDIGTYQCQYESLPLTF GGGTKVEIK</p>
<p>139112- aa 完全 CAR</p>	<p>111</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWVGQTTVTVSSASGGGGSGGRA SGGGGSDIRLTQSPSPLSASVGDVRTITCQASEDINKFLNWHYHTPGKAPKLLIYDASTLQTVPSRFRSGSGSGTDFTLTINSLQPEDIGTYQCQYESLPLTFGGGTKVEIKTTTTAPRPPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQLPPR</p>
<p>139112- nt 完全 CAR</p>	<p>126</p>	<p>ATGGCCCTCCCTGTCAACGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGCCCAAGTGCAACTCGTGGAATCTGGTGGAGGACTCGTGCAACCCGGTGAAGCCTTAGGCTGTCGTGCGCCGTGAGCGGGTTTGTCTGAGCAACCATGGAATGTCCTGGGTCCGCCGGGCACCGGGAAAAGGGCTGGAATGGGTGTCCGGCATCGTGTACAGCGGGTCAACCTATTACGCCGTCCCGTGAAGGGCAGATTTACTATCTCAAGAGACAACAGCCGGAACACCCTGTACTTGCAAATGAATTCCTGCGCCCCGAGGACACCGCCATCTACTACTGCTCCGCCACGGAGGAGAGTCGGACGTGTGGGGCCAGGGAACGACTGTGACTGTGTCCAGCGCATCAGGAGGGGGTGGTTCCGGCGGGCCGGGCCTCGGGGGGAGGAGGTTCCGACATTCGGCTGACCCAGTCCCCGTCCCCACTGTCCGCTCCGTCCGGCAGCGGTGACCATCACTTGTGAGCGTCCGAGGACATTAACAAGTTTCTGAACTGGTACCACCAGACCCCTGGAAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGATGCCTCGACCCCTTCAAAGTGGAGTGCCTAGCCGTTCTCCGGTCCGGCTCCGGCACTGATTTACTCTGACCATCACTCATTGCAGCCGGAAGATATCGGGACCTACTATTGCCAGCAGTACGAA TCCCTCCCCTCACATTCGGCGGGGAACCAAGGTCGAGATTAAGACCACTACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCA GCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTACTGTAAGCGGGTCCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCC TTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGGTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAAGTGCAGTGAATTCAG</p>

[0682]

		CCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTAC AACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGC GGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCC CCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCC TATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACG ACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGC TCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139113		
139113- aa ScFv 结构域	52	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRNLTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAH GGESDVWGQGTITVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSETTLTQSPATLSVSP GERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQGPRLLIYGASTRATGIPARFSG SGSGTEFTLTISLQPEDFAVYYCQQYNDWLPVTFGQGTKVEIK
139113- nt ScFv 结构域	67	GAAGTGCAATTGGTGGAACTGGAGGAGGACTTGTGCAACCTGGAGGAT CATTGCGGCTCTCATGCGCTGTCTCCGGCTTCGCCCTGTCAAATCACGG GATGTCGTGGGTCAGACGGGCCCCGGGAAAGGGTCTGGAATGGGTGTCG GGGATTGTGTACAGCGGCTCCACCTACTACGCCGCTTCGGTCAAGGGCC GCTTCACTATTTACGGGACAACAGCCGCAACACCCTCTATCTGCAAAT GAACTCTCTCCGCCCCGAGGATAACCGCCATCTACTACTGCTCCGCACAC GGCGGCGAATCCGACGTGTGGGGACAGGGAACCACTGTCACCGTGTCTGT CCGCATCCGGTGGCGGAGGATCGGGTGGCCGGGCCTCCGGGGGCGGCGG CAGCGAGACTACCCTGACCCAGTCCCCTGCCACTCTGTCCGTGAGCCCG GGAGAGAGAGCCACCCTTAGCTGCCGGGCCAGCCAGAGCGTGGGCTCCA ACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGACAGGGTCCCAGGCTGCTGAT CTACGGAGCCTCCACTCGCGCGACCGGCATCCCCGCGAGGTTCTCCGGG TCGGGTTCGGGACCGAGTTCACCCTGACCATCTCCTCCCTCCAACCGG AGGACTTCGCGGTGTACTACTGTGTCAGCAGTACAACGATTGGCTGCCCGT GACATTTGGACAGGGGACGAAGGTGGAAATCAAA
139113- aa VH	82	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRNLTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAH GGESDVWGQGTITVTVSS
139113- aa VL	97	ETTLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQGPRLLIY GASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFAVYYCQQYNDWLPVT FGQGTKVEIK
139113- aa	112	MALPVTAALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFA

[0683]

<p>完全 CAR</p>		<p>LSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNRSNT LYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWQGGTTTVTVSSASGGGGSGGRA SGGGGSETTLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQG PRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTIISSLQPEDFAVYYCQQYN DWLPVTFGQGTKVEIKTTTTAPRPPTPAPTIIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQ PFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQL YNELNLGRREYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAE AYSEIGMKGERRRGKGHGDLQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</p>
<p>139113- nt 完全 CAR</p>	<p>127</p>	<p>ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAATTGGTGGAACTGGAGGAGGACTTGT GCAACCTGGAGGATCATTGCGGCTCTCATGCGCTGTCTCCGGCTTCGCC CTGTCAAATCACGGGATGTCGTGGGTGAGACGGGCCCCGGGAAAGGGTC TGGAATGGGTGTCGGGGATTGTGTACAGCGGCTCCACCTACTACGCCGC TTCGGTCAAGGGCCGCTTCACTATTTACGGGACAACAGCCGCAACACC CTCTATCTGCAAATGAACTCTCTCCGCCCCGAGGATAACCGCCATCTACT ACTGCTCCGCACACGGCGGCGAATCCGACGTGTGGGGACAGGGAACCAC TGTCACCGTGTGTCGTCATCCGGTGGCGGAGGATCGGGTGGCCGGGCC TCCGGGGCGGGCGGAGAGAGAGAGCCACCCTTAGCTGCCGGGCCAGCCA GAGCGTGGGCTCCAACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGACAGGGT CCCAGGCTGCTGATCTACGGAGCCTCCACTCGCGCGACCGGCATCCCCG CGAGGTTCTCCGGGTCCGGTTCCGGGACCGAGTTACCCTGACCATCTC CTCCCTCCAACCGGAGGACTTCGCGGTGTAATACTGTGACAGTACAAC GATTGGCTGCCCGTGACATTTGGACAGGGGACGAAGGTGGAAATCAAAA CCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTC CCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGAGCTGGTGGG GCCGTGCATAACCGGGGTCTTGACTTCGCTGCGATATCTACATTTGGG CCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCTGCTTTCACTCGTGATCAC TCTTTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAA CCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTAT GCCGGTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATT CAGCCGAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTC TACAACGAACTCAATCTTGGTCCGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACA AGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAA</p>

[0684]

[0685]

		TCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAA GCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCCAAAGGCC ACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGA CGCTCTTACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139114		
139114- aa ScFv 结构域	53	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALS ^{NH} GM ^{SW} VRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDN ^{SRNT} LYLQ ^{MNS} LRPEDTAIYYCSAH GGESDVWGQGT ^{TVT} VSSASGGGGSGGRASGGGGSEIVLTQSPG ^{TL} SLSP GERATLSCRASQSIGSSSLAWYQ ^{QKPGQ} APRLLMYGASSRASGIPDRFS GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ ^{QYAGS} PPFTFGQGT ^{KVEIK}
139114- nt ScFv 结构域	68	GAAGTGCAATTGGTGGAACTCTGGTGGAGGACTTGTGCAACCTGGAGGAT CACTGAGACTGTCATGCGCGGTGTCCGGTTTTGCCCTGAGCAATCATGG GATGTCGTGGGTCCGGCGCGCCCCGGAAAGGGTCTGGAATGGGTGTCG GGTATCGTCTACTCCGGGAGCACTTACTACGCCGCGAGCGTGAAGGGCC GCTTACCATTTCCCGGATAACTCCCGCAACACCCTGTACTTGCAAT GAACTCGCTCCGGCCTGAGGACACTGCCATCTACTACTGCTCCGCACAC GGAGGAGAATCCGACGTGTGGGGCCAGGGA ^{ACT} ACCGTGACCGTCAGCA GCGCCTCCGGCGGCGGGGGCTCAGGCGGACGGGCTAGCGGCGGCGGTGG CTCCGAGATCGTGCTGACCCAGTCGCCTGGCACTCTCTCGCTGAGCCCC GGGGAAGGGCAACCCTGTCCTGTCTGGGCCAGCCAGTCCATTGGATCAT CCTCCCTCGCCTGGTATCAGCAGAAACCGGGACAGGCTCCGCGGCTGCT TATGTATGGGGCCAGCTCAAGAGCCTCCGGCATTCCCGACCGGTTCTCC GGGTCCGGTCCGGCACCGATTTACCCTGACTATCTCGAGGCTGGAGC CAGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTACGCGGGGTCCCCGCC GTTACGTTCCGGACAGGGAACCAAGGTCGAGATCAAG
139114- aa VH	83	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALS ^{NH} GM ^{SW} VRRAPGKGLEWVS GIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDN ^{SRNT} LYLQ ^{MNS} LRPEDTAIYYCSAH GGESDVWGQGT ^{TVT} VSS
139114- aa VL	98	EIVLTQSPG ^{TL} SLSPGERATLSCRASQSIGSSSLAWYQ ^{QKPGQ} APRLLM YGASSRASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ ^{QYAGS} PPF TFGQGT ^{KVEIK}
139114- aa 完全 CAR	113	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFA LSNHGM ^{SW} VRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDN ^{SRNT} LYLQ ^{MNS} LRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGT ^{TVT} VSSASGGGGSGGRA SGGGGSEIVLTQSPG ^{TL} SLSPGERATLSCRASQSIGSSSLAWYQ ^{QKPGQ}

		<p>APRLLMYGASSRASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQOY AGSPFFTFGQGTKVEIKTTTTAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAG GAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQ LYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPENGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR</p>
<p>139114- nt 完全 CAR</p>	<p>128</p>	<p>ATGGCCCTCCCTGTCAACGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAATTGGTGGAACTCTGGTGGAGGACTTGT GCAACCTGGAGGATCACTGAGACTGTCATGCGCGGTGTCCGGTTTTGCC CTGAGCAATCATGGGATGTCGTGGGTCCGGCGCGCCCCGGAAAGGGTC TGGAAATGGGTGTCCGGTATCGTCTACTCCGGGAGCACTTACTACGCCGC GAGCGTGAAGGGCCGCTTACCATTTCCCGCGATAACTCCCGCAACACC CTGTACTTGCAAATGAACTCGCTCCGGCCTGAGGACACTGCCATCTACT ACTGCTCCGCACACGGAGGAGAATCCGACGTGTGGGGCCAGGGAACACTAC CGTGACCGTCAGCAGCGCCTCCGGCGGCGGGGGCTCAGGCGGACGGGT AGCGGCGGCGGTGGCTCCGAGATCGTGCTGACCCAGTCGCCTGGCACTC TCTCGCTGAGCCCCGGGGAAAGGGCAACCCTGTCTGTCCGGCCAGCCA GTCCATTGGATCATCCTCCCTCGCCTGGTATCAGCAGAAACCGGGACAG GCTCCGCGGCTGCTTATGTATGGGGCCAGCTCAAGAGCCTCCGGCATT CCGACCGGTTCTCCGGGTCCGGTCCGGCACCGATTTACCCTGACTAT CTCGAGGCTGGAGCCAGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTAC GCGGGGTCCCCGCCGTTACGTTCCGGACAGGGAACCAAGGTCGAGATCA AGACCACTACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGC CTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGT GGGGCCGTGCATACCCGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTT GGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCTGCTTTCACTCGTGAT CACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCCGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAG CAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTT CATGCCGTTCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAA ATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAG CTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCCGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGG ACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAA GAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCA GAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAG GCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTA</p>

[0686]

		TGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG
149362		
149362-aa ScFv 结构域	129	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSSYYYWGWIROPKGLLEW IGSIYYSGSAYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCA RHWQEWPDADFIDWQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSETTTLTQSPAFM SATPGDKVIIISCKASQDIDDAMNWWYQKPKGEAPLFIIQSATSPPVPGIPP RFSGSGFGTDFSLTINNIESEDAAYYFCLQHDNFPLTFGQGTKLEIK
149362-nt ScFv 结构域	150	CAAGTGCAGCTTCAGGAAAGCGGACCGGGCCTGGTCAAGCCATCCGAAA CTCTCTCCCTGACTTGCACTGTGTCTGGCGGTTCCATCTCATCGTCGTA CTACTACTGGGGCTGGATTAGGCAGCCGCCCGGAAAGGGACTGGAGTGG ATCGGAAGCATCTACTATTCCGGCTCGGCGTACTACAACCCTAGCCTCA AGTCGAGAGTGACCATCTCCGTGGATACCTCCAAGAACCAGTTTTCCCT GCGCCTGAGCTCCGTGACCGCCGCTGACACCGCCGTGTACTACTGTGCT CGGCATTGGCAGGAATGGCCCGATGCCTTCGACATTTGGGGCCAGGGCA CTATGGTCACTGTGTTCATCCGGGGGTGGAGGCAGCGGGGAGGAGGGTC CGGGGGGGGAGGTTTCCAGAGACAACCTTGACCCAGTCACCCGCATTCATG TCCGCCACTCCGGGAGACAAGGTCATCATCTCGTGCAAAGCGTCCCAGG ATATCGACGATGCCATGAATTGGTACCAGCAGAAGCCTGGCGAAGCGCC GCTGTTTATTATCCAATCCGCAACCTCGCCCGTGCCTGGAATCCCACCG CGGTTTCCAGCGGCAGCGGTTTTCGGAACCGACTTTTCCCTGACCATTAACA ACATTGAGTCCGAGGACGCCGCTACTACTTCTGCCTGCAACACGACAA CTTCCCTCTCACGTTTCGGCCAGGGAACCAAGCTGGAAATCAAG
149362-aa VH	171	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSSYYYWGWIROPKGLLEW IGSIYYSGSAYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCA RHWQEWPDADFIDWQGTMTVTVSS
149362-aa VL	192	ETTLTQSPAFMSATPGDKVIIISCKASQDIDDAMNWWYQKPKGEAPLFIIQ SATSPPVPGIPPRFSGSGFGTDFSLTINNIESEDAAYYFCLQHDNFPLTF GQGTKLEIK
149362-aa 完 全 CAR	213	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGS ISSSYYYWGWIROPKGLLEWIGSIYYSGSAYYNPSLKSRVTISVDTSK NQFSLRLSSVTAADTAVYYCARHWQEWPDADFIDWQGTMTVTVSSGGGG GGGGSGGGSETTTLTQSPAFMSATPGDKVIIISCKASQDIDDAMNWWYQK PGEAPLFIIQSATSPPVPGIPPRFSGSGFGTDFSLTINNIESEDAAYYFC LQHDNFPLTFGQGTKLEIKTTTTAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLLYI

[0687]

[0688]

		FKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQ NQLYNELNLRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK MAEAYSEIGMKGERRRGKGHGDLQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR
149362-nt 完全 CAR	234	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCAAGTGCAGCTTCAGGAAAGCGGACCGGGCCTGGT CAAGCCATCCGAAACTCTCTCCCTGACTTGCACTGTGTCTGGCGGTTCC ATCTCATCGTCGTACTACTACTGGGGCTGGATTAGGCAGCCGCCCGGAA AGGGACTGGAGTGGATCGGAAGCATCTACTATTCCGGCTCGGCGTACTA CAACCCTAGCCTCAAGTCGAGAGTGACCATCTCCGTGGATACCTCCAAG AACCAGTTTTCCCTGCGCCTGAGCTCCGTGACCGCCGCTGACACCGCCG TGTACTACTGTGCTCGGCATTGGCAGGAATGGCCCGATGCCTTCGACAT TTGGGGCCAGGGCACTATGGTCACTGTGTTCATCCGGGGGTGGAGGCAGC GGGGGAGGAGGGTCCGGGGGGGGAGGTTAGAGACAACCTTGACCCAGT CACCCGCATTTCATGTCCGCCACTCCGGGAGACAAGGTCATCATCTCGTG CAAAGCGTCCCAGGATATCGACGATGCCATGAATTGGTACCAGCAGAAG CCTGGCGAAGCGCCGCTGTTCAATATCCAATCCGCAACCTCGCCCGTGC CTGGAATCCCACCGCGGTTTCAGCGGCAGCGGTTTCGGAACCGACTTTTC CCTGACCATTAACAACATTGAGTCCGAGGACGCCGCTACTACTTCTGC CTGCAACACGACAACCTTCCCTCTCACGTTTCGGCCAGGGAACCAAGCTGG AAATCAAGACCACTACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTAC CATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCA GCTGGTGGGGCCGTCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCT ACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTTCGGGGTCTGCTGCTTTCACT CGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTGCTGTACATC TTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACG GCTGTTTCATGCCGTTCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCG CGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAG AACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTTCGGAGAGAGGAGTACGACG TGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCG CAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAG ATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAG GCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGA CACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG
149363		
149363-aa	130	VNLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLRTSGMVCVSWIRQPPGKALEWL

[0689]

<p>ScFv 结构域</p>		<p>ARIDWDEDKFYSTSLKTRLTISKDTSNQQVVLRTNMDPADTATYYCAR SGAGGTSATAFDIWPGMTMTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASQDIYNNLAWFQ LKPGSAPRSLMYAANKSQSGVP SRFSGSASGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYYRFPYSFGQGTKLEIK</p>
<p>149363-nt ScFv 结构域</p>	<p>151</p>	<p>CAAGTCAATCTGCGCGAATCCGGCCCCGCTTGGTCAAGCCTACCCAGA CCCTCACTCTGACCTGTACTTTCTCCGGCTTCTCCCTGCGGACTTCCGG GATGTGCGTGTCTCTGGATCAGACAGCCTCCGGGAAAGGCCCTGGAGTGG CTCGCTCGCATTGACTGGGATGAGGACAAGTTCTACTCCACCTCACTCA AGACCAGGCTGACCATCAGCAAAGATACCTCTGACAACCAAGTGGTGTCT CCGCATGACCAACATGGACCCAGCCGACACTGCCACTTACTACTGCGCG AGGAGCGGAGCGGGCGGAACCTCCGCCACCGCCTTCGATATTTGGGGCC CGGGTACCATGGTCACCGTGTCAAGCGGAGGAGGGGGTCCGGGGGCGG CGGTTCCGGGGGAGGCGGATCGGACATTAGATGACTCAGTCACCATCG TCCCTGAGCGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACAATCACTTGCCGGGCAT CCCAGGACATCTATAACAACCTTGCCTGGTTCCAGCTGAAGCCTGGTTC CGCACCGCGGTCACTTATGTACGCCGCAACAAGAGCCAGTCGGGAGTG CCGTCCCGGTTTTCCGGTTCGGCCTCGGGAAGTACTTACCCTGACGA TCTCCAGCCTGCAACCCGAGGATTTGCCACCTACTACTGCCAGCACTA CTACCGCTTTCCTACTCGTTCGGACAGGGAACCAAGCTGGAAATCAAG</p>
<p>149363-aa VH</p>	<p>172</p>	<p>QVNLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLRTSGMCSWIRQPPGKALEW LARIDWDEDKFYSTSLKTRLTISKDTSNQQVVLRTNMDPADTATYYCA RSGAGGTSATAFDIWPGMTMTVSS</p>
<p>149363-aa VL</p>	<p>193</p>	<p>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIYNNLAWFQ LKPGSAPRSLMY AANKSQSGVPSRFSGSASGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYYRFPYSF GQGTKLEIK</p>
<p>149363-aa 完 全 CAR</p>	<p>214</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPQVNLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFS LRTSGMCSWIRQPPGKALEW LARIDWDEDKFYSTSLKTRLTISKDTS NQVVLRTNMDPADTATYYCARSGAGGTSATAFDIWPGMTMTVSSGGG GSGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIYNNLAWFQ LKPGSAPRSLMYAANKSQSGVPSRFSGSASGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQHYYRFPYSFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACR PAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLL YIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQ GQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR</p>

[0690]

<p>149363-nt 完全 CAR</p>	<p>235</p>	<p>ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCAAGTCAATCTGCGCGAATCCGGCCCCGCCTTGGT CAAGCTACCCAGACCCTCACTCTGACCTGTACTTTCTCCGGCTTCTCC CTGCGGACTTCCGGGATGTGCGTGTCTGGATCAGACAGCCTCCGGGAA AGGCCCTGGAGTGGCTCGCTCGCATTGACTGGGATGAGGACAAGTTCTA CTCCACCTCACTCAAGACCAGGCTGACCATCAGCAAAGATACTCTGAC AACCAAGTGGTGCTCCGCATGACCAACATGGACCCAGCCGACACTGCCA CTTACTACTGCGCGAGGAGCGGAGCGGGCGGAACCTCCGCCACCGCCTT CGATATTTGGGGCCCGGTACCATGGTCACCGTGTCAAGCGGAGGAGGG GGGTCCGGGGGCGGCGGTTCCGGGGGAGGCGGATCGGACATTCAGATGA CTCAGTCACCATCGTCCCTGAGCGCTAGCGTGGGCGACAGAGTGACAAT CACTTGCCGGGCATCCCAGGACATCTATAACAACCTTGCCTGGTTCCAG CTGAAGCCTGGTTCCGCACCGCGGTCACTTATGTACGCCCAACAAGA GCCAGTCGGGAGTGCCGTCCCGGTTTTCCGGTTCGGCCTCGGGAAGTGA CTTACCCTGACGATCTCCAGCCTGCAACCCGAGGATTTCCGCACCTAC TACTGCCAGCACTACTACCGCTTCCCTACTCGTTCCGACAGGGAACCA AGCTGGAAATCAAGACCACTACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGC TCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGA CCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCG ATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTTGCTGCT TTCACTCGTGATCACTCTTACTGTAAGCGCGGTCCGAAGAAGCTGCTG TACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGG AGGACGGCTGTTTCATGCCGTTCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGA ACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAG GGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCCGAGAGAGGAGT ACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAA GCCGCGCAGAAAGAATCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAG GATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCA GAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCAC CAAGGACACCTATGACGCTCTTACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>
<p>149364</p>		
<p>149364-aa ScFv 结构域</p>	<p>131</p>	<p>EVQLVESGGGLV KPGGSLRLS CAASGFT FSSYSMNWVRQAPGKGLEWVS S ISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK TIAAVYAFDIWGQTTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPLSLPV TPEEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASG</p>

[0691]

		VPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYCMQALQTPYTFGQGTKLEIK
149364-nt ScFv 结构域	152	GAAGTGCAGCTTGTCTGAATCCGGGGGGGGACTGGTCAAGCCGGGCGGAT CACTGAGACTGTCTGCGCCGCGAGCGGCTTACGTTCTCCTCCTACTC CATGAACTGGGTCCGCCAAGCCCCGGGAAGGGACTGGAATGGGTGTCC TCTATCTCCTCGTCGTCGTCCTACATCTACTACGCCGACTCCGTGAAGG GAAGATTACCATTTCCCGCGACAACGCAAAGAAGCTCACTGTACTTGCA AATGAACTCACTCCGGGCCGAAGATACTGCTGTGTACTATTGCGCCAAG ACTATTGCGCCGTCTACGCTTTTCGACATCTGGGGCCAGGGAACCACCG TGACTGTGTGTCGTCGGGTGGTGGTGGCTCGGGCCGAGGAGGAAGCGGCGG CGGGGGGTCCGAGATTGTGCTGACCCAGTCGCCACTGAGCCTCCCTGTG ACCCCGAGGAACCCGCCAGCATCAGCTGCCGGTCCAGCCAGTCCCTGC TCCACTCCAACGGATAACAATTACCTCGATTGGTACCTTCAGAAGCCTGG ACAAAGCCCGCAGCTGCTCATCTACTTGGGATCAAACCGCGCGTCAGGA GTGCCTGACCGGTTCTCCGGCTCGGGCAGCGGTACCGATTTACCCTGA AAATCTCCAGGGTGGAGGCAGAGGACGTGGGAGTGTATTACTGTATGCA GGCGCTGCAGACTCCGTACACATTTGGGCAGGGCACCAAGCTGGAGATC AAG
149364-aa VH	173	EVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVS SISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK TIAAVYAFDIWGQGTITVTVSS
149364-aa VL	194	EIVLTQSPSLPVTPEEPASISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSP QLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYCMQALQ TPYTFGQGTKLEIK
149364-aa 完 全 CAR	215	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGFT FSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKN SLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKTIAAVYAFDIWGQGTITVTVSSGGGGSGG GGSGGGGSEIVLTQSPSLPVTPEEPASISCRSSQSLLSHNGYNYLDWY LQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCMQALQTPYTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKL LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYK QGQNQLYNELNLRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQ KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
149364-nt	236	ATGGCCCTCCCTGTCAACGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC

[0692]

<p>完全 CAR</p>		<p>ACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAGCTTGTCTGAATCCGGGGGGGGACTGGT CAAGCCGGGCGGATCACTGAGACTGTCTGCGCCGCGAGCGGCTTCACG TTCTCCTCCTACTCCATGAACTGGGTCCGCCAAGCCCCGGGAAGGGAC TGGAATGGGTGTCTCTATCTCCTCGTCGTCTGCTTACATCTACTACGC CGACTCCGTGAAGGGAAGATTACCATTTCCCGCGACAACGCAAAGAAC TCACTGTACTTGCAAATGAACTCACTCCGGGCCGAAGATACTGCTGTGT ACTATTGCGCCAAGACTATTGCCGCCGTCTACGCTTTTCGACATCTGGGG CCAGGGAACCACCGTGACTGTGTCTGTCGGGTGGTGGTGGCTCGGGCGGA GGAGGAAGCGGCGGGGGGGTCCGAGATTGTGCTGACCCAGTCGCCAC TGAGCCTCCCTGTGACCCCCGAGGAACCCGCCAGCATCAGCTGCCGGTC CAGCCAGTCCCTGCTCCACTCCAACGGATAACAATTACCTCGATTGGTAC CTTTACAAGCCTGGACAAAGCCCGCAGCTGCTCATCTACTTGGGATCAA ACCGCGCGTCAGGAGTGCCTGACCGGTTCTCCGGCTCGGGCAGCGGTAC CGATTTACCCTGAAAATCTCCAGGGTGGAGGCAGAGGACGTGGGAGTG TATTACTGTATGCAGGCGCTGCAGACTCCGTACACATTTGGGCAGGGCA CCAAGCTGGAGATCAAGACCACTACCCAGCACCCGAGGCCACCCACCCC GGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGT AGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATAACCCGGGGTCTTGACTTCGCCT GCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTCTGCT GCTTTCCTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCCGAAGAAGCTG CTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAG AGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGGTTCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTG CGAACTGCGCGTGAAATTGAGCCGCGAGCGAGATGCTCCAGCCTACAAG CAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCCGAGAGAGG AGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGG GAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAA AAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAAC GCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGC CACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>
<p>149365</p>		
<p>149365-aa ScFv 结构域</p>	<p>132</p>	<p>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DLRGAFDIWGQGTMTVTVSSGGGSGGGGSGGGSSSYVLTQSPSVSAAPG YTATISCGNNIGTKSVHWYQQKPGQAPLLVIRDDSVRPSKI PGRFSGS NSGNMATLTI SGVQAGDEADFYCQVWDS DSEHVVFGGTKLTVL</p>

[0693]

<p>149365-nt ScFv 结构域</p>	<p>153</p>	<p>GAAGTCCAGCTCGTGGAGTCCGGCGGAGGCCTTGTGAAGCCTGGAGGTT CGCTGAGACTGTCTGCGCCGCCTCCGGCTTCACCTTCTCCGACTACTA CATGTCCTGGATCAGACAGGCCCGGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGTCC TACATCTCGTCATCGGGCAGCACTATCTACTACGCGGACTCAGTGAAGG GGCGGTTACCATTTCCCGGGATAACGCGAAGAAGCTCGCTGTATCTGCA AATGAACTCACTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCCGC GATCTCCGCGGGGCATTTGACATCTGGGGACAGGGAACCATGGTCACAG TGTCCAGCGGAGGGGGAGGATCGGGTGGCGGAGGTTCCGGGGGTGGAGG CTCCTCCTACGTGCTGACTCAGAGCCCAAGCGTCAGCGCTGCGCCCGGT TACACGGCAACCATCTCCTGTGGCGGAAACAACATTGGGACCAAGTCTG TGCCTGGTATCAGCAGAAGCCGGGCCAAGCTCCCCTGTTGGTGATCCG CGATGACTCCGTGCGGCCTAGCAAAATTCGGGACGGTTCTCCGGCTCC AACAGCGGCAATATGGCCACTCTCACCATCTCGGGAGTGCAGGCCGGAG ATGAAGCCGACTTCTACTGCCAAGTCTGGGACTCAGACTCCGAGCATGT GGTGTTCCGGGGCGGAACCAAGCTGACTGTGCTC</p>
<p>149365-aa VH</p>	<p>174</p>	<p>EVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DLRGAFDIWGQGMVTVSS</p>
<p>149365-aa VL</p>	<p>195</p>	<p>SYVLTQSPSVSAAPGYTATISCGGNNIGTKSVHWYQQKPGQAPLLVIRD DSVRPSKIPGRFSGSNSGNMATLTISGVQAGDEADFYCQVWDSSEHVV FGGGTKLTVL</p>
<p>149365-aa 完 全 CAR</p>	<p>216</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGFT FSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKN SLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLRGAFDIWGQGMVTVSSGGGGSSGGG SGGGSSYVLTQSPSVSAAPGYTATISCGGNNIGTKSVHWYQQKPGQAP LLVIRDDSVRPSKIPGRFSGSNSGNMATLTISGVQAGDEADFYCQVWDS DSEHVVFVGGGKLTVLTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQ PFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQL YNELNLGRREYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAE AYSEIGMKGERRRGKHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR</p>
<p>149365-nt 完全 CAR</p>	<p>237</p>	<p>ATGGCCCTCCCTGTACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCGAAGTCCAGCTCGTGGAGTCCGGCGGAGGCCTTGT GAAGCCTGGAGGTTGCTGAGACTGTCTGCGCCGCCTCCGGCTTCACC TTCTCCGACTACTACATGTCCTGGATCAGACAGGCCCGGGAAAGGGCC</p>

[0694]

		<p>TGGAATGGGTGTCTACATCTCGTCATCGGGCAGCACTATCTACTACGC GGACTCAGTGAAGGGGCGGTTACACATTTCCCGGGATAACCGGAAGAAC TCGCTGTATCTGCAAATGAACTCACTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGT ACTACTGCGCCCCGCGATCTCCGCGGGGCATTTGACATCTGGGGACAGGG AACCATGGTCACAGTGTCCAGCGGAGGGGGAGGATCGGGTGGCGGAGGT TCCGGGGGTGGAGGCTCCTCCTACGTGCTGACTCAGAGCCCAAGCGTCA GCGCTGCGCCCGGTTACACGGCAACCATCTCCTGTGGCGGAAACAACAT TGGGACCAAGTCTGTGCACTGGTATCAGCAGAAGCCGGGCCAAGCTCCC CTGTTGGTGATCCGCGATGACTCCGTGCGGCCTAGCAAAATTCCGGGAC GGTTCTCCGGCTCCAACAGCGGCAATATGGCCACTCTCACCATCTCGGG AGTGCAGGCCGGAGATGAAGCCGACTTCTACTGCCAAGTCTGGGACTCA GACTCCGAGCATGTGGTGTTCGGGGGCGGAACCAAGCTGACTGTGCTCA CCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTC CCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGG GCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGG CCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCTGCTTTCACTCGTGATCAC TCTTTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAA CCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTAT GCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATT CAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTC TACAACGAACTCAATCTTGGTCCGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACA AGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAA TCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAA GCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCC ACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGA CGCTCTTACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>
149366		
149366-aa ScFv 结构域	133	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKPSGYTIVTSHYIHWVRRAPGQGLEWMG MINPSSGVTAYSQTLQGRVTMTSDTSSSTVYMEISSLRSEDTAMYYCAR EGSGSGWYFDWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGSSYVLTQPPSVSV SPGQTASITCSGDGLSKKYVSWYQQKAGQSPVVLISRDKERPSGIPDRF SGSNSADTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDDTTVVFGGGKLTVL</p>
149366-nt ScFv 结构域	154	<p>CAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGGCCGAAGTCAAGAAGCCGGGAGCCT CCGTGAAAGTGTCTGCAAGCCTTCGGGATACACCGTGACCTCCCCTA CATTCAATTGGGTCCGCCGCGCCCCCGGCCAAGGACTCGAGTGGATGGGC</p>

[0695]

		<p>ATGATCAACCCTAGCGGCGGAGTGACCGCGTACAGCCAGACGCTGCAGG GACGCGTGACTATGACCTCGGATACCTCCTCCTCCACCGTCTATATGGA ACTGTCCAGCCTGCGGTCCGAGGATACCGCCATGTACTACTGCGCCCGG GAAGGATCAGGCTCCGGGTGGTATTTGACTTCTGGGGAAGAGGCACCC TCGTGACTGTGTCTATCTGGGGGAGGGGGTTCGGGTGGTGGCGGATCGGG AGGAGGCGGTTTCATCTACGTGCTGACCCAGCCACCCTCCGTGTCCGTG AGCCCCGGCCAGACTGCATCGATTACATGTAGCGGCGACGGCCTCTCCA AGAAATACGTGTCTGTGGTACCAGCAGAAGGCCGGACAGAGCCCGGTGGT GCTGATCTCAAGAGATAAGGAGCGGCCTAGCGGAATCCCGGACAGGTTT TCGGGTTCCAACCTCCGCGGACACTGCTACTCTGACCATCTCGGGGACCC AGGCTATGGACGAAGCCGATTACTACTGCCAAGCCTGGGACGACACTAC TGTCGTGTTTGGAGGGGGCACCAAGTTGACCGTCCTT</p>
149366-aa VH	175	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKPSGYT VTSHYIHWVRRAPGQGLEWMG MINPSSGGVTAYSQTLQGRVTMTSDTSSSTVYMELSSLRSEDTAMYYCAR EGS GSGWYFDWGRGTLVTVSS</p>
149366-aa VL	196	<p>SYVLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDGLSKKYVSWYQQKAGQSPVVLISR DKERPSPGIPDRFSGSNSADTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDDTTVVFG GGTKLTVL</p>
149366-aa 完 全 CAR	217	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKPSGYT VTSHYIHWVRRAPGQGLEWMGMINPSSGGVTAYSQTLQGRVTMTSDTSSS TVYMELSSLRSEDTAMYYCAREGS GSGWYFDWGRGTLVTVSSGGGGSG GGGSGGGSSYVLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDGLSKKYVSWYQQKAG QSPVVLISRDKERPSPGIPDRFSGSNSADTATLTISGTQAMDEADYYCQA WDDTTVVFGGGTKLTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAG GAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQ LYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR</p>
149366-nt 完全 CAR	238	<p>ATGGCCCTCCCTGTCAACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGGCCGAAGTCAA GAAGCCGGGAGCCTCCGTGAAAGTGCCTGCAAGCCTTCGGGATACACC GTGACCTCCCCTACATTATTGGGTCCGCCGCGCCCCGGCCAAGGAC TCGAGTGGATGGGCATGATCAACCCTAGCGGCGGAGTGACCGCGTACAG CCAGACGCTGCAGGGACGCGTGACTATGACCTCGGATACCTCCTCCTCC ACCGTCTATATGGAAGTGTCCAGCCTGCGGTCCGAGGATACCGCCATGT</p>

[0696]

		<p>ACTACTGCGCCCGGGAAGGATCAGGCTCCGGGTGGTATTTTCGACTTCTG GGGAAGAGGCACCCTCGTGACTGTGTTCATCTGGGGGAGGGGGTTCCGGT GGTGGCGGATCGGGAGGAGGCGGTTTCATCCTACGTGCTGACCCAGCCAC CCTCCGTGTCCGTGAGCCCCGGCCAGACTGCATCGATTACATGTAGCGG CGACGGCCTCTCCAAGAAATACGTGTCTGTGGTACCAGCAGAAGGCCGGA CAGAGCCCCGGTGGTGTGATCTCAAGAGATAAGGAGCGGCCTAGCGGAA TCCCGGACAGGTTCTCGGGTTCCAACCTCCGCGGACACTGCTACTCTGAC CATCTCGGGGACCCAGGCTATGGACGAAGCCGATTACTACTGCCAAGCC TGGGACGACACTACTGTCTGTTTTGGAGGGGGCACCAAGTTGACCGTCC TTACCACTACCCAGCACCAGGCCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGC CTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGT GGGGCCGTGCATAACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTT GGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGTCTGCTTTCACTCGTGAT CACTCTTTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAG CAACCCCTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTT CATGCCGGTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCCGGCTGCGAACTGCGCGTGAA ATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAG CTCTACAACGAACTCAATCTTGGTTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGG ACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAA GAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCA GAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAG GCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTA TGACGCTCTTTCATGCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>
149367		
149367-aa ScFv 结构域	134	<p>QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEW IGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCA RAGIAARLRGAFDIWGQTMVTVSSGGGSGGGGSGGGSDIVMTQSPS SVSASVGDRIITCRASQGIRNWLAWYQQKPGKAPNLLIYAASNLSGV PSRFSGSGSGADFTLTISLQPEDVATYYCQKYNAPFTFGPGTKVDIK</p>
149367-nt ScFv 结构域	155	<p>CAAGTGCAGCTTCAGGAGAGCGGCCCGGGACTCGTGAAGCCGTCCCAGA CCCTGTCCCTGACTTGCACCGTGTCTGGGAGGAAGCATCTCGAGCGGAGG CTACTATTGGTCTGTGGATTCCGGCAGCACCCCTGGAAAGGGCCTGGAATGG ATCGGCTACATCTACTACTCCGGCTCGACCTACTACAACCCATCGCTGA AGTCCAGAGTGACAATCTCAGTGGACACGTCCAAGAATCAGTTCAGCCT GAAGCTCTCTCCGTGACTGCGGCCGACACCGCCGTGTACTACTGCGCA</p>

		CGCGCTGGAATTGCCGCCCGGCTGAGGGGTGCCTTCGACATTTGGGGAC AGGGCACCATGGTCACCGTGTCTCCGGCGGCGGAGGTTCCGGGGGTGG AGGCTCAGGAGGAGGGGGTCCGACATCGTCATGACTCAGTCGCCCTCA AGCGTCAGCGCGTCCGTCCGGGACAGAGTGATCATCACCTGTCCGGCGT CCCAGGGAATTCGCAACTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCCGAAA GGCCCCAACCTGTTGATCTACGCCGCTCAAACCTCCAATCCGGGGTG CCGAGCCGCTTCAGCGGCTCCGGTTCGGGTGCCGATTTCACTCTGACCA TCTCCTCCCTGCAACCTGAAGATGTGGCTACCTACTACTGCCAAAAGTA CAACTCCGCACCTTTTACTTTTCGGACCGGGACCAAAGTGGACATTAAG
149367-aa VH	176	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEW IGYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCA RAGIAARLRGAFDIWGQTMVTVSS
149367-aa VL	197	DIVMTQSPSSVSASVGDRVIITCRASQGIRNWLAWYQQKPGKAPNLLIY AASNLSGVPSRFSGSGSGADFTLTISLQPEDVATYYCQKYNAPFTF GPGTKVDIK
149367-aa 完 全 CAR	218	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGS ISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSK NQFSLKLSVTAADTAVYYCARAGIAARLRGAFDIWGQTMVTVSSGGG GSGGGGSGGGSDIVMTQSPSSVSASVGDRVIITCRASQGIRNWLAWYQ QKPGKAPNLLIYAASNLSGVPSRFSGSGSGADFTLTISLQPEDVATY YCQKYNAPFTFGPGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACR PAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLL YIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQ GQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK DKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR
149367-nt 完全 CAR	239	ATGGCCCTCCCTGTCAACGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCAAGTGCAGCTTCAGGAGAGCGGCCCGGACTCGT GAAGCCGTCCCAGACCCTGTCCCTGACTTGCACCGTGTCCGGAGGAAGC ATCTCGAGCGGAGGCTACTATTGGTCGTGGATTCCGCAGCACCCCTGGAA AGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCTACTACTCCGGCTCGACCTACTA CAACCCATCGCTGAAGTCCAGAGTGACAATCTCAGTGGACACGTCCAAG AATCAGTTCAGCCTGAAGCTCTCTCCGTGACTGCGGCCGACACCGCCG TGTACTACTGCGCACGCGCTGGAATTGCCGCCCGGCTGAGGGGTGCCTT CGACATTTGGGGACAGGGCACCATGGTCACCGTGTCTCCGGCGGCGGA GGTTCGGGGGTGGAGGCTCAGGAGGAGGGGGTCCGACATCGTCATGA

[0697]

[0698]

		<p>CTCAGTCGCCCTCAAGCGTCAGCGCGTCCGTCGGGGACAGAGTGATCAT CACCTGTCGGGCGTCCCAGGGAATTCGCAACTGGCTGGCCTGGTATCAG CAGAAGCCCGGAAAGGCCCCCAACCTGTTGATCTACGCCGCTCAAACC TCCAATCCGGGGTGCCGAGCCGCTTCAGCGGCTCCGGTTCGGGTGCCGA TTTCCTCTGACCATCTCCTCCCTGCAACCTGAAGATGTGGCTACCTAC TACTGCCAAAAGTACAACCTCCGCACCTTTTACTTTTCGGACCGGGGACCA AAGTGGACATTAAGACCACTACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGC TCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGA CCCGAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCG ATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTTGCTGCT TTCCTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCCGAAGAAGCTGCTG TACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGG AGGACGGCTGTTTATGCCGGTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGA ACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAG GGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCCGAGAGAGGAGT ACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAA GCCGCGCAGAAAGAATCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAG GATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCA GAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCAC CAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>
149368		
149368-aa ScFv 结构域	135	<p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMG GI IPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR RGGYQLLRWDVGLLRSAFDIWGQTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGSSYV LTQPPSVSVAPGQTARITCGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVTLVYGKNN RPSGVPDRFSGRSRTASLTITGAQAEDEADYYCSRDS SGDHLRVFG TGTKVTVL</p>
149368-nt ScFv 结构域	156	<p>CAAGTGCAGCTGGTCCAGTCGGGCGCCGAGGTCAAGAAGCCCGGGAGCT CTGTGAAAGTGTCTGCAAGGCCTCCGGGGCACCTTTAGCTCCTACGC CATCTCCTGGGTCCGCCAAGCACCGGGTCAAGGCCTGGAGTGGATGGGG GGAATTATCCCTATCTTCGGCACTGCCAACTACGCCAGAAGTTCAGG GACGCGTGACCATTACCGCGGACGAATCCACCTCCACCGCTTATATGGA GCTGTCCAGCTTGCCTCGGAAGATACCGCCGTGTACTACTGCGCCCGG AGGGGTGGATAACCAGCTGCTGAGATGGGACGTGGGCCTCCTGCGGTCGG CGTTCGACATCTGGGGCCAGGGCACTATGGTCACTGTGTCCAGCGGAGG</p>

		AGGCGGATCGGGAGGCGGCGGATCAGGGGGAGGCGGTTCCAGCTACGTG CTTACTCAACCCCTTCGGTGTCCGTGGCCCCGGGACAGACCCGAGAA TCACTTGC GGAGGAAACAACATTGGGTCCAAGAGCGTGCATTGGTACCA GCAGAAGCCAGGACAGGCCCTGTGCTGGTGTCTACGGGAAGAACAAT CGGCCAGCGGAGTGCCGGACAGGTTCTCGGGTTCACGCTCCGGTACAA CCGCTTCACTGACTATCACCGGGGCCAGGCAGAGGATGAAGCGGACTA CTACTGTTCTCCCGGATTATCCGGCGACCACCTCCGGGTGTTCCGA ACCGGAACGAAGGTCACCGTGCTG
149368-aa VH	177	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMG GI IPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR RGGYQLLRWDVGLLRSAFDIWGQGMVTVSS
149368-aa VL	198	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVVLVLYG KNNRPSGVPDRFSGSRSGTTASLTITGAQAEDEADYYCSSRDSSGDHLR VFGTGTKVTVL
149368-aa 完 全 CAR	219	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGT FSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGGI IPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTS TAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGGYQLLRWDVGLLRSAFDIWGQGMVT VSSGGGGSGGGGSSYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKS VHWYQQKPGQAPVVLVLYGKNNRPSGVPDRFSGSRSGTTASLTITGAQAE DEADYYCSSRDSSGDHLRVFGTGTKVTVLTTTTPAPRPPTPAPTIASQPL SLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCVLLLSLVITLYC KRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRS ADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPENGGKPRRKNPQE GLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALH MQALPPR
149368-nt 完全 CAR	240	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCAAGTGCAGCTGGTCCAGTCGGGCGCCGAGGTCAA GAAGCCCGGAGCTCTGTGAAAGTGTCTGCAAGGCCTCCGGGGCACC TTTAGCTCCTACGCCATCTCCTGGGTCCGCCAAGCACCGGGTCAAGGCC TGGAGTGGATGGGGGAATTATCCCTATCTTCGGCACTGCCAACTACGC CCAGAAGTTCCAGGGACGCGTGACCATTACCGCGGACGAATCCACCTCC ACCGCTTATATGGAGCTGTCCAGCTTGCCTCGGAAGATAACCGCCGTGT ACTACTGCGCCCGAGGGGTGGATAACCAGCTGCTGAGATGGGACGTGGG CCTCCTGCGGTGCGGCTTCGACATCTGGGGCCAGGGCACTATGGTCACT GTGTCCAGCGGAGGAGGCGGATCGGGAGGCGGCGGATCAGGGGGAGGCG

[0699]

[0700]

		<p>GTTCCAGCTACGTGCTTACTCAACCCCCTTCGGTGTCCGTGGCCCCGGG ACAGACCGCCAGAATCACTTGC GGAGGAAACAACATTGGGTCCAAGAGC GTGCATTGGTACCAGCAGAAGCCAGGACAGGCCCTGTGCTGGTGTCT ACGGGAAGAACAATCGGCCAGCGGAGTGCCGGACAGGTTCTCGGGTTC ACGCTCCGGTACAACCGCTTCACTGACTATCACCGGGGCCAGGCAGAG GATGAAGCGGACTACTACTGTTCTCCCGGGATTTCATCCGGCGACCACC TCCGGGTGTTCGGAACCGGAACGAAGGTCACCGTGTGACCACTACCCC AGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTG TCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATA CCCGGGGTCTTGACTTCGCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGC TGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGT AAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGA GGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGGTCCC AGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGC GCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAAC TCAATCTTGGTTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGG ACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAG GGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCG AGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACT GTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCAC ATGCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>
149369		
149369-aa ScFv 结构域	136	<p>EVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEW LGRTYYRSKWYSFYAISLKSRIINPDTSKNQFSLQLKSVTPEDTAVYY CARSSPEGLFLYWFDPWGQGLVTVSSGGDGS GGGGSSSELTQD PAVSVALGQTIRITCQGDSLGNYYATWYQQKPGQAPV LVIYGTNNRPSG IPDRFSASSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDS SGHLLFGTGTKV TVL</p>
149369-nt ScFv 结构域	157	<p>GAAGTGCAGCTCCAACAGTCAGGACCGGGGCTCGTGAAGCCATCCCAGA CCCTGTCCCTGACTTGTGCCATCTCGGGAGATAGCGTGTTCATCGAACTC CGCCGCCTGGAAGTGGATTTCGGCAGAGCCCGTCCCGCGGACTGGAGTGG CTTGGAAGGACCTACTACCGGTCCAAGTGGTACTCTTTCTACGCGATCT CGCTGAAGTCCCGCATTATCATTAAACCCTGATACCTCCAAGAATCAGTT CTCCCTCCAAGTAAATCCGTCACCCCGAGGACACAGCAGTGTATTAC TGCGCACGGAGCAGCCCCGAAGGACTGTTCTGTATTGGTTTGACCCCT</p>

[0701]

		GGGGCCAGGGGACTCTTGTGACCGTGTGCGAGCGGGCGGAGATGGGTCCGG TGGCGGTGGTTTCGGGGGGCGGCGGATCATCATCCGAAGTACCCAGGAC CCGGCTGTGTCCGTGGCGCTGGGACAAACCATCCGCATTACGTGCCAGG GAGACTCCCTGGGCAACTACTACGCCACTTGGTACCAGCAGAAGCCGGG CCAAGCCCCTGTGTTGGTCATCTACGGGACCAACAACAGACCTTCCGGC ATCCCCGACCGGTTTACGCGCTTCGTCCTCCGGCAACACTGCCAGCCTGA CCATCACTGGAGCGCAGGCCGAAGATGAGGCCGACTACTACTGCAACAG CAGAGACTCCTCGGGTCATCACCTCTTGTTCGGAAGTGAACCAAGGTC ACCGTGCTG
149369-aa VH	178	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEW LGRYYRSKWYSFYAISLKSRIIINPDTSKNQFSLQLKSVTPEDTAVYY CARSSPEGLFLYWFDWPWGQGLTVTVSS
149369-aa VL	199	SSELTQDPAVSVALGQTIIRITCQGDSLGNYYATWYQQKPGQAPVLIYIG TNNRPSGIPDRFSASSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGHLL FGTGTKVTVL
149369-aa 完 全 CAR	220	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDS VSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRYYRSKWYSFYAISLKSRIIINPDT SKNQFSLQLKSVTPEDTAVYYCARSSPEGLFLYWFDWPWGQGLTVTVSSG GDGSGGGGSGGGSSSELTQDPAVSVALGQTIIRITCQGDSLGNYYATWY QQKPGQAPVLIYIGTNNRPSGIPDRFSASSSGNTASLTITGAQAEDEAD YYCNSRDSSGHLLFGTGTKVTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPE ACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPA YKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNE LQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALP PR
149369-nt 完全 CAR	241	ATGGCCCTCCCTGTACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAGCTCCAACAGTCAGGACCGGGGCTCGT GAAGCCATCCCAGACCCTGTCCCTGACTTGTGCCATCTCGGGAGATAGC GTGTCATCGAACTCCGCCGCCTGGAAGTGGATTCCGGCAGAGCCCCTCC GCGGACTGGAGTGGCTTGGAAGGACCTACTACCGGTCCAAGTGGTACTC TTTCTACGCGATCTCGCTGAAGTCCCGCATTATCATTAAACCCTGATACC TCCAAGAATCAGTTCTCCCTCCAAGTAAATCCGTCACCCCCGAGGACA CAGCAGTGTATTACTGCGCACGGAGCAGCCCCGAAGGACTGTTCCCTGTA TTGGTTTGACCCCTGGGGCCAGGGGACTCTTGTGACCGTGTGCGAGCGGC

[0702]

		<p>GGAGATGGGTCCGGTGGCGGTGGTTTCGGGGGGCGGCGGATCATCATCCG AACTGACCCAGGACCCGGCTGTGTCCGTGGCGCTGGGACAAACCATCCG CATTACGTGCCAGGGAGACTCCCTGGGCAACTACTACGCCACTTGGTAC CAGCAGAAGCCGGGCCAAGCCCCTGTGTTGGTCATCTACGGGACCAACA ACAGACCTTCCGGCATCCCCGACCGGTTTCAGCGCTTCGTCCTCCGGCAA CACTGCCAGCCTGACCATCACTGGAGCGCAGGCCGAAGATGAGGCCGAC TACTACTGCAACAGCAGAGACTCCTCGGGTCATCACCTCTTGTTCCGAA CTGGAACCAAGGTCACCGTGCTGACCACTACCCCAGCACCCGAGGCCACC CACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAG GCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATAACCCGGGGTCTTGACT TCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGT CCTGCTGCTTTCCTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCCGGAAG AAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTA CTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGGTTCAGAGGAGGAGGAAGG CGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCC TACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGA GAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAAT GGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAG CTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAG GGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAG CACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCG CCTCGG</p>
BCMA_EBB-C1978-A4		
BCMA_EBB-C1978-A4 - aa ScFv 结构域	137	<p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK VEGSGSLDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPGTLSL PGERATLSCRASQSVSSAYLAWYQQKPGQPPRLLISGASTRATGIPDRF GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGSSFNGLFTFGQGRLEIK</p>
BCMA_EBB-C1978-A4 - nt ScFv 结构域	158	<p>GAAGTGCAGCTCGTGGAGTCAGGAGGCGGCCTGGTCCAGCCGGGAGGGT CCCTTAGACTGTCATGCGCCGAAGCGGATTCACCTTCTCCTCCTATGC CATGAGCTGGGTCCGCCAAGCCCCGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCC GCCATCTCGGGTCTGGAGGCTCAACTTACTACGCTGACTCCGTGAAGG GACGGTTCACCATTAGCCGCGACAACCTCAAGAACACCCTCTACCTCCA AATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGATACCGCCGTCTACTACTGCGCCAAA</p>

[0703]

		GTGGAAGGTT CAGGATCGCTGGACTACTGGGGACAGGGTACTCTCGTGA CCGTGTCATCGGGCGGAGGAGGTTCCGGCGGTGGCGGCTCCGGCGGCGG AGGGTCGGAGATCGTGATGACCCAGAGCCCTGGTACTCTGAGCCTTTTCG CCGGGAGAAAGGGCCACCCTGTCTGCCGCGCTTCCCAATCCGTGTCCT CCGCGTACTTGGCGTGGTACCAGCAGAAGCCGGGACAGCCCCCTCGGCT GCTGATCAGCGGGGCCAGCACCCGGGCAACCGGAATCCCAGACAGATTC GGGGGTTCCGGCAGCGGCACAGATTTACCCTGACTATTTGAGGTTGG AGCCCGAGGACTTTGCGGTGTATTACTGTCAGCACTACGGGTCGTCCTT TAATGGCTCCAGCCTGTTACGTTCCGGACAGGGGACCCGCCTGGAAATC AAG
BCMA_EBB- C1978-A4 - aa VH	179	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK VEGSGSLDYWGQGLVTVSS
BCMA_EBB- C1978-A4 - aa VL	200	EIVMTQSPGTL SLSPGERATLSCRASQSVSSAYLAWYQQKPGQPPRLLI SGASTRATGIPDRFGGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGSSFN SSLFTFGQGRLEIK
BCMA_EBB- C1978-A4 - aa 完全 CART	221	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVEGSGSLDYWGQGLVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSEIVMTQSPGTL SLSPGERATLSCRASQSVSSAYLAWYQQKPG QPPRL LISGASTRATGIPDRFGGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQH YGSSFN GSSLFTFGQGRLEIKTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEAC RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKL LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYK QGQNQLYNELNLGRREYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQ KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR
BCMA_EBB- C1978-A4 - nt 完全 CART	242	ATGGCCCTCCCTGT CACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAGCTCGTGGAGTCAGGAGGCGGCCTGGT CCAGCCGGGAGGGTCCCTTAGACTGTCATGCGCCGAAGCGGATTCCT TTCTCCTCCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAAGCCCCGGAAAGGGAC TGGAATGGGTGTCCGCATCTCGGGGTCTGGAGGCTCAACTTACTACGC TGACTCCGTGAAGGGACGGTTCACCATTAGCCGCGACA ACTCCAAGAAC ACCCTCTACCTCCAAATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGATACCGCCGTCT

[0704]

		<p>ACTACTGCGCCAAAGTGGAAGGTTTCAGGATCGCTGGACTACTGGGGACA GGGTACTCTCGTGACCGTGTTCATCGGGCGGAGGAGGTTCCGGCGGTGGC GGCTCCGGCGGCGGAGGGTTCGGAGATCGTGATGACCCAGAGCCCTGGTA CTCTGAGCCTTTTCGCCGGGAGAAAGGGCCACCCTGTCTGCCGCGCTTC CCAATCCGTGTCCTCCGCGTACTTGGCGTGGTACCAGCAGAAGCCGGGA CAGCCCCCTCGGCTGCTGATCAGCGGGGCCAGCACCCGGGCAACCGGAA TCCCAGACAGATTTCGGGGGTTCCGGCAGCGGCACAGATTTACCCTGAC TATTTTCGAGGTTGGAGCCCGAGGACTTTGCGGTGTATTACTGTCAGCAC TACGGGTTCGTCTTTAATGGCTCCAGCCTGTTACGTTTCGGACAGGGGA CCCGCTGGAAATCAAGACCACTACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCC GGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGT AGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATAACCCGGGGTCTTGACTTCGCT GCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGGGGGTCTCTGCT GCTTTCCTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTG CTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAG AGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGGTTCAGAGGAGGAGGAAGCGGGCTG CGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAG CAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACCAATCTTGGTTCGGAGAGAGG AGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGG GAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAA AAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAAC GCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGC CACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>
BCMA_EBB-C1978-G1		
BCMA_EBB-C1978-G1 - aa ScFv 结构域	138	<p>EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGITFSRYPMWVRQAPGKLEWVS GISDSGVSTYYADSAKGRFTISRDNKNTLFLQMSSLRDEDTAVYYCVT RAGSEASDIWGQGTMTVSSGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLS PGERATLSCRASQSVSNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAIYYCQQFGTSSGLTFGGGTKLEIK</p>
BCMA_EBB-C1978-G1 - nt ScFv 结构域	159	<p>GAAGTGCAACTGGTGGAAACCGGTGGCGGCCTGGTGCAGCCTGGAGGAT CATTGAGGCTGTTCATGCGCGGCCAGCGGTATTACCTTCTCCCGGTACCC CATGTCCTGGGTGAGACAGGCCCGGGGAAAGGGCTTGAATGGGTGTCC GGGATCTCGGACTCCGGTGTGAGCACTTACTACGCCGACTCCGCCAAGG GACGCTTACCATTTCCCGGGACAACCTCGAAGAACACCCTGTTCTCTCCA AATGAGCTCCCTCCGGGACGAGGATACTGCAGTGTACTACTGCGTGACC</p>

[0705]

		CGCGCCGGGTCCGAGGCGTCTGACATTTGGGGACAGGGCACTATGGTCA CCGTGTCTGTCGGGCGGAGGGGGCTCGGGAGGCGGTGGCAGCGGAGGAGG AGGGTCCGAGATCGTGCTGACCCAATCCCCGGCCACCCTCTCGTGAGC CCTGGAGAAAGGGCAACCTTGTCTGTGCGCGGAGCCAGTCCGTGAGCA ACTCCCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGACAGGCTCCGAGACTTCT GATCTACGACGCTTCGAGCCGGGCCACTGGAATCCCCGACCGCTTTTCG GGGTCCGGCTCAGGAACCGATTTACCCTGACAATCTCACGGCTGGAGC CAGAGGATTTGCCATCTATTACTGCCAGCAGTTCGGTACTTCTCCGG CCTGACTTTCGGAGGCGGCACGAAGCTCGAAATCAAG
BCMA_EBB- C1978-G1 - aa VH	180	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGITFSRYPMWVRQAPGKGLEWVS GISDSGVSTYYADSAKGRFTISRDNKNTLFLQMSSLRDEDTAVYYCVT RAGSEASDIWGQGTMTVSS
BCMA_EBB- C1978-G1 - aa VL	201	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSNLAWYQQKPGQAPRLLIY DASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAIYYCQQFGTSSGLT FGGGTKLEIK
BCMA_EBB- C1978-G1 - aa 完全 CART	222	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGIT FSRYPMWVRQAPGKGLEWVSGISDSGVSTYYADSAKGRFTISRDNKNTL FLQMSSLRDEDTAVYYCVTRAGSEASDIWGQGTMTVSSGGGGSGGG GSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSNLAWYQQKPGQ APRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAIYYCQQF GTSSGLTFGGGTKLEIKTTTTAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAG GAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSRFPPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQ LYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQLPPR
BCMA_EBB- C1978-G1 - nt 完全 CART	243	ATGGCCCTCCCTGTCAACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAACTGGTGGAAACCGGTGGCGGCCTGGT GCAGCCTGGAGGATCATTGAGGCTGTCATGCGCGGCCAGCGGTATTACC TTCTCCCGGTACCCCATGTCCTGGGTGAGCAGGCCCCGGGAAAGGGC TTGAATGGGTGTCCGGGATCTCGGACTCCGGTGTGAGCACTTACTACGC CGACTCCGCCAAGGGACGCTTACCATTTCCCGGGACAACCTCGAAGAAC ACCCTGTTCTCCAAATGAGCTCCCTCCGGGACGAGGATACTGCAGTGT ACTACTGCGTGACCCGCGCCGGGTCCGAGGCGTCTGACATTTGGGGACA

[0706]

		<p>GGGCACTATGGTCACCGTGTCTCGTCCGGCGGAGGGGGCTCGGGAGGCGGT GGCAGCGGAGGAGGAGGGTCCGAGATCGTGCTGACCCAATCCCCGGCCA CCCTCTCGCTGAGCCCTGGAGAAAGGGCAACCTTGTCTGTGCGCGGAG CCAGTCCGTGAGCAACTCCCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGACAG GCTCCGAGACTTCTGATCTACGACGCTTCGAGCCGGGCCACTGGAATCC CCGACCGCTTTTCGGGGTCCGGCTCAGGAACCGATTTACCCCTGACAAT CTCACGGCTGGAGCCAGAGGATTTCCGCCATCTATTACTGCCAGCAGTTC GGTACTTCTCCGGCCTGACTTTCGGAGGCGGCACGAAGCTCGAAATCA AGACCACTACCCAGCACCAGGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGC CTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGT GGGGCCGTGCATAACCCGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTT GGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCTGCTTTCACTCGTGAT CACTCTTTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAG CAACCCCTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTT CATGCCGGTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAA ATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAG CTCTACAACGAACTCAATCTTGGTTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGG ACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAA GAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCA GAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAG GCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTA TGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>
BCMA_EBB-C1979-C1		
BCMA_EBB-C1979-C1 - aa ScFv 结构域	139	<p>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAIYYCAR ATYKRELRYYYGMDVWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSEIVMTQSP GTVSLSPGERATLSCRASQSVSSSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDSAVYYCQQYHSSPSWTFGQTRL EIK</p>
BCMA_EBB-C1979-C1 - nt ScFv 结构域	160	<p>CAAGTGCAGCTCGTGGAATCGGGTGGCGGACTGGTGCAGCCGGGGGGCT CACTTAGACTGTCTGCGCGGCCAGCGGATTCACCTTCTCCTCCTACGC CATGTCCTGGGTGAGACAGGCCCTGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGTCC GCAATCAGCGGCAGCGCGGCTCGACCTATTACGCGGATTCAGTGAAGG GCAGATTCACCATTTCCCGGGACAACGCCAAGAACTCCTTGTACCTTCA AATGAACTCCCTCCGCGCGGAAGATACCGCAATCTACTACTGCGCTCGG</p>

[0707]

		GCCACTTACAAGAGGGAAGTGCCTACTACTACGGGATGGACGTCTGGG GCCAGGGAACCATGGTCACCGTGTCCAGCGGAGGAGGAGGATCGGGAGG AGGCGGTAGCGGGGGTGGAGGGTCGGAGATCGTGATGACCCAGTCCCCC GGCACTGTGTGCTGTCCCCGGCGAACGGGCCACCCTGTCATGTCTGGG CCAGCCAGTCAGTGTGCTCAAGCTTCCTCGCCTGGTACCAGCAGAAACC GGGACAAGCTCCCCGCCTGCTGATCTACGGAGCCAGCAGCCGGGCCACC GGTATTCTGACCGTTCTCCGGTTCGGGGTCCGGGACCGACTTTACTC TGACTATCTCTCGCCTCGAGCCAGAGGACTCCGCCGTGTATTACTGCCA GCAGTACCCTCCTCCCCGTCTGGACGTTCCGGACAGGGCACAAGGCTG GAGATTAAG
BCMA_EBB- C1979-C1 - aa VH	181	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAIYYCAR ATYKRELRYYYGMDVWGQGTMTVSS
BCMA_EBB- C1979-C1 - aa VL	202	EIVMTQSPGTVSLSPGERATLSCRASQSVSSSFLAWYQQKPGQAPRLLI YGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDSAVYYCQYHSSPSW TFGQGRLEIK
BCMA_EBB- C1979-C1 - aa 完全 CART	223	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKN SLYLQMNSLRAEDTAIYYCARATYKRELRYYYGMDVWGQGTMTVSSGG GGSGGGSGGGGSEIVMTQSPGTVSLSPGERATLSCRASQSVSSSFLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDSA VYYCQYHSSPSWTFGQGRLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPE ACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPA YKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNE LQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALP PR
BCMA_EBB- C1979-C1 - nt 完全 CART	244	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCAAGTGCAGCTCGTGGAATCGGGTGGCGGACTGGT GCAGCCGGGGGCTCACTTAGACTGTCCTGCGCGCCAGCGGATTCCT TTCTCCTCCTACGCCATGTCCTGGGTGAGACAGGCCCTGGAAAGGGCC TGGAATGGGTGTCCGCAATCAGCGGCAGCGCGGCTCGACCTATTACGC GGATTCAGTGAAGGGCAGATTCACCATTTCCCGGGACAACGCCAAGAAC

[0708]

		<p>TCCTTGTACCTTCAAATGAACTCCCTCCGCGCGGAAGATAACCGCAATCT ACTACTGCGCTCGGGCCACTTACAAGAGGGAAGTGCCTACTACTACGG GATGGACGTCTGGGGCCAGGGAACCATGGTCACCGTGTCCAGCGGAGGA GGAGGATCGGGAGGAGGCGGTAGCGGGGGTGGAGGGTCCGAGATCGTGA TGACCCAGTCCCCCGGCACTGTGTGCTGTCCCCCGGCGAACGGGCCAC CCTGTGATGTGGGGCCAGCCAGTCAGTGTGTCGTCAGCTTCCCTCGCTGG TACCAGCAGAAACCGGGACAAGCTCCCCGCCTGCTGATCTACGGAGCCA GCAGCCGGGCCACCGGTATTCTGACCGGTTCTCCGGTTCGGGGTCCGG GACCGACTTTACTCTGACTATCTCTCGCCTCGAGCCAGAGGACTCCGCC GTGTATTACTGCCAGCAGTACCACTCCTCCCCGTCTGGACGTTCCGGAC AGGGCACAAGGCTGGAGATTAAGACCACTACCCAGCAGCCGAGGCCACC CACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAG GCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACT TCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGT CCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAG AAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTA CTAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGGTTCAGAGGAGGAGGAAGG CGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCC TACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGA GAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAAT GGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAG CTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAG GGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAG CACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTACATGCAGGCCCTGCCG CCTCGG</p>
BCMA_EBB-C1978-C7		
BCMA_EBB-C1978-C7 - aa ScFv 结构域	140	<p>EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNTLKAEDTAVYYCAR ATYKRELRYYYGMDVWVGQGTITVTVSSGGGGSGGGGSEIVLTQSP STLSSLSPGESATLSCRASQSVSTTFLAWYQQKPGQAPRLLIYGSSNRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTIRRLEPEDFAVYYCQQYHSSPSWTFGQGTKV EIK</p>
BCMA_EBB-C1978-C7 - nt ScFv 结构域	161	<p>GAGGTGCAGCTTGTGGAAACCGGTGGCGGACTGGTGCAGCCCGGAGGAA GCCTCAGGCTGTCTGCGCCGCGTCCGGCTTACCTTCTCCTCGTACGC CATGTCCTGGGTCCGCCAGGCCCGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGTCC</p>

[0709]

		GCCATCTCTGGAAGCGGAGGTTCCACGTACTACGCGGACAGCGTCAAGG GAAGGTTTACAATCTCCC CGGATAATTCGAAGAACACTCTGTACCTTCA AATGAACACCCTGAAGGCCGAGGACACTGCTGTGTACTACTGCGCACGG GCCACCTACAAGAGAGAGCTCCGGTACTACTACGGAATGGACGTCTGGG GCCAGGGA ACTACTGTGACCGTGTCTCGGGAGGGGGTGGCTCCGGGGG GGGCGGCTCCGGCGGAGGCGGTTCCGAGATTGTGCTGACCCAGTCACCT TCAACTCTGTCGCTGTCCCCGGGAGAGAGCGCTACTCTGAGCTGCCGGG CCAGCCAGTCCGTGTCCACCACCTTCTCGCCTGGTATCAGCAGAAGCC GGGGCAGGCACCACGGCTCTTGATCTACGGGTCAAGCAACAGAGCGACC GGAATTCTGACCGCTTCTCGGGGAGCGGTT CAGGCACCGACTTCACCC TGACTATCCGGCGCCTGGAACCCGAAGATTTCCGCCGTGTATTACTGTCA ACAGTACCCTCCTCGCCGTCTGGACCTTTGGCCAAGGAACCAAAGTG GAAATCAAG
BCMA_EBB- C1978-C7 - aa VH	182	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN TLKAEDTAVYYCAR ATYKRELRYYYGMDVWGQGT TTVTVSS
BCMA_EBB- C1978-C7 - aa VL	203	EIVLTQSPSTLSLSPGESATL SCRASQSVSTTFLAWYQQKPGQAPRLLI YGSSNRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TIRLEPEDFAVYYCQQYHSSPSW TFGQGTKVEIK
BCMA_EBB- C1978-C7 - aa 完全 CART	224	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGLVQPGGSLRLS CAASGFT FSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKN TLYLQMN TLKAEDTAVYYCARATYKRELRYYYGMDVWGQGT TTVTVSSGG GGSGGGSGGGGSEIVLTQSPSTLSLSPGESATL SCRASQSVSTTFLAW YQQKPGQAPRLLIYGSSNRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TIRLEPEDFA VYYCQQYHSSPSWTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPE ACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL RVKFSRSADAPA YKQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNE LQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALP PR
BCMA_EBB- C1978-C7 - nt 完全 CART	245	ATGGCCCTCCCTGT CACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCGAGGTGCAGCTTGTGGAAACCGGTGGCGGACTGGT GCAGCCCGGAGGAAGCCTCAGGCTGTCTGCGCCGCGTCCGGCTTACC

[0710]

		<p>TTCTCCTCGTACGCCATGTCCTGGGTCCGCCAGGCCCCCGGAAAGGGCC TGGAATGGGTGTCCGCCATCTCTGGAAGCGGAGGTTCCACGTACTACGC GGACAGCGTCAAGGGAAGGTTACAAATCTCCCGCGATAATTCGAAGAAC ACTCTGTACCTTCAAATGAACACCCTGAAGGCCGAGGACACTGCTGTGT ACTACTGCGCACGGGCCACCTACAAGAGAGAGCTCCGGTACTACTACGG AATGGACGTCTGGGGCCAGGGAACACTGTGACCGTGTCTCGGGAGGG GGTGGCTCCGGGGGGGGCGGCTCCGGCGGAGGCGGTTCCGAGATTGTGC TGACCCAGTCACCTTCAACTCTGTGCTGTCCCGGGAGAGAGCGCTAC TCTGAGCTGCCGGGCCAGCCAGTCCGTGTCCACCACCTTCTCGCCTGG TATCAGCAGAAGCCGGGGCAGGCACCACGGCTCTTGATCTACGGGTCAA GCAACAGAGCGACCCGGAATTCTGACCGCTTCTCGGGGAGCGGTTCCAGG CACCGACTTACCCTGACTATCCGGCGCCTGGAACCCGAAGATTTCCGCC GTGTATTACTGTCAACAGTACCCTCCTCGCCGTCTGGACCTTTGGCC AAGGAACCAAAGTGAAATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACC CACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAG GCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATAACCCGGGGTCTTGACT TCGCCTGCGATATCTACATTTGGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGT CCTGCTGCTTTCCTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAG AAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTA CTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGGTTCAGAGGAGGAGGAAGG CGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTGAGCCGAGCGCAGATGCTCCAGCC TACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGA GAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAAT GGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAG CTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAG GGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAG CACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTACATGCAGGCCCTGCCG CCTCGG</p>
BCMA_EBB-C1978-D10		
BCMA_EBB-C1978-D10 - aa ScFv 结构域	141	<p>EVQLVETGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVS GISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAR VGKAVPDVWGQGTITVTVSSGGGSGGGGSGGGSDIVMTQTPSSLSASV GDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPYSFGQTRLEIK</p>
BCMA_EBB-	162	<p>GAAGTGCAGCTCGTGGAACTGGAGGTGGACTCGTGCAGCCTGGACGGT</p>

[0711]

<p>C1978-D10- nt ScFv 结构域</p>		<p>CGCTGCGGCTGAGCTGCGCTGCATCCGGCTTCACCTTCGACGATTATGC CATGCACTGGGTGAGACAGGCGCCAGGGAAGGGACTTGAGTGGGTGTCC GGTATCAGCTGGAATAGCGGCTCAATCGGATACGCGGACTCCGTGAAGG GAAGGTTACACATTTCCC GCGACAACGCCAAGA AACTCCCTGTACTTGCA AATGAACAGCCTCCGGGATGAGGACACTGCCGTGTACTACTGCGCCCGC GTCGGAAAAGCTGTGCCCCGACGTCTGGGGCCAGGGAACCACTGTGACCG TGTCAGCGGGCGGGGTGGATCGGGCGGTGGAGGGTCCGGTGGAGGGGG CTCAGATATTGTGATGACCCAGACCCCTCGTCCCTGTCCGCCTCGGTC GGCGACCGGTGACTATCACATGTAGAGCCTCGCAGAGCATCTCCAGCT ACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCGGGGAAGGCCCGAAGCTCCTGAT CTACGCGGCATCATCACTGCAATCGGGAGTGCCGAGCCGGTTTTCCGGG TCCGGCTCCGGCACCGACTTCACGCTGACCATTTCTTCCCTGCAACCCG AGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAGCAGTCTACTCCACCCCTTACTC CTTCGGCCAAGGAACCAGGCTGGAAATCAAG</p>
<p>BCMA_EBB- C1978-D10 - aa VH</p>	<p>183</p>	<p>EVQLVETGGGLVQPGRSLRLS CAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVS GISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAR VGKAVPDVWGQGT TTVTVSS</p>
<p>BCMA_EBB- C1978-D10- aa VL</p>	<p>204</p>	<p>DIVMTQTPSSLSASVGD RVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIY AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTPYSF GQGTRLEIK</p>
<p>BCMA_EBB- C1978-D10 - aa 完全 CART</p>	<p>225</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGLVQPGRSLRLS CAASGFT FDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDN AKN SLYLQMNSLRDEDTAVYYCARVGKAVPDVWGQGT TTVTVSSGGGGSGGGG SGGGSDIVMTQTPSSLSASVGD RVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKA PKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSY STPYSFGQGTRLEIKTTTT PAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGA VHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLY NELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA YSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQLPPR</p>
<p>BCMA_EBB- C1978-D10 - nt</p>	<p>246</p>	<p>ATGGCCCTCCCTGTCA CCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAGCTCGTGGAAACTGGAGGTGGACTCGT GCAGCCTGGACGGTCGCTGCGGCTGAGCTGCGCTGCATCCGGCTTCACC</p>

[0712]

<p>完全 CART</p>		<p>TTCGACGATTATGCCATGCACTGGGTGAGACAGGCGCCAGGGAAGGGAC TTGAGTGGGTGTCCGGTATCAGCTGGAATAGCGGCTCAATCGGATACGC GGACTCCGTGAAGGGAAGGTTTACCATTTCCCAGACAACGCCAAGAAC TCCCTGTACTTGCAAATGAACAGCCTCCGGGATGAGGACACTGCCGTGT ACTACTGCGCCCGCGTTCGGAAAAGCTGTGCCCGACGTCTGGGGCCAGGG AACCACTGTGACCGTGTCCAGCGGCGGGGGTGGATCGGGCGGTGGAGGG TCCGGTGGAGGGGGCTCAGATATTGTGATGACCCAGACCCCTCGTCCC TGTCCGCTCGGTCCGCGACCGCGTGACTATCACATGTAGAGCCTCGCA GAGCATCTCCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCGGGGAAGGCC CCGAAGCTCCTGATCTACGCGGCATCATCACTGCAATCGGGAGTGCCGA GCCGGTTTTCCGGGTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACGCTGACCATTTT TTCCCTGCAACCCGAGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAGCAGTCTTAC TCCACCCCTTACTCCTTCGGCCAAGGAACCAGGCTGGAAATCAAGACCA CTACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCTCCCA GCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCC GTGCATAACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCC CTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGTGCTTTCACTCGTGATCACTCT TTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCC TTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTATGCC GGTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAG CCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTAC AACGAACTCAATCTTGGTTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGC GGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCC CCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCC TATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACG ACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGC TCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>
<p>BCMA_EBB-C1979-C12</p>		
<p>BCMA_EBB- C1979-C12- aa ScFv 结构域</p>	<p>142</p>	<p>EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFDDYAMHWVRQRPKGLEWVA SINWKGNSLAYGDSVKGRFAISRDNKNTVFLQMNSLRTEDEVYYCAS HQGVAYYNYAMDVWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGT LSLSPGERATLSCRATQSIGSSFLAWYQQRPGQAPRLLIYGASQRTGI PDRFSGRSGTDFTLTISRVEPEDSAVYYCQHYESSPSWTFGQGTKVEI K</p>
<p>BCMA_EBB-</p>	<p>163</p>	<p>GAAGTGCAGCTCGTGGAGAGCGGGGAGGATTGGTGCAGCCCAGGAGGT</p>

[0713]

<p>C1979-C12 - nt ScFv 结构域</p>		<p>CCCTGCGGCTCTCCTGCACTGCGTCTGGCTTCACCTTCGACGACTACGC GATGCACTGGGTGACAGCGCCCCGGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGCCC TCAATCAACTGGAAGGGAAACTCCCTGGCCTATGGCGACAGCGTGAAGG GCCGCTTCGCCATTTTCGCGCGACAACGCCAAGAACACCGTGTTTCTGCA AATGAATTCCTGCGGACCGAGGATACCGCTGTGTACTACTGCGCCAGC CACCAGGGCGTGGCATACTATAACTACGCCATGGACGTGTGGGGAAGAG GGACGCTCGTCACCGTGTCTCCGGGGGGCGGTGGATCGGGTGGAGGAGG AAGCGGTGGCGGGGGCAGCGAAATCGTGCTGACTCAGAGCCCGGGAACT CTTTCACTGTCCCCGGGAGAACGGGCCACTCTCTCGTGCCGGGCCACCC AGTCCATCGGCTCCTCCTTCCTTGCTGGTACCAGCAGAGGCCAGGACA GGCGCCCCGCCTGCTGATCTACGGTGCTTCCCAACGCGCCACTGGCATT CCTGACCGGTTTCAGCGGCAGAGGGTCCGGGAACCGATTTCACTGACCA TTTCCCGGGTGGAGCCCGAAGATTCCGGCAGTCTACTACTGTCAGCATT CGAGTCCTCCCCTTCATGGACCTTCGGTCAAGGGACCAAAGTGGAGATC AAG</p>
<p>BCMA_EBB-C1979-C12 - aa VH</p>	<p>184</p>	<p>EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFDDYAMHWVRQRPKGLEWVA SINWKGNLAYGDSVKGRFAISRDNKNTVFLQMNSLRTEDTAVYYCAS HQQVAYYNYAMDVWGRGTLVTVSS</p>
<p>BCMA_EBB-C1979-C12 - aa VL</p>	<p>205</p>	<p>EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRATQSIGSSFLAWYQQRPGQAPRLLI YGASQRATGIPDRFSGRSGTDFTLTISRVEPEDSAVYYCQHYESSPSW TFGQGTKVEIK</p>
<p>BCMA_EBB-C1979-C12 - aa 完全 CART</p>	<p>226</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFT FDDYAMHWVRQRPKGLEWVASINWKGNLAYGDSVKGRFAISRDNKN TVFLQMNSLRTEDTAVYYCASHQQVAYYNYAMDVWGRGTLVTVSSGGGG SGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRATQSIGSSFLAWYQ QRPQAPRLLIYGASQRATGIPDRFSGRSGTDFTLTISRVEPEDSAVY YCQHYESSPSWTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKL LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYK QGQNQLYNELNLGRREYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQ KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR</p>
<p>BCMA_EBB-C1979-C12 -</p>	<p>247</p>	<p>ATGGCCCTCCCTGTCCCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAGCTCGTGGAGAGCGGGGAGGATTGGT</p>

[0714]

<p>nt 完全 CART</p>		<p>GCAGCCCGGAAGGTCCCTGCGGCTCTCCTGCACTGCGTCTGGCTTCACC TTCGACGACTACGCGATGCACTGGGTGAGACAGCGCCCCGGGAAAGGGCC TGGAATGGGTGCGCTCAATCAACTGGAAGGGAAACTCCCTGGCCTATGG CGACAGCGTGAAGGGCCGCTTCGCCATTTTCGCGCGACAACGCCAAGAAC ACCGTGTTTCTGCAAATGAATTCCCTGCGGACCGAGGATACCGCTGTGT ACTACTGCGCCAGCCACCAGGGCGTGGCATACTATAACTACGCCATGGA CGTGTGGGGAAGAGGGACGCTCGTCACCGTGTCTCCGGGGGCGGTGGA TCGGGTGGAGGAGGAAGCGGTGGCGGGGGCAGCGAAATCGTGCTGACTC AGAGCCCGGAACTCTTTACTGTCCCCGGGAGAACGGGCCACTCTCTC GTGCCGGGCCACCCAGTCCATCGGCTCCTCCTTCCTTGCTGGTACCAG CAGAGGCCAGGACAGGGCGCCCCGCCTGCTGATCTACGGTGCTTCCCAAC GCGCCACTGGCATTCTGACCGGTTTACGCGCAGAGGGTTCGGGAACCGA TTTCACACTGACCATTTCCCGGGTGGAGCCGAAGATTTCGGCAGTCTAC TACTGTCAGCATTACGAGTCTCCCTTCATGGACCTTCGGTCAAGGGA CCAAAGTGGAGATCAAGACCACTACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCC GGCTCCTACCATCGCTCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGT AGACCCGCGAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCT GCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCT GCTTTACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTG CTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAG AGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGTTTCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTG CGAACTGCGCGTGAAATTGACCCGCGAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAG CAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTTCGGAGAGAGG AGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGG GAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAA AAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAAC GCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGC CACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>
<p>BCMA_EBB-C1980-G4</p>		
<p>BCMA_EBB- C1980-G4- aa ScFv 结构域</p>	<p>143</p>	<p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK VVRDGMVWGQGTITVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSP GERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFS GNGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSPPRFTEFGPGTKVDIK</p>
<p>BCMA_EBB-</p>	<p>164</p>	<p>GAGGTGCAGTTGGTCGAAAGCGGGGGCGGGCTTGTGCAGCCTGGCGGAT</p>

[0715]

<p>C1980-G4- nt ScFv 结构域</p>		<p>CACTGCGGCTGTCTGCGCGGCATCAGGCTTCACGTTTTCTTCTACGC CATGTCCTGGGTGCGCCAGGCCCTGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCC GCGATTTTCGGGGTCCGGCGGGAGCACCTACTACGCCGATTCCGTGAAGG GCCGCTTCACTATCTCGCGGGACAACCTCCAAGAACACCCTCTACCTCCA AATGAATAGCCTGCGGGCCGAGGATACCGCCGTCTACTATTGCGCTAAG GTCGTGCGCGACGGAATGGACGTGTGGGGACAGGGTACCACCGTGACAG TGTCTCGGGGGGAGGCGGTAGCGGCGGAGGAGGAAGCGGTGGTGGAGG TTCCGAGATTGTGCTGACTCAATCACCCGCGACCCTGAGCCTGTCCCC GGCGAAAGGGCCACTCTGTCTGTGCGGGCCAGCCAATCAGTCTCCTCCT CGTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGACAGGCTCCGAGACTCCT TATCTATGGCGCATCCTCCCGCGCCACCAGGAATCCCGGATAGGTTCTCG GGAAACGGATCGGGGACCGACTTCACTCTCACCATCTCCCGGCTGGAAC CGGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTACGGCAGCCCGCCTAG ATTCACTTTCGGCCCCGGCACCAAAGTGGACATCAAG</p>
<p>BCMA_EBB- C1980-G4- aa VH</p>	<p>185</p>	<p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK VVRDGMVWVGQTTVTVSS</p>
<p>BCMA_EBB- C1980-G4- aa VL</p>	<p>206</p>	<p>EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLI YGASSRATGIPDRFSGNGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSPPRF TFGPGTKVDIK</p>
<p>BCMA_EBB- C1980-G4- aa 完全 CART</p>	<p>227</p>	<p>MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVVRDGMVWVGQTTVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQ APRLLIYGASSRATGIPDRFSGNGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSPPRFTFGPGTKVDIKTTTTAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAG GAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNO LYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMA EAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</p>
<p>BCMA_EBB- C1980-G4- nt 完全 CART</p>	<p>248</p>	<p>ATGGCCCTCCCTGTACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCGAGGTGCAGTTGGTCGAAAGCGGGGGCGGGCTTGT GCAGCCTGGCGGATCACTGCGGCTGTCTGCGCGGCATCAGGCTTCACG TTTTCTTCTACGCCATGTCCTGGGTGCGCCAGGCCCTGGAAAGGGAC TGGAATGGGTGTCCGCGATTTTCGGGGTCCGGCGGGAGCACCTACTACGC</p>

[0716]

		<p>CGATTCCGTGAAGGGCCGCTTCACTATCTCGCGGGACAACCTCCAAGAAC ACCCTCTACCTCCAAATGAATAGCCTGCGGGCCGAGGATAACCGCCGTCT ACTATTGCGCTAAGGTCGTGCGCGACGGAATGGACGTGTGGGGACAGGG TACCACCGTGACAGTGTCTCGGGGGGAGGCGGTAGCGGCGGAGGAGGA AGCGGTGGTGGAGGTTCCGAGATTGTGCTGACTCAATCACCCGCGACCC TGAGCCTGTCCCCCGGCGAAAGGGCCACTCTGTCTGTGCGGGCCAGCCA ATCAGTCTCCTCCTCGTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGACAG GCTCCGAGACTCCTTATCTATGGCGCATCTCCCAGCCACCAGGAATCC CGGATAGGTTCTCGGGAAACGGATCGGGGACCGACTTCACTCTCACCAT CTCCCGGCTGGAACCGGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTAC GGCAGCCCGCCTAGATTCACTTTTCGGCCCCGGCACCAAAGTGGACATCA AGACCACTACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGC CTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCGAGCTGGT GGGGCCGTGCATAACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTT GGGCCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGTGCTTTCACTCGTGAT CACTCTTTACTGTAAGCGCGGTGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAG CAACCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTT CATGCCGGTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAA ATTCAGCCGCGAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAG CTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCCGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGG ACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAA GAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCA GAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAG GCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTA TGACGCTCTTACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>
BCMA_EBB-C1980-D2		
BCMA_EBB-C1980-D2- aa ScFv 结构域	144	<p>EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK IPQTGTFDYWQGTLLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSL PGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRF SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGSSPSWTFGQGRLEIK</p>
BCMA_EBB-C1980-D2- nt ScFv 结构域	165	<p>GAAGTGCAGCTGCTGGAGTCCGGCGGTGGATTGGTGCAACCGGGGGGAT CGCTCAGACTGTCTGTGCGGCGTCAGGCTTACCTTCTCGAGCTACGC CATGTCATGGGTGACACAGGCCCTGGAAAGGGTCTGGAATGGGTGTCC GCCATTTCCGGGAGCGGGGATCTACATACTACGCCGATAGCGTGAAGG</p>

[0717]

		GCCGCTTCACCATTTCCCGGGACAACCTCCAAGAACACTCTCTATCTGCA AATGAACTCCCTCCGCGCTGAGGACACTGCCGTGTACTACTGCGCCAAA ATCCCTCAGACCGGCACCTTCGACTACTGGGGACAGGGGACTCTGGTCA CCGTCAGCAGCGGTGGCGGAGGTTCCGGGGGAGGAGGAAGCGGCGGCGG AGGGTCCGAGATTGTGCTGACCCAGTCACCCGGCACTTTGTCCCTGTCTG CCTGGAGAAAGGGCCACCCTTTCTGCCGGGCATCCCAATCCGTGTCTCT CCTCGTACCTGGCTGGTACCAGCAGAGGCCCGGACAGGCCCCACGGCT TCTGATCTACGGAGCAAGCAGCCGCGCGACCGGTATCCCGGACCGGTTT TCGGGCTCGGGCTCAGGAACTGACTTCACCCTCACCATCTCCCGCTGG AACCCGAAGATTTTCGCTGTGTATTACTGCCAGCACTACGGCAGCTCCCC GTCCTGGACGTTCCGGCCAGGGAACCTCGGCTGGAGATCAAG
BCMA_EBB- C1980-D2- aa VH	186	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK IPQTGTFDYWGQGLTVTVSS
BCMA_EBB- C1980-D2- aa VL	207	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQRPGQAPRLLI YGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGSSPSW TFGQGRLEIK
BCMA_EBB- C1980-D2- aa 完全 CART	228	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKIPQTGTFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSEIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQRPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQH YGSSPSWTFGQGRLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIF KQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQN QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQLPPR
BCMA_EBB- C1980-D2- nt 完全 CART	249	ATGGCCCTCCCTGTACCCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAGCTGCTGGAGTCCGGCGGTGGATTGGT GCAACCGGGGGGATCGCTCAGACTGCTCCTGTGCGGCGTCAGGCTTACC TTCTCGAGCTACGCCATGTCATGGGTGACACAGGCCCCCTGGAAAGGGTC TGGAATGGGTGTCCGCCATTTCCGGGAGCGGGGATCTACATACTACGC CGATAGCGTGAAGGGCCGCTTACCATTTCCCGGGACAACCTCCAAGAAC ACTCTCTATCTGCAAATGAACTCCCTCCGCGCTGAGGACACTGCCGTGT ACTACTGCGCCAAAATCCCTCAGACCGGCACCTTCGACTACTGGGGACA

[0718]

		<p>GGGGACTCTGGTCACCGTCAGCAGCGGTGGCGGAGGTTTCGGGGGGAGGA GGAAGCGGCGGCGGAGGGTCCGAGATTGTGCTGACCCAGTCACCCGGCA CTTTGTCCCTGTGCGCTGGAGAAAGGGCCACCCTTTCCTGCCGGGCATC CCAATCCGTGTCCTCCTCGTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAGGCCCGGA CAGGCCCCACGGCTTCTGATCTACGGAGCAAGCAGCCGCGGACCGGTA TCCCGGACCGGTTTTTCGGGCTCGGGCTCAGGAACTGACTTCACCCTCAC CATCTCCCGCCTGGAACCCGAAGATTTTCGCTGTGTATTACTGCCAGCAC TACGGCAGCTCCCCGTCTGGACGTTTCGGCCAGGGAACTCGGCTGGAGA TCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCAT CGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCT GGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCTGCGATATCTACA TTTGGGCCCCCTCTGGCTGGTACTTTCGGGGTCTGCTGCTTTCACTCGT GATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTT AAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCT GTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGT GAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAAC CAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGC TGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAG AAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATG GCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCA AAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACAC CTATGACGCTCTTACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG</p>
BCMA_EBB-C1978-A10		
BCMA_EBB-C1978-A10-aa ScFv 结构域	145	<p>EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTMSRENDKNSVFLQMNSLRVEDTGVYYCAR ANYKRELRYYYGMDVWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSP GTLSLSPGESATLSCRASQRVASNYLAWYQHKPGQAPSLLI SGASSRAT GVPDRFSGSGSGTDFTLAI SRLEPEDSAVYYCQHYDSSPSWTFGQGTKV EIK</p>
BCMA_EBB-C1978-A10-nt ScFv 结构域	166	<p>GAAGTGCAACTGGTGGAAACCGGTGGAGGACTCGTGCAGCCTGGCGGCA GCCTCCGGCTGAGCTGCGCCGCTTCGGGATTACCTTTTCCTCCTACGC GATGTCTTGGGTGAGACAGGCCCCCGAAAGGGGCTGGAATGGGTGTCA GCCATCTCCGGCTCCGGCGGATCAACGTACTACGCCGACTCCGTGAAAG GCCGGTTCACCATGTGCGCGGAGAATGACAAGA ACTCCGTGTTCTGCA AATGAACTCCCTGAGGGTGGAGGACACCGGAGTGTACTATTGTGCGCGC</p>

[0719]

		GCCAACTACAAGAGAGAGCTGCGGTACTACTACGGAATGGACGTCTGGG GACAGGGAACATATGGTGACCGTGTTCATCCGGTGGAGGGGAAGCGGCGG TGGAGGCAGCGGGGGCGGGGGTTTCAGAAATTGTCATGACCCAGTCCCCG GGAACCTCTTCCCTCTCCCCGGGGAATCCGCGACTTTGTCTGCCGGG CCAGCCAGCGCGTGGCCTCGAACTACCTCGCATGGTACCAGCATAAGCC AGGCCAAGCCCCCTTCCCTGCTGATTTCCGGGGCTAGCAGCCGCGCCACT GGCGTGCCGATAGGTTCTCGGGAAGCGGCTCGGGTACCGATTTACCC TGGCAATCTCGCGGCTGGAACCGGAGGATTCCGCCGTGTACTACTGCCA GCACTATGACTCATCCCCCTCTGGACATTTCGGACAGGGCACCAAGGTC GAGATCAAG
BCMA_EBB- C1978-A10- aa VH	187	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTMSRENDKNSVFLQMNSLRVEDTGVYYCAR ANYKRELRYYYGMDVWGQGTMTVTVSS
BCMA_EBB- C1978-A10- aa VL	208	EIVMTQSPGTLTSLSPGESATLSCRASQRVASNYLAWYQHKPGQAPSLLI SGASSRATGVPDRFSGSGSGTDFTLAIISRLEPEDSAVYYCQHYDSSPSW TFGQGTKVEIK
BCMA_EBB- C1978-A10- aa 完全 CART	229	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTMSRENDKN SVFLQMNSLRVEDTGVYYCARANYKRELRYYYGMDVWGQGTMTVTVSSGG GGSGGGSGGGGSEIVMTQSPGTLTSLSPGESATLSCRASQRVASNYLAW YQHKPGQAPSLIISGASSRATGVPDRFSGSGSGTDFTLAIISRLEPEDSA VYYCQHYDSSPSWTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPE ACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPA YKQGNQLYNELNLRREYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNE LQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALP PR
BCMA_EBB- C1978-A10- nt 完全 CART	250	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAACTGGTGGAAACCGGTGGAGGACTCGT GCAGCCTGGCGGCAGCCTCCGGCTGAGCTGCGCCGCTTCGGGATTCACC TTTTCTCCTACCGATGTCTTGGGTGAGACAGGCCCGGAAAGGGGC TGGAATGGGTGTCAGCCATCTCCGGCTCCGGCGGATCAACGTACTACGC CGACTCCGTGAAAGGCCGGTTCACCATGTGCGCGGAGAATGACAAGAAC

[0720]

		TCCGTGTTCCCTGCAAATGAACTCCCTGAGGGTGGAGGACACCGGAGTGT ACTATTGTGCGCGCGCCAACCTACAAGAGAGAGCTGCGGTACTACTACGG AATGGACGTCTGGGGACAGGGAACTATGGTGACCGTGTTCATCCGGTGG GGGGGAAGCGGCGGTGGAGGCAGCGGGGGCGGGGGTTTCAGAAATTGTCA TGACCCAGTCCCCGGGAACCTCTTTCCCTCTCCCCGGGGGAATCCGCGAC TTTGTCTGCGGGGCCAGCCAGCGCGTGGCCTCGAACTACCTCGCATGG TACCAGCATAAGCCAGGCCAAGCCCCTTCCCTGCTGATTTCCGGGGCTA GCAGCCGCGCCACTGGCGTGCCGGATAGGTTCTCGGGAAGCGGCTCGGG TACCGATTTACCCTGGCAATCTCGCGGCTGGAACCGGAGGATTTCGGCC GTGTACTACTGCCAGCACTATGACTCATCCCCCTCTGGACATTCGGAC AGGGCACCAAGGTTCGAGATCAAGACCACTACCCAGCACCAGGGCCACC CACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAG GCATGTAGACCCGCGAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACT TCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCCTCTGGCTGGTACTTTCGGGGT CCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAG AAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTA CTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGGTTCAGAGGAGGAGGAAGG CGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCGAGCGCAGATGCTCCAGCC TACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGA GAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAAT GGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAG CTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAG GGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAG CACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCG CCTCGG
BCMA_EBB-C1978-D4		
BCMA_EBB- C1978-D4- aa ScFv 结构域	146	EVQLLETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK ALVGATGAFDIWQGTLLTVSSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLIS LSPGERATLSCRASQSLSSNFLAWYQQKPGQAPGLLIYGASNWATGTPD RFSGSGSGTDFTLTITRLEPEDFAVYYCQYYGTSPLYTFGQGTKVEIK
BCMA_EBB- C1978-D4- nt ScFv 结构域	167	GAAGTGCAGCTGCTCGAAACCGGTGGAGGGCTGGTGCAGCCAGGGGGCT CCCTGAGGCTTTTCATGCGCCGCTAGCGGATTCTCCTTCTCCTCTTACGC CATGTGCTGGGTCCGCCAAGCCCCTGGAAAAGGCCTGGAATGGGTGTCC GCGATTTCCGGGAGCGGAGGTTTCGACCTATTACGCCGACTCCGTGAAGG

[0721]

		GCCGCTTTACCATCTCCCGGGATAACTCCAAGAACACTCTGTACCTCCA AATGAACTCGCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGCGCGAAG GCGCTGGTCGGCGCGACTGGGGCATTTCGACATCTGGGGACAGGGAACTC TTGTGACCGTGTGAGCGGAGGCGGCGGCTCCGGCGGAGGAGGGAGCGG GGGCGGTGGTTCCGAAATCGTGTTGACTCAGTCCCCGGGAACCCTGAGC TTGTCACCCGGGGAGCGGGCCACTCTCTCCTGTGCGGCCTCCCAATCGC TCTCATCCAATTTCTTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGACAGGCCCC GGGCCTGCTCATCTACGGCGCTTCAAACGGGCAACGGGAACCCCTGAT CGGTTTCAGCGGAAGCGGATCGGGTACTGACTTTACCCTGACCATCACCA GACTGGAACCGGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGTACTACGGCAC CTCCCCATGTACACATTCGGACAGGGTACCAAGGTCGAGATTAAG
BCMA_EBB- C1978-D4- aa VH	188	EVQLEETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK ALVGATGAFDIWGQGLVTVSS
BCMA_EBB- C1978-D4- aa VL	209	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSLSSNFLAWYQQKPGQAPGLLI YGASNWATGTPDRFSGSGSGTDFTLTITRLEPEDFAVYYCQYYGTSMPY TFGQGTKVEIK
BCMA_EBB- C1978-D4- aa 完全 CART	230	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLEETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFS FSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKALVGATGAFDIWGQGLVTVSSGGGGSG GGSGGGGSEIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSLSSNFLAWYQQK PGQAPGLLIYGASNWATGTPDRFSGSGSGTDFTLTITRLEPEDFAVYYC QYYGTSMPYTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRP AAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLY IFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQG QNQLYNELNLRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKD KMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR
BCMA_EBB- C1978-D4- nt 完全 CART	251	ATGGCCCTCCCTGTACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAGCTGCTCGAAACCGGTGGAGGGCTGGT GCAGCCAGGGGGCTCCCTGAGGCTTTCATGCGCCGCTAGCGGATTCTCC TTCTCCTCTTACGCCATGTCGTGGGTCCGCCAAGCCCTGGAAAAGGCC TGGAATGGGTGTCCGCGATTTCGGGAGCGGAGGTTGACCTATTACGC CGACTCCGTGAAGGGCCGCTTTACCATCTCCCGGGATAACTCCAAGAAC ACTCTGTACCTCCAAATGAACTCGCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGT ATTACTGCGCGAAGGCGCTGGTCGGCGCGACTGGGGCATTTCGACATCTG

[0722]

		<p>GGGACAGGGAACCTCTTGTGACCGTGTGAGCGGAGGCGGGCGGCTCCGGC GGAGGAGGGAGCGGGGGCGGTGGTTCCGAAATCGTGTTGACTCAGTCCC CGGGAACCCTGAGCTTGTCAACCGGGGAGCGGGCCACTCTCTCCTGTGCG CGCCTCCCAATCGCTCTCATCCAATTTCTGGCCTGGTACCAGCAGAAG CCCGGACAGGCCCGGGCCTGCTCATCTACGGCGCTTCAAACCTGGGCAA CGGGAACCCCTGATCGGTTTACGCGGAAGCGGATCGGGTACTGACTTTAC CCTGACCATCACCAGACTGGAACCGGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGC CAGTACTACGGCACCTCCCCATGTACACATTCGGACAGGGTACCAAGG TCGAGATTAAGACCACTACCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCC TACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCC GCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATA TCTACATTTGGGCCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTC ACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTGCTGTAC ATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGG ACGGCTGTTTATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACT GCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGG CAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTTCGGAGAGAGGAGTACG ACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCC GCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGAT AAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAA GAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAA GGACACCTATGACGCTCTTACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>
BCMA_EBB-C1980-A2		
BCMA_EBB-C1980-A2- aa ScFv 结构域	147	<p>EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVL WFGEGFDPWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGSDIVLTQSPSLPVTTP GEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYCMQALQTPLTFFGGGTKVDIK</p>
BCMA_EBB-C1980-A2- nt ScFv 结构域	168	<p>GAAGTGCAGCTGCTTGAGAGCGGTGGAGGTCTGGTGCAGCCCAGGGGAT CACTGCGCCTGTCTGTGCCGCGTCCGGTTTCACTTTCTCCTCGTACGC CATGTCGTGGGTGAGACAGGCACCGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCA GCCATTTCCGGTTCCGGGGGCGACACCTACTACGCTGACTCCGTGAAGG GCCGGTTCACCATTTCCCGCGACAACCTCCAAGAACACCTTGTACCTCCA AATGAACTCCCTGCGGGCCGAAGATACCGCCGTGTATTACTGCGTGCTG TGTTTCGGAGAGGGATTGACCCGTGGGGACAAGGAACACTCGTGACTG</p>

[0723]

		TGTCATCCGGCGGAGGCGGCAGCGGTGGCGGCGGTTCCGGCGGCGGCGG ATCTGACATCGTGTTGACCCAGTCCCCTCTGAGCCTGCCGGTCACTCCT GGCGAACCAGCCAGCATCTCCTGCCGGTCGAGCCAGTCCCCTCCTGCACT CCAATGGGTACAACCTACCTCGATTGGTATCTGCAAAAGCCGGGCCAGAG CCCCCAGCTGCTGATCTACCTTGGGTCAAACCGCGCTTCCGGGGTGCCT GATAGATTCTCCGGGTCCGGGAGCGGAACCGACTTTACCCTGAAAATCT CGAGGGTGGAGGCCGAGGACGTCCGAGTGTACTACTGCATGCAGGCGCT CCAGACTCCCCTGACCTTCGGAGGAGGAACGAAGGTCGACATCAAGA
BCMA_EBB- C1980-A2- aa VH	189	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVL WFGEGFDPWGQGLTVTVSS
BCMA_EBB- C1980-A2- aa VL	210	DIVLTQSPLSLPVTPEGPASISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSP QLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQ TPLTFGGGTKVDIK
BCMA_EBB- C1980-A2- aa 完全 CART	231	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCVLWFGEGFDPWGQGLTVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSDIVLTQSPLSLPVTPEGPASISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQ KPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY CMQALQTPLTFGGGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRP AAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLY IFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQG QNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKD KMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGDLQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
BCMA_EBB- C1980-A2- nt 完全 CART	252	ATGGCCCTCCCTGTCAACGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCGAAGTGCAGCTGCTTGAGAGCGGTGGAGGTCTGGT GCAGCCCGGGGATCACTGCGCCTGCTGTGCCGCGTCCGGTTTCACT TTCTCCTCGTACGCCATGTCGTGGGTGAGACAGGCACCGGAAAGGGAC TGGAATGGGTGTGAGCCATTTCCGGTTCGGGGGCGACCTACTACGC TGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATTTCCC CGGACAACCTCCAAGAAC ACCTTGTAACCTCAAATGAACTCCCTGCGGGCCGAAGATAACCGCGTGT ATTACTGCGTGCTGTGGTTCGGAGAGGGATTTCGACCCGTGGGGACAAGG AACACTCGTGACTGTGTCATCCGGCGGAGGCGGCAGCGGTGGCGGCGGT TCCGGCGGCGGCGGATCTGACATCGTGTTGACCCAGTCCCCTCTGAGCC TGCCGGTCACTCCTGGCGAACCAGCCAGCATCTCCTGCCGGTCGAGCCA

[0724]

		<p>GTCCCTCCTGCACTCCAATGGGTACAACCTACCTCGATTGGTATCTGCAA AAGCCGGGCCAGAGCCCCCAGCTGCTGATCTACCTTGGGTCAAACCGCG CTTCCGGGGTGCCTGATAGATTCTCCGGGTCCGGGAGCGGAACCGACTT TACCCTGAAAATCTCGAGGGTGGAGGCCGAGGACGTCCGGAGTGTACTAC TGCATGCAGGCGCTCCAGACTCCCCTGACCTTCGGAGGAGGAACGAAGG TCGACATCAAGACCACTACCCCAGCACCCGAGGCCACCCACCCCGGCTCC TACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCC GCAGCTGGTGGGGCCGTGCATAACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATA TCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTGCTGCTTTC ACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCCGGAAGAAGCTGCTGTAC ATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGG ACGGCTGTTTCATGCCGGTTCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACT GCGCGTGAAATTGAGCCGAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGG CAGAACCAGCTCTACAACGAACCAATCTTGGTCCGAGAGAGGAGTACG ACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCC GCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGAT AAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAA GAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAA GGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG</p>
BCMA_EBB-C1981-C3		
BCMA_EBB-C1981-C3- aa ScFv 结构域	148	<p>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK VGYDSSGYRDIYGMVWGQGTITVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQ SPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGTSSR ATGISDRFSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGNSPPKFTFGPG TKLEIK</p>
BCMA_EBB-C1981-C3- nt ScFv 结构域	169	<p>CAAGTGCAGCTCGTGGAGTCAGGCGGAGGACTGGTGCAGCCCAGGGGCT CCCTGAGACTTTCCTGCGCGGCATCGGGTTTTACCTTCTCCTCCTATGC TATGTCCTGGGTGCGCCAGGCCCGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCC GCAATCAGCGGTAGCGGGGCTCAACATACTACGCCGACTCCGTCAAGG GTCGCTTCACTATTTCCCGGACAACCTCCAAGAATACCCTGTACCTCCA AATGAACAGCCTCAGGGCCGAGGATACTGCCGTGTACTACTGCGCCAAA GTCGGATACGATAGCTCCGGTTACTACCGGACTACTACGGAATGGACG TGTGGGGACAGGGCACCACCGTGACCGTGTCAAGCGGCGGAGGCGGTTC AGGAGGGGGAGGCTCCGGCGGTGGAGGGTCCGAAATCGTCCTGACTCAG</p>

		TCGCCTGGCACTCTGTCTGTTGTCCCCGGGGGAGCGCGCTACCCTGTCTGT GTCGGGCGTTCGCAGTCCGTGTTCGAGCTCCTACCTCGCGTGGTACCAGCA GAAGCCCGGACAGGCCCTAGACTTCTGATCTACGGCACTTCTTTCACGC GCCACCGGGATCAGCGACAGGTTTTCAGCGGCTCCGGCTCCGGGACCGACT TCACCCTGACCATTAGCCGGCTGGAGCCTGAAGATTTTCGCCGTGTATTA CTGCCAACACTACGGAAACTCGCCGCCAAAGTTCACGTTCCGGACCCGGA ACCAAGCTGGAAATCAAG
BCMA_EBB- C1981-C3- aa VH	190	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK VGYDSSGYRDIYGMVWVGQTTVTVSS
BCMA_EBB- C1981-C3- aa VL	211	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLI YGTSSRATGISDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGNSPPK FTFGPGTKLEIK
BCMA_EBB- C1981-C3- aa 完全 CART	232	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVGVDSSGYRDIYGMVWVGQTTVTVSS GGGGSGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYL AWYQQKPGQAPRLLIYGTSSRATGISDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPED FAVYYCQHYGNSPPKFTFGPGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSL RPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKR GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSAD APAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGL YNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQ ALPPR
BCMA_EBB- C1981-C3- nt 完全 CART	253	ATGGCCCTCCCTGTACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCAAGTGCAGCTCGTGGAGTCAGGCGGAGGACTGGT GCAGCCCGGGGCTCCCTGAGACTTTCCTGCGCGGCATCGGGTTTTACC TTCTCCTCCTATGCTATGTCCTGGGTGCGCCAGGCCCCGGAAAGGGAC TGGAATGGGTGTCCGCAATCAGCGGTAGCGGGGCTCAACATACTACGC CGACTCCGTCAAGGGTCGCTTCACTATTTCCCGGGACAACCTCAAGAAT ACCCTGTACCTCCAAATGAACAGCCTCAGGGCCGAGGATACTGCCGTGT ACTACTGCGCCAAAGTCGGATACGATAGCTCCGGTTACTACCGGGACTA CTACGGAATGGACGTGTGGGGACAGGGCACCACCGTGACCGTGTCAAGC GGCGGAGGCGGTTTCAGGAGGGGGAGGCTCCGGCGGTGGAGGGTCCGAAA TCGTCCTGACTCAGTCGCCTGGCACTCTGTCTGTTGTCCCCGGGGGAGCG

[0725]

[0726]

		<p>CGCTACCCTGTCGTGTCGGGCGTCGCAGTCCGTGTCGAGCTCCTACCTC GCGTGGTACCAGCAGAAGCCCGGACAGGCCCTAGACTTCTGATCTACG GCACTTCTTCACGCGCCACCGGGATCAGCGACAGGTTTCAGCGGCTCCGG CTCCGGGACCGACTTCACCCTGACCATTAGCCGGCTGGAGCCTGAAGAT TTCGCCGTGTATTACTGCCAACACTACGGAAACTCGCCGCCAAAGTTCA CGTTCGGACCCGGAACCAAGCTGGAAATCAAGACCACTACCCAGCACC GAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTG CGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATAACCCGGG GTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTAC TTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGC GGTTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCCTTCATGAGGCCTG TGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGGTCCCAGAGGA GGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGAT GCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATC TTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGA CCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTG TACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGGATTG GTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCA GGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAG GCCCTGCCGCCTCGG</p>
BCMA_EBB-C1978-G4		
BCMA_EBB-C1978-G4- aa ScFv 结构域	149	<p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK MGWSSGYLGAFDIWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGT LSLSPGERATLSCRASQSVASSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGASGRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGGSPRLTFGGGTKVDI K</p>
BCMA_EBB-C1978-G4- nt ScFv 结构域	170	<p>GAAGTCCAACCTGGTGGAGTCCGGGGGAGGGCTCGTGCAGCCCGGAGGCA GCCTTCGGCTGTCGTGCGCCGCTCCGGGTTACGTTCTCATCTACGC GATGTCGTGGGTGAGACAGGCACCAGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCC GCCATTAGCGGCTCCGGCGGTAGCACCTACTATGCCGACTCAGTGAAGG GAAGGTTCACTATCTCCCGCGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTCCA AATGAACTCTCTGCGGGCCGAGGATAACCGCGGTGTAATTTGCGCCAAG ATGGGTTGGTCCAGCGGATACTTGGGAGCCTTCGACATTTGGGGACAGG GCACTACTGTGACCGTGTCTCCGGGGGTGGCGGATCGGGAGGCGGCGG</p>

[0727]

		CTCGGGTGGAGGGGGTTCCGAAATCGTGTTGACCCAGTCACCGGGAACC CTCTCGCTGTCCCCGGGAGAACGGGCTACACTGTCATGTAGAGCGTCCC AGTCCGTGGCTTCTCGTTTCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCGGGACA GGCACCCCGCCTGCTCATCTACGGAGCCAGCGGCCGGGCGACCGGCATC CCTGACCGCTTCTCCGGTTCCGGCTCGGGCACCGACTTTACTCTGACCA TTAGCAGGCTTGAGCCCGAGGATTTTGCCGTGTACTACTGCCAACACTA CGGGGGGAGCCCTCGCCTGACCTTCCGAGGCGGAACCTAAGGTCGATATC AAAA
BCMA_EBB- C1978-G4- aa VH	191	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK MGWSSGYLGAFDIWGQTTVTVSS
BCMA_EBB- C1978-G4- aa VL	212	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVASSFLAWYQQKPGQAPRLLI YGASGRATGIPDRFSGSGSDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGGS PRL TFGGGTKVDIK
BCMA_EBB- C1978-G4- aa 完全 CART	233	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKSN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKMGWSSGYLGAFDIWGQTTVTVSSGGGG SGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVASSFLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASGRATGIPDRFSGSGSDFTLTISRLEPEDFAVY YCQHYGGS PRLTFGGGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLL LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYK QGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQ KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR
BCMA_EBB- C1978-G4- nt 完全 CART	254	ATGGCCCTCCCTGTACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCC ACGCCGCTCGGCCCGAAGTCCAACCTGGTGGAGTCCGGGGGAGGGCTCGT GCAGCCCGGAGGCAGCCTTCGGCTGTCGTGCGCCGCTCCGGGTTACAG TTCTCATCCTACGCGATGTCGTGGGTCAGACAGGCACCAGGAAAGGGAC TGGAATGGGTGTCCGCCATTAGCGGCTCCGGCGGTAGCACCTACTATGC CGACTCAGTGAAGGGAAGGTTCACTATCTCCCGCGACAACAGCAAGAAC ACCCTGTACCTCCAAATGAACTCTCTGCGGGCCGAGGATAACCGCGGTGT ACTATTGCGCCAAGATGGGTTGGTCCAGCGGATACTGGGAGCCTTCGA CATTGGGGACAGGGCACTACTGTGACCGTGTCTCCGGGGGTGGCGGA TCGGGAGGCGGCGGCTCGGGTGGAGGGGGTTCCGAAATCGTGTTGACCC AGTCACCGGGAACCCTCTCGCTGTCCCCGGGAGAACGGGCTACACTGTC

[0728]

		ATGTAGAGCGTCCCAGTCCGTGGCTTCCTCGTTCCCTGGCCTGGTACCAG CAGAAGCCGGGACAGGCACCCCGCCTGCTCATCTACGGAGCCAGCGGCC GGGCGACCCGGCATCCCTGACCGCTTCTCCGGTTCCGGCTCGGGCACC CTTTACTCTGACCATTAGCAGGCTTGAGCCCGAGGATTTTGCCGTGTAC TACTGCCAACACTACGGGGGGAGCCCTCGCCTGACCTTCGGAGGCGGAA CTAAGGTCGATATCAAAACCACTACCCCAGCACCCGAGGCCACCCACCCC GGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGT AGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCT GCGATATCTACATTTGGGCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCTCTGCT GCTTTCCTACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTTCGGAAGAAGCTG CTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAG AGGAGGACGGCTGTTTCATGCCGGTTCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTG CGAACTGCGCGTGAAATTGAGCCGAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAG CAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTTCGGAGAGAGG AGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGG GAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAA AAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAAC GCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGC CACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCTCGG
--	--	--

[0729] 表3. 根据Kabat编号方案 (Kabat等人(1991), “Sequences of Proteins of Immunological Interest [具有免疫学意义的蛋白质的序列],” 第5版Public Health Service [公共卫生署], National Institutes of Health [国立卫生研究院], 贝塞斯达, 马里兰州) 的重链可变结构域CDR

[0730]

候选物	HCDR1	SEQ ID NO	HCDR2	SEQ ID NO	HCDR3	SEQ ID NO
139109	NHGMS	1051	GIVYSGSTYYAA SVKG	1091	HGGESDV	1131
139103	NYAMS	1052	GISRSGENTYYA DSVKG	1092	SPAHYYGGMDV	1132
139105	DYAMH	1053	GISWNSGSIGYA DSVKG	1093	HSFLAY	1133
139111	NHGMS	1054	GIVYSGSTYYAA SVKG	1094	HGGESDV	1134
139100	NFGIN	1055	WINPKNNNTNYA	1095	GPYYYQSYMDV	1135

[0731]

			QKFQG			
139101	SDAMT	1056	VISGSGGTTYAA DSVKG	1096	LDSSGYYYARG PRY	1136
139102	NYGIT	1057	WISAYNGNTNYA QKFQG	1097	GPYYYYMDV	1137
139104	NHGMS	1058	GIVYSGSTYYAA SVKG	1098	HGGESDV	1138
139106	NHGMS	1059	GIVYSGSTYYAA SVKG	1099	HGGESDV	1139
139107	NHGMS	1060	GIVYSGSTYYAA SVKG	1100	HGGESDV	1140
139108	DYYMS	1061	YISSSGSTIYYAD SVKG	1101	ESGDGMDV	1141
139110	DYYMS	1062	YISSSGNTIYYAD SVKG	1102	STMVREDY	1142
139112	NHGMS	1063	GIVYSGSTYYAA SVKG	1103	HGGESDV	1143
139113	NHGMS	1064	GIVYSGSTYYAA SVKG	1104	HGGESDV	1144
139114	NHGMS	1065	GIVYSGSTYYAA SVKG	1105	HGGESDV	1145
149362	SSYYYW G	1066	SIYYSGSAYYNPS LKS	1106	HWQEWPAFDI	1146
149363	TSGMCVS	1067	RIDWDEDKFYST SLKT	1107	SGAGGTSATAF DI	1147
149364	SYSMN	1068	SISSSSYIYYADS VKG	1108	TIAAVYAFDI	1148
149365	DYYMS	1069	YISSSGSTIYYAD SVKG	1109	DLRGAFDI	1149
149366	SHYIH	1070	MINPSGGVTAYS QTLQG	1110	EGSGSGWYFDF	1150
149367	SGGYYW S	1071	YIYYSGSTYYNPS LKS	1111	AGIAARLRGAFD I	1151
149368	SYAIS	1072	GIPIFGTANYAQ KFQG	1112	RGYQLLRWDV GLLRSAFDI	1152

[0732]

149369	SNSAAW N	1073	RTYYRSKWYSFY AISLKS	1113	SSPEGLFLYWFD P	1153
BCMA_EB B-C1978-A4	SYAMS	1074	AISGSGGSTYYA DSVKG	1114	VEGSGSLDY	1154
BCMA_EB B-C1978-G1	RYPMS	1075	GISDSGVSTYYA DSAKG	1115	RAGSEASDI	1155
BCMA_EB B-C1979-C1	SYAMS	1076	AISGSGGSTYYA DSVKG	1116	ATYKRELRYYY GMDV	1156
BCMA_EB B-C1978-C7	SYAMS	1077	AISGSGGSTYYA DSVKG	1117	ATYKRELRYYY GMDV	1157
BCMA_EB B-C1978-D1 0	DYAMH	1078	GISWNSGSIGYA DSVKG	1118	VGKAVPDV	1158
BCMA_EB B-C1979-C1 2	DYAMH	1079	SINWKGNLAYG DSVKG	1119	HQGVAYYNYA MDV	1159
BCMA_EB B-C1980-G4	SYAMS	1080	AISGSGGSTYYA DSVKG	1120	VVRDGMDV	1160
BCMA_EB B-C1980-D2	SYAMS	1081	AISGSGGSTYYA DSVKG	1121	IPQTGTFDY	1161
BCMA_EB B-C1978-A1 0	SYAMS	1082	AISGSGGSTYYA DSVKG	1122	ANYKRELRYYY GMDV	1162
BCMA_EB B-C1978-D4	SYAMS	1083	AISGSGGSTYYA DSVKG	1123	ALVGATGAFDI	1163
BCMA_EB B-C1980-A2	SYAMS	1084	AISGSGGSTYYA DSVKG	1124	WFGEGFDP	1164
BCMA_EB B-C1981-C3	SYAMS	1085	AISGSGGSTYYA DSVKG	1125	VGYDSSGYIRD YYGMDV	1165
BCMA_EB B-C1978-G4	SYAMS	1086	AISGSGGSTYYA DSVKG	1126	MGWSSGYLGAF DI	1166
A7D12.2	NFGMN	1087	WINTYTGESYFA DDFKG	1127	GEIYYGYDGGF AY	1167
C11D5.3	DYSIN	1088	WINTETREPAYA YDFRG	1128	DYSYAMDY	1168

[0733]

C12A3.2	HYSMN	1089	RINTESGVPIYAD DFKG	1129	DYLYSLDF	1169
C13F12.1	HYSMN	1090	RINTETGEPLYAD DFKG	1130	DYLYSCDY	1170

[0734] 表4.根据Kabat编号方案(Kabat等人(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest[具有免疫学意义的蛋白质的序列],”第5版Public Health Service[公共卫生署],National Institutes of Health[国立卫生研究院],贝塞斯达,马里兰州)的轻链可变结构域CDR

[0735]

候选物	LCDR1	SEQ ID NO	LCDR2	SEQ ID NO	LCDR3	SEQ ID NO
139109	RASQSISSYLN	1171	AASSLQS	1211	QQSYSTPYT	1251
139103	RASQSISSFLA	1172	GASRRAT	1212	QQYHSSPSWT	1252
139105	RSSQSLLSNGYNYL D	1173	LGSNRAS	1213	MQALQTPYT	1253
139111	KSSQSLLRNDGKTPL Y	1174	EVSNRFS	1214	MQNIQFPS	1254
139100	RSSQSLLSNGYNYL N	1175	LGSKRAS	1215	MQALQTPYT	1255
139101	RASQSISSYLN	1176	GASTLAS	1216	QQSYKRAS	1256
139102	RSSQSLLYSNGYNYV D	1177	LGSNRAS	1217	MQGRQFPYS	1257
139104	RASQSVSSNLA	1178	GASTRAS	1218	QQYGSSLT	1258
139106	RASQSVSSKLA	1179	GASIRAT	1219	QQYGSSSWT	1259
139107	RASQSVGSTNLA	1180	DASNRAT	1220	QQYGSSPPWT	1260
139108	RASQSISSYLN	1181	AASSLQS	1221	QQSYTLA	1261
139110	KSESLVHNSGKTYL N	1182	EVSNRDS	1222	MQGTHWPGT	1262
139112	QASEDINKFLN	1183	DASTLQT	1223	QQYESLPLT	1263
139113	RASQSVGSNLA	1184	GASTRAT	1224	QQYNDWLPVT	1264
139114	RASQSIGSSSLA	1185	GASSRAS	1225	QQYAGSPPFT	1265
149362	KASQDIDDAMN	1186	SATSPVP	1226	LQHDNFPLT	1266
149363	RASQDIYNNLA	1187	AANKSQS	1227	QHYYRFPYS	1267
149364	RSSQSLLSNGYNYL	1188	LGSNRAS	1228	MQALQTPYT	1268

[0736]

	D					
149365	GGNNIGTKSVH	1189	DDSVRPS	1229	QVWDSSEHV V	1269
149366	SGDGLSKKYVS	1190	RDKERPS	1230	QAWDDTTVV	1270
149367	RASQGIRNWLA	1191	AASNLS	1231	QKYNSAPFT	1271
149368	GGNNIGSKSVH	1192	GKNNRPS	1232	SSRDSSGDHLR V	1272
149369	QGDSLGNYYAT	1193	GTNNRPS	1233	NSRDSSGHHLL	1273
BCMA_EBB- C1978-A4	RASQSVSSAYLA	1194	GASTRAT	1234	QHYGSSFNGSS LFT	1274
BCMA_EBB- C1978-G1	RASQSVSNLA	1195	DASSRAT	1235	QQFGTSSGLT	1275
BCMA_EBB- C1979-C1	RASQSVSSSFLA	1196	GASSRAT	1236	QQYHSSPSWT	1276
BCMA_EBB- C1978-C7	RASQSVSTTFLA	1197	GSSNRAT	1237	QQYHSSPSWT	1277
BCMA_EBB- C1978-D10	RASQSISSYLN	1198	AASSLQS	1238	QQSYSTPYS	1278
BCMA_EBB- C1979-C12	RATQSIGSSFLA	1199	GASQRAT	1239	QHYESSPSWT	1279
BCMA_EBB- C1980-G4	RASQSVSSSYLA	1200	GASSRAT	1240	QQYGGPPRFT	1280
BCMA_EBB- C1980-D2	RASQSVSSSYLA	1201	GASSRAT	1241	QHYGSSPSWT	1281
BCMA_EBB- C1978-A10	RASQRVASNYLA	1202	GASSRAT	1242	QHYDSSPSWT	1282
BCMA_EBB- C1978-D4	RASQSLSSNFLA	1203	GASNWAT	1243	QYYGTSPMYT	1283
BCMA_EBB- C1980-A2	RSSQSLLSNGYNYL D	1204	LGSNRAS	1244	MQALQTPLT	1284
BCMA_EBB- C1981-C3	RASQSVSSSYLA	1205	GTSSRAT	1245	QHYGNSPPKFT	1285
BCMA_EBB- C1978-G4	RASQSVASSFLA	1206	GASGRAT	1246	QHYGGSPRLT	1286
A7D12.2	RASQDVNTAVS	1207	SASYRYT	1247	QQHYSTPWT	1287

[0737]	C11D5.3	RASESVSVIGAHLIH	1208	LASNLET	1248	LQSRIFPRT	1288
	C12A3.2	RASESVTILGSHLIY	1209	LASNVQT	1249	LQSR TIPRT	1289
	C13F12.1	RASESVTILGSHLIY	1210	LASNVQT	1250	LQSR TIPRT	1290

[0738] 表5.另外的示例性BCMA CAR序列

[0739]	名称	SEQ ID NO:
	A7D12.2 VH	255
	A7D12.2 VL	259
	A7D12.2 scFv结构域	263
	A7D12.2完整CART	267
	C11D5.3 VH	256
	C11D5.3 VL	260
	C11D5.3 scFv结构域	264
	C11D5.3完整CART	268
	C12A3.2 VH	257
	C12A3.2 VL	261
	C12A3.2 scFv结构域	265
	C12A3.2完整CART	269
	C13F12.1 VH	258
	C13F12.1 VL	262
	C13F12.1 scFv结构域	266
	C13F12.1 完整CART	270

[0740] RNA转染

[0741] 本文披露了用于产生体外转录的RNA CAR的方法。本发明还包括一种编码CAR的RNA构建体,该RNA构建体可以直接转染到细胞中。产生用于转染的mRNA的方法可以涉及用特别设计的引物对模板进行体外转录 (IVT)、然后添加聚A以产生含有3'和5'非翻译序列 (“UTR”)、5'帽和/或内部核糖体进入位点 (IRES)、待表达的核酸、和聚A尾的构建体,典型地长度为50-2000个碱基 (SEQ ID NO:2025)。这样产生的RNA可以有效转染不同类型的细胞。在一个方面,模板包括CAR的序列。

[0742] 在一个方面,抗BCMA CAR由信使RNA (mRNA) 编码。在一个方面,将编码抗BCMA CAR的mRNA引入免疫效应细胞 (例如T细胞或NK细胞) 以产生表达CAR的细胞 (例如,CART细胞或表达CAR的NK细胞)。

[0743] 在一个实施例中,体外转录的RNA CAR可以作为瞬时转染的形式引入到细胞。使用聚合酶链式反应 (PCR) 产生的模板通过体外转录产生RNA。可以将来自任何来源的感兴趣的DNA直接通过PCR转化为模板,以使用适当的引物和RNA聚合酶体外合成mRNA。DNA的来源可以是例如基因组DNA、质粒DNA、噬菌体DNA、cDNA、合成DNA序列或任何其他合适的DNA来源。用于体外转录的所希望模板是本发明的CAR。例如,RNA CAR的模板可以包含含有抗肿瘤抗体的单链可变结构域的细胞外区;铰链区、跨膜结构域 (例如,CD8a的跨膜结构域);以及胞质区,该胞质区包括细胞内信号传导结构域,例如包含CD3- ζ 的信号传导结构域和4-1BB的

信号传导结构域。

[0744] 在一个实施例中,待用于PCR的DNA含有可读框。DNA可以来自生物体基因组的天然存在的DNA序列。在一个实施例中,核酸可以包括5'和/或3'非翻译区(UTR)中的一些或全部。核酸可以包括外显子和内含子。在一个实施例中,用于PCR的DNA是人核酸序列。在另一个实施例中,用于PCR的DNA是包括5'和3'UTR的人核酸序列。替代性地,DNA可以是通常不在天然存在的生物体中表达的人工DNA序列。示例性人工DNA序列是含有基因部分的序列,这些基因部分连接在一起以形成编码融合蛋白的可读框。连接在一起的DNA部分可以来自单个生物体或来自多于一个的生物体。

[0745] 使用PCR以产生用于体外转录mRNA的模板,该mRNA用于转染。用于进行PCR的方法在本领域中是熟知的。用于PCR的引物被设计成具有与有待用作PCR模板的DNA区域基本上互补的区域。如本文所用,“基本上互补”是指其中引物序列中的大多数或所有碱基是互补的,或者一个或多个碱基是非互补的或错配的核苷酸序列。基本上互补的序列能够在用于PCR的退火条件下与预期的DNA靶标退火或杂交。可以将引物设计为与DNA模板的任何部分基本上互补。例如,可以将引物设计为扩增通常在细胞中转录的核酸的一部分(可读框),包括5'和3'UTR。还可以设计引物以扩增编码特定感兴趣的结构域的核酸的一部分。在一个实施例中,设计引物以扩增人cDNA的编码区,包括5'和3'UTR的全部或部分。可用于PCR的引物可以通过本领域熟知的合成方法产生。“正向引物”是含有核苷酸区域的引物,这些核苷酸与DNA模板上的位于待扩增DNA序列上游的核苷酸基本上互补。“上游”在本文中用于指相对于编码链而言待扩增的DNA序列的5'位置。“反向引物”是含有核苷酸区域的引物,该核苷酸区域与待扩增的DNA序列下游的双链DNA模板基本上互补。“下游”在本文中用于指相对于编码链而言待扩增的DNA序列的3'位置。

[0746] 可用于PCR的任何DNA聚合酶均可用于本文披露的方法中。试剂和聚合酶可从许多来源商购获得。

[0747] 也可以使用能够促进稳定性和/或翻译效率的化学结构。RNA优选地具有5'和3'UTR。在一个实施例中,5'UTR的长度在1个与3000个核苷酸之间。待添加到编码区的5'和3'UTR序列的长度可以通过不同方法改变,这些方法包括但不限于设计与UTR的不同区退火的PCR引物。使用该途径,本领域普通技术人员可以改变所需的5'和3'UTR长度,以在经转录RNA的转染后实现最佳翻译效率。

[0748] 5'和3'UTR可以是感兴趣的核酸的天然存在的内源性5'和3'UTR。替代性地,可以通过将对感兴趣的核酸不是内源的UTR序列并入到正向和反向引物中或通过模板的任何其他修饰来添加这些UTR序列。使用对感兴趣的核酸是内源的UTR序列可用于改良RNA的稳定性和/或翻译效率。例如,已知3'UTR序列中的富含AU的元件可以降低mRNA的稳定性。因此,可以选择或设计3'UTR,以基于本领域熟知的UTR的特性来增加经转录的RNA的稳定性。

[0749] 在一个实施例中,5'UTR可以含有内源性核酸的科扎克(Kozak)序列。替代性地,当如上所述通过PCR添加对感兴趣的核酸不是内源的5'UTR时,可以通过添加5'UTR序列重新设计共有科扎克序列。科扎克序列可以提高一些RNA转录物的翻译效率,但似乎不是所有RNA实现高效翻译所需要的。对许多mRNA的科扎克序列的要求在本领域中是已知的。在其他实施例中,5'UTR可以是RNA病毒的5'UTR,该RNA病毒的RNA基因组在细胞中是稳定的。在其他实施例中,可以在3'或5'UTR中使用各种核苷酸类似物来阻止mRNA的外切核酸酶降解。

[0750] 为了在无需基因克隆的情况下实现从DNA模板合成RNA,转录启动子应附接到待转录序列上游的DNA模板上。当将发挥RNA聚合酶启动子功能的序列添加至正向引物的5'端时,该RNA聚合酶启动子将并入到PCR产物中位于待转录的可读框上游。在一个优选的实施例中,启动子是T7聚合酶启动子,如本文其他地方所述。其他可用的启动子包括但不限于T3和SP6 RNA聚合酶启动子。T7、T3和SP6启动子的共有核苷酸序列是本领域已知的。

[0751] 在优选的实施例中,mRNA具有5'端帽和3'聚(A)尾,它们决定核糖体结合、翻译起始和mRNA在细胞中的稳定性。在环状DNA模板例如质粒DNA上,RNA聚合酶产生生长的多联产物,该多联产物不适于在真核细胞中表达。转录在3'UTR端线性化的质粒DNA产生正常大小的mRNA,该mRNA即使在转录后进行了多腺苷酸化,在真核转染中也是无效的。

[0752] 在线性DNA模板上,噬菌体T7 RNA聚合酶可以使转录物的3'端延伸超出模板的最后一个碱基(Schenborn和Mierendorf,Nuc Acids Res.[核酸研究],13:6223-36(1985); Nacheva和berzal-Herranz,Eur.J.Biochem.[欧洲生物化学杂志],270:1485-65(2003)。

[0753] 将聚A/T伸展段整合到DNA模板中的常规方法是分子克隆。然而,整合到质粒DNA中的聚A/T序列可导致质粒不稳定,这就是为什么从细菌细胞获得的质粒DNA模板经常被缺失和其他畸变高度污染的原因。这使得克隆程序不仅费力且耗时,而且通常是不可靠的。这就是为什么非常期望允许在不进行克隆的情况下构建具有聚A/T 3'伸展段的DNA模板的方法。

[0754] 转录DNA模板的聚A/T区段可以在PCR期间通过使用含有聚T尾(如100T尾)(SEQ ID NO:2026)(大小可以是50-5000T(SEQ ID NO:2027))的反向引物来产生,或在PCR后通过任何其他方法(包括但不限于DNA连接或体外重组)来产生。聚(A)尾也为RNA提供稳定性并降低其降解。通常,聚(A)尾的长度与转录的RNA的稳定性呈正相关。在一个实施例中,聚(A)尾在100个与5000个腺苷之间(SEQ ID NO:2028)。

[0755] 在使用聚(A)聚合酶(如大肠杆菌聚A聚合酶(E-PAP))进行体外转录后,可以进一步延伸RNA的聚(A)尾。在一个实施例中,将聚(A)尾的长度从100个核苷酸增加到300与400个核苷酸之间(SEQ ID NO:2024),导致RNA的翻译效率增加约两倍。另外,不同化学基团与3'端的附接可以增加mRNA稳定性。这种附接可以含有经修饰的/人工的核苷酸、适配体和其他化合物。例如,可以使用聚(A)聚合酶将ATP类似物并入到聚(A)尾中。ATP类似物可以进一步增加RNA的稳定性。

[0756] 5'帽也为RNA分子提供稳定性。在优选的实施例中,通过本文披露的方法产生的RNA包括5'帽。5'帽可以使用本领域已知和本文所述的技术提供(Cougot等人,Trends in Biochem.Sci.[生化科学趋势],29:436-444(2001);Stepinski等人,RNA,7:1468-95(2001);Elango等人,Biochim.Biophys.Res.Commun.[生物化学和生物物理研究通讯],330:958-966(2005))。

[0757] 通过本文披露的方法产生的RNA还可以含有内部核糖体进入位点(IRES)序列。IRES序列可以是任何病毒、染色体或人工设计的序列,该序列启动与帽无关的核糖体与mRNA的结合并促进翻译的起始。可以包括适用于细胞电穿孔的任何溶质,这些溶质可以含有促进细胞通透性和存活力的因子,如糖、肽、脂质、蛋白质、抗氧化剂和表面活性剂。

[0758] 可以使用许多不同方法中的任一种将RNA引入到靶细胞中,这些不同方法例如可商购的方法,包括但不限于:电穿孔(Amaxa Nucleofector-II(德国科隆的艾玛科萨生物系

统公司 (Amaxa Biosystems, Cologne, Germany), (ECM 830 (BTX) (马萨诸塞州波士顿的哈佛仪器公司 (Harvard Instruments, Boston, Mass.)) 或 Gene Pulser II (科罗拉多州丹佛的伯乐公司 (BioRad, Denver, Colo.)), Multiporator (德国汉堡的艾本德公司 (Eppendorf, Hamburg Germany)); 阳离子脂质体介导的转染 (使用脂质转染); 聚合物包封; 肽介导的转染; 或生物射弹颗粒递送系统如“基因枪” (参见, 例如 Nishikawa 等人 Hum Gene Ther. [人类基因疗法], 12 (8) : 861-70 (2001))。

[0759] 非病毒递送方法

[0760] 在一些方面, 可以使用非病毒方法将编码本文所述的 CAR 的核酸递送至细胞或组织或受试者中。

[0761] 在一些实施例中, 非病毒方法包括使用转座子 (也称为转座元件)。在一些实施例中, 转座子是可以将自身插入基因组中一位置的一条 DNA, 例如, 能够自我复制并将其拷贝插入基因组的一条 DNA, 或者是可以从较长的核酸中剪接出并插入基因组中的另一个位置的一条 DNA。例如, 转座子包含由侧接基因的用于转座的反向重复序列构成的 DNA 序列。

[0762] 使用转座子的核酸递送的示例性方法包括睡美人转座子系统 (SBTS) 和 piggyBac (PB) 转座子系统。参见例如, Aronovich 等人 Hum. Mol. Genet. [人类分子遗传学] 20. R1 (2011) : R14-20; Singh 等人. Cancer Res. [癌症研究] 15 (2008) : 2961-2971; Huang 等人. Mol. Ther. [分子疗法] 16 (2008) : 580-589; Grabundzija 等人. Mol. Ther. [分子疗法] 18 (2010) : 1200-1209; Kebriaei 等人. Blood. [血液] 122. 21 (2013) : 166; Williams. Molecular Therapy [分子疗法] 16. 9 (2008) : 1515-16; Bell 等人. Nat. Protoc. [自然实验手册] 2. 12 (2007) : 3153-65; 以及 Ding 等人. Cell. [细胞] 122. 3 (2005) : 473-83, 所有这些文献均通过引用并入本文。

[0763] SBTS 包括两个组分: 1) 含有转基因的转座子和 2) 转座酶的来源。转座酶可以将转座子从运载体质粒 (或其他供体 DNA) 转移到靶 DNA, 如宿主细胞染色体/基因组。例如, 转座酶与运载体质粒/供体 DNA 结合, 从质粒中切出转座子 (包括一个或多个转基因), 并将它插入到宿主细胞的基因组中。参见例如 Aronovich 等人, 见上文。

[0764] 示例性转座子包括基于 pT2 的转座子。参见, 例如, Grabundzija 等人, Nucleic Acids Res. [核酸研究] 41. 3 (2013) : 1829-47; 和 Singh 等人, Cancer Res. [癌症研究] 68. 8 (2008) : 2961-2971, 所有文献均通过引用并入本文。示例性的转座酶包括 Tc1/海员型转座酶 (mariner-type transposase), 例如 SB10 转座酶或 SB11 转座酶 (可以例如从巨细胞病毒启动子表达的过度活跃的转座酶)。参见例如, Aronovich 等人; Kebriaei 等人; 和 Grabundzija 等人, 所有这些文献均通过引用并入本文。

[0765] SBTS 的使用允许转基因 (例如, 编码本文所述 CAR 的核酸) 的高效整合和表达。本文提供了产生细胞 (例如, T 细胞或 NK 细胞) 的方法, 该细胞例如使用转座子系统 (如, SBTS) 稳定地表达本文所述的 CAR。

[0766] 根据本文所述的方法, 在一些实施例中, 将含有 SBTS 组分的一种或多种核酸 (例如质粒) 递送至细胞 (例如, T 或 NK 细胞)。例如, 通过核酸 (例如, 质粒 DNA) 递送的标准方法递送一种或多种核酸, 这些标准方法例如本文所述的方法, 例如电穿孔、转染或脂质转染。在一些实施例中, 核酸含有包含转基因 (例如, 编码本文所述 CAR 的核酸) 的转座子。在一些实施例中, 核酸含有包含转基因 (例如, 编码本文所述 CAR 的核酸) 以及编码转座酶的核酸序列的

转座子。在其他实施例中,提供了具有两种核酸的系统,例如双质粒系统,例如,其中第一质粒含有包含转基因的转座子,而第二质粒含有编码转座酶的核酸序列。例如,将第一核酸和第二核酸共同递送至宿主细胞中。

[0767] 在一些实施例中,通过使用基因插入(使用SBTS)和基因编辑(使用核酸酶(例如,锌指核酸酶(ZFN)、转录激活子样效应子核酸酶(TALEN)、CRISPR/Cas系统、或工程化大范围核酸酶重新工程化的归巢内切核酸酶))的组合产生表达本文所述的CAR的细胞,例如T细胞或NK细胞。

[0768] 在一些实施例中,使用非病毒递送方法允许细胞例如T细胞或NK细胞的重编程,并且将这些细胞直接输注到受试者体内。非病毒载体的优点包括但不限于容易且相对低成本地产生满足患者群体所需的足够量、储存期间的稳定性和缺乏免疫原性。

[0769] 编码CAR的核酸构建体

[0770] 本发明还提供了编码一种或多种本文所述CAR构建体的核酸分子。在一个方面,核酸分子以信使RNA转录物提供。在一个方面,核酸分子以DNA构建体提供。

[0771] 因此,在一个方面,本发明涉及编码嵌合抗原受体(CAR)的分离的核酸分子,其中CAR包含抗原结合结构域、跨膜结构域和包含刺激结构域(例如,共刺激信号传导结构域和/或初级信号传导结构域,例如 ζ 链)的细胞内信号传导结构域。

[0772] 编码所需分子的核酸序列可以使用本领域中已知的重组方法获得,诸如像通过从表达所述基因的细胞中筛选文库,通过从已知包括所述基因的载体中获得基因,或通过使用标准技术直接从含有所述基因的细胞和组织分离。替代性地,目的基因可以合成产生,而不是克隆。

[0773] 本发明还提供了其中插入本发明的DNA的载体。衍生自逆转录病毒如慢病毒的载体是实现长期基因转移的合适工具,因为它们允许转基因的长期稳定整合及其在子细胞中的繁殖。慢病毒载体相对于衍生自肿瘤逆转录病毒如鼠白血病病毒的载体具有附加优点,因为它们可以转导非增殖性细胞,例如肝细胞。它们还具有低免疫原性的附加优点。逆转录病毒载体还可以是例如 γ 逆转录病毒载体。 γ 逆转录病毒载体可以包括例如启动子、包装信号(Ψ)、引物结合位点(PBS)、一个或多个(例如两个)长末端重复(LTR)、和目的转基因(例如编码CAR的基因)。 γ 逆转录病毒载体可能缺少病毒结构基因(例如gag、pol、和env)。示例性 γ 逆转录病毒载体包括鼠白血病病毒(MLV)、形成脾脏病灶病毒(SFFV)、和骨髓增生性肉瘤病毒(MPSV),以及由其衍生的载体。其他 γ 逆转录病毒载体描述于例如Tobias Maetzig等人,“Gammaretroviral Vectors: Biology, Technology and Application[γ 逆转录病毒载体:生物学/技术和应用]”*Viruses*. [病毒]2011年6月;3(6):677-713)。

[0774] 在另一个实施例中,包含编码本发明所希望CAR的核酸的载体是腺病毒载体(A5/35)。在另一个实施例中,可以使用转座子(如sleeping beauty)、CRISPR、CAS9、和锌指核酸酶来完成编码CAR的核酸的表达。见下文June等人2009*Nature Reviews Immunology*[自然免疫学综述]9.10:704-716,该文献通过引用并入本文。

[0775] 简而言之,编码CAR的天然或合成核酸的表达典型地是通过将编码CAR多肽或其部分的核酸与启动子可操作地连接、并将构建体并入到表达载体中来实现。载体可以适用于复制和整合真核生物。典型的克隆载体含有转录和翻译终止子、起始序列和可用于调节所希望核酸序列表达的启动子。

[0776] 使用标准基因递送方案,本发明的表达构建体也可用于核酸免疫和基因疗法。用于基因递送的方法在本领域中是已知的。参见例如美国专利No.5,399,346、5,580,859、5,589,466,这些专利通过引用以其整体并入本文。在另一个实施例中,本发明提供了一种基因疗法载体。

[0777] 可以将核酸克隆至许多类型的载体中。例如,可以将核酸克隆到载体中,所述载体包括但不限于质粒、噬菌粒、噬菌体衍生物、动物病毒和粘粒。特别感兴趣的载体包括表达载体、复制载体、探针生成载体和测序载体。

[0778] 此外,可以将表达载体以病毒载体的形式提供至细胞。病毒载体技术在本领域中是熟知的,并且例如描述于Sambrook等人,2012,MOLECULAR CLONING:A LABORATORY MANUAL[分子克隆:实验室手册],第1-4卷,Cold Spring Harbor Press,NY[纽约冷泉港出版社]中,以及其他病毒学和分子生物学手册中。可用作载体的病毒包括但不限于逆转录病毒、腺病毒、腺相关病毒、疱疹病毒和慢病毒。通常,合适的载体含有在至少一种生物体中具有复制功能的起点、启动子序列、便利的限制性内切核酸酶位点和一种或多种选择性标记(例如,WO 01/96584;WO 01/29058;和美国专利号6,326,193)。

[0779] 已经开发了许多基于病毒的系统用于将基因转移到哺乳动物细胞中。例如,逆转录病毒为基因递送系统提供了便利的平台。可以使用本领域已知的技术将选择的基因插入到载体中并且封装在逆转录病毒颗粒中。然后可以分离重组病毒并在体内或离体递送至受试者的细胞中。许多逆转录病毒系统在本领域中是已知的。在一些实施例中,使用了腺病毒载体。许多腺病毒载体在本领域中是已知的。在一个实施例中,使用慢病毒载体。

[0780] 另外的启动子元件(例如增强子)调节转录起始的频率。典型地,这些位于起始位点上游30-110bp的区中,但是已经显示许多启动子也含有起始位点下游的功能元件。启动子元件之间的间隔常常是灵活的,使得当元件彼此相对发生颠倒或移动时启动子功能可以得以保留。在胸苷激酶(tk)启动子中,启动子元件之间的间隔可以在活性开始下降之前增加到相隔50bp。取决于启动子,显现单独的元件可以协同或独立地起作用以激活转录。

[0781] 能够在哺乳动物T细胞中表达CAR转基因的启动子的实例是EF1a启动子。天然EF1a启动子驱动延伸因子-1复合物的 α 亚基的表达,该复合物负责将氨酰tRNA酶促递送至核糖体。EF1a启动子已经广泛用于哺乳动物表达质粒中,并且已经显示出有效地驱动克隆到慢病毒载体中的转基因的CAR表达。参见例如,Milone等人,Mol. Ther. [分子疗法]17(8):1453-1464(2009)。

[0782] 启动子的另一个实例是即时早期巨细胞病毒(CMV)启动子序列。该启动子序列是强组成型启动子序列,能够驱动与其可操作地连接的任何多核苷酸序列的高水平表达。然而,还可以使用其他组成型启动子序列,包括但不限于猿猴病毒40(SV40)早期启动子、小鼠乳腺肿瘤病毒(MMTV)、人免疫缺陷病毒(HIV)长末端重复序列(LTR)启动子、MoMuLV启动子、禽白血病病毒启动子、EB(Epstein-Barr)病毒即刻早期启动子、Rous肉瘤病毒启动子、以及人基因启动子,如但不限于肌动蛋白启动子、肌球蛋白启动子、延伸因子-1 α 启动子、血红蛋白启动子、和肌酸激酶启动子。此外,本发明不应限于使用组成型启动子。诱导型启动子也被考虑作为本发明的一部分。诱导型启动子的使用提供了分子开关,所述分子开关能够当需要所述启动子可操作地连接的多核苷酸序列的表达时启动这种表达,或者当不需要表达时关闭表达。诱导型启动子的实例包括但不限于金属硫蛋白启动子、糖皮质激素启动子、孕

酮启动子和四环素启动子。

[0783] 启动子的另一个实例是磷酸甘油酸激酶 (PGK) 启动子。在实施例中,截短的PGK启动子(例如当与野生型PGK启动子序列相比时,具有一个或多个(例如1、2、5、10、100、200、300、或400个)核苷酸缺失的PGK启动子)可能是希望的。以下提供了示例性PGK启动子的核苷酸序列。

[0784] WT PGK启动子

[0785] ACCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACG
TCTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTG
GCGGGGAAGGGCCGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCCGGTAGCG
CCAGCCGCGCGACGGTAACGAGGGACCGCGACAGGCAGACGCTCCCATGATCACTCTGCACGCCGAA
GGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGCGCTTGGCGTTCCTTGAAGGGCTGAATCCCCGCCTCGTCCTTC
GCAGCGGCCCGGGTGTTCATCGCCGCTTCTAGGCCACTGCGACGCTTGCCTGCACTTCTTA
CACGCTCTGGGTCCCAGCCGCGGCGACGCAAAGGGCCTTGGTGCGGGTCTCGTCGGCGCAGGGACGC
GTTTGGGTCCCAGGAACCTTTTCCGCGTTGGGGTGGGGCACCATAAGCT

[0786] (SEQ ID NO:1291)

[0787] 示例性截短的PGK启动子:

[0788] PGK100:

[0789] ACCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACG
TCTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTG

[0790] (SEQ ID NO:1292)

[0791] PGK200:

[0792] ACCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACG
TCTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTG
GCGGGGAAGGGCCGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCCGGTAGCG
CCAGCCGCGCGACGGTAACGAGGGACCGCGACAGGCAGACGCTCCCATGATCACTCTGCACGCCGAA
GGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGCGCTTGGCGTTCCTTGAAGGGCTGAATCCCCG

[0793] (SEQ ID NO:1293)

[0794] PGK300:

[0795] ACCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACG
TCTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTG
GCGGGGAAGGGCCGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCCGGTAGCG
CCAGCCGCGCGACGGTAACGAGGGACCGCGACAGGCAGACGCTCCCATGATCACTCTGCACGCCGAA
GGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGCGCTTGGCGTTCCTTGAAGGGCTGAATCCCCG

[0796] (SEQ ID NO:1294)

[0797] PGK400:

[0798] ACCCTCTCTCCAGCCACTAAGCCAGTTGCTCCCTCGGCTGACGGCTGCACGCGAGGCCTCCGAACG
TCTTACGCCTTGTGGCGCGCCCGTCTTGTCCCGGGTGTGATGGCGGGGTGTGGGGCGGAGGGCGTG
GCGGGGAAGGGCCGGCGACGAGAGCCGCGCGGGACGACTCGTCGGCGATAACCGGTGTCCGGTAGCG
CCAGCCGCGCGACGGTAACGAGGGACCGCGACAGGCAGACGCTCCCATGATCACTCTGCACGCCGAA
GGCAAATAGTGCAGGCCGTGCGGCGCTTGGCGTTCCTTGAAGGGCTGAATCCCCGCTCGTCCTTC
GCAGCGGCCCGGGTGTTCATCGCCGCTTCTAGGCCACTGCGACGCTTGCCTGCACTTCTTA
CACGCTCTGGGTCCCAGCCG

[0799] (SEQ ID NO:1295)

[0800] 载体还可以包括例如促进分泌的信号序列、聚腺苷酸化信号和转录终止子(例如来自牛生长激素(BGH)基因)、允许在原核生物中游离型复制和复制的元件(例如SV40起源和Co1E1或本领域已知的其他元件)和/或允许选择的元件(例如氨苄青霉素抗性基因和/或zeocin标记物)。

[0801] 为了评估CAR多肽或其部分的表达,待引入到细胞中的表达载体还可含有选择性

标记基因或报告基因或两者,以便于从旨在通过病毒载体经转染或感染的细胞群中鉴定和选择表达细胞。在其他方面,选择性标记物可以在单独的DNA片段上携带并用于共转染程序。选择性标记物和报告基因二者都可以侧接适当的调控序列以实现在宿主细胞中的表达。有用的选择性标记物包括例如抗生素抗性基因,如neo等。

[0802] 报告基因用于鉴定可能经转染的细胞和用于评价调控序列的功能。通常,报告基因是如下基因,该基因不存在于受体生物体或组织中或由其表达并且编码多肽,该多肽的表达通过一些可易于检测的特性(例如,酶活性)表现出来。在将DNA引入到受体细胞中后的适当时间测定报告基因的表达。合适的报告基因可包括编码萤光素酶、 β -半乳糖苷酶、氯霉素乙酰转移酶、分泌的碱性磷酸酶的基因或绿色荧光蛋白基因(例如,Ui-Tei等人,2000FEBS快报479:79-82)。合适的表达系统是熟知的,并且可以使用已知技术制备或商业获得。通常,显示报告基因的最高表达水平的具有最小5'侧翼区的构建体被鉴定为启动子。此类启动子区可以与报告基因连接,并用于评价药剂调制启动子驱动的转录的能力。

[0803] 在一个实施例中,载体可以进一步包含编码第二CAR的核酸。在一个实施例中,第二CAR包括针对以下靶标的抗原结合结构域:在急性髓性白血病细胞上表达的靶标,例如像CD123、CD34、CLL-1、叶酸受体 β 或FLT3;或在B细胞上表达的靶标,例如CD10、CD19、CD20、CD22、CD34、CD123、FLT-3、ROR1、CD79b、CD179b或CD79a。在一个实施例中,所述载体包含编码特异性结合第一抗原并且包括具有共刺激信号传导结构域但不具有初级信号传导结构域的细胞内信号传导结构域的第一CAR的核酸序列,以及编码特异性结合第二不同抗原并且包括具有初级信号传导结构域但不具有共刺激信号传导结构域的细胞内信号传导结构域的第二CAR的核酸。在一个实施例中,载体包含编码第一BCMACAR的核酸和编码第二CAR的核酸,该第一BCMA CAR包括BCMA结合结构域、跨膜结构域和共刺激结构域,该第二CAR靶向除BCMA之外的抗原(例如在AML细胞上表达的抗原,例如CD123、CD34、CLL-1、叶酸受体 β 或FLT3;或在B细胞上表达的抗原,例如CD10、CD19、CD20、CD22、CD34、CD123、FLT-3、ROR1、CD79b、CD179b或CD79a),并且包括抗原结合结构域、跨膜结构域和初级信号传导结构域。在另一个实施例中,载体包含编码第一BCMA CAR的核酸和编码第二CAR的核酸,该第一BCMA CAR包括BCMA结合结构域、跨膜结构域和初级信号传导结构域,该第二CAR特异性结合除BCMA之外的抗原(例如,在AML细胞上表达的抗原,例如CD123、CD34、CLL-1、叶酸受体 β 或FLT3;或在B细胞上表达的抗原,例如CD10、CD19、CD20、CD22、CD34、CD123、FLT-3、ROR1、CD79b、CD179b或CD79a),并且包括抗原的抗原结合结构域、跨膜结构域和共刺激信号传导结构域。

[0804] 在一个实施例中,载体包含编码本文所述的BCMA CAR的核酸和编码抑制性CAR的核酸。在一个实施例中,抑制性CAR包含结合存在于正常细胞而非癌细胞(例如,另外表达BCMA的正常细胞)上的抗原的抗原结合结构域。在一个实施例中,抑制性CAR包含抑制性分子的抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内结构域。例如,抑制性CAR的细胞内结构域可以是PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I类、MHC II类、GAL9、腺苷和TGFR β 的细胞内结构域。

[0805] 在实施例中,载体可以包含编码CAR(例如,本文所述的BCMACAR)和第二CAR(例如,

抑制性CAR或特异性结合除BCMA之外的抗原(例如在AML细胞上表达的抗原,例如CD123、CLL-1、CD34、FLT3或叶酸受体 β ;或B细胞表达抗原,例如CD10、CD19、CD20、CD22、CD34、CD123、FLT-3、ROR1、CD79b、CD179b或CD79a)的CAR)的两种或更多种核酸序列。在此类实施例中,编码CAR的两种或更多种核酸序列由相同读框中的单个核酸分子编码并且作为单个多肽链。在这方面,两种或更多种CAR可以例如被一个或多个肽切割位点分开。(例如,细胞内蛋白酶的自动切割位点或底物)。肽切割位点的实例包括以下,其中所述GSG残基是任选的:

[0806] T2A: (GSG)E G R G S L L T C G D V E E N P G P (SEQ ID NO:1296) P2A: (GSG) A T N F S L L K Q A G D V E E N P G P (SEQ ID NO:1297)

[0807] E2A: (GSG)Q C T N Y A L L K L A G D V E S N P G P (SEQ ID NO:1298)

[0808] F2A: (GSG)V K Q T L N F D L L K L A G D V E S N P G P (SEQ ID NO:1299)

[0809] 将基因引入到细胞中并将其在细胞中表达的方法在本领域中是已知的。在表达载体的背景下,可以通过本领域的任何方法将载体容易地引入到宿主细胞,例如哺乳动物、细菌、酵母或昆虫细胞中。例如,表达载体可以通过物理、化学或生物手段转移到宿主细胞中。

[0810] 用于将多核苷酸引入到宿主细胞中的物理方法包括磷酸钙沉淀、脂质转染、粒子轰击、显微注射、电穿孔等。产生包含载体和/或外源性核酸的细胞的方法在本领域中是熟知的。参见例如,Sambrook等人,2012,MOLECULAR CLONING:A LABORATORY MANUAL[分子克隆:实验室手册],第1-4卷,Cold Spring Harbor Press[冷泉港实验出版社],纽约)。将多核苷酸引入到宿主细胞中的优选方法是磷酸钙转染。

[0811] 用于将感兴趣的多核苷酸引入到宿主细胞中的生物学方法包括使用DNA和RNA载体。病毒载体,并且尤其是逆转录病毒载体,已成为将基因插入哺乳动物例如人细胞中的最广泛使用的方法。其他病毒载体可以衍生自慢病毒、痘病毒、单纯疱疹病毒I、腺病毒和腺相关病毒等。参见,例如美国专利号5,350,674和5,585,362。

[0812] 用于将多核苷酸引入到宿主细胞中的化学手段包括胶体分散系统,如大分子复合物、纳米胶囊、微球、珠、和基于脂质的系统(包括水包油乳剂、胶束、混合胶束和脂质体)。用作体外和体内的递送运载体的示例性胶体系统是脂质体(例如人造膜囊泡)。可获得现有技术的靶向递送核酸(如用靶向纳米颗粒或其他合适的亚微米大小的递送系统递送多核苷酸)的其他方法。

[0813] 在使用非病毒递送系统的情况下,示例性递送运载体是脂质体。考虑使用脂质制剂以将核酸引入到宿主细胞(体外、离体或体内)中。在另一个方面,核酸可以与脂质缔合。与脂质结合的核酸可以被包封在脂质体的水性内部,散布在脂质体的脂质双层内,经由与脂质体和寡核苷酸二者相关的连接分子附接至脂质体,包埋在脂质体中,与脂质体复合,分散在含有脂质的溶液中,与脂质混合,与脂质组合,以悬浮液形式包含在脂质中、包含在胶束中或与胶束复合,或以其他方式与脂质缔合。脂质、脂质/DNA或脂质/表达载体缔合的组合物不限于溶液中的任何特定结构。例如,它们可以以双层结构、胶束或“塌陷”结构存在。它们也可以简单地散布在溶液中,可能形成大小或形状不均匀的聚集体。脂质是脂肪物质,这些脂肪物质可以是天然存在的或合成的脂质。例如,脂质包括天然存在于细胞质中的脂肪滴以及含有长链脂族烃及其衍生物(如脂肪酸、醇、胺、氨基醇和醛)的化合物类。

[0814] 适用的脂质可以从商业来源获得。例如,二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱(“DMPC”)可以从

密苏里州圣路易斯的西格玛公司获得；磷酸二鲸蜡酯(“DCP”)可从K&K实验室(纽约州普莱恩维尔)获得；胆固醇(“Choi”)可从Calbiochem-Behring公司获得；二肉豆蔻酰磷脂酰甘油(“DMPG”)和其他脂质可从阿万蒂极性脂质有限公司(亚拉巴马州伯明翰)获得。脂质在氯仿或氯仿/甲醇中的储备溶液可以在约-20℃下储存。氯仿用作唯一的溶剂，因为它比甲醇更容易蒸发。“脂质体”是通用术语，涵盖通过产生封闭的脂质双层或聚集体形成的各种单层和多层脂质运载体。脂质体可以表征为具有囊泡结构，这些囊泡结构具有磷脂双层膜和内部水性介质。多层脂质体具有由水性介质分开的多个脂质层。它们是在磷脂悬浮在过量的水性溶液中时自发形成。脂质组分在形成封闭结构之前经历自重排，并在脂质双层之间捕获水和溶解的溶质(Ghosh等人,1991Glycobiology[糖生物学]5:505-10)。然而，还涵盖在溶液中具有与正常囊泡结构不同的结构的组合物。例如，脂质可以呈现胶束结构或仅作为脂质分子的不均匀聚集体存在。还考虑了lipofectamine-核酸复合物。

[0815] 无论用于将外源性核酸引入对宿主细胞中的方法还是以其他方式将细胞暴露于本发明的抑制剂，为了证实重组DNA序列在宿主细胞中的存在，可以进行多种测定。此类测定包括例如本领域技术人员熟知的“分子生物学”测定，如DNA印迹法和RNA印迹法、RT-PCR和PCR；“生物化学”测定，如检测特定肽的存在或不存在，例如通过免疫学手段(ELISA和蛋白质印迹)或通过本文所述的测定以鉴定落入本发明范围内的药剂。

[0816] 本发明进一步提供了包含编码CAR的核酸分子的载体。在一个方面，可以将CAR载体直接转导到细胞，例如T细胞或NK细胞中。在一个方面，载体是克隆或表达载体，例如，包括但不限于以下的载体：一种或多种质粒(例如表达质粒、克隆载体、微环、微型载体、双微染色体)、逆转录病毒和慢病毒载体构建体。在一个方面，载体能够在哺乳动物T细胞或NK细胞中表达CAR构建体。在一个方面，哺乳动物T细胞是人T细胞。在一个方面，哺乳动物NK细胞是人NK细胞。

[0817] 细胞的来源

[0818] 在扩增和遗传修饰之前，细胞(例如，免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞))的来源从受试者获得。术语“受试者”旨在包括可以在其中引发免疫反应的活生物体(例如，哺乳动物)。受试者的实例包括人、狗、猫、小鼠、大鼠、及其转基因物种。T细胞可以从许多来源获得，包括外周血单核细胞、骨髓、淋巴结组织、脐带血、胸腺组织、来自感染部位的组织、腹水、胸膜积液、脾组织、和肿瘤。

[0819] 在本发明的某些方面，可以使用本领域可获得的任意数量的免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)系。在本发明的某些方面，可以从来自受试者收集的血液单位(使用本领域技术人员已知的任意数量的技术(如Ficoll™分离))获得T细胞。在一个优选的方面，通过单采术获得来自个体的循环血液的细胞。单采产物典型地含有淋巴细胞，包括T细胞、单核细胞、粒细胞、B细胞、其他有核白细胞、红细胞、和血小板。在一个方面，可以洗涤由单采术收集的细胞以除去血浆部分并将细胞置于适当的缓冲液或培养基中用于后续处理步骤。在本发明的一个方面，用磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤细胞。在可替代的方面，洗涤溶液缺乏钙并且可缺乏镁，或者可缺乏许多(如果不是全部)二价阳离子。

[0820] 在不存在钙的情况下的初始激活步骤可以导致放大的激活。如本领域普通技术人员将容易理解的，洗涤步骤可以通过本领域技术人员已知的方法完成，如通过根据制造商说明书使用半自动“流通”离心机(例如，Cobe 2991细胞处理器、Baxter CytoMate、或

Haemonetics Cell Saver5)。在洗涤后,可以将细胞重悬于多种生物相容性缓冲液中,例如像无Ca、无Mg的PBS、勃脉力-A (PlasmaLyte A)、或者含有或不含缓冲液的其他盐溶液。替代性地,可以除去单采样品中不希望的组分,并将细胞直接重悬于培养基中。

[0821] 应当认识到,本申请的方法可利用包含5%或更少(例如2%)的人AB血清的培养基条件,并使用已知的培养基条件和组合物,例如描述于以下的那些:Smith等人,“Ex vivo expansion of human T cells for adoptive immunotherapy using the novel Xeno-free CTS Immune Cell Serum Replacement[使用新型无Xeno CTS免疫细胞血清替代物进行过继免疫疗法的人T细胞的离体扩增]”*Clinical&Translational Immunology*[临床和移植免疫学](2015)4,e31;doi:10.1038/cti.2014.31。

[0822] 在一个方面,通过裂解红细胞和耗减单核细胞(例如,通过PERCOLL™梯度离心或通过对流离心淘洗)从外周血淋巴细胞分离T细胞。可以通过阳性或阴性选择技术进一步分离特定的T细胞亚群,如CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD45RA⁺、和/或CD45RO⁺T细胞。例如,在一个方面,通过与抗CD3/抗CD28(例如3x28)缀合珠(如DYNABEADS®M-450 CD3/CD28 T)孵育足以阳性选择所希望的T细胞的时间段来分离T细胞。在一个方面,该时间段是约30分钟。在另一个方面,该时间段的范围为30分钟至36小时或更长以及其间的所有整数值。在另一个方面,该时间段为至少1、2、3、4、5、或6小时。在又一个优选的方面,该时间段是10至24小时。在一个方面,孵育时间段是24小时。与其他细胞类型相比,在存在较少T细胞的任何情况下,如从肿瘤组织或免疫受损个体分离肿瘤浸润淋巴细胞(TIL),可以使用更长的孵育时间来分离T细胞。此外,使用更长的孵育时间可以提高CD8⁺T细胞捕获的效率。因此,通过简单地缩短或延长使T细胞与CD3/CD28珠结合的时间和/或通过增加或减少珠与T细胞的比率(如本文进一步描述的),可以在培养起始时或在该过程期间的其他时间点优先地选择或针对T细胞亚群。另外,通过增加或减少抗CD3和/或抗CD28抗体在珠或其他表面上的比率,可以在培养起始时或在其他所希望的时间点优先地选择或针对T细胞亚群。本领域技术人员将认识到,在本发明的上下文中还可以使用多轮选择。在某些方面,可能希望执行选择程序并在激活和扩增过程中使用“未选择的”细胞。“未选择的”细胞也可以经受进一步轮次的选择。

[0823] 可以用针对阴性选择的细胞特有的表面标记的抗体组合来完成通过阴性选择富集T细胞群。一种方法是通过负磁性免疫吸附或流式细胞术进行细胞分选和/或选择,该负磁性免疫吸附或流式细胞术使用针对存在于阴性选择的细胞上的细胞表面标记物的单克隆抗体的混合物。例如,为了通过阴性选择富集CD4⁺细胞,单克隆抗体混合物典型地包括针对CD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR、和CD8的抗体。在某些方面,可能希望富集或阳性选择典型地表达CD4⁺、CD25⁺、CD62Lhi、GITR⁺、和FoxP3⁺的调节性T细胞。在某些方面,可能需要富集CD127低的细胞。替代性地,在某些方面,T调节性细胞被抗CD25缀合的珠或其他类似的选择方法耗减。

[0824] 本文所述的方法可以包括,例如使用例如(例如本文所述的)阴性选择技术选择免疫效应细胞(例如T细胞)的特定亚群,所述亚群是T调节性细胞耗减的群体,CD25⁺耗减的细胞。优选地,T调节性耗减的细胞群含有少于30%、25%、20%、15%、10%、5%、4%、3%、2%、1%的CD25⁺细胞。

[0825] 在一个实施例中,使用抗CD25抗体或其片段、或CD25结合配体IL-2从该群体除去T

调节性细胞(例如CD25⁺ T细胞)。在一个实施例中,将抗CD25抗体或其片段、或CD25结合配体与底物(例如珠)缀合、或以其他方式包被在底物(例如珠)上。在一个实施例中,将抗CD25抗体或其片段与如本文所述的底物缀合。

[0826] 在一个实施例中,使用来自Miltenyi™的CD25耗减药剂从该群体除去T调节性细胞(例如CD25⁺ T细胞)。在一个实施例中,细胞与CD25耗减药剂的比率是1e7个细胞至20uL、或1e7个细胞至15uL、或1e7个细胞至10uL、或1e7个细胞至5uL、或1e7个细胞至2.5uL、或1e7个细胞至1.25uL。在一个实施例中,例如对于T调节性细胞(例如CD25⁺)耗减,使用大于5亿个细胞/ml。在另外的方面,使用6、7、8、或9亿个细胞/ml的细胞浓度。

[0827] 在一个实施例中,有待耗减的免疫效应细胞群包括约 6×10^9 个CD25⁺ T细胞。在其他方面,有待耗减的免疫效应细胞群包括约 1×10^9 至 1×10^{10} 个CD25⁺ T细胞,以及其间的任何整数值。在一个实施例中,所得T调节性耗减的细胞群具有 2×10^9 个T调节性细胞(例如CD25⁺细胞)或更少(例如 1×10^9 、 5×10^8 、 1×10^8 、 5×10^7 、 1×10^7 、或更少个CD25⁺细胞)。

[0828] 在一个实施例中,使用具有耗减管组(例如像管162-01)的CliniMAC系统从该群体除去T调节性细胞(例如CD25⁺细胞)。在一个实施例中,将CliniMAC系统在耗减设置(例如像DEPLETION2.1)上运行。

[0829] 不希望受特定理论的束缚,在单采术之前或在制造表达CAR的细胞产物过程中降低受试者中免疫细胞的阴性调节剂水平(例如,减少不需要的免疫细胞(例如T_{REG}细胞)的数量)可以降低受试者复发的风险。例如,耗减T_{REG}细胞的方法是本领域已知的。减少T_{REG}细胞的方法包括但不限于环磷酰胺、抗GITR抗体(本文所述的抗GITR抗体)、CD25耗减、及其组合。

[0830] 在一些实施例中,制造方法包括在制造表达CAR的细胞之前降低例如,耗减) T_{REG}细胞的数量。例如,制造方法包括使样品(例如单采样品)与抗GITR抗体和/或抗CD25抗体(或其片段、或CD25结合配体)接触,例如以在制造表达CAR的细胞(例如T细胞、NK细胞)产物之前耗减T_{REG}细胞。

[0831] 在一个实施例中,在收集用于表达CAR的细胞产物制造的细胞之前,用一种或多种减少T_{REG}细胞的疗法预先治疗受试者,从而降低受试者对表达CAR的细胞治疗复发的风险。在一个实施例中,减少T_{REG}细胞的方法包括但不限于向受试者施用环磷酰胺、抗GITR抗体、CD25耗减、或其组合中的一种或多种。施用环磷酰胺、抗GITR抗体、CD25耗减、或其组合中的一种或多种可以在输注表达CAR的细胞产物之前、期间或之后发生。

[0832] 在一个实施例中,在收集用于表达CAR的细胞产物制造的细胞之前,用环磷酰胺预先治疗受试者,从而降低受试者对表达CAR的细胞治疗复发的风险。在一个实施例中,在收集用于表达CAR的细胞产物制造的细胞之前,用抗GITR抗体预先治疗受试者,从而降低受试者对表达CAR的细胞治疗复发的风险。

[0833] 在一个实施例中,有待除去的细胞群既不是调节性T细胞、或肿瘤细胞,也不是以其他方式对CART细胞的扩增和/或功能产生负面影响的细胞(例如表达CD14、CD11b、CD33、CD15、或由潜在免疫抑制细胞表达的其他标记物的细胞)。在一个实施例中,设想将此类细胞与调节性T细胞和/或肿瘤细胞并行除去、或者在所述耗减之后、或以另一种顺序除去。

[0834] 本文所述的方法可以包括多于一个的选择步骤,例如多于一个的耗减步骤。可以例如用针对阴性选择的细胞特有的表面标记物的抗体组合来完成通过阴性选择富集T细胞

群。一种方法是通过负磁性免疫吸附或流式细胞术进行细胞分选和/或选择,该负磁性免疫吸附或流式细胞术使用针对存在于阴性选择的细胞上的细胞表面标记物的单克隆抗体的混合物。例如,为了通过阴性选择富集CD4⁺细胞,单克隆抗体混合物可以包括针对CD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR、和CD8的抗体。

[0835] 本文所述的方法可以还包括从表达肿瘤抗原(例如不包含CD25的肿瘤抗原,例如CD19、CD30、CD38、CD123、CD20、CD14或CD11b)的群体除去细胞,从而提供T调节性耗减的(例如CD25⁺耗减的)和肿瘤抗原耗减的细胞群,所述细胞群适于表达CAR(例如本文所述的CAR)。在一个实施例中,将表达肿瘤抗原的细胞与T调节性例如CD25⁺细胞同时除去。例如,抗CD25抗体或其片段、和抗肿瘤抗原抗体或其片段可以附接至可以用于除去细胞、或抗CD25抗体或其片段、或抗肿瘤抗原抗体或其片段的同一底物(例如珠),可以附接至分开的珠(其混合物可以用于除去细胞)。在其他实施例中,T调节性细胞(例如CD25⁺细胞)的除去和表达肿瘤抗原的细胞的除去是连续的,并且可以例如以任何顺序发生。

[0836] 还提供了包括以下的方法:从表达检查点抑制剂(例如本文所述的检查点抑制剂的)群体除去细胞(例如PD1⁺细胞、LAG3⁺细胞、和TIM3⁺细胞中的一种或多种),从而提供T调节性耗减的(例如CD25⁺耗减的)细胞和检查点抑制剂耗减的细胞(例如PD1⁺、LAG3⁺和/或TIM3⁺耗减的细胞)的群体。示例性检查点抑制剂包括PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、MHC I类、MHC II类、GAL9、腺苷和TGFR β 。在实施例中,检查点抑制剂是PD1或PD-L1。在一个实施例中,将表达检查点抑制剂的细胞与T调节性例如CD25⁺细胞同时除去。例如,抗CD25抗体或其片段、和抗检查点抑制剂抗体或其片段可以附接至可以用于除去细胞或抗CD25抗体或其片段、和抗检查点抑制剂抗体或其片段的同一珠,可以附接至分开的珠(其混合物可以用于除去细胞)。在其他实施例中,T调节性细胞(例如CD25⁺细胞)的除去和表达检查点抑制剂的细胞的除去是连续的,并且可以例如以任何顺序发生。

[0837] 在一个实施例中,可以选择表达IFN- γ 、TNF α 、IL-17A、IL-2、IL-3、IL-4、GM-CSF、IL-10、IL-13、粒酶B、和穿孔素中的一种或多种、或其他适当分子(例如其他细胞因子)的T细胞群。用于筛选细胞表达的方法可以通过例如PCT公开号:WO 2013/126712中所述的方法确定。

[0838] 为了通过阳性或阴性选择分离希望的细胞群,可以改变细胞和表面(例如颗粒(如珠))的浓度。在某些方面,可能希望显著减小其中珠和细胞混合在一起的体积(例如,增加细胞的浓度),以确保细胞和珠的最大接触。例如,在一个方面,使用20亿个细胞/ml的浓度。在一个方面,使用10亿个细胞/ml的浓度。在另一个方面,使用大于1亿个细胞/ml。在另一个方面,使用1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、或5千万个细胞/ml的细胞浓度。在又一个方面,使用0.75、0.8、0.85、0.9、0.95、或1亿个细胞/ml的细胞浓度。在另外的方面,可以使用1.25或1.5亿个细胞/ml的浓度。使用高浓度可以导致细胞产量增加、细胞激活、和细胞扩增。此外,使用高细胞浓度允许更有效地捕获可能弱表达目的靶抗原的细胞(如CD28阴性T细胞)、或来自存在许多肿瘤细胞的样品(例如白血病的血、肿瘤组织等)的细胞。此类细胞群可能具有治疗价值,并且是希望获得的。例如,使用高浓度的细胞允许更有效地选择通常具有较弱CD28表达的CD8⁺T细胞。

[0839] 在相关方面,可能希望使用较低的细胞浓度。通过显著稀释T细胞和表面的混合物(例如颗粒(如珠)),使颗粒与细胞之间的相互作用最小化。这选择了表达大量有待结合颗粒的所希望抗原的细胞。例如,CD4⁺ T细胞表达较高水平的CD28,并且在稀释浓度下比CD8⁺ T细胞更有效地捕获。在一个方面,所用细胞的浓度为 $5 \times 10^6/\text{ml}$ 。在其他方面,使用的浓度可以是约 $1 \times 10^5/\text{ml}$ 至 $1 \times 10^6/\text{ml}$,以及其间的任何整数值。

[0840] 在其他方面,可以将这些细胞在旋转器上以不同的速度在2°C-10°C或室温下孵育不同的时间长度。

[0841] 用于刺激的T细胞也可以在洗涤步骤后冷冻。不希望受理论束缚,冷冻和随后的解冻步骤通过在细胞群中去除粒细胞及在一定程度上去除单核细胞提供更均匀的产物。在除去血浆和血小板的洗涤步骤之后,可以将细胞悬浮在冷冻溶液中。虽然许多冷冻溶液和参数是本领域已知的并且在这种情况下将是有益的,但一种方法涉及使用含有20% DMSO和8%人血清白蛋白的PBS,或含有10%葡聚糖40和5%葡萄糖、20%人血清白蛋白和7.5% DMSO的培养基,或含有31.25%Plasmalyte-A、31.25%葡萄糖5%、0.45%NaCl、10%葡聚糖40和5%葡萄糖、20%人血清白蛋白和7.5% DMSO的培养基,或含有例如Hespan和PlasmaLyte A的其他适合的细胞冷冻培养基,然后将细胞以每分钟1°的速率冷冻至-80°C并储存在液氮储罐的气相中。可以使用其他控制冷冻的方法以及在-20°C或液氮中立即不受控制的冷冻。

[0842] 在某些方面,将冷冻保存的细胞如本文所描述进行解冻和洗涤,并允许在使用本发明的方法激活之前在室温静置1小时。

[0843] 在本发明的上下文中还考虑了在可能需要如本文描述的扩增细胞之前的时间段从受试者收集血液样品或单采产物。因此,可以在任何必要的时间点收集待扩增细胞的来源,并且分离和冷冻所需的细胞(如免疫效应细胞,例如T细胞或NK细胞),以便稍后用于细胞疗法(例如,T细胞疗法),用于将受益于细胞疗法(例如,T细胞疗法)的任何数量的疾病或病症,如本文所述的那些。在一个方面,血液样品或单采取自基本健康的受试者。在某些方面,血液样品或单采取自基本健康的受试者,该受试者处于发展疾病的风险中,但尚未患发展疾病,并且将感兴趣的细胞分离并冷冻供以后使用。在某些方面,可以扩增、冷冻免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞),并在随后的时间里使用。在某些方面,在诊断如本文所述的特定疾病之后但在任何治疗之前不久从患者收集样品。在另外的方面,在任何数量的相关治疗方式之前,从受试者的血液样品或单采分离细胞,这些相关治疗方式包括但不限于用以下进行治疗:药剂(如那他珠单抗(natalizumab)、依法珠单抗、抗病毒剂)、化疗、放射、免疫抑制剂(如环孢菌素、硫唑嘌呤、甲氨蝶呤、霉酚酸酯、和FK506)、抗体或其他免疫清除剂(如CAMPATH、抗CD3抗体、环磷酰胺、氟达拉滨(fludarabine)、环孢菌素、FK506、雷帕霉素、霉酚酸、类固醇、FR901228)、和照射。

[0844] 在本发明的另一个方面,在治疗后直接从患者获得T细胞使得受试者具有功能性T细胞。在这点上,已观察到在某些癌症治疗(特别是使用破坏免疫系统的药物的治疗)之后,在患者通常将从治疗恢复期间治疗后不久,所获得的T细胞的质量因其离体扩增的能力可能是最佳或经改善的。同样地,在使用本文描述的方法进行离体操作之后,这些细胞可以处于优选的状态以增强移植和体内扩增。因此,在本发明的上下文中,预期在该恢复期间收集血细胞,包括T细胞、树突细胞或造血谱系的其他细胞。此外,在某些方面,动员(例如,用

GM-CSF动员)和调整方案可以用于在受试者中产生病症,其中特定细胞类型的再增殖、再循环、再生、和/或扩增是有利的,尤其是在疗法后确定的时间窗口。例证性细胞类型包括免疫系统的T细胞、B细胞、树突细胞、和其他细胞。

[0845] 在一个实施例中,表达CAR分子(例如,本文所述的CAR分子)的免疫效应细胞获自己接受低免疫增强剂量的mTOR抑制剂的受试者。在一个实施例中,在足够的时间后(或在足够剂量的低免疫增强剂量的mTOR抑制剂后)收获被工程化以表达CAR的免疫效应细胞(例如T细胞)的群体,使得受试者中或从受试者收获的PD1阴性免疫效应细胞(例如T细胞)的水平、或PD1阴性免疫效应细胞(例如T细胞)/PD1阳性免疫效应细胞(例如T细胞)的比率已经至少是短暂的增加了。

[0846] 在其他实施例中,已经被、或将被工程化以表达CAR的免疫效应细胞(例如T细胞)的群体可以通过接触一定量的mTOR抑制剂离体进行处理,该mTOR抑制剂增加PD1阴性免疫效应子细胞(例如T细胞)的数量、或增加PD1阴性免疫效应细胞(例如T细胞)/PD1阳性免疫效应细胞(例如T细胞)的比率。

[0847] 在一个实施例中,T细胞群是二酰基甘油激酶(DGK)缺陷型。DGK缺陷型细胞包括不表达DGK RNA或蛋白质,或具有降低或抑制的DGK活性的细胞。DGK缺陷型细胞可以通过遗传途径产生,例如施用RNA干扰剂(例如siRNA、shRNA、miRNA)以降低或预防DGK表达。替代性地,可以通过用本文描述的DGK抑制剂处理产生DGK缺陷型细胞。

[0848] 在一个实施例中,T细胞群是Ikaros缺陷型。Ikaros缺陷型细胞包括不表达Ikaros RNA、或蛋白质、或具有降低或抑制的Ikaros活性的细胞,Ikaros缺陷型细胞可以通过遗传途径产生,例如施用RNA干扰剂(例如siRNA、shRNA、miRNA)以减少或预防Ikaros表达。替代性地,可以通过用Ikaros抑制剂(例如,来那度胺(lenalidomide))处理产生Ikaros缺陷型细胞。

[0849] 在实施例中,T细胞群是DGK缺陷型且Ikaros缺陷型的,例如不表达DGK和Ikaros、或者具有降低、或抑制的DGK和Ikaros活性。可以通过本文描述的任何方法产生此类DGK和Ikaros缺陷型细胞。

[0850] 在一个实施例中,从受试者获得NK细胞。在另一个实施例中,NK细胞是NK细胞系,例如NK-92细胞系(Conkwest公司)。

[0851] CAR细胞(包括同种异体CAR细胞)的修饰

[0852] 在本文描述的实施例中,免疫效应细胞可以是同种异体免疫效应细胞,例如T细胞或NK细胞。例如,所述细胞可以是同种异体T细胞,例如缺少功能性T细胞受体(TCR)和/或人白细胞抗原(HLA)(例如HLA I类和/或HLA II类和/或 β -2微球蛋白(β_2m))表达的同种异体T细胞。同种异体CAR的组合物及其方法已经在例如WO 2016/014565的第227-237页中进行了描述,其全部内容通过引用并入本文。

[0853] 在一些实施例中,细胞(例如T细胞或NK细胞)经修饰以减少TCR和/或HLA和/或 β_2m 和/或本文所述的抑制性分子(例如,PD1、PD-L1、PD-L2、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、KIR、A2aR、I类MHC、II类MHC、GAL9、腺苷和TGFR β)的表达,例如使用本文所述方法,例如siRNA、shRNA、成簇规则间隔的短回文重复序列(CRISPR)转录激活子样效应核酸酶(TALEN)或锌指核酸内切酶(ZFN)。

[0854] 在一些实施例中,细胞(例如T细胞或NK细胞)经工程化以表达端粒酶亚基,例如端粒酶的催化亚基,例如TERT,例如hTERT。在一个实施例中,这种修饰改善了患者体内细胞的持久性。

[0855] T细胞的激活和扩增

[0856] T细胞通常可以使用例如美国专利6,352,694;6,534,055;6,905,680;6,692,964;5,858,358;6,887,466;6,905,681;7,144,575;7,067,318;7,172,869;7,232,566;7,175,843;5,883,223;6,905,874;6,797,514;6,867,041;和美国专利申请公开号20060121005中所述的方法来活化和扩增。

[0857] 通常,本发明的T细胞可以通过与表面接触而扩增,该表面与刺激CD3/TCR复合物相关的信号的药剂和刺激T细胞表面上的共刺激分子的配体附接。具体地,可以如本文所描述刺激T细胞群,如通过与固定在表面上的抗CD3抗体或其抗原结合片段、或抗CD2抗体接触,或通过结合有钙离子载体的蛋白激酶C激活因子(例如苔藓抑素)接触。对于T细胞表面上辅助分子的共刺激,使用结合辅助分子的配体。例如,可以在适于刺激T细胞增殖的条件下,使T细胞群与抗CD3抗体和抗CD28抗体接触。为了刺激CD4⁺ T细胞或CD8⁺ T细胞的增殖,可以使用抗CD3抗体和抗CD28抗体。抗CD28抗体的实例包括9.3、B-T3、XR-CD28(Diaclone, **Besançon**, 法国),可以如本领域公知的其他方法来使用(Berg等人, *Transplant Proc.* [移植进展]30(8):3975-3977,1998;Haanen等人, *J. Exp. Med.* [实验医学杂志]190(9):1319-1328,1999;Garland等人, *J. Immunol Meth.* [免疫学方法杂志]227(1-2):53-63,1999)。

[0858] 在某些方面,T细胞的初级刺激信号和共刺激信号可以由不同的方案提供。例如,提供每个信号的药剂可以在溶液中或偶联到表面。当偶联到表面时,药剂可以偶联到同一表面(即,为“顺式”形成)或偶联到分离表面(即,为“反式”形成)。替代性地,可以将一种药剂偶联到表面并且使另一种药剂在溶液中。在一个方面,将提供共刺激信号的药剂与细胞表面结合,并且使提供初级激活信号的药剂在溶液中或偶联到表面。在某些方面,两种药剂都可以在溶液中。在一个方面,这些试剂可以为可溶形式,并且然后交联到表面,如表达Fc受体的细胞或将与这些药剂结合的抗体或其他结合剂。在这方面,参见例如美国专利申请公开号20040101519和20060034810的人工抗原呈递细胞(aAPC),其预期用于激活和扩增本发明中的T细胞。

[0859] 在一个方面,将两种药剂固定在珠上,或者在同一珠上,即“顺式”,或者在分离的珠上,即“反式”。通过举例,提供初级激活信号的药剂是抗CD3抗体或其抗原结合片段,并且提供共刺激信号的药剂是抗CD28抗体或其抗原结合片段;并且将两种药剂以等效分子量共固定到同一珠。在一个方面,使用与珠结合的每种抗体的1:1比率用于CD4⁺ T细胞扩增和T细胞生长。在本发明的某些方面,使用如下比率的与珠结合的抗CD3:CD28抗体,使得与使用1:1的比率观察到的扩增相比,观察到T细胞扩增的增加。在一个特定方面,与使用1:1比率观察到的扩增相比,观察到从约1倍至约3倍的增加。在一个方面,与珠结合的CD3:CD28抗体的比率范围为从100:1至1:100以及其间的所有整数值。在本发明的一个方面,与抗CD3抗体相比,更多的抗CD28抗体与颗粒结合,即CD3:CD28的比率小于1。在本发明的某些方面,与珠结合的抗CD28抗体与抗CD3抗体的比率大于2:1。在一个特定方面,使用1:100 CD3:CD28比率的与珠结合的抗体。在一个方面,使用1:75CD3:CD28比率的与珠结合的抗体。在另一个方

面,使用1:50 CD3:CD28比率的与珠结合的抗体。在一个方面,使用1:30 CD3:CD28比率的与珠结合的抗体。在一个优选方面,使用1:10 CD3:CD28比率的与珠结合的抗体。在一个方面,使用1:3CD3:CD28比率的与珠结合的抗体。在又一个方面,使用3:1CD3:CD28比率的与珠结合的抗体。

[0860] 颗粒与细胞的比率为从1:500至500:1以及其间的任何整数值可以用于刺激T细胞或其他靶细胞。如本领域普通技术人员可以容易地理解的,颗粒与细胞的比率可以取决于相对于靶细胞的粒度。例如,小尺寸的珠仅可以结合少量细胞,而较大的珠可以结合许多细胞。在某些方面范围从1:100至100:1以及其间的任何整数值也可以用于刺激T细胞。如以上所指出,导致T细胞刺激的抗CD3和抗CD28偶联颗粒与T细胞的比率可以变化,然而某些优选值包括1:100、1:50、1:40、1:30、1:20、1:10、1:9、1:8、1:7、1:6、1:5、1:4、1:3、1:2、1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、和15:1,其中一个优选的比率是每个T细胞至少1:1个颗粒。在一个方面,使用1:1或更小的颗粒与细胞比率。在一个特定方面,优选的颗粒:细胞的比率为1:5。在另外的方面,颗粒与细胞的比率可以根据刺激日而变化。例如,在一个方面,颗粒与细胞的比率在第一天为从1:1至10:1,并且将另外颗粒在之后每天或每隔一天添加到细胞中持续最长10天,最终比率为从1:1至1:10(基于添加当天的细胞计数)。在一个特定方面,在刺激的第一天,颗粒与细胞的比率为1:1,并且在刺激的第三天和第五天调整为1:5。在一个方面,基于在最终比率为1:1并且在刺激的第三天和第五天为1:5,每天或每隔一天添加颗粒。在一个方面,在刺激的第一天,颗粒与细胞的比率为2:1,并且在刺激的第三天和第五天调整为1:10。在一个方面,基于在最终比率为1:1并且在刺激的第三天和第五天为1:10,每天或每隔一天添加颗粒。本领域技术人员将理解,各种其他比率可适用于本发明。具体地,比率将根据粒度和细胞大小和类型而变化。在一个方面,在第一天用于使用的最典型比率是1:1、2:1和3:1附近。

[0861] 在本发明的另外的方面,将细胞(如T细胞)与药剂包被的珠组合,随后将珠和细胞分离,并且然后培养细胞。在可替代方面,在培养之前,不将药剂包被的珠和细胞分开而是一起培养。在另一个方面,首先通过施加力(如磁力)浓缩珠和细胞,导致细胞表面标记物的连接增加,从而诱导细胞刺激。

[0862] 通过举例,可以通过使抗CD3和抗CD28所附接的顺磁珠(3x28个珠)接触T细胞来连接细胞表面蛋白。在一个方面,将细胞(例如,10⁴至10⁹个T细胞)和珠(例如,比率为1:1的DYNABEADS®M-450CD3/CD28 T顺磁珠)在缓冲液(例如PBS(不含二价阳离子(如钙和镁)))中组合。同样,本领域的普通技术人员可易于理解可以使用任何细胞浓度。例如,靶细胞在样品中可以非常稀少,仅占样品的0.01%,或者整个样品(即100%)可以包含感兴趣的靶标细胞。因此,任何细胞数量都在本发明的上下文内。在某些方面,可能希望显著减小其中颗粒和细胞混合在一起的体积(即增加细胞的浓度),以确保细胞和颗粒的最大接触。例如,在一个方面,使用约100亿个细胞/ml、90亿个细胞/ml、80亿个细胞/ml、70亿个细胞/ml、60亿个细胞/ml、50亿个细胞/ml、或20亿个细胞/ml的浓度。在一个方面,使用大于1亿个细胞/ml。在另一个方面,使用1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、或5千万个细胞/ml的细胞浓度。在又一个方面,使用0.75、0.8、0.85、0.9、0.95、或1亿个细胞/ml的细胞浓度。在另外的方面,可以使用1.25或1.5亿个细胞/ml的浓度。使用高浓度可以导致细胞产量增加、细胞激

活、和细胞扩增。此外,使用高细胞浓度允许更有效地捕获可能弱表达感兴趣的靶抗原的细胞,如CD28阴性T细胞。此类细胞群可能具有治疗价值,并且在某些方面是希望获得的。例如,使用高浓度的细胞允许更有效地选择通常具有较弱CD28表达的CD8+T细胞。

[0863] 在一个实施例中,例如通过本文描述的方法扩增用编码CAR(例如本文描述的CAR)的核酸转导的细胞。在一个实施例中,使细胞在培养物中扩增数小时(例如约2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、18、21小时)至约14天(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14天)的一段时间。在一个实施例中,使细胞扩增4至9天的一段时间。在一个实施例中,使细胞扩增8天或更少(例如7、6或5天)的一段时间。在一个实施例中,将细胞(例如,本文所述的BCMA CAR细胞)在培养物中扩增5天,所得的细胞比在相同培养条件下在培养物中扩增9天的相同细胞更有效。效力可以例如通过各种T细胞功能来定义,例如增殖、靶细胞杀伤、细胞因子产生、激活、迁移、或其组合。在一个实施例中,与在相同培养条件下在培养物中扩增9天的相同细胞相比,扩增5天的细胞(例如,本文所述的BCMA CAR细胞)显示出抗原刺激后在细胞倍增方面增加至少一倍、两倍、三倍或四倍。在一个实施例中,使细胞(例如,本文所述的表达BCMA CAR的细胞)在培养物中扩增5天,与在相同培养条件下在培养物中扩增9天的相同细胞相比,所得的细胞表现出更高的促炎细胞因子产生(例如,IFN- γ 和/或GM-CSF水平)。在一个实施例中,与在相同培养条件下在培养物中扩增9天的相同细胞相比,扩增5天的细胞(例如,本文所述的BCMA CAR的细胞)显示出促炎细胞因子产生(例如,IFN- γ 和/或GM-CSF水平)以pg/ml计增加至少一倍、二倍、三倍、四倍、五倍、十倍或更多倍。

[0864] 在本发明的一个方面,可以将混合物培养若干个小时(约3小时)至约14天或其间的任何小时整数值。在一个方面,可以将混合物培养21天。在本发明的一个方面,将珠和T细胞一起培养约八天。在一个方面,将珠和T细胞一起培养2-3天。还可能希望进行几个刺激循环,使得T细胞的培养时间可以是60天或更长。适于T细胞培养的条件包括适当的培养基(例如,Minimal Essential Media或RPMI Media 1640或X-vivo 15,(龙沙公司(Lonza))),该培养基可以含有增殖和存活力所必需的因子,包括血清(例如胎牛或人血清)、白介素-2(IL-2)、胰岛素、IFN- γ 、IL-4、IL-7、GM-CSF、IL-10、IL-12、IL-15、TGF β 和TNF- α 或本领域技术人员已知用于细胞生长的任何其他添加剂。用于细胞生长的其他添加剂包括但不限于表面活性剂、人血浆蛋白制品、和还原剂(如N-乙酰基-半胱氨酸和2-巯基乙醇)。培养基可以包括RPMI1640、AIM-V、DMEM、MEM、 α -MEM、F-12、X-Vivo 15、和X-Vivo20、优化剂,其中添加氨基酸、丙酮酸钠、和维生素,无血清或补充有适当量的血清(或血浆)或一组确定的激素、和/或足以使T细胞生长和扩增的一定量细胞因子。抗生素(例如青霉素和链霉素)仅包含在实验培养物中,而不包含在有待注入受试者的细胞培养物中。将靶细胞维持在支持生长所必需的条件,例如,适当的温度(例如,37 $^{\circ}$ C)和大气(例如空气加5%CO₂)。

[0865] 在一个实施例中,使细胞在包括一种或多种白介素的适当介质(例如本文描述的介质)中扩增,该白介素导致在14天的扩增期间细胞增加至少200倍(例如200倍、250倍、300倍、350倍),例如,如通过本文描述的方法(如流式细胞术)所测量的。在一个实施例中,细胞在IL-15和/或IL-7(例如,IL-15和IL-7)的存在下扩增。

[0866] 在实施例中,本文描述的方法(例如表达CAR的细胞制造方法)包括例如使用抗CD25抗体或其片段,或CD25结合配体IL-2从细胞群除去T调节性细胞(例如CD25+ T细胞)。本文描述了从细胞群除去T调节性细胞(例如CD25+ T细胞)的方法。在实施例中,这些方法

(例如制造方法)进一步包括使细胞群(例如其中T调节性细胞(如CD25⁺T细胞)已耗减的细胞群;或先前已接触抗CD25抗体、其片段,或CD25-结合配体的细胞群)与IL-15和/或IL-7接触。例如,使细胞群(例如先前已接触抗CD25抗体、其片段,或CD25-结合配体)在IL-15和/或IL-7存在下扩增。

[0867] 在一些实施例中,在例如离体制造表达CAR的细胞过程中,使本文描述的表达CAR的细胞与包含白介素-15(IL-15)多肽、白介素-15受体 α (IL-15Ra)多肽,或IL-15多肽和IL-15Ra多肽(例如,hetIL-15)两者的组合的组合物接触。在实施例中,在例如离体制造表达CAR的细胞过程中,使本文描述的表达CAR的细胞与包含IL-15多肽的组合物接触。在实施例中,在例如离体制造表达CAR的细胞过程中,使本文描述的表达CAR的细胞与包含IL-15多肽和IL-15Ra多肽两者的组合的组合物接触。在实施例中,在例如离体制造表达CAR的细胞过程中,使本文描述的表达CAR的细胞与包含hetIL-15的组合物接触。

[0868] 在一个实施例中,在离体扩增过程中,使本文描述的表达CAR的细胞与包含hetIL-15的组合物接触。在一个实施例中,在离体扩增过程中,使本文描述的表达CAR的细胞与包含IL-15多肽的组合物接触。在一个实施例中,在离体扩增过程中,使本文描述的表达CAR的细胞与包含IL-15多肽和IL-15Ra多肽两者的组合的组合物接触。在一个实施例中,所述接触导致淋巴细胞亚群(例如CD8⁺T细胞)的存活和增殖。

[0869] 已暴露于不同刺激时间的T细胞可以表现出不同的特征。例如,典型的血液或外周血单核细胞产物具有辅助T细胞群(TH,CD4⁺),其大于细胞毒性或抑制性T细胞群。通过刺激CD3和CD28受体离体扩增T细胞产生T细胞群,该T细胞群在约8-9天之前主要由TH细胞组成,而在约8-9天之后,该T细胞群包含越来越多的TC细胞群。因此,取决于治疗目的,向受试者输注主要包含TH细胞的T细胞群可能是有利的。类似地,如果已分离了TC细胞的抗原特异性亚群,则将该亚群扩增到更大程度可能是有益的。

[0870] 此外,在细胞扩增过程中,除CD4和CD8标记之外,其他表型标记物显著地,但在很大程度上,可重复地变化。因此,这种可重复性使得能够针对特定目的定制激活的T细胞产物。

[0871] 一旦构建BCMA CAR,即可以使用各种测定来评估分子的活性,如但不限于在抗原刺激后扩增T细胞,在不存在再刺激的情况下维持T细胞扩增的能力,以及在适当的体外和动物模型中的抗癌活性。评估BCMA CAR效果的测定在下面进一步详细描述

[0872] 原代T细胞中CAR表达的蛋白质印迹分析可用于检测单体和二聚体的存在。参见例如,Milone等人,Molecular Therapy[分子疗法]17(8):1453-1464(2009)。非常简单地,表达CAR的T细胞(CD4⁺和CD8⁺T细胞的1:1混合物)在体外扩增超过10天,然后在还原条件下进行裂解和SDS-PAGE。使用针对TCR- ζ 链的抗体通过蛋白质印迹来检测含有全长TCR- ζ 胞质结构域和内源性TCR- ζ 链的CAR。相同的T细胞亚群用于在非还原条件下的SDS-PAGE分析,以允许评估共价二聚体的形成。

[0873] 可以通过流式细胞术测量抗原刺激后CAR⁺T细胞的体外扩增。例如将CD4⁺和CD8⁺T细胞的混合物用 α CD3/ α CD28 aAPC刺激,随后用在待分析的启动子的控制下表达GFP的慢病毒载体转导。示例性启动子包括CMV IE基因、EF-1 α 、泛素C、或磷酸甘油激酶(PGK)启动子。通过流式细胞术,在培养的第6天在CD4⁺和/或CD8⁺T细胞亚群中评估GFP荧光。参见例如,Milone等人,Molecular Therapy[分子疗法]17(8):1453-1464(2009)。替代性地,在第0

天将CD4⁺和CD8⁺ T细胞的混合物用被αCD3/αCD28包被的磁珠刺激,并在第1天使用表达CAR连同eGFP(使用2A核糖体跳跃序列)的双顺反子慢病毒载体转导。在洗涤后,用表达BCMA的细胞(如多发性骨髓瘤细胞系或K562-BCMA)再刺激培养物。每隔一天以100IU/ml向培养基中添加外源IL-2。使用基于珠的计数通过流式细胞术计算GFP⁺ T细胞。参见例如,Milone等人,Molecular Therapy[分子疗法]17(8):1453-1464(2009)。

[0874] 还可以测量在没有再刺激的情况下持续的CAR⁺ T细胞扩增。参见例如,Milone等人,Molecular Therapy[分子疗法]17(8):1453-1464(2009)。简而言之,在第0天用αCD3/αCD28包被的磁珠刺激,以及在第1天用指示的CAR转导后,使用Coulter Multisizer III粒子计数器、Nexcelom Cellometer Vision或Millipore Scepter在培养的第8天测量平均T细胞体积(f1)。

[0875] 动物模型也可用于测量CART活性。例如,可以使用利用人BCMA特异性CAR⁺ T细胞来治疗免疫缺陷小鼠中的原发性人多发性骨髓瘤的异种移植模型。参见例如,Milone等人,Molecular Therapy[分子疗法]17(8):1453-1464(2009)。简而言之,在建立MM后,将小鼠随机分配至治疗组。可以将不同数量的BCMA CART细胞注射至携带MM的免疫缺陷小鼠中。以每周一次的间隔评估动物的疾病进展和肿瘤负荷。使用时序检验比较组的存活曲线。此外,还可以分析免疫缺陷小鼠中T细胞注射后4周的绝对外周血CD4⁺和CD8⁺ T细胞计数。给小鼠注射多发性骨髓瘤细胞,在3周后注射经工程化为表达BCMA CAR的T细胞,例如通过编码连接至eGFP的CAR的双顺反子慢病毒载体。通过在注射前与模拟转导的细胞混合将T细胞标准化为45%-50%输入的GFP⁺ T细胞,并通过流式细胞术确认。在1周的间隔评估动物的白血病。使用时序检验比较CAR⁺ T细胞组的存活曲线。

[0876] 先前已经描述了细胞增殖和细胞因子产生的评估,例如在Milone等人,Molecular Therapy[分子疗法]17(8):1453-1464(2009)中。简而言之,通过将洗涤的T细胞与表达BCMA的K562细胞混合来在微量滴定板中进行CAR介导的增殖的评估,或在使用前用γ辐射照射其他表达BCMA的骨髓瘤细胞。将抗CD3(克隆OKT3)和抗CD28(克隆9.3)单克隆抗体添加至具有KT32-BBL细胞的培养基以用作刺激T细胞增殖的阳性对照,因为这些信号支持长期CD8⁺ T细胞离体扩增。使用CountBright™荧光珠(英杰公司(Invitrogen),卡尔斯巴德,加利福尼亚州(Carlsbad,CA))和流式细胞术(如由制造商描述的)在培养基中计数T细胞。使用用eGFP-2A连接的表达CAR的慢病毒载体进行工程化的T细胞,通过GFP表达来鉴定CAR⁺ T细胞。对于不表达GFP的CAR⁺ T细胞,用生物素化的重组BCMA蛋白和二级抗生物素蛋白-PE缀合物来检测CAR⁺ T细胞。还用特异性单克隆抗体(BD生物科学公司(BD Biosciences))同时检测T细胞上的CD4⁺和CD8⁺表达。根据制造商说明书,使用人TH1/TH2细胞因子细胞计数珠阵列试剂盒(BD生物科学公司,圣地亚哥,加利福尼亚州)对再刺激后24小时收集的上清液进行细胞因子测量。使用FACS Calibur流式细胞仪评估荧光,并根据制造商说明书分析数据。

[0877] 可通过标准⁵¹Cr释放测定来评估细胞毒性。参见例如,Milone等人,Molecular Therapy[分子疗法]17(8):1453-1464(2009)。简而言之,在37℃下将⁵¹Cr(作为NaCrO₄,马萨诸塞州波士顿的新英格兰核公司(New England Nuclear,Boston,MA))加入靶细胞(例如,表达BCMA的K562细胞系和原代多发性骨髓瘤细胞)2小时,频繁搅拌,在完全RPMI中洗涤两次,并接种至微量滴定板中。将效应T细胞与完全RPMI的孔中的靶细胞以不同比率的效应

细胞:靶细胞(E:T)混合。还制备了仅含有培养基(自发释放,SR)或1%triton-X 100洗涤剂溶液(总释放,TR)的另外的孔。在37℃孵育4小时后,收获来自每个孔的上清液。然后使用 γ 颗粒计数器(帕卡德仪器公司(Packard Instrument Co.),沃尔瑟姆(Waltham),马萨诸塞州)测量释放的 ^{51}Cr 。每种条件进行至少一式三份,并且使用下式计算裂解百分比:%裂解 = $(\text{ER}-\text{SR}) / (\text{TR}-\text{SR})$,其中ER代表每种实验条件释放的平均 ^{51}Cr 。替代性地,也可以使用Bright-Glo™荧光素酶测定法评估细胞毒性。

[0878] 成像技术可用于评估荷肿瘤的动物模型中CAR的特定运输和增殖。例如,Barrett等人,Human Gene Therapy[人基因疗法]22:1575-1586(2011)中已经描述了此类测定。简而言之,给NOD/SCID/ $\gamma\text{c}^{-/-}$ (NSG)小鼠或其他免疫缺陷小鼠静脉内注射多发性骨髓瘤细胞,7天后用CAR构建体电穿孔,4小时后注射BCMA CART细胞。将T细胞用慢病毒构建体稳定转染以表达萤火虫荧光素酶,并将小鼠针对生物发光成像。替代性地,单次注射CAR⁺T细胞在多发性骨髓瘤异种移植模型中的治疗效果和特异性可以如下所述测量:给NSG小鼠注射经转导为稳定表达萤火虫荧光素酶的多发性骨髓瘤细胞,然后在几天后进行单次尾静脉注射BCMA CAR构建体电穿孔的T细胞。在注射后的各个时间点对动物成像。例如,可以产生第5天(处理前2天)和第8天(CAR⁺PBL后24小时)的代表性小鼠中的萤火虫荧光素酶阳性肿瘤的光子密度热图。

[0879] 替代性地,或者与本文披露的方法组合的,披露了用于以下的一种或多种的方法和组合物:披露了表达CAR的细胞的检测和/或定量(例如体外或体内(例如临床监测));免疫细胞扩增和/或激活;和/或涉及CAR配体使用的CAR特异性选择。在一个示例性实施例中,CAR配体是结合CAR分子的抗体,例如结合CAR的细胞外抗原结合结构域(例如,结合抗原结合结构域的抗体,例如抗独特型抗体;或与细胞外结合结构域的恒定区结合的抗体。在其他实施例中,CAR配体是CAR抗原分子(例如,如本文所述的CAR抗原分子)。

[0880] 在一个方面,披露了用于检测和/或定量表达CAR的细胞的方法。例如,CAR配体可用于体外或体内检测和/或定量表达CAR的细胞(例如,临床监测患者中的表达CAR的细胞,或给患者给药)。该方法包括:

[0881] 提供CAR配体(任选地,标记的CAR配体,例如包含标签、珠、放射性或荧光标记的CAR配体);

[0882] 获取表达CAR的细胞(例如,获取含有表达CAR的细胞的样品,如制造样品或临床样品);

[0883] 在发生结合的条件下使表达CAR的细胞与CAR配体接触,从而检测存在的表达CAR的细胞的水平(例如,量)。可以使用标准技术如FACS、ELISA等检测表达CAR的细胞与CAR配体的结合。

[0884] 在另一个方面,披露了扩增和/或激活细胞(例如,免疫效应细胞)的方法。该方法包括:

[0885] 提供表达CAR的细胞(例如,表达第一CAR的细胞或瞬时表达CAR的细胞);

[0886] 在发生免疫细胞扩增和/或增殖的条件下,使所述表达CAR的细胞与CAR配体(例如,如本文所述的CAR配体)接触,从而产生激活的和/或扩增的细胞群。

[0887] 在某些实施例中,CAR配体存在于(例如,固定或附接至)底物(例如非天然存在的底物)上。在一些实施例中,底物是非细胞底物。非细胞底物可以是选自例如板(例如微量滴

定板)、膜(例如硝酸纤维素膜)、基质、芯片或珠的固体支持物。在实施例中,CAR配体存在于底物中(例如,在底物表面上)。CAR配体可以与底物共价或非共价(例如,交联)固定、附接、或缔合。在一个实施例中,CAR配体与珠附接(例如,共价附接)。在前述实施例中,免疫细胞群可以在体外或离体扩增。该方法可以进一步包括在CAR分子的配体存在下培养免疫细胞的群,例如,使用本文所述的任何方法。

[0888] 在其他实施例中,扩增和/或激活细胞的方法还包括添加第二刺激分子,例如CD28。例如,CAR配体和第二刺激分子可以固定在底物(例如一个或多个珠)上,从而提供增加的细胞扩增和/或激活。

[0889] 在另一个方面,提供了用于选择或富集表达CAR的细胞的方法。该方法包括使表达CAR的细胞与如本文所述的CAR配体接触;以及根据CAR配体的结合选择细胞。

[0890] 在其他实施例中,提供了用于耗减、减少和/或杀伤表达CAR的细胞的方法。该方法包括使表达CAR的细胞与如本文所述的CAR配体接触;并且基于CAR配体的结合靶向细胞,从而减少表达CAR的细胞的数量和/或杀伤表达CAR的细胞。在一个实施例中,CAR配体与毒性剂(例如,毒素或细胞消融药物)偶联。在另一个实施例中,抗独特型抗体可以引起效应细胞活性,例如ADCC或ADC活性。

[0891] 可用于本文披露的方法的示例性抗CAR抗体描述于例如WO 2014/190273和Jena等人,“Chimeric Antigen Receptor (CAR)-Specific Monoclonal Antibody to Detect CD19-Specific T cells in Clinical Trials[嵌合抗原受体(CAR)特异性单克隆抗体检测临床试验中CD19特异性T细胞]”,PLOS[公共科学图书馆综合]2013年3月8:3e57838中,该文献的内容通过引用并入。在一个实施例中,抗独特型抗体分子识别抗CD19抗体分子,例如抗CD19 scFv。例如,抗独特型抗体分子可以竞争与CD19特异性CAR mAb克隆号136.20.1的结合(描述于Jena等人,PLOS[公共科学图书馆综合]2013年3月8:3e57838);可以与CD19特异性CAR mAb克隆号136.20.1具有相同的CDR(例如,使用Kabat定义、Chothia定义、或Kabat和Chothia定义的组合,VH CDR1,VH CDR2,CH CDR3,VL CDR1,VL CDR2和VL CDR3中的一个或多个);可以与CD19特异性CAR mAb克隆号136.20.1一样具有一个或多个(例如2个)可变区,或可以包含CD19特异性CAR mAb克隆号136.20.1。在一些实施例中,根据Jena等人描述的方法制备抗独特型抗体。在另一个实施例中,抗独特型抗体分子是WO 2014/190273中描述的抗独特型抗体分子。在一些实施例中,抗独特型抗体分子与WO 2014/190273的抗体分子(如,136.20.1)具有相同的CDR(例如,VH CDR1、VH CDR2、CH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的一个或多个,例如全部);可以具有WO 2014/190273的抗体分子的一个或多个(例如2个)可变区,或可以包含WO 2014/190273的抗体分子,如136.20.1。在其他实施例中,抗CAR抗体结合例如如WO 2014/190273中描述的CAR分子的细胞外结合结构域的恒定区。在一些实施例中,抗CAR抗体结合CAR分子的细胞外结合结构域的恒定区,例如重链恒定区(例如,CH2-CH3铰链区)或轻链恒定区。例如,在一些实施例中,抗CAR抗体竞争与WO 2014/190273中描述的2D3单克隆抗体的结合,该抗CAR抗体与如WO 2014/190273中描述的2D3具有相同的CDR(例如,VH CDR1、VH CDR2、CH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和VL CDR3的一个或多个,例如全部),或具有2D3的一个或多个(例如,2个)可变区,或包含2D3。

[0892] 在一些方面和实施例中,本文的组合物和方法针对特定T细胞亚群进行了优化,例如,如2014年7月31日提交的美国序列号62/031,699中所述,该专利的内容通过引用以其整

体并入本文。在一些实施例中,与对照T细胞(例如,表达相同构建体的不同类型的T细胞(例如,CD8⁺或CD4⁺))相比,优化的T细胞亚群显示了增强的持久性。

[0893] 在一些实施例中,CD4⁺ T细胞包含本文所述的CAR,该CAR包含适合于(例如,优化,例如,导致增强的持久性)CD4⁺ T细胞(例如ICOS域)的细胞内信号传导结构域。在一些实施例中,CD8⁺ T细胞包含本文所述的CAR,该CAR包含适合于(例如,优化,例如,导致增强的持久性)CD8⁺ T细胞(例如,4-1BB域、CD28域,或ICOS域以外的其他共刺激结构域)的细胞内信号传导结构域。在一些实施例中,本文所述的CAR包含本文所述的抗原结合结构域,例如,包含靶向BCMA的抗原结合结构域的CAR。

[0894] 在一个方面,本文描述了治疗受试者(例如患有癌症的受试者)的方法。该方法包括向所述受试者施用有效量的:

[0895] 1) 包含CAR的CD4⁺ T细胞(CAR^{CD4+})

[0896] 所述方法包括:

[0897] 抗原结合结构域,例如本文所述的抗原结合结构域,例如靶向BCMA的抗原结合结构域;

[0898] 跨膜结构域;并且

[0899] 细胞内信号传导结构域,例如第一共刺激结构域,例如ICOS域;并且

[0900] 2) 包含CAR的CD8⁺ T细胞(CAR^{CD8+}),该CAR包含:

[0901] 抗原结合结构域,例如本文所述的抗原结合结构域,例如靶向BCMA的抗原结合结构域;

[0902] 跨膜结构域;并且

[0903] 细胞内信号传导结构域,例如第二共刺激结构域,例如4-1BB域、CD28域、或除ICOS域之外的另一种共刺激结构域;

[0904] 其中CAR^{CD4+}和CAR^{CD8+}彼此不同。

[0905] 任选地,该方法进一步包括施用:

[0906] 3) 包含CAR的第二CD8⁺ T细胞(第二CAR^{CD8+}),该CAR包含:

[0907] 抗原结合结构域,例如本文所述的抗原结合结构域,例如特异性结合BCMA的抗原结合结构域;

[0908] 跨膜结构域;并且

[0909] 细胞内信号传导结构域,其中第二CAR^{CD8+}包含细胞内信号传导结构域,例如共刺激信号传导结构域,不存在于CAR^{CD8+}上,并且任选地,不包含ICOS信号传导结构域。

[0910] 其他测定法(包括本领域已知的那些测定法)也可用于评估本发明的BCMA CAR构建体。

[0911] 治疗应用

[0912] BCMA相关疾病和/或障碍

[0913] 在一个方面,本发明提供治疗与BCMA表达相关的疾病的方法。在一个方面,本发明提供治疗疾病的方法,其中部分肿瘤对BCMA呈阴性,部分肿瘤对BCMA呈阳性。例如,本发明的CAR可用于治疗已经历与BCMA表达升高相关的疾病的治疗的受试者,其中已经历BCMA水平升高的治疗的受试者表现出与BCMA水平升高相关的疾病。在实施例中,本发明的CAR可用于治疗已经历与BCMA表达相关的疾病的治疗的受试者,其中已经历与BCMA表达相关的治疗

的受试者表现出与BCMA表达相关的疾病。

[0914] 在一个实施例中,本发明提供治疗疾病的方法,其中BCMA在正常细胞和癌细胞上表达,但在正常细胞上以较低水平表达。在一个实施例中,所述方法还包括选择以这样的亲和力结合的本发明的CAR:该亲和力允许BCMA CAR结合并杀伤表达BCMA的癌细胞,但小于30%、25%、20%、15%、10%、5%或更少的表达BCMA的正常细胞被杀伤,例如如通过本文所述的测定所确定。例如,可以使用杀伤测定,如基于Cr51 CTL的流式细胞术。在一个实施例中,BCMA CAR具有抗原结合结构域,该抗原结合结构域对于靶抗原具有 10^{-4} M至 10^{-8} M,例如 10^{-5} M至 10^{-7} M,例如 10^{-6} M或 10^{-7} M的结合亲和力KD。在一个实施例中,BCMA抗原结合结构域的结合亲和力比参考抗体(例如,本文所述的抗体)低至少5倍、10倍、20倍、30倍、50倍、100倍或1,000倍。

[0915] 在一个方面,本发明涉及包含BCMA CAR的载体,该BCMA CAR可操作地连接至启动子,用于在哺乳动物免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)中表达。在一个方面,本发明提供表达BCMA CAR的重组免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞),用于治疗表达BCMA的肿瘤,其中表达BCMA CAR的重组免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)被称为表达BCMA CAR的细胞(例如,BCMA CART或表达BCMA CAR的NK细胞)。在一个方面,本发明的表达BCMA CAR的细胞(例如,BCMA CART或表达BCMA CAR的NK细胞)能够使肿瘤细胞接触其表面上表达的本发明的至少一种BCMA CAR,以使得表达BCMA CAR的细胞(例如,BCMA CART或表达BCMA CAR的NK细胞)靶向肿瘤细胞并抑制肿瘤的生长。

[0916] 在一个方面,本发明涉及抑制表达BCMA的肿瘤细胞生长的方法,该方法包括使肿瘤细胞接触本发明的表达BCMA CAR的细胞(例如,BCMA CART或表达BCMA CAR的NK细胞),以使得表达BCMA CAR的细胞(例如,BCMA CART或表达BCMA CAR的NK细胞)响应于抗原而激活并靶向癌细胞,其中肿瘤的生长受到抑制。

[0917] 在一个方面,本发明涉及治疗受试者的癌症的方法。该方法包括将本发明的表达BCMA CAR的细胞(例如,BCMA CART或表达BCMA CAR的NK细胞)施用于受试者,从而治疗受试者中的癌症。可以通过本发明的表达BCMA CAR的细胞(例如,BCMA CART或表达BCMA CAR的NK细胞)治疗的癌症的实例是与BCMA表达相关的癌症。

[0918] 本发明包括一种类型的细胞疗法,其中免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)经遗传修饰以表达嵌合抗原受体(CAR),并且将表达BCMA CAR的细胞(例如,BCMA CART或表达BCMA CAR的NK细胞)输注给有此需要的受体。输注的细胞能够杀伤受体中的肿瘤细胞。与抗体疗法不同,CAR修饰的细胞(例如,T细胞或NK细胞)能够在体内复制,产生可导致持续肿瘤控制的长期持久性。在各个方面,在将细胞(例如,T细胞或NK细胞)施用于患者之后,施用于患者或其后代的细胞(例如,T细胞或NK细胞)在患者中持续至少四个月、五个月、六个月、七个月、八个月、九个月、十个月、十一个月、十二个月、十三个月、十四个月、十五个月、十六个月、十七个月、十八个月、十九个月、二十个月、二十一个月、二十二个月、二十三个月、两年、三年、四年或五年。

[0919] 本发明还包括一种类型的细胞疗法,其中免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)经修饰(例如,通过体外转录的RNA)以瞬时表达嵌合抗原受体(CAR),并且将免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)输注给有此需要的受体。输注的细胞能够杀伤受体中的肿瘤细胞。因此,在各个方面,在将免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)施用于患者之后,施用于患者的

免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)存在少于一个月,例如三周、两周、一周。

[0920] 不希望受任何特定理论的束缚,CAR修饰的免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)引发的抗肿瘤免疫反应可以是主动或被动免疫反应,或者可以是由于直接与间接免疫反应。在一个方面,CAR转导的免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)表现出响应于表达BCMA的人癌细胞的特异性促炎细胞因子分泌和有效的细胞溶解活性,抵抗可溶性BCMA抑制,介导旁杀伤和介导已建立的人类肿瘤的消退。例如,在表达BCMA的肿瘤的异质区域内的无抗原肿瘤细胞可能易受BCMA重定向免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)的间接破坏,该BCMA重定向免疫效应细胞先前已经与邻近的抗原阳性癌细胞发生反应。

[0921] 在一个方面,本发明的完全人CAR修饰的免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)可以是用于哺乳动物离体免疫和/或体内疗法的一个类型的疫苗。在一个方面,哺乳动物是人。

[0922] 关于离体免疫,在将细胞施用于哺乳动物中之前,在体外进行以下中的至少一者:i) 扩增细胞,ii) 将编码CAR的核酸引入细胞,或iii) 冷冻保存细胞。

[0923] 离体程序是本领域熟知的,并在下文更全面地讨论。简而言之,从哺乳动物(例如,人)分离细胞,并用表达本文披露的CAR的载体进行遗传修饰(即,体外转导或转染)。可以将CAR修饰的细胞施用于哺乳动物受体以提供治疗益处。所述哺乳动物受体可以是人类,并且所述CAR修饰的细胞相对于受体可以是自体的。替代性地,相对于受体,细胞可以是同种异体的、同基因的或异种异体的。

[0924] 造血干细胞和祖细胞的离体扩增程序描述于美国专利号5,199,942(通过引用并入本文中),可以应用于本发明的细胞。其他合适的方法是本领域已知的,因此本发明不限于离体扩增细胞的任何具体方法。简而言之,T细胞的离体培养和扩增包括:(1) 从哺乳动物收集来自外周血收获物或骨髓外植体的CD34+造血干细胞和祖细胞;以及(2) 离体扩增这类细胞。除了美国专利号5,199,942中描述的细胞生长因子外,其他因子如flt3-L、IL-1、IL-3和c-kit配体也可以用于培养和扩增细胞。

[0925] 除了在离体免疫方面使用基于细胞的疫苗之外,本发明还提供了用于体内免疫以引发针对患者中的抗原的免疫反应的组合物和方法。

[0926] 通常,如本文描述激活和扩增的细胞可以用于治疗和预防免疫受损个体中出现的疾病。具体而言,本发明的CAR修饰的免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)用于治疗与BCMA表达相关的疾病、障碍和病症。在某些方面,本发明的细胞用于治疗处于患上与BCMA表达相关的疾病、障碍和病症风险的患者。因此,本发明提供了治疗或预防与BCMA表达相关的疾病、障碍和病症的方法,该方法包括将治疗有效量的本发明的CAR修饰的免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)施用于有此需要的受试者。

[0927] 在一个方面,本发明的表达CAR的细胞(例如,CART细胞或表达CAR的NK细胞)可用于治疗增殖性疾病(如癌症或恶性肿瘤)或者癌前病症(如骨髓增生异常、骨髓增生异常综合征或白血病前期。在一个方面,癌症是血癌。血液癌病状是癌症的类型,如白血病和影响血液、骨髓和淋巴系统的恶性淋巴组织增生症。在一个方面,血液癌是白血病或血癌。与BCMA相关的疾病或障碍的实例是多发性骨髓瘤(也称为MM)(参见Claudio等人,Blood.[血液]2002,100(6):2175-86;和Novak等人,Blood.[血液]2004,103(2):689-94)。多发性骨髓瘤,也称为浆细胞骨髓瘤或卡勒氏病(Kahler's disease),是以骨髓中异常或恶性血浆B细

胞积聚为特征的癌症。通常,癌细胞侵入邻近的骨骼,破坏骨骼结构并导致骨痛和骨折。大多数骨髓瘤病例的特征还在于副蛋白(也称为M蛋白或骨髓瘤蛋白)的产生,该副蛋白是恶性浆细胞的克隆增殖过量而产生的异常免疫球蛋白。根据国际骨髓瘤工作组(International Myeloma Working Group,IMWG)的诊断标准,血清副蛋白水平超过30g/L即诊断为多发性骨髓瘤(参见Kyle等人,(2009),Leukemia.[白血病]23:3-9)。多发性骨髓瘤的其他症状或体征包括肾功能减退或肾功能衰竭、骨病变、贫血、高钙血症和神经症状。

[0928] 国际骨髓瘤工作组已经确定了区分多发性骨髓瘤与其他浆细胞增殖性障碍的标准(参见Kyle等人,(2009),Leukemia.[白血病]23:3-9)。必须满足以下所有三个标准:

[0929] -克隆骨髓浆细胞 $\geq 10\%$

[0930] -存在血清和/或尿单克隆蛋白(除真正的非分泌性多发性骨髓瘤患者之外)

[0931] -可归因于潜在浆细胞增殖性障碍的终末器官损害的证据,具体为:

[0932] o高钙血症:血清钙 $\geq 11.5\text{mg}/100\text{ml}$

[0933] o肾功能不足:血清肌酐 $>1.73\text{mmol}/\text{l}$

[0934] o贫血:正常色素性正常红细胞贫血,血红蛋白值 $>2\text{g}/100\text{ml}$,低于正常下限,或血红蛋白值 $<10\text{g}/100\text{ml}$

[0935] o骨病变:溶骨性病变、严重骨质减少或病理性骨折。

[0936] 可以通过本文所述的组合物和方法治疗的其他浆细胞增殖性障碍包括但不限于无症状性骨髓瘤(冒烟型多发性骨髓瘤或惰性骨髓瘤)、意义未明的单克隆丙种球蛋白血症(MGUS)、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、浆细胞瘤(例如,浆细胞恶性增殖、孤立性骨髓瘤、孤立性浆细胞瘤、髓外浆细胞瘤和多发性浆细胞瘤)、全身性淀粉样蛋白轻链淀粉样变性、和POEMS综合征(也称为克罗-富克斯综合征、高月病和PEP综合征)。

[0937] 将两种分期系统用于进行多发性骨髓瘤的分期:国际分期系统(ISS)(参见Greipp等人,(2005),J.Clin.Oncol.[临床肿瘤学杂志]23(15):3412-3420,通过引用以其整体并入本文)和Durie-Salmon分期系统(DSS)(参见Durie等人(1975),Cancer[癌症]36(3):842-854,通过引用以其整体并入本文)。这两种分期系统汇总于下表中:

[0938] 表6.用于多发性骨髓瘤分期的分期系统

阶段	国际分期系统		迪里-萨蒙分期系统	
	标准	中位存活	标准	中位存活*
[0939] I	$\beta_2M < 3.5 \text{ mg/l}$ 并且血清白蛋白 $\geq 3.5 \text{ g/dL}$	62 个月	以下所有标准： 血红蛋白水平 $> 10 \text{ g/dL}$ 血清钙，正常或 $< 12 \text{ mg/dL}$ 骨 X 射线检查，仅正常或 1 个浆细胞瘤 单克隆蛋白产量低 (IgG $< 5 \text{ g/dL}$, IgA $< 3 \text{ g/dL}$, 本斯·琼斯氏 (Bence Jones) 蛋白 $< 4 \text{ g/dL/24 小时}$)	IA: 62 个月 IB: 22 个月
II	既非 I 期也非 III 期	44 个月	既非 I 期也非 III 期	IIA: 58 个月 IIB: 354 个月
III	$\beta_2M \geq 5.5 \text{ mg/l}$	29 个月	以下一项或多项： 血红蛋白水平 $< 8.5 \text{ g/dL}$ 血清钙，正常或 $> 12 \text{ mg/dL}$ 晚期溶骨性病变 单克隆蛋白产量高 (IgG $> 7 \text{ g/dL}$, IgA $> 5 \text{ g/dL}$, 本斯·琼斯氏 (Bence Jones) 蛋白 $> 12 \text{ g/dL/24 小时}$)	IIIA: 45 个月 IIIB: 24 个月
[0940]				

[0941] *迪里-萨蒙分期系统还包括指定肾功能状态的亚分类。在分期编号后加上“A”或“B”的名称,其中“A”指示肾功能相对正常(血清肌酸酐值 $< 2.0 \text{ mg/dL}$),B指示肾功能异常(血清肌酸酐值 $> 2.0 \text{ mg/dL}$)。

[0942] 多发性骨髓瘤的第三个分期系统称为修订版国际分期系统(R-ISS)(参见Palumbo A, Avet-Loiseau H, Oliva S等人, Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology [年美国临床肿瘤学会官方杂志] 2015; 33: 2863-9, 通过引用以其整体并入本文)。R-ISS I期包括ISS I期(血清 β_2 -微球蛋白水平 $< 3.5 \text{ mg/L}$, 血清白蛋白水平 $\geq 3.5 \text{ g/dL}$), 无高风险CA[del(17p)和/或t(4;14)和/或t(14;16)]和正常LDH水平(小于正常范围的上限)。R-ISS III期包括ISS III期(血清 β_2 -微球蛋白水平 $> 5.5 \text{ mg/L}$)和高风险CA或高LDH水平。R-ISS II期包括所有其他可能的组合。

[0943] 可以基于如下中公开的IMWG 2016标准确定患者的应答:如Kumar S, Paiva B, Anderson KC等人, International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma [国际骨髓瘤工作组多发性骨髓瘤的反应和最小残留疾病评估的共识标准]. The Lancet Oncology

[柳叶刀肿瘤学];17(8):e328-e346(2016),将其通过引用以其整体并入本文。表7提供了IMWG 2016反应评估标准。

[0944] 表7.IMWG反应评估标准(包括最小残留病(MRD)标准)

	反应标准*
IMWG MRD 标准 (要求下文定义的完全反应)	
[0945] 持续 MRD 阴性	骨髓中的 MRD 阴性 (NGF 或 NGS, 或它们二者), 通过下文定义的成像确认最小间隔 1 年。随后的评估可以用于进一步说明阴性的持续时间 (例如, MRD 阴性为 5 年) †
流式 MRD 阴性	使用 EuroFlow 标准操作程序在多发性骨髓瘤中进行 MRD 检测 (或认证的等效方法), 通过 NGF‡ 确认骨髓抽吸物上不存在表型异常的克隆

	浆细胞，在 10 ⁵ 个或更多有核细胞中的最小灵敏度为 1
测序 MRD 阴性	通过 NGS 确认骨髓抽吸物上不存在克隆浆细胞，其中克隆的存在被定义为使用 LymphoSIGHT 平台（或认证的等效方法）对骨髓抽吸物进行 DNA 测序后获得小于两个相同的测序读段，在 10 ⁵ 个或更多有核细胞中的最小灵敏度为 1
成像+MRD 阴性	由 NGF 或 NGS 定义的 MRD 阴性加上在基线或先前 PET/CT 发现的示踪剂摄取增加的每个区域的消失，或减少至较少的纵隔血池 SUV，或减少至小于周围正常组织的那些¶
标准 IMWG 反应标准	
严格完全反应	下文定义的完全反应加上正常 FLC 比率**，并且通过免疫组织化学检测到骨髓活检物中不存在克隆细胞（在对 ≥ 100 个浆细胞进行计数后，对于 κ 和 λ 患者，κ/λ 比率分别 ≤ 4:1 或 ≥ 1:2）††
完全反应	血清和尿液上的阴性免疫固定，以及骨髓抽吸物中任何软组织浆细胞瘤和 < 5% 浆细胞的消失
很好的部分反应	可通过免疫固定检测到血清和尿液 M 蛋白，但不能通过电泳检测到，或血清 M 蛋白减少 ≥ 90%，加上尿液 M 蛋白水平 < 100 mg/24 h
部分反应	血清 M 蛋白减少 ≥ 50%，加上 24 h 内尿液 M 蛋白减少 ≥ 90% 或减少至每 24 h < 200 mg； 如果血清和尿液 M 蛋白不可测量，则要求用相关的和不相关的 FLC 水平之间的差异减少 ≥ 50% 来代替 M 蛋白标准； 如果血清和尿液 M 蛋白不可测量，并且无血清光测定也无法进行测量，则要求浆细胞减少 ≥ 50% 来代替 M 蛋白，前提条件是基线骨髓浆细胞百分比 ≥ 30%。除这些标准之外，如果基线时存在，则还要求软组织浆细胞瘤的尺寸 (SPD) §§ 减小 ≥ 50%
最小反应	血清 M 蛋白减少 ≥ 25% 但 ≤ 49%，24 小时尿液 M 蛋白减少 50%-89%。除上文列出的标准之外，如果基线时存在，则还要求软组织浆细胞瘤的尺寸 (SPD) §§ 减小 ≥ 50%
疾病稳定	不推荐用作反应指示物；通过提供进展时间估算来最好地描述疾病的稳定性。不符合完全反应、很好的部分反应、部分反应、最小反应或疾病进展的标准
疾病进展¶¶,	以下任一项或多项标准： 在以下任一项或多项标准中，通过从最低值增加 25% 来确认反应值： 血清 M 蛋白（绝对增加值必须 ≥ 0.5 g/dL）； 如果最低 M 组分 ≥ 5 g/dL，则血清 M 蛋白增加 ≥ 1 g/dL； 尿液 M 蛋白（绝对增加值必须 ≥ 200 mg/24 h）；

[0946]

[0947]

	<p>在血清和尿液 M 蛋白水平不可测量的患者中，存在相关的和不相关的 FLC 水平之间的差异（绝对增加值必须 > 10 mg/dL）；</p> <p>在血清和尿液 M 蛋白水平不可测量并且相关的 FLC 水平不可测量的患者中，骨髓浆细胞百分比与基线状态无关（绝对增加值必须 ≥ 10%）；</p> <p>一个或多个新病灶的出现，> 1 个病灶的 SPD§§从最小值增加 ≥ 50%，或短轴的最长直径 > 1 cm 的前述病灶的增加 ≥ 50%；</p> <p>如果这是疾病的唯一衡量标准，则循环浆细胞增加 ≥ 50%（每 μL 最少 200 个细胞）</p>
<p>临床复发</p>	<p>临床复发要求以下一项或多项标准：</p> <p>与潜在克隆浆细胞增殖性障碍相关的疾病和/或终末器官功能障碍（CRAB 特征）增加的直接指示。它不用于计算进展时间或无进展生存率，但可列为可任选地报告或用于临床实践的标准；</p> <p>新软组织浆细胞瘤或骨病灶的发展（骨质疏松性骨折不构成进展）；</p> <p>现有浆细胞瘤或骨病灶的大小明确增加。明确增加被定义为连续测量的可测量病灶的 SPD§增加 50%（以及 ≥ 1 cm）；</p> <p>高钙血症 (> 11 mg/dL)；</p> <p>与疗法或其他非骨髓瘤相关的病症无关的血红蛋白减少 ≥ 2 g/dL；</p> <p>从疗法开始以及可归因于骨髓瘤的血清肌酐升高 2 mg/dL 或更多；</p> <p>与血清副蛋白相关的高粘度</p>
<p>从完全反应中复发(仅在终点是无疾病生存时使用)</p>	<p>以下任一项或多项标准：</p> <p>通过免疫固定或电泳检测到血清或尿液 M 蛋白的再现；</p> <p>骨髓中 ≥ 5%浆细胞的发展；</p> <p>出现任何其他进展的迹象（即，新的浆细胞瘤、溶骨性病灶或高钙血症，参见上文）</p>
<p>从 MRD 阴性复发(仅在终点是无疾病生存时使用)</p>	<p>以下任一项或多项标准：</p> <p>MRD 阴性状态丧失（NGF 或 NGS 上的克隆浆细胞的证据，或骨髓瘤复发的阳性成像研究）；</p> <p>通过免疫固定或电泳检测到血清或尿液 M 蛋白的再现；</p> <p>骨髓中 ≥ 5%克隆浆细胞的发展；</p> <p>出现任何其他进展的迹象（即，新的浆细胞瘤、溶骨性病灶或高钙血症）</p>
<p>对于 MRD 评估，应将第一骨髓抽吸物运送至 MRD（不针对形态学），并且该样品应在一次抽吸中采集，最小体积为 2 mL（以获得足够的细胞），但最大体积为 4-5 mL（以避免血液稀释）。</p> <p>IMWG = 国际骨髓瘤工作组。MRD = 最小残留病。NGF = 下一代流式。NGS = 下一代测序。</p> <p>FLC = 游离轻链。M 蛋白 = 骨髓瘤蛋白。SPD = 所测量的病灶的最大垂直直径的乘积之和。</p>	

CRAB 特征 = 钙升高、肾功能衰竭、贫血、溶骨性病损。FCM=流式细胞术。SUV_{max} = 最大标准化摄取值。MFC = 多参数流式细胞术。¹⁸F-FDG PET = ¹⁸F-氟脱氧葡萄糖 PET。ASCT = 自体干细胞移植。

*所有反应类别要求在开始任何新疗法之前随时进行两次连续评估；对于 MRD，不需要两次连续评估，但建议在每个治疗阶段后提供关于 MRD 的信息（例如，在诱导后，高剂量疗法/ASCT、巩固、维持）。MRD 测试仅在怀疑完全反应时启动。

如果进行射线照相研究，则所有类别的反应和 MRD 都不需要已知的进展或新骨病灶的证据。然而，射线照相研究不需要满足这些反应要求，但是报告 MRD 阴性状态的成像需要 FDG PET。† 报告时持续的 MRD 阴性也应注释所使用的方法（例如，持续的流式 MRD 阴性、持续的测序 MRD 阴性）。‡ 骨髓 MFC 应遵循 NGF 指南（Paiva B, Gutierrez NC, Rosinol L 等人, Blood [血液] 2012; 119: 687-91）。参考 NGF 方法是八色双管途径，已经过广泛验证。由于获得了更多的细胞，双管途径提高了可靠性、一致性和灵敏度。八色技术在全球广泛使用，而 NGF 方法已在全球很多流式实验室采用。使用冻干的抗体混合物可以最有效地进行完整的八色方法，从而减少误差、时间和成本。应评估 500 万个细胞。所采用的 FCM 方法在 10⁵ 个浆细胞中应具有至少 1 的检测灵敏度。§ 对骨髓抽吸物进行的 DNA 测序测定应使用经验证的测定，如 LymphoSIGHT (Sequentia)。¶ Zamagni 及其同事（Zamagni E, Nanni C, Mancuso K 等人, Clin Cancer Res [临床癌症研究] 2015; 21:

[0948]

4384-90) 和专家小组使用的标准品 (IMPetUs; 意大利 PET 使用的骨髓瘤标准) (Usmani SZ, Mitchell A, Waheed S 等人, Blood [血液] 2013; 121: 1819-23; Nanni C, Zamagni E, Versari A 等人, Eur J Nucl Med Mol Imaging [欧洲核医学和分子成像杂志] 2015; 43: 414-21)。通过骨内存在增加摄取的焦点区来鉴定基线阳性病灶，通过 CT 来鉴定存在或不存在任何潜在病灶并呈现在至少两个连续切片上。替代性地，在尺寸大于 1 cm 的溶骨性 CT 区域内 SUV_{max} = 2.5，或在尺寸 ≤ 1 cm 的溶骨性 CT 区域内 SUV_{max} = 1.5 被认为是阳性的。一旦通过 MFC 或 NGS 确定为 MRD 阴性，则应进行成像。|| 源自多发性骨髓瘤的国际统一反应标准 (Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS 等人, Leukemia [白血病] 2006; 20: 1467-73)。源自 Rajkumar 及其同事的微小反应定义和说明 (Rajkumar SV, Harousseau JL, Durie B 等人, Blood [血液] 2011; 117: 4691-95)。当测量疾病的唯一方法是血清 FLC 水平时：除此前列出的完全反应标准之外，完全反应可定义为 0.26 至 1.65 的正常 FLC 比率。在这些患者中很好的部分反应需要相关的和不相关的 FLC 水平之间的差异减少 ≥ 90%。所有反应类别都要求在建立任何新疗法之前随时进行两次连续评估；如果进行射线照相研究，则所有类别也不需要已知的进展或新骨病灶或髓外浆细胞瘤的证据。射线照相研究不需要满足这些反应要求。骨髓评估不需要确认。除疾病稳定之外，每个类别在进行证实性测试之前都将被视为未经证实的。初始测试的日期被视为评估时间依赖性结果（如反应持续时间）的反应日期。**关于与血清 FLC 水平或 FLC 比率相关的临床用途的所有建议均基于通过经验证的 Freelite 测试获得的结果（英国伯明翰的结合位点公司 (Binding Site, Birmingham, UK)）。†† 免疫组织化学中克隆细胞的存在/不存在是基于 κ/λ 比率。免疫组织化学得到的异常 κ/λ 比率需要最少 100 个浆细胞来进行分析。反映异常克隆存在的异常比率为 κ/λ > 4:1 或 < 1:2。‡‡ 应特别注意治疗后出现的

[0949]

不同单克隆蛋白，特别是在已经实现常规完全反应的患者的环境中，通常与免疫系统的寡克隆重建有关。这些条带典型地随着时间的推移而消失，并且在一些研究与更好的结果相关联。此外，接受单克隆抗体的患者中的单克隆 IgGκ 的出现应与治疗性抗体分离。§§浆细胞瘤测量值应从 PET/CT、或 MRI 扫描、或专用 CT 扫描（如适用）的 CT 部分采集。对于仅具有皮肤受累的患者，应使用尺子测量皮肤病灶。肿瘤大小的测量将通过 SPD 确定。¶¶先前被归类为达到完全反应的患者中的单独的阳性免疫固定将不会被视为进展。为了计算进展时间和无进展生存期，已经达到完全反应并且为 MRD 阴性的患者应使用疾病进展列出的标准进行评估。只有在计算无疾病生存期时，才应使用从完全反应复发或从 MRD 复发的标准。|||如果某个值被医生判断为虚假结果（例如，可能的实验室误差），则在确定最低值时不会考虑该值。

[0950] 多发性骨髓瘤和相关疾病的标准治疗包括化疗、干细胞移植（自体或同种异体）、放疗和其他药物疗法。经常使用的抗骨髓瘤药物包括烷基化剂（例如，苯达莫司汀、环磷酰胺和美法仑（melphalan））、蛋白酶体抑制剂（例如，硼替佐米（bortezomib））、皮质类固醇（例如，地塞米松和泼尼松）和免疫调节剂（例如，沙利度胺（thalidomide）和来那度胺或 Revlimid®）或它们的任何组合。双膦酸盐药物也经常与标准抗MM治疗组合施用以预防骨质流失。年龄超过65-70岁的患者不太可能进行干细胞移植。在某些情况下，双自体干细胞移植是年龄不超过60岁且对第一次移植反应不佳的患者的选择。本发明的组合物和方法可以与多发性骨髓瘤的任何目前处方治疗组合施用。

[0951] 多发性骨髓瘤治疗的第一阶段是诱导疗法。诱导疗法的目的是减少骨髓中的浆细胞以及由浆细胞产生的分子（例如蛋白质）的数量。诱导疗法通常包括以下2种或3种药物的组合：靶向疗法、化疗或糖皮质激素。

[0952] 针对可以进行干细胞移植的患者的诱导疗法

[0953] 用于干细胞移植的患者通常年龄在70岁或更小，并且总体上身体健康。患者可以先进行诱导疗法，然后进行大剂量化疗和干细胞移植。诱导疗法通常给与几个周期，并且可能包括以下中的一种或多种药物：CyBorD方案-环磷酰胺（Cytosan、Procytox）、硼替佐米（Velcade）和地塞米松（Decadron, Dexasone）；VRD方案-硼替佐米、来那度胺（Revlimid）和地塞米松；沙利度胺（Thalomid）和地塞米松；来那度胺和低剂量地塞米松；硼替佐米和地塞米松；VTD方案-硼替佐米、沙利度胺和地塞米松；硼替佐米、环磷酰胺和泼尼松；硼替佐米、多柔比星（阿霉素）和地塞米松；地塞米松；或脂质体多柔比星（Caelyx, Doxil）、长春新碱（Oncovin）和地塞米松

[0954] 针对无法进行干细胞移植的患者的诱导疗法

[0955] 无法进行干细胞移植的患者可以使用以下中的一种或多种药物进行诱导疗法：CyBorD方案-环磷酰胺、硼替佐米和地塞米松；来那度胺（Revlimid）和低剂量地塞米松；MPT方案-美法仑、泼尼松和沙利度胺；VMP方案-硼替佐米、美法仑和泼尼松；MPL方案-美法仑、泼尼松和来那度胺；美法仑和泼尼松；硼替佐米和地塞米松；地塞米松；脂质体多柔比星、长春新碱和地塞米松；沙利度胺和地塞米松；VAD方案-长春新碱、多柔比星和地塞米松；或VRD方案-硼替佐米、来那度胺和地塞米松。

[0956] 与BCMA相关的疾病或病症的另一个实例是霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤（参见 Chiu等人, Blood. [血液] 2007, 109 (2) : 729-39; He等人, J Immunol. [免疫学杂志] 2004, 172

(5):3268-79)。

[0957] 霍奇金氏淋巴瘤(HL)也称为霍奇金病,是起源于白细胞或淋巴细胞的淋巴系统癌症。构成淋巴瘤的异常细胞称为里德-斯德伯格(Reed-Sternberg)细胞。在霍奇金氏淋巴瘤中,癌症从一个淋巴结组扩散到另一个淋巴结组。根据里德-斯德伯格细胞形态和里德-斯德伯格细胞周围的细胞组成(通过淋巴结活检确定),霍奇金氏淋巴瘤可细分为四种病理亚型:结节性硬化HL、混合细胞亚型、淋巴细胞富集或淋巴细胞优势、淋巴细胞耗减。一些霍奇金氏淋巴瘤也可以是结节性淋巴细胞优势型霍奇金氏淋巴瘤,或者可以是未指明的。霍奇金氏淋巴瘤的症状和体征包括颈部、腋窝或腹股沟的淋巴结无痛性肿胀、发烧、盗汗、体重减轻、疲劳、瘙痒或腹痛。

[0958] 非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)包括多种血癌,血癌包括除霍奇金氏淋巴瘤之外的任何类型的淋巴瘤。非霍奇金氏淋巴瘤的亚型主要通过细胞形态学、染色体畸变和表面标记物来分类。NHL亚型(或与NHL相关的癌症)包括B细胞淋巴瘤,诸如但不限于伯基特淋巴瘤、B细胞慢性淋巴细胞性白血病(B-CLL)、B细胞淋巴细胞性白血病(B-PLL)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)(例如,血管内大B细胞淋巴瘤和原发性纵隔B细胞淋巴瘤)、滤泡性淋巴瘤(例如,滤泡中心淋巴瘤、滤泡小分裂细胞)、毛细胞白血病、高级别B细胞淋巴瘤(伯基特样)、淋巴浆细胞性淋巴瘤(华氏巨球蛋白血症)、套细胞淋巴瘤、边缘区B细胞淋巴瘤(例如结外边缘区B细胞淋巴瘤或与粘膜相关的淋巴样组织(MALT)淋巴瘤、淋巴结边缘区B细胞淋巴瘤和脾边缘区B细胞淋巴瘤)、浆细胞瘤/骨髓瘤、前体B淋巴母细胞白血病/淋巴瘤(PB-LBL/L)、原发性中枢神经系统(CNS)淋巴瘤、原发性眼内淋巴瘤、小淋巴细胞性淋巴瘤(SLL);以及T细胞淋巴瘤,诸如但不限于间变性大细胞淋巴瘤(ALCL)、成人T细胞淋巴瘤/白血病(例如冒烟型、慢性、急性和淋巴瘤性)、血管中心性淋巴瘤、血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤(例如蕈样真菌病、塞扎里综合征等)、结外自然杀手/T细胞淋巴瘤(鼻型)、肠病型肠道T细胞淋巴瘤、大颗粒淋巴细胞性白血病、前体T淋巴母细胞淋巴瘤/白血病(T-LBL/L)、T细胞慢性淋巴细胞性白血病/前淋巴细胞性白血病(T-CLL/PLL)和非特指型外周T细胞淋巴瘤。霍奇金氏淋巴瘤的症状和体征包括颈部、腋窝或腹股沟的淋巴结无痛性肿胀、发烧、盗汗、体重减轻、疲劳、瘙痒、腹痛、咳嗽或胸痛。

[0959] 霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤的分期是相同的,是指体内癌细胞的扩散程度。在I期中,淋巴瘤细胞位于一个淋巴结组中。在II期中,淋巴瘤细胞存在于至少两个淋巴结组中,但两组均位于膈肌的同一侧,或组织或器官的一部分以及膈肌的同一侧的器官附近的淋巴结。在III期中,淋巴瘤细胞位于隔膜两侧的淋巴结中,或这些淋巴结组附近或脾脏中的组织或器官的一部分。在IV期中,淋巴瘤细胞存在于至少一个器官或组织的几个部分,或淋巴瘤细胞位于器官中和隔膜的另一侧的淋巴结中。除罗马数字分期名称之外,分期也可以用字母A、B、E和S来描述,其中A是指无症状的患者,B是指有症状的患者,E是指其中淋巴瘤存在于淋巴系统外的组织中的患者,S是指其中淋巴瘤存在于脾脏中的患者。

[0960] 霍奇金氏淋巴瘤通常用放疗、化疗或造血干细胞移植来治疗。非霍奇金氏淋巴瘤最常见的疗法是R-CHOP,它由四种不同的化疗药物(环磷酰胺、多柔比星、长春新碱和泼尼松龙)和利妥昔单抗(Rituxan®)组成。通常用于治疗NHL的其他疗法包括其他化学治疗剂、放疗、干细胞移植(自体或同种异体骨髓移植)或生物疗法,如免疫疗法。生物治疗剂的

其他实例包括但不限于利妥昔单抗(Rituxan®)、托西莫单抗(Bexxar®)、依帕珠单抗(LymphoCide®)和阿仑单抗(alemtuzumab)(MabCampath®)。本发明的组合物和方法可以与霍奇金淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤的任何目前处方治疗组合施用。

[0961] BCMA表达也与瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症(WM)(也称为淋巴浆细胞性淋巴瘤(LPL))相关联。(参见Elsawa等人, Blood. [血液]2006, 107(7):2882-8)。瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症以前被认为与多发性骨髓瘤相关联,但最近被归类为非霍奇金氏淋巴瘤的亚型。WM的特征在于不受控制的B细胞淋巴增殖,导致贫血并产生过量的副蛋白或免疫球蛋白M(IgM),所述副蛋白使血液变稠并导致高粘滞综合征。WM的其他症状或体征包括发烧、盗汗、疲劳、贫血、体重减轻、淋巴结病变或脾肿大、视力模糊、头晕、鼻出血、牙龈出血、不常见的瘀伤、肾功能损伤或衰竭、淀粉样变性或周围神经病变。

[0962] WM的标准治疗包括化疗,特别是利妥昔单抗(Rituxan®)。其他化学治疗药物(如苯丁酸氮芥(Leukeran®)、环磷酰胺(Neosar®)、氟达拉滨(Fludara®)、克拉屈滨(Leustatin®)、长春新碱和/或沙利度胺)可以组合使用。皮质类固醇(如泼尼松)也可以与化疗组合施用。血浆单采术或血浆交换通常在患者的整个治疗过程中使用,以通过从血液中除去副蛋白来缓解一些症状。在某些情况下,干细胞移植是一些患者的选择。

[0963] 与BCMA相关的疾病或病症的另一个实例是脑癌。具体而言,BCMA的表达与星形细胞瘤或胶质母细胞瘤相关(参见Deshayes等人, Oncogene. [癌基因]2004, 23(17):3005-12, Pelekanou等人., PLoS One. [公共科学图书馆:综合]2013, 8(12):e83250)。星形细胞瘤是由星形胶质细胞产生的肿瘤,星形胶质细胞是脑中的一种神经胶质细胞类型。胶质母细胞瘤(也称为多形性胶质母细胞瘤或GBM)是星形细胞瘤的最恶性形式,并且被认为是脑癌的最晚期(IV期)。胶质母细胞瘤有两种变体:巨细胞胶质母细胞瘤和神经胶质肉瘤。其他星形细胞瘤包括幼年毛细胞星形细胞瘤(JPA)、纤维性星形细胞瘤、多形性黄色星形细胞瘤(PXA)、胚胎发育不良性神经上皮瘤(DNET)和退行性星形细胞瘤(AA)。

[0964] 与胶质母细胞瘤或星形细胞瘤相关的症状或体征包括脑部压力增加、头痛、癫痫发作、记忆丧失、行为改变、身体一侧运动或感觉丧失、语言功能障碍、认知缺损、视力缺损、恶心、呕吐以及手臂或腿部虚弱。

[0965] 手术移除肿瘤(或切除)是尽可能多地除去神经胶质瘤而不损伤或对正常周围脑损伤最小的标准治疗。通常在手术后使用放疗和/或化疗来抑制和减缓来自任何其他癌细胞或卫星病灶的复发疾病。放射疗法包括全脑放疗(常规体外束辐射)、靶向三维适形放射疗法和靶向放射性核素。通常用于治疗胶质母细胞瘤的化疗剂包括替莫唑胺(temozolomide)、吉非替尼或厄洛替尼和顺铂。血管生成抑制剂(如贝伐单抗(Bevacizumab)(Avastin®))通常也与化疗和/或放疗组合使用。

[0966] 支持性治疗经常也用于缓解神经症状和改善神经功能,并且与本文所述的任何癌症疗法组合施用。主要支持性药剂包括抗惊厥药和皮质类固醇。因此,本发明的组合物和方法可以与任何标准或支持性治疗组合使用,以治疗胶质母细胞瘤或星形细胞瘤。

[0967] 与BCMA表达相关的非癌症相关疾病和障碍也可以通过本文披露的组合物和方法治疗。与BCMA表达相关的非癌症相关疾病和障碍的实例包括但不限于:病毒感染;例如,

HIV、真菌感染,例如新型隐球菌(*C. neoformans*);肠易激综合征;溃疡性结肠炎和与粘膜免疫有关的疾病。

[0968] 本发明的CAR修饰的免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)可以单独施用,或作为药物组合物与稀释剂和/或与其他组分(如IL-2或其他细胞因子或细胞群)组合施用。

[0969] 本发明提供用于治疗癌症的组合物和方法。在一个方面,癌症是血液癌症,包括但不限于作为白血病或淋巴瘤的血癌。在一个方面,本发明的所述表达CAR的细胞(例如CART细胞或表达CAR的NK细胞)可用于治疗癌症和恶性肿瘤,诸如但不限于,例如急性白血病,包括但不限于,例如B细胞急性淋巴细胞性白血病(“BALL”)、T细胞急性淋巴细胞性白血病(“TALL”)、急性淋巴细胞性白血病(ALL);一种或多种慢性白血病,包括但不限于,例如慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL);其他血液癌症或血液病症,包括但不限于,例如B细胞幼淋巴细胞性白血病、母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤、伯基特淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病、小细胞或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴瘤组织增生性病症、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常和骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞性淋巴瘤、浆细胞样树突细胞肿瘤、华氏巨球蛋白血症,以及为由骨髓血细胞的无效产生(或发育异常)联合在一起的各种血液病症集合的“白血病前期”等。此外,与BCMA表达相关的疾病包括但不限于例如表达BCMA的非典型和/或非经典癌症、恶性肿瘤、癌前病症或增殖性疾病。

[0970] 在实施例中,本文描述的组合物可用于治疗疾病,包括但不限于浆细胞增殖性障碍(例如,无症状性骨髓瘤(冒烟型多发性骨髓瘤或惰性骨髓瘤))、意义未明的单克隆丙种球蛋白血症(MGUS)、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、浆细胞瘤(例如,浆细胞恶性增殖、孤立性骨髓瘤、孤立性浆细胞瘤、髓外浆细胞瘤和多发性浆细胞瘤)、全身性淀粉样蛋白轻链淀粉样变性、和POEMS综合征(也称为克罗-富克斯综合征、高月病和PEP综合征)。

[0971] 在实施例中,本文描述的组合物可用于治疗疾病,包括但不限于癌症,例如本文所述的癌症,例如前列腺癌(例如,去势抵抗性或治疗抵抗性前列腺癌或转移性前列腺癌)、胰腺癌、肺癌。

[0972] 本发明还提供用于抑制增殖或减少表达BCMA的细胞群的方法,该方法包括使包含表达BCMA的细胞的细胞群接触本发明的结合表达BCMA的细胞的表达抗BCMA CAR的细胞(例如,BCMA CART细胞或表达BCMA CAR的NK细胞)。在一个具体方面,本发明提供用于抑制增殖或减少表达BCMA的癌细胞群的方法,该方法包括使表达BCMA的癌细胞群接触本发明的结合表达BCMA的细胞的表达抗BCMA CAR的细胞(例如,BCMA CART细胞或表达BCMA CAR的NK细胞)。在一个方面,本发明提供用于抑制增殖或减少表达BCMA的癌细胞群的方法,该方法包括使表达BCMA的癌细胞群接触本发明的结合表达BCMA的细胞的表达抗BCMA CAR的细胞(例如,BCMA CART细胞或表达BCMA CAR的NK细胞)。在某些方面,相对于阴性对照,本发明的表达抗BCMA CAR的细胞(例如,BCMA CART细胞或表达BCMA CAR的NK细胞)使髓性白血病或与表达BCMA的细胞相关的另一种癌症的受试者或动物模型中的细胞和/或癌细胞的数量(quantity/number)、量或百分比减少至少25%、至少30%、至少40%、至少50%、至少65%、至少75%、至少85%、至少95%或至少99%。在一个方面,受试者是人。

[0973] 本发明还提供用于预防、治疗和/或控制与表达BCMA的细胞相关的疾病(例如,血液癌或表达BCMA的非典型癌症)的方法,该方法包括将本发明的结合表达BCMA的细胞的表

达抗BCMA CAR的细胞(例如,BCMA CART细胞或表达BCMA CAR的NK细胞)施用于有此需要的受试者。在一个方面,受试者是人。与表达BCMA的细胞相关的障碍的非限制性实例包括病毒或真菌感染,以及与粘膜免疫相关的障碍。

[0974] 本发明还提供用于预防、治疗和/或控制与表达BCMA的细胞相关的疾病的方法,该方法包括将本发明的结合表达BCMA的细胞的表达抗BCMA CAR的细胞(例如,BCMA CART细胞或表达BCMA CAR的NK细胞)施用于有此需要的受试者。在一个方面,受试者是人。

[0975] 本发明提供用于预防与表达BCMA的细胞相关的癌症复发的方法,该方法包括将本发明的结合表达BCMA的细胞的表达抗BCMA CAR的细胞(例如,BCMA CART细胞或表达BCMA CAR的NK细胞)施用于有此需要的受试者。在一个方面,该方法包括将有效量的本文所述的结合表达BCMA的细胞的表达抗BCMA CAR的细胞(例如,BCMA CART细胞或表达BCMA CAR的NK细胞)与有效量的另一种疗法的组合施用于有此需要的受试者。

[0976] 使用生物标记物评价CAR有效性、受试者适用性或样品适合性的方法

[0977] 在另一个方面,本发明的特征在于评估或监测受试者(例如,患有癌症,例如血液学癌症的受试者)中表达CAR的细胞疗法(例如,BCMACAR疗法)的有效性、或用于CAR疗法(例如,BCMA CAR疗法)的样品(例如,单采样品)的适合性的方法。该方法包括获取CAR疗法有效性、受试者适用性或样品适合性的值,其中所述值指示表达CAR的细胞疗法的有效性或适合性。

[0978] 在本文披露的任何方法的一些实施例中,表达CAR的细胞疗法包括多个(例如,一群)表达CAR的免疫效应细胞,例如多个(例如,一群)T细胞或NK细胞或它们的组合。在一个实施例中,表达CAR的细胞疗法是BCMACAR疗法。

[0979] 在本文披露的任何方法的一些实施例中,在接受表达CAR的细胞疗法之前、期间或之后评估受试者。

[0980] 在本文披露的任何方法的一些实施例中,与无反应者相比,反应者(例如,完全反应者)具有或被鉴定为具有更高水平或活性的GZMK、PPF1BP2或初始T细胞中的一者、两者或更多者(全部)。

[0981] 在本文披露的任何方法的一些实施例中,与反应者相比,无反应者具有或被鉴定为具有更高水平或活性的IL22、IL-2RA、IL-21、IRF8、IL8、CCL17、CCL22、效应T细胞或调节性T细胞中的一者、两者、三者、四者、五者、六者、七者或更多者(例如,全部)。

[0982] 在一个实施例中,复发者是与非复发者相比具有或被鉴定为具有以下中的一种或多种(例如,2、3、4种或全部)的表达水平增加的患者:MIR199A1、MIR1203、uc021ovp、ITM2C和HLA-DQB1和/或与非复发者相比,以下中的一种或多种(例如2、3、4、5、6、7、8、9、10、11种或全部)的表达水平降低的患者:PPIAL4D、TTTY10、TXLNG2P、MIR4650-1、KDM5D、USP9Y、PRKY、RPS4Y2、RPS4Y1、NCRNA00185、SULT1E1和EIF1AY的患者。

[0983] 在本文披露的任何方法的一些实施例中,无反应者具有或被鉴定为具有更高的免疫细胞耗竭标记物(例如,一种、两种或更多种免疫检查点抑制剂(例如,PD-1、PD-L1、TIM-3和/或LAG-3))的百分比。在一个实施例中,与来自反应者的PD-1或LAG-3表达免疫效应细胞的百分比相比,无反应者具有或被鉴定为具有更高的PD-1、PD-L1或LAG-3表达免疫效应细胞(例如,CD4+ T细胞和/或CD8+ T细胞)(例如,表达CAR的CD4+细胞和/或CD8+ T细胞)的百分比。

[0984] 在一个实施例中,无反应者具有或被鉴定为具有更高的具有耗竭表型的免疫细胞(例如,共表达至少两种耗竭标记物(例如,共表达PD-1、PD-L1和/或TIM-3)的免疫细胞)的百分比。在其他实施例中,无反应者具有或被鉴定为具有更高的具有耗竭表型的免疫细胞(例如,共表达至少两种耗竭标记物(例如,共表达PD-1和LAG-3)的免疫细胞)的百分比。

[0985] 在本文披露的任何方法的一些实施例中,在表达CAR的细胞群(例如,BCMACAR+细胞群)中,与表达CAR的细胞疗法的反应者(例如,完全反应者)相比,无反应者具有或被鉴定为具有更高的PD-1/PD-L1+/LAG-3+细胞的百分比。

[0986] 在本文披露的任何方法的一些实施例中,在表达CAR的细胞群(例如,BCMACAR+细胞群)中,部分反应者具有或被鉴定为具有比反应者更高的PD-1/PD-L1+/LAG-3+细胞的百分比。

[0987] 在本文披露的任何方法的一些实施例中,在表达CAR的细胞群(例如,BCMACAR+细胞群)中,无反应者具有或被鉴定为具有PD1/PD-L1+CAR+的耗竭表型和LAG3的共表达。

[0988] 在本文披露的任何方法的一些实施例中,在表达CAR的细胞群(例如,BCMACAR+细胞群)中,与反应者(例如,完全反应者)相比,无反应者具有或被鉴定为具有更高的PD-1/PD-L1+/TIM-3+细胞的百分比。

[0989] 在本文披露的任何方法的一些实施例中,在表达CAR的细胞群(例如,BCMACAR+细胞群)中,部分反应者具有或被鉴定为具有比反应者更高的PD-1/PD-L1+/TIM-3+细胞的百分比。

[0990] 在本文披露的任何方法的一些实施例中,单样品中CD8+CD27+CD45RO-T细胞的存在是受试者对表达CAR的细胞疗法(例如,BCMACAR疗法)的反应的阳性预测因子。

[0991] 在本文披露的任何方法的一些实施例中,单样品中PD1+CAR+和LAG3+或TIM3+ T细胞的高百分比是受试者对表达CAR的细胞疗法(例如,BCMACAR疗法)的反应的不良预后预测因子。

[0992] 在本文披露的任何方法的一些实施例中,反应者(例如,完整或部分反应者)具有以下特征中的一者、两者、三者或更多者(或全部):

[0993] (i) 与参考值(例如,无反应者数量的CD27+免疫效应细胞)相比,具有更多数量的CD27+免疫效应细胞;

[0994] (ii) (i) 与参考值(例如,无反应者数量的CD8+ T细胞)相比,具有更多数量的CD8+ T细胞;

[0995] (iii) 与参考值(例如,无反应者数量的表达一种或多种检查点抑制剂的细胞)相比,具有更少数量的表达一种或多种检查点抑制剂(例如选自PD-1、PD-L1、LAG-3、TIM-3或KLRG-1的检查点抑制剂或组合)的免疫细胞;或者

[0996] (iv) 与参考值(例如,无反应者数量的静息 T_{EFF} 细胞、静息 T_{REG} 细胞、初始CD4细胞、未刺激的记忆细胞或早期记忆T细胞)相比,具有更多数量的静息 T_{EFF} 细胞、静息 T_{REG} 细胞、初始CD4细胞、未刺激的记忆细胞或早期记忆T细胞中的一者、二者、三者、四者或更多者(全部)或它们的组合。

[0997] 在本文披露的任何方法的一些实施例中,(v)的细胞因子水平或活性选自细胞因子CCL20/MIP3a、IL17A、IL6、GM-CSF、IFN- γ 、IL10、IL13、IL2、IL21、IL4、IL5、IL9或TNF α 中的一者、二者、三者、四者、五者、六者、七者、八者或更多者(或全部)或它们的组合。细胞因

子可以选自IL-17a、CCL20、IL2、IL6或TNFa中的一者、二者、三者、四者或更多者(全部)。在一个实施例中,细胞因子的增加水平或活性选自IL-17a和CCL20中的一者或二者,这指示反应增加或复发减少。

[0998] 在实施例中,可以根据临床标准进一步评估由本文的方法鉴定的反应者、无反应者、复发者或无复发者。例如,完全反应者具有或被鉴定为具有疾病(例如,癌症)的受试者,该受试者表现出对治疗的完全反应,例如完全缓解。如本文所述,可以例如使用NCCN **Guidelines**[®]或Cheson等人,J Clin Oncol[临床肿瘤学杂志]17:1244(1999)和Cheson等人,“Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma[修订版恶性淋巴瘤治疗反应标准]”,J Clin Oncol[临床肿瘤学杂志]25:579-586(2007)(两者均通过引用以其整体并入本文)鉴定完全反应。部分反应者具有或被鉴定为具有疾病(例如,癌症)的受试者,该受试者表现出对治疗的部分反应,例如部分缓解。例如可以使用如本文所述的NCCN **Guidelines**[®]或Cheson标准来鉴定部分反应。无反应者具有或被鉴定为具有疾病(例如,癌症)的受试者,该受试者未表现出对治疗的反应,例如患者疾病稳定或疾病进展。例如可以使用如本文所述的NCCN **Guidelines**[®]或Cheson标准来鉴定无反应者。

[0999] 替代性地,或与本文披露的方法组合,响应于所述值,进行以下中的一项、两项、三项或更多项:

[1000] 例如,将表达CAR的细胞疗法施用于反应者或无复发者;

[1001] 施用改变剂量的表达CAR的细胞疗法;

[1002] 改变表达CAR的细胞疗法的排程或时程;

[1003] 例如,将另外的药剂与表达CAR的细胞疗法(例如检查点抑制剂,例如本文所述的检查点抑制剂)组合施用于无反应者或部分反应者;

[1004] 在用表达CAR的细胞疗法治疗之前,将增加受试者中的较年轻的T细胞的数量数的疗法施用于无反应者或部分反应者;

[1005] 修改表达CAR的细胞疗法的制造方法,例如在引入编码CAR的核酸之前富集较年轻的T细胞,或例如针对被鉴定为无反应者或部分反应者的受试者而言,增加转导效率;

[1006] 例如针对无反应者或部分反应者或复发者,施用替代疗法;或者

[1007] 如果受试者为或被鉴定为无反应者或复发者,则例如通过CD25耗减、施用环磷酰胺、抗GITR抗体中的一者或多者或它们的组合来减少T_{REG}细胞群和/或T_{REG}基因签名。

[1008] 在某些实施例中,用抗GITR抗体预治疗受试者。在某些实施例中,在输注或再输注之前用抗GITR抗体治疗受试者。

[1009] 组合疗法

[1010] 本文所述的表达CAR的细胞可以与其他已知的药剂和疗法组合使用。如本文所用,“组合”施用意指在受试者患病期间将两种(或更多种)不同的治疗递送至受试者,例如在受试者被诊断患有病症后并且在该病症被治愈或清除前或者在由于其他原因终止治疗前递送两种或多种治疗。在一些实施例中,第一治疗的递送在第二治疗的递送开始时仍在进行,所以就施用而言存在重叠。这在本文中有时被称为“同时递送”或“并行递送”。在其他实施例中,一种治疗的递送在另一种治疗的递送开始前结束。在每一种情况的一些实施例中,治疗因组合施用而更有效。例如,第二治疗更有效,例如,与第一治疗不存在的情况下施用第

二治疗所观察到的结果相比,使用较少的第二治疗观察到等效的作用,或者第二治疗使症状减少更大的程度,或对第一治疗观察到类似的情况。在一些实施例中,与一种治疗不存在的情况下递送另一种治疗所观察到的结果相比,递送使得症状或与所述障碍相关的有他参数减少更多。两种治疗的作用可以部分累加、完全累加或大于累加。所述递送可以使得当递送第二治疗时,递送的第一治疗的作用仍然是可检测的。

[1011] 可以将本文所述的表达CAR的细胞和至少一种另外的治疗剂同时(以相同或分开的组合物)、或依序施用。对于依次施用,可以首先施用本文所述的表达CAR的细胞并且可以其次施用另外的药剂,或者可以颠倒施用顺序。

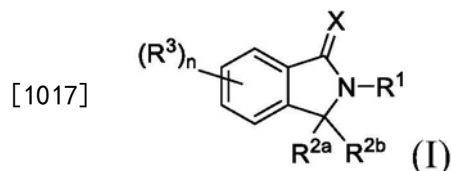
[1012] 可以将CAR疗法和/或其他治疗剂、程序或方式在活性障碍期间,或在缓解期或活性较低的疾病期间施用。可以将CAR疗法在其他治疗之前、与治疗并行、治疗后或在障碍缓解期施用。

[1013] 当组合施用时,可以将CAR疗法和另外的药剂(例如,第二药剂或第三药剂)或全部以比单独使用(例如,作为单一疗法)的每种药剂的量或剂量更高、更低或相同的量或剂量施用。在某些实施例中,CAR疗法、另外的药剂(例如,第二药剂或第三药剂)、或全部的施用量或剂量比单独使用(例如,作为单一疗法)的每种药剂的量或剂量低(例如,至少20%、至少30%、至少40%、或至少50%)。在其他实施例中,CAR疗法、另外的药剂(例如第二药剂或第三药剂)、或全部的导致期望效果(例如治疗癌症)的量或剂量比单独使用(例如作为单一疗法)的每种药剂实现相同治疗效果所需的量或剂量低(例如低至少20%、至少30%、至少40%、或至少50%)。

[1014] 沙利度胺类化合物

[1015] 在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法与沙利度胺类化合物的成员组合施用。在一些实施例中,所述沙利度胺类化合物的成员包括,但不限于,来那度胺(CC-5013)、泊马度胺(CC-4047或ACTIMID)、沙利度胺或其盐或衍生物。在一些实施例中,所述化合物可以是沙利度胺类化合物的一个、两个、三个或更多个成员的混合物。沙利度胺类似物和沙利度胺类似物的免疫调节剂特性描述于Bodera和Stankiewicz,Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov.[内分泌最新专利代谢免疫药物发现]2011年9月;5(3):192-6,将其内容通过引用以其整体特此并入。沙利度胺类似物和E3泛素的结构复合物描述于Gandhi等人,Br J Haematol.[英国血液病杂志]2014年3月;164(6):811-21,将其内容通过引用以其整体特此并入。通过利度胺类似物调节E3泛素连接酶描述于Fischer等人,Nature.[自然]2014年8月7日;512(7512):49-53,将其内容通过引用以其整体特此并入。

[1016] 在一些实施例中,所述化合物包含具有式(I)的化合物:



[1018] 或其药学上可接受的盐、酯、水合物、溶剂化物、或互变异构体,其中:

[1019] X是O或S;

[1020] R¹是C₁-C₆烷基、C₂-C₆烯基、C₂-C₆炔基、C₁-C₆杂烷基、碳环基、杂环基、芳基、或杂芳基,其中每个任选地被一个或多个R⁴取代;

[1021] R^{2a} 和 R^{2b} 中的每个独立地是氢或 C_1 - C_6 烷基;或 R^{2a} 和 R^{2b} 连同与它们所附接的碳原子形成羰基基团或硫代羰基基团;

[1022] 每个 R^3 独立地是 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_1 - C_6 杂烷基、卤代、氰基、 $-C(O)R^A$ 、 $-C(O)OR^B$ 、 $-OR^B$ 、 $-N(R^C)(R^D)$ 、 $-C(O)N(R^C)(R^D)$ 、 $-N(R^C)C(O)R^A$ 、 $-S(O)_xR^E$ 、 $-S(O)_xN(R^C)(R^D)$ 、或 $-N(R^C)S(O)_xR^E$,其中每个烷基、烯基、炔基、和杂烷基独立地且任选地被一个或多个 R^6 取代;

[1023] 每个 R^4 独立地是 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_1 - C_6 杂烷基、卤代、氰基、氧代、 $-C(O)R^A$ 、 $-C(O)OR^B$ 、 $-OR^B$ 、 $-N(R^C)(R^D)$ 、 $-C(O)N(R^C)(R^D)$ 、 $-N(R^C)C(O)R^A$ 、 $-S(O)_xR^E$ 、 $-S(O)_xN(R^C)(R^D)$ 、 $-N(R^C)S(O)_xR^E$ 、碳环基、杂环基、芳基、或杂芳基,其中每个烷基、烯基、炔基、杂烷基、碳环基、杂环基、芳基、和杂芳基独立地且任选地被一个或多个 R^7 取代;

[1024] R^A 、 R^B 、 R^C 、 R^D 、和 R^E 中的每个独立地是氢或 C_1 - C_6 烷基;

[1025] 每个 R^6 独立地是 C_1 - C_6 烷基、氧代、氰基、 $-OR^B$ 、 $-N(R^C)(R^D)$ 、 $-C(O)N(R^C)(R^D)$ 、 $-N(R^C)C(O)R^A$ 、芳基、或杂芳基,其中每个芳基和杂芳基独立地且任选地被一个或多个 R^8 取代;

[1026] 每个 R^7 独立地是卤代、氧代、氰基、 $-OR^B$ 、 $-N(R^C)(R^D)$ 、 $-C(O)N(R^C)(R^D)$ 、或 $-N(R^C)C(O)R^A$;

[1027] 每个 R^8 独立地是 C_1 - C_6 烷基、氰基、 $-OR^B$ 、 $-N(R^C)(R^D)$ 、 $-C(O)N(R^C)(R^D)$ 、或 $-N(R^C)C(O)R^A$;

[1028] n 是0、1、2、3或4;并且

[1029] x 是0、1、或2。

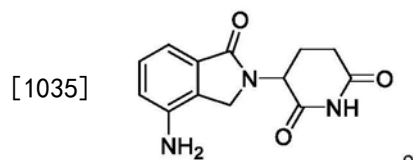
[1030] 在一些实施例中, x 是0。

[1031] 在一些实施例中, R^1 是杂环基。在一些实施例中, R^1 是6元杂环基、或5元杂环基。在一些实施例中, R^1 是含氮杂环基。在一些实施例中, R^1 是哌啶基(例如,哌啶-2,6-二酮基)。

[1032] 在一些实施例中, R^{2a} 和 R^{2b} 中的每个独立地是氢。在一些实施例中, R^{2a} 和 R^{2b} 连同与它们所附接的碳原子形成羰基基团。

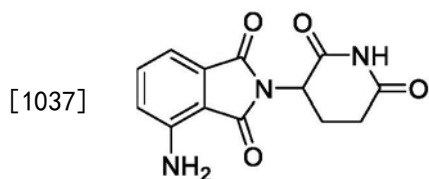
[1033] 在一些实施例中, R^3 是 C_1 - C_6 杂烷基、 $-N(R^C)(R^D)$ 或 $-N(R^C)C(O)R^A$ 。在一些实施例中, R^3 是 C_1 - C_6 杂烷基(例如, $CH_2NHC(O)CH_2$ -苯基-叔丁基)、 $-N(R^C)(R^D)$ (例如, NH_2)、或 $-N(R^C)C(O)R^A$ (例如, $NHC(O)CH_3$)。

[1034] 在一个实施例中, x 是0。在一个实施例中, R^1 是杂环基(例如,哌啶-2,6-二酮基)。在一个实施例中, R^{2a} 和 R^{2b} 中的每个独立地是氢。在一个实施例中, n 是1。在一个实施例中, R^3 是 $-N(R^C)(R^D)$ (例如, $-NH_2$)。在一个实施例中,所述化合物包含来那度胺,例如,3-(4-氨基-1-氧代异吲哚啉-2-基)哌啶-2,6-二酮,或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,所述化合物是来那度胺,例如,根据下式:

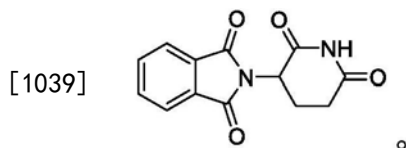


[1036] 在一个实施例中, x 是0。在一个实施例中, R^1 是杂环基(例如,哌啶基-2,6-二酮基)。在一些实施例中, R^{2a} 和 R^{2b} 连同与它们所附接的碳原子形成羰基基团。在一个实施例中, n 是1。在一个实施例中, R^3 是 $-N(R^C)(R^D)$ (例如, $-NH_2$)。在一个实施例中,所述化合物包含

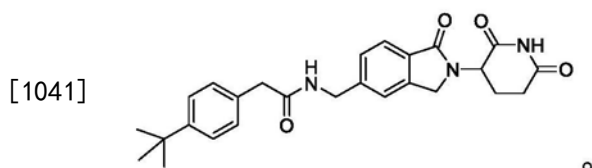
泊马度胺,例如,4-氨基-2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮,或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,所述化合物是泊马度胺,例如,根据下式:



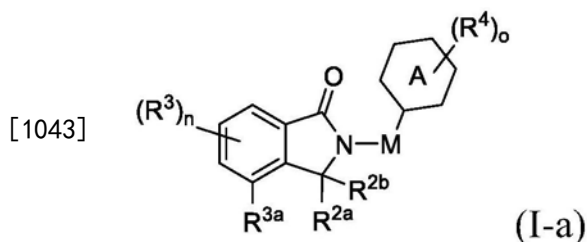
[1038] 在一个实施例中,X是0。在一个实施例中, R^1 是杂环基(例如,哌啶基-2,6-二酮基)。在一个实施例中, R^{2a} 和 R^{2b} 连同与它们所附接的碳原子形成羰基基团。在一个实施例中,n是0。在一个实施例中,所述化合物包含沙利度胺,例如,2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)异吲哚啉-1,3-二酮,或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,所述产物是沙利度胺,例如,根据下式:



[1040] 在一个实施例中,X是0。在一个实施例中, R^1 是杂环基(例如,哌啶-2,6-二酮基)。在一个实施例中, R^{2a} 和 R^{2b} 中的每个独立地是氢。在一个实施例中,n是1。在一个实施例中, R^3 是 C_1 - C_6 杂烷基(例如, $CH_2NHC(O)CH_2$ -苯基-叔丁基)。在一个实施例中,所述化合物包含2-(4-(叔丁基)苯基)-N-((2-(2,6-二氧代哌啶-3-基)-1-氧代异吲哚啉-5-基)甲基)乙酰胺,或其药学上可接受的盐。在一个实施例中,所述化合物具有如下式所示的结构:



[1042] 在一些实施例中,所述化合物是具有式(I-a)的化合物:



[1044] 或其药学上可接受的盐、酯、水合物、或互变异构体,其中:

[1045] 环A是碳环基、杂环基、芳基、或杂芳基,其中每个任选地被一个或多个 R^4 取代;

[1046] M不存在、是 C_1 - C_6 烷基、是 C_2 - C_6 烯基、是 C_2 - C_6 炔基、或是 C_1 - C_6 杂烷基,其中每个烷基、烯基、炔基、和杂烷基任选地被一个或多个 R^4 取代;

[1047] R^{2a} 和 R^{2b} 中的每个独立地是氢或 C_1 - C_6 烷基;或 R^{2a} 和 R^{2b} 连同与它们所附接的碳原子形成羰基基团或硫代羰基基团;

[1048] R^{3a} 是氢、 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_1 - C_6 杂烷基、卤代、氰基、 $-C(O)R^A$ 、 $-C(O)OR^B$ 、 $-OR^B$ 、 $-N(R^C)$ 、 (R^D) 、 $-C(O)N(R^C)$ 、 (R^D) 、 $-N(R^C)C(O)R^A$ 、 $-S(O)_xR^E$ 、 $-S(O)_xN(R^C)$ 、 (R^D) 、或 $-N(R^C)S(O)_xR^E$,其中每个烷基、烯基、炔基、和杂烷基任选地被一个或多个 R^6 取代;

[1049] 每个 R^3 独立地是 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_1 - C_6 杂烷基、卤代、氰基、 $-C(O)R^A$ 、 $-C(O)OR^B$ 、 $-OR^B$ 、 $-N(R^C)(R^D)$ 、 $-C(O)N(R^C)(R^D)$ 、 $-N(R^C)C(O)R^A$ 、 $-S(O)_xR^E$ 、 $-S(O)_xN(R^C)(R^D)$ 、或 $-N(R^C)S(O)_xR^E$ ，其中每个烷基、烯基、炔基、和杂烷基独立地且任选地被一个或多个 R^6 取代；

[1050] 每个 R^4 独立地是 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_1 - C_6 杂烷基、卤代、氰基、氧代、 $-C(O)R^A$ 、 $-C(O)OR^B$ 、 $-OR^B$ 、 $-N(R^C)(R^D)$ 、 $-C(O)N(R^C)(R^D)$ 、 $-N(R^C)C(O)R^A$ 、 $S(O)_xR^E$ 、 $-S(O)_xN(R^C)(R^D)$ 、 $-N(R^C)S(O)_xR^E$ 、碳环基、杂环基、芳基、或杂芳基，其中每个烷基、烯基、炔基、碳环基、杂环基、芳基、或杂芳基独立地且任选地被一个或多个 R^7 取代；

[1051] R^A 、 R^B 、 R^C 、 R^D 、和 R^E 中的每个独立地是氢或 C_1 - C_6 烷基；

[1052] 每个 R^6 独立地是 C_1 - C_6 烷基、氧代、氰基、 $-OR^B$ 、 $-N(R^C)(R^D)$ 、 $-C(O)N(R^C)(R^D)$ 、 $-N(R^C)C(O)R^A$ 、芳基、或杂芳基，其中每个芳基或杂芳基独立地且任选地被一个或多个 R^8 取代；

[1053] 每个 R^7 独立地是卤代、氧代、氰基、 $-OR^B$ 、 $-N(R^C)(R^D)$ 、 $-C(O)N(R^C)(R^D)$ 、或 $-N(R^C)C(O)R^A$ ；

[1054] 每个 R^8 独立地是 C_1 - C_6 烷基、氰基、 $-OR^B$ 、 $-N(R^C)(R^D)$ 、 $-C(O)N(R^C)(R^D)$ 、或 $-N(R^C)C(O)R^A$ ；

[1055] n 是0、1、2、或3；

[1056] o 是0、1、2、3、4、或5；并且

[1057] x 是0、1、或2。

[1058] 在一些实施例中， X 是0。

[1059] 在一些实施例中， M 不存在。

[1060] 在一些实施例中，环A是杂环基。在一些实施例中，环A是杂环基，例如，6元杂环基或5元杂环基。在一些实施例中，环A是含氮杂环基。在一些实施例中，环A是哌啶基（例如，哌啶-2,6-二酮基）。

[1061] 在一些实施例中， M 不存在且环A是杂环基（例如，哌啶基，例如，哌啶-2,6-二酮基）。

[1062] 在一些实施例中， R^{2a} 和 R^{2b} 中的每个独立地是氢。在一些实施例中， R^{2a} 和 R^{2b} 连同与它们所附接的碳原子形成羰基基团。

[1063] 在一些实施例中， R^{3a} 是氢、 $-N(R^C)(R^D)$ 或 $-N(R^C)C(O)R^A$ 。在一些实施例中， R^{3a} 是氢。在一些实施例中， R^{3a} 是 $-N(R^C)(R^D)$ （例如， $-NH_2$ ）。在一些实施例中， R^{3a} 是 $-N(R^C)C(O)R^A$ （例如， $NHC(O)CH_3$ ）。

[1064] 在一些实施例中， R^3 是 C_1 - C_6 杂烷基（例如， $CH_2NHC(O)CH_2$ -苯基-叔丁基）。在一些实施例中， n 是0或1。在一些实施例中， n 是0。在一些实施例中， n 是1。

[1065] 所述化合物可包含一种或多种手性中心或作为一种或多种立体异构体存在。在一些实施例中，所述化合物包含单一手性中心且是立体异构体（例如， R 立体异构体和 S 立体异构体）的混合物。在一些实施例中，所述混合物包含一定比率的 R 立体异构体与 S 立体异构体，例如， R 立体异构体与 S 立体异构体的比率为约1:1（即，外消旋混合物）。在一些实施例中，所述混合物包含 R 立体异构体与 S 立体异构体，其比率为约51:49、约52:48、约53:47、约54:46、约55:45、约60:40、约65:35、约70:30、约75:25、约80:20、约85:15、约90:10、约95:5、或约99:1。在一些实施例中，所述混合物包含 S 立体异构体与 R 立体异构体，其比率为约51:

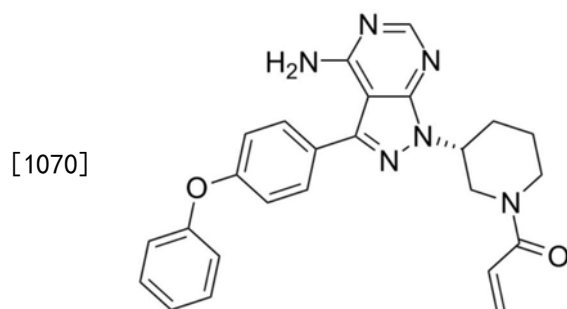
49、约52:48、约53:47、约54:46、约55:45、约60:40、约65:35、约70:30、约75:25、约80:20、约85:15、约90:10、约95:5、或约99:1。在一些实施例中,所述化合物是具有式(I)或式(I-a)的单一立体异构体,例如,单一R立体异构体或单一S立体异构体。

[1066] 激酶抑制剂

[1067] 在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法与激酶抑制剂组合施用。在一个实施例中,激酶抑制剂是CDK4抑制剂,例如本文所述的CDK4抑制剂,例如CDK4/6抑制剂,例如像6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-2-(5-哌嗪-1-基-吡啶-2-基氨基)-8H-吡啶并[2,3-d]嘧啶-7-酮,盐酸盐(也称为帕柏西利(palbociclib)或PD0332991)。在一个实施例中,激酶抑制剂是BTK抑制剂,例如本文描述的BTK抑制剂,例如像依鲁替尼。在一个实施例中,激酶抑制剂是mTOR抑制剂,例如本文描述的mTOR抑制剂,例如像雷帕霉素、雷帕霉素类似物、OSI-027。该mTOR抑制剂可以是例如mTORC1抑制剂和/或mTORC2抑制剂,例如本文描述的mTORC1抑制剂和/或mTORC2抑制剂。在一个实施例中,激酶抑制剂是MNK抑制剂,例如本文描述的MNK抑制剂,例如像4-氨基-5-(4-氟苯胺基)-吡啶并[3,4-d]嘧啶。该MNK抑制剂可以是例如MNK1a、MNK1b、MNK2a和/或MNK2b抑制剂。在一个实施例中,激酶抑制剂是本文所述的双PI3K/mTOR抑制剂,例如像PF-04695102。在一个实施例中,激酶抑制剂是DGK抑制剂,例如本文所述的DGK抑制剂,例如像DGKinh1(D5919)或DGKinh2(D5794)。

[1068] 在一个实施例中,所述激酶抑制剂是选自以下的BTK抑制剂:依鲁替尼(PCI-32765);GDC-0834;RN-486;CGI-560;CGI-1764;HM-71224;CC-292;ONO-4059;CNX-774;和LFM-A13。在优选的实施例中,BTK抑制剂不降低或抑制白介素-2-诱导型激酶(ITK)的激酶活性,并且选自GDC-0834;RN-486;CGI-560;CGI-1764;HM-71224;CC-292;ONO-4059;CNX-774;和LFM-A13。

[1069] 在一个实施例中,激酶抑制剂是BTK抑制剂,例如依鲁替尼(PCI-32765)。在实施例中,将本文所述的表达CAR的细胞与BTK抑制剂(例如,依鲁替尼)组合向受试者施用。在实施例中,将本文所述的表达CAR的细胞与依鲁替尼(也称为PCI-32765)组合向受试者施用。依鲁替尼(1-[(3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡啶并[3,4-d]嘧啶-1-基]哌啶-1-基]丙-2-烯-1-酮)的结构如下所示。



[1071] 在实施例中,受试者患有CLL、套细胞淋巴瘤(MCL)、或小淋巴细胞淋巴瘤(SLL)。例如,受试者在染色体17的短臂中具有缺失(例如白血病细胞中的del(17p))。在其他实例中,受试者不具有del(17p)。在实施例中,受试者患有复发CLL或SLL,例如受试者此前已施用癌症疗法(例如此前已施用一次、两次、三次、或四次先前癌症疗法)。在实施例中,受试者患有难治性CLL或SLL。在其他实施例中,受试者患有滤泡性淋巴瘤,例如复发或难治性滤泡性淋巴瘤。在一些实施例中,将依鲁替尼以约300-600mg/天(例如约300-350、350-400、400-450、

450-500、500-550、或550-600mg/天,例如约420mg/天或约560mg/天)的剂量例如口服施用。在实施例中,依鲁替尼以每天约250mg、300mg、350mg、400mg、420mg、440mg、460mg、480mg、500mg、520mg、540mg、560mg、580mg、600mg(例如,250mg、420mg或560mg)的剂量施用一段时间,例如每天施用达21天周期,或每天施用达28天周期。在一个实施例中,施用1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个周期的依鲁替尼。在一些实施例中,将依鲁替尼与利妥昔单抗组合施用。参见例如,Burger等人(2013) Ibrutinib In Combination With Rituximab (iR) Is Well Tolerated and Induces a High Rate Of Durable Remissions In Patients With High-Risk Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL):New,Updated Results Of a Phase II Trial In 40Patients[与利妥昔单抗(iR)组合的依鲁替尼耐受良好并且在高风险慢性淋巴细胞性白血病(CLL)患者中诱导高比率的持久缓解:40名患者的II期试验的新的更新结果],摘要675第55届ASH年会和博览会(55th ASH Annual Meeting and Exposition)呈现,新奥尔良,LA 7-10Dec。不受理论束缚,认为添加依鲁替尼可增强T细胞的增殖反应,并可能使T细胞从T辅助-2(Th2)转变至T-辅助-1(Th1)表型。Th1和Th2是辅助性T细胞的表型,其中Th1相比Th2指导不同的免疫反应途径。Th1表型与促炎反应相关,例如用于杀伤细胞(如细胞内病原体/病毒或癌细胞),或使自身免疫反应永久化。Th2表型与嗜酸性粒细胞积累和抗炎症反应相关。

[1072] EGFR抑制剂

[1073] 在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法与表皮生长因子受体(EGFR)的抑制剂组合施用。

[1074] 在一些实施例中,EGFR抑制剂是(R,E)-N-(7-氯-1-(1-(4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰)氮杂环庚烷-3-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)-2-甲基异烟酰胺(化合物A40)或在PCT披露号WO 2013/184757中披露的化合物。

[1075] 在一些实施例中,所述EGFR抑制剂(R,E)-N-(7-氯-1-(1-(4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰)氮杂环庚烷-3-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)-2-甲基异烟酰胺(化合物A40)、或在PCT披露号WO 2013/184757中披露的化合物,是共价的、不可逆的酪氨酸激酶抑制剂。在某些实施例中,所述EGFR抑制剂,(R,E)-N-(7-氯-1-(1-(4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰)氮杂环庚烷-3-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)-2-甲基异烟酰胺(化合物A40)、或在PCT披露号WO 2013/184757中披露的化合物,抑制激活性EGFR突变(L858R,ex19del)。在其他实施例中,所述EGFR抑制剂,(R,E)-N-(7-氯-1-(1-(4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰)氮杂环庚烷-3-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)-2-甲基异烟酰胺(化合物A40)、或在PCT披露号WO 2013/184757中披露的化合物,不抑制、或不实质上抑制野生型(wt)EGFR。化合物A40在EGFR突变NSCLC患者中显示出功效。在一些实施例中,所述EGFR抑制剂(R,E)-N-(7-氯-1-(1-(4-(二甲基氨基)丁-2-烯酰)氮杂环庚烷-3-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-基)-2-甲基异烟酰胺(化合物A40)、或在PCT披露号WO 2013/184757中披露的化合物还抑制TEC家族激酶中的一种或多种激酶。Tec家族激酶包括,例如,ITK、BMX、TEC、RLK、和BTK,并且在T-细胞受体传播和趋化因子受体信号传导中是最重要的(Schwartzberg等人(2005)Nat. Rev. Immunol. [免疫学综述]第284-95页)。例如,化合物A40可以抑制ITK,其中生化IC₅₀为1.3nM。ITK是Th2细胞存活的关键酶,其抑制作用导致Th2和Th1细胞之间平衡的转变。

[1076] 在一些实施例中,EGFR抑制剂选自厄洛替尼、吉非替尼、塞妥昔单抗、帕尼妥木单

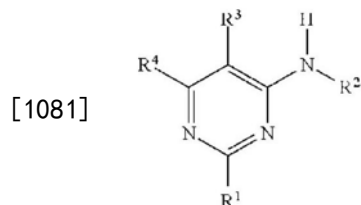
抗、奈西妥木单抗、PF-00299804、尼莫妥珠单抗、或R05083945之一。

[1077] 腺苷A2A受体抑制剂

[1078] 在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法与腺苷A2a受体(A2aR)拮抗剂(例如A2aR途径的抑制剂,例如腺苷抑制剂,例如A2aR或CD-73的抑制剂)组合施用。在一些实施例中,所述A2aR拮抗剂选自PBF509(帕罗生物制药公司/诺华公司(Palobiofarma/Novartis))、CPI444/V81444(卡沃斯公司/基因泰克公司(Corvus/Genentech))、AZD4635/HTL-1071(阿斯利康公司/海普泰公司(AstraZeneca/Heptares))、维帕迪南(Vipadenant)(雷达思公司/朱诺公司(Redox/Juno))、GBV-2034(Globavir公司)、AB928(阿克斯生物科学公司(Arcus Biosciences))、茶碱、伊曲茶碱(协和发酵工业株式会社(Kyowa Hakko Kogyo))、托扎迪南/SYN-115(阿索尔公司(Acorda))、KW-6356(协和发酵工业株式会社)、ST-4206(理地安生物科学公司(Leadiant Biosciences))、或普瑞迪南/SCH 420814(默克公司/谢林公司(Merck/Schering))。

[1079] 在一些实施例中,所述A2aR拮抗剂包含PBF509或美国专利号8,796,284或国际申请披露号W0 2017/025918(将其通过引用以其整体并入本文)中所披露的化合物。

[1080] 在一些实施例中,所述A2aR拮抗剂包含具有式(I)的化合物:



[1082] 其中

[1083] R¹代表选自吡唑、噁唑和三唑环组成的组的五元杂芳基环,其任选地被一个或两个卤素原子或一个或两个甲基取代;

[1084] R²代表氢原子;

[1085] R³代表溴或氯原子;

[1086] R⁴独立地代表:

[1087] a) 五元杂芳基,其任选地被一个或多个卤素原子或被选自烷基、环烷基、烷氧基、烷硫基、氨基、单烷基氨基或二烷基氨基组成的组的一个或多个基团取代

[1088] b) 基团-N(R⁵)(R⁶),其中R⁵和R⁶独立地代表:

[1089] 氢原子;

[1090] 直链或支链的具有3至6个碳原子的烷基或环烷基,其任选地被一个或多个卤素原子或被选自环烷基(3-8个碳原子)、羟基、烷氧基、氨基、单烷基氨基和二烷基氨基(1-8个碳原子)组成的组的一个或多个基团取代;

[1091] 或者R⁵和R⁶连同氮原子形成4元到6元的饱和杂环基团,可以在其中插入其他杂原子,其任选地被一个或多个卤素原子或被一个或多个烷基(1-8个碳原子)、羟基、低级烷氧基、氨基、单烷基氨基或二烷基氨基取代,或

[1092] c) 基团-OR⁷或-SR⁷,其中R⁷独立地代表:

[1093] 直链或支链的烷基(1-8个碳原子)或环烷基(3-8个碳原子),其任选地被一个或多个卤素原子或选自烷基(1-8个碳原子)、烷氧基(1-8个碳原子)、氨基、单烷基氨基或二烷

基氨基(1-8个碳原子)组成的组的一个或多个基团取代;或者

[1094] 任选被一个或多个卤素原子取代的苯环。

[1095] 在某些实施例中,所述A2aR拮抗剂包含5-溴-2,6-二-(1H-吡唑-1-基)嘧啶-4-胺。

[1096] 在某些实施例中,所述A2AR拮抗剂包含CPI444/V81444。CPI-444和其他A2aR拮抗剂披露于国际申请披露号W0 2009/156737(将其通过引用以其整体并入本文)中。在某些实施例中,所述A2aR拮抗剂是(S)-7-(5-甲基咪喃-2-基)-3-((6-((四氢咪喃-3-基)氧基)甲基)吡啶-2-基)甲基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-胺。在某些实施例中,所述A2aR拮抗剂是(R)-7-(5-甲基咪喃-2-基)-3-((6-((四氢咪喃-3-基)氧基)甲基)吡啶-2-基)甲基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-胺,或其外消旋体。在某些实施例中,所述A2aR拮抗剂是7-(5-甲基咪喃-2-基)-3-((6-((四氢咪喃-3-基)氧基)甲基)吡啶-2-基)甲基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-胺。

[1097] 在某些实施例中,所述A2aR拮抗剂是AZD4635/HTL-1071。A2aR拮抗剂披露于国际申请披露号W0 2011/095625(将其通过引用以其整体并入本文)中。在某些实施例中,所述A2aR拮抗剂是6-(2-氯-6-甲基吡啶-4-基)-5-(4-氟苯基)-1,2,4-三嗪-3-胺。

[1098] 在某些实施例中,所述A2aR拮抗剂是ST-4206(理地安生物科学公司)。在某些实施例中,所述A2aR拮抗剂是描述于美国专利号9,133,197(将其通过引用以其整体并入本文)中的A2aR拮抗剂。

[1099] 在某些实施例中,所述A2AR拮抗剂是描述于美国专利号8,114,845和9,029,393、美国申请公开号2017/0015758和2016/0129108(将其通过引用以其整体并入本文)中的A2aR拮抗剂。

[1100] 在一些实施例中,所述A2aR拮抗剂是伊曲茶碱(CAS登记号:155270-99-8)。伊曲茶碱也称为KW-6002或8-[(E)-2-(3,4-二甲氧基苯基)乙烯基]-1,3-二乙基-7-甲基-3,7-二氢-1H-嘌呤-2,6-二酮。例如,在LeWitt等人,(2008)Annals of Neurology[神经病学年鉴]63(3):295-302)中披露了伊曲茶碱。

[1101] 在一些实施例中,所述A2aR拮抗剂是托扎迪南(Biotie公司)。托扎迪南也称为SYN115或4-羟基-N-(4-甲氧基-7-吗啉-4-基-1,3-苯并噻唑-2-基)-4-甲基哌啶-1-甲酰胺。托扎迪南阻断在A2a受体上的内源性腺苷的作用,导致多巴胺对D2受体的作用增强,并抑制mGluR5受体上的谷氨酸的作用。在一些实施例中,A2aR拮抗剂是普瑞迪南(CAS登记号:377727-87-2)。普瑞迪南也称为SCH 420814或2-(2-咪喃基)-7-[2-[4-[4-(2-甲氧基乙氧基)苯基]-1-哌嗪基]乙基]7H-吡唑并[4,3-e][1,2,4]三唑并[1,5-c]嘧啶-5-胺。普瑞迪南被开发为一种药物,可作为腺苷A2A受体的有效和选择性拮抗剂。

[1102] 在一些实施例中,所述A2aR拮抗剂是维帕迪南。维帕迪南也称为BIIB014、V2006、或3-[(4-氨基-3-甲基苯基)甲基]-7-(咪喃-2-基)三唑并[4,5-d]嘧啶-5-胺。

[1103] 其他示例性A2aR拮抗剂包括例如,ATL-444、MSX-3、SCH-58261、SCH-412,348、SCH-442,416、VER-6623、VER-6947、VER-7835、CGS-15943、或ZM-241,385。

[1104] IDO/TDO抑制剂

[1105] 在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法与吲哚胺2,3-双加氧酶(IDO)和/或色氨酸2,3-双加氧酶(TDO)的抑制剂组合施用。在一些实施例中,所述IDO抑制剂选自(4E)-4-[(3-氯-4-氟苯胺基)-亚硝基亚甲基]-1,2,5-噁二唑-3-胺(也称为依多司他

(epacadostat) 或 INCB24360)、吡啶西莫德 (NLG8189)、(1-甲基-D-色氨酸)、 α -环己基-5H-咪唑并[5,1-a]异吡啶-5-乙醇(也称为 NLG919)、吡啶西莫德、BMS-986205(以前称为 F001287)。

[1106] 在一些实施例中,IDO/TDO抑制剂是英多莫德(纽琳基因公司(NewLink Genetics))。英多莫德,1-甲基-色氨酸的D异构体,是一种口服施用的小分子吡啶胺2,3-双加氧酶(IDO)途径抑制剂,该抑制剂破坏了由肿瘤逃避免疫介导的破坏的机制。

[1107] 在一些实施例中,IDO/TDO抑制剂是NLG919(纽琳基因公司)。NLG919是有效的IDO(吡啶胺-(2,3)-双加氧酶)途径抑制剂,在无细胞测定中具有7nM/75nM的 K_i/EC_{50} 。

[1108] 在一些实施例中,IDO/TDO抑制剂是依多司他(CAS登记号:1204669-58-8)。依多司他也称为INCB24360或INCB024360(因赛特公司)。依多司他是有效的和选择性的吡啶胺2,3-双加氧酶(IDO1)抑制剂,具有10nM的 IC_{50} ,对其他相关酶(例如IDO2或色氨酸2,3-双加氧酶(TDO))具有高选择性。

[1109] 在一些实施例中,IDO/TDO抑制剂是F001287(福克斯公司/BMS公司(Flexus/BMS))。F001287是吡啶胺2,3-双加氧酶1(IDO1)的小分子抑制剂。

[1110] CD19 CAR

[1111] 在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法与表达CD19CAR的细胞疗法组合施用。

[1112] 在一个实施例中,所述CD19 CAR的抗原结合结构域具有与描述于Nicholson等人Mol.Immun.[分子免疫学]34(16-17):1157-1165(1997)中的FMC63 scFv片段相同或相似的结合特异性。在一个实施例中,所述CD19 CAR的抗原结合结构域包括在Nicholson等人Mol.Immun.[分子免疫学]34(16-17):1157-1165(1997)中描述的scFv片段。

[1113] 在一些实施例中,所述CD19 CAR包含根据WO 2014/153270(通过引用并入本文)的表3的抗原结合结构域(例如,人源化抗原结合结构域)。WO2014/153270还描述了测定多种CAR构建体的结合和功效的方法。

[1114] 在一个方面,所述亲本鼠scFv序列是在PCT公开W02012/079000(通过引用并入本文)中提供的CAR19构建体。在一个实施例中,所述抗CD19结合结构域是WO 2012/079000中所述的scFv。

[1115] 在一个实施例中,所述CAR分子包含在PCT公开W02012/079000中作为SEQ ID NO:12提供的融合多肽序列,其提供鼠来源的特异性结合至人CD19的scFv片段。

[1116] 在一个实施例中,CD19 CAR包含在PCT公开W02012/079000中作为SEQ ID NO:12提供的氨基酸序列。在实施例中,氨基酸序列是

[1117] (MALPVTALLLPLALLLHAARP) diqmtqtsslslaslgdrvtiscrasqdiskylnwyqqkpdgtvk lliyhtsrhlhsgvpsrfsrgsgsgtdysltisnleqediatyfcqqgntlpytfgggtkleitggggsgggsgggg sevklqesgpglvapsqslsvtctvsgvslpdygvswirpprkglewlgviwgsettyynsalksrliikdnsk sqvflkmnslqtddtaiyycahyygggyamdywgqtsvtvssttpaprptpaptiasqplslrpeacrpaa ggavhtrglfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgrklllyifkqpfmrpvqtteedgcsrpfpeeeeg gcelrvkfsrsadapaykqgnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeays eigmkgerrrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr (SEQ ID NO:2029) 或与其基本上同源的序列。信号肽的任选序列以大写字母和大括号示出。

[1118] 在一个实施例中,氨基酸序列是:

[1119] Diqmtqttsslsaslgdrvtiscrasqdiskylwnwyqqkpdgtvkllyhtsrhsgvpsrfsfgsgsgtdysltisnleqediatyfcqqgntlpytfgggtkleitggggsgggsggggsevklqesgpglvapsqslsvctvsgvslpdygvswirqprrkglewlgviwgsettyynsalksrlytiikdnksqvflkmnslqtddtaiyycahyyyggisyamdywgqtsvtvssttppaprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrglfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgrklllyifkqpfmrvpqtqqeedgcsrpfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqqnqlynelnlgrreedyvldkrrgrdpemggkprrrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrrgkghdglyqglstatkdydalhmqalppr (SEQ ID NO:2030) 或与其基本上同源的序列。

[1120] 在一个实施例中,所述CD19 CAR具有USAN名称TISAGENLECLEUCEL-T。在实施例中,CTL019通过T细胞的基因修饰来制备,通过用在EF-1 α 启动子控制下含有CTL019转基因的自身失活、复制缺陷型慢病毒(LV)运载体的转导进行稳定插入来介导。CTL019可以是转基因阳性和阴性T细胞的混合物,其基于转基因阳性T细胞百分比递送至受试者。

[1121] 在其他实施例中,CD19 CAR包含根据通过引用并入本文的W02014/153270的表3的抗原结合结构域(例如人源化抗原结合结构域)。

[1122] 对于临床环境,鼠CD19抗体的人源化可以是所希望的,其中小鼠特异性残基在接受CART19治疗(即,用CAR19构建体转导的T细胞治疗)的患者中可以诱导人-抗-小鼠抗原(HAMA)反应。人源化CD19CAR序列的产生、表征和功效描述于国际申请W0 2014/153270中,将所述文献通过引用以其整体并入本文,包括实例1-5(第115-159页)。

[1123] 在一些实施例中,CD19 CAR构建体描述于PCT公开W02012/079000中(通过引用并入本文),并且鼠CD19 CAR和scFv构建体的氨基酸序列在下表8中示出,或者是与前述序列中的任一种基本上相同的序列(例如,与本文所述的任何序列具有至少85%、90%、95%或更高同一性)。

[1124] 表8.CD19 CAR构建体

SEQ ID NO	区
CTL019	
1300	CTL019 全长氨基酸序列
1301	CTL019 全长核苷酸序列
1302	CTL019 scFv 结构域
mCAR1	
1303	mCAR1 scFv
1304	mCAR1 全长氨基酸序列
mCAR2	
1305	mCAR2 scFv
1306	mCAR2 氨基酸序列
1307	mCAR2 全长氨基酸序列

[1125]

[1126]

mCAR3	
1308	mCAR3 scFv
1309	mCAR3 全长氨基酸序列
SSJ25-C1	
1310	SSJ25-C1 VH 序列
1311	SSJ25-C1 VL
人源化 CAR1	
1312	CAR1 scFv 结构域
1313	CAR 1 - 完全 - aa
人源化 CAR2	
1314	CAR2 scFv 结构域 - aa (接头是加下划线的)
1315	CAR2 scFv 结构域 - nt
1316	CAR 2 - 全长 - aa
1317	CAR 2 - 全长 - nt
1318	CAR2 -可溶性 scFv - aa
人源化 CAR3	
1319	CAR3 scFv 结构域
1320	CAR 3 - 完全 - aa
人源化 CAR4	
1321	CAR4 scFv 结构域
1322	CAR 4 - 完全 - aa
人源化 CAR5	
1323	CAR5 scFv 结构域
1324	CAR 5 - 完全 - aa
人源化 CAR6	
1325	CAR6 scFv 结构域
1326	CAR6-完全-aa
人源化 CAR7	
1327	CAR7 scFv 结构域
1328	CAR 7 完全 - aa
人源化 CAR8	
1329	CAR8 scFv 结构域
1330	CAR 8 - 完全 - aa
人源化 CAR9	

[1127]

1331	CAR9 scFv 结构域
1332	CAR 9 - 完全 - aa
人源化 CAR10	
1333	CAR10 scFv 结构域
1334	CAR 10 完全 - aa
人源化 CAR11	
1335	CAR11 scFv 结构域
1336	CAR 11 完全 - aa
人源化 CAR12	
1337	CAR12 scFv 结构域
1338	CAR 12 - 完全 - aa
鼠 CART19	
1339	HCDR1 (Kabat)
1340	HCDR2 (Kabat)
1341	HCDR3 (Kabat)
1342	LCDR1 (Kabat)
1343	LCDR2 (Kabat)
1344	LCDR3 (Kabat)
人源化 CART19 a	
1345	HCDR1 (Kabat)
1346	HCDR2 (Kabat)
1347	HCDR3 (Kabat)
1348	LCDR1 (Kabat)
1349	LCDR2 (Kabat)
1350	LCDR3 (Kabat)
人源化 CART19 b	
1351	HCDR1 (Kabat)
1352	HCDR2 (Kabat)
1353	HCDR3 (Kabat)
1354	LCDR1 (Kabat)
1355	LCDR2 (Kabat)
1356	LCDR3 (Kabat)
人源化 CART19 c	
1357	HCDR1 (Kabat)

[1128]	1358	HCDR2 (Kabat)
	1359	HCDR3 (Kabat)
	1360	LCDR1 (Kabat)
	1361	LCDR2 (Kabat)
	1362	LCDR3 (Kabat)

[1129] 含有人源化抗CD19 scFv结构域的CD19 CAR构建体描述于PCT公开WO 2014/153270(通过引用并入本文)中。

[1130] 抗CD19 scFv结构域的鼠和人源化CDR序列的序列对于重链可变结构域示出在表9中并且对于轻链可变结构域示出在表10中。SEQ ID NO是指表8中发现的那些。

[1131] 表9.CD19抗体的重链可变结构域CDR (Kabat) SEQ ID NO

[1132]	候选物	HCDR1	HCDR2	HCDR3
	murine_CART19	SEQ ID NO:1339	SEQ ID NO:1340	SEQ ID NO:1341
	人源化_CART19a	SEQ ID NO:1345	SEQ ID NO:1346	SEQ ID NO:1347
	人源化_CART19b	SEQ ID NO:1351	SEQ ID NO:1352	SEQ ID NO:1353
	人源化_CART19c	SEQ ID NO:1357	SEQ ID NO:1358	SEQ ID NO:1359

[1133] 表10.CD19抗体的轻链可变结构域CDR (Kabat) SEQ ID NO

[1134]	候选物	LCDR1	LCDR2	LCDR3
	murine_CART19	SEQ ID NO:1342	SEQ ID NO:1343	SEQ ID NO:1344
	人源化_CART19a	SEQ ID NO:1348	SEQ ID NO:1349	SEQ ID NO:1350
	人源化_CART19b	SEQ ID NO:1354	SEQ ID NO:1355	SEQ ID NO:1356
	人源化_CART19c	SEQ ID NO:1360	SEQ ID NO:1361	SEQ ID NO:1362

[1135] 可以根据本披露使用本领域任何已知的CD19 CAR,例如任何已知的CD19 CAR的CD19抗原结合结构域。例如, LG-740; CD19 CAR描述于以下中: 美国专利号8,399,645; 美国专利号7,446,190; Xu等人, Leuk Lymphoma. [白血病淋巴瘤] 2013 54(2):255-260(2012); Cruz等人, Blood [血液] 122(17):2965-2973(2013); Brentjens等人, Blood, [血液] 118(18):4817-4828(2011); Kochenderfer等人, Blood [血液] 116(20):4099-102(2010); Kochenderfer等人, Blood [血液] 122(25):4129-39(2013); 以及美国基因与细胞治疗学会第16届年会(ASGCT)(五月15-18日,盐湖城)2013, Abst [摘要] 10。

[1136] 示例性的CD19 CAR包括本文所述的CD19 CAR,例如,在本文所述的一个或多个表格中,或Xu等人, Blood [血液] 123.24(2014):3750-9、Kochenderfer等人, Blood [血液] 122.25(2013):4129-39、Cruz等人, Blood [血液] 122.17(2013):2965-73、NCT00586391、NCT01087294、NCT02456350、NCT00840853、NCT02659943、NCT02650999、NCT02640209、NCT01747486、NCT02546739、NCT02656147、NCT02772198、NCT00709033、NCT02081937、NCT00924326、NCT02735083、NCT02794246、NCT02746952、NCT01593696、NCT02134262、NCT01853631、NCT02443831、NCT02277522、NCT02348216、NCT02614066、NCT02030834、NCT02624258、NCT02625480、NCT02030847、NCT02644655、NCT02349698、NCT02813837、NCT02050347、NCT01683279、NCT02529813、NCT02537977、NCT02799550、NCT02672501、NCT02819583、NCT02028455、NCT01840566、NCT01318317、NCT01864889、NCT02706405、

NCT01475058、NCT01430390、NCT02146924、NCT02051257、NCT02431988、NCT01815749、NCT02153580、NCT01865617、NCT02208362、NCT02685670、NCT02535364、NCT02631044、NCT02728882、NCT02735291、NCT01860937、NCT02822326、NCT02737085、NCT02465983、NCT02132624、NCT02782351、NCT01493453、NCT02652910、NCT02247609、NCT01029366、NCT01626495、NCT02721407、NCT01044069、NCT00422383、NCT01680991、NCT02794961或NCT02456207中描述的抗CD19 CAR,这些文献每个通过引用以其整体并入本文。

[1137] CD20 CAR

[1138] 在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法与表达CD20 CAR的细胞疗法组合施用。

[1139] 在一个实施例中,所述CD20 CAR包括以下一项或多项:LC CDR1、LC CDR2、LC CDR3、HC CDR1、HC CDR2、HC CDR3、VH、VL、scFv或表11、12、13的构建体的全长序列,例如CAR20-1、CAR20-2、CAR20-3、CAR20-4、CAR20-5、CAR20-6、CAR20-7、CAR20-8、CAR20-9、CAR20-10、CAR20-11、CAR20-12、CAR20-13、CAR20-14、CAR20-15或CAR20-16,或与其基本相同的序列(例如,与其具有80%、85%、90%或95%的同一性的序列)。表11中的每个完全CD20 CAR氨基酸序列包括对应于以下氨基酸序列的21个氨基酸的任选信号肽序列: MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO:2031)。表11中的每个完全CAR核苷酸序列包括对应于对应于以下核苷酸序列的前63个核苷酸的任选核苷酸信号肽序列: ATGGCCCTCCCTGTCACCG CCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTCGGCC (SEQ ID NO:2032)。

[1140] 表11.CD20 CAR构建体

[1141]

SEQ ID NO:	Ab 区
CD20-C3H2	
1363 (Kabat)	HCDR1
1364 (Kabat)	HCDR2
1365 (Kabat)	HCDR3
1366 (Chothia)	HCDR1
1367 (Chothia)	HCDR2
1368 (Chothia)	HCDR3
1369 (IMGT)	HCDR1
1370 (IMGT)	HCDR2
1371 (IMGT)	HCDR3
1372 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR1
1373 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR2
1374 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR3
1375	VH
1376	DNA VH
1377 (Kabat)	LCDR1
1378 (Kabat)	LCDR2

[1142]

1379 (Kabat)	LCDR3
1380 (Chothia)	LCDR1
1381 (Chothia)	LCDR2
1382 (Chothia)	LCDR3
1383 (IMGT)	LCDR1
1384 (IMGT)	LCDR2
1385 (IMGT)	LCDR3
1386 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR1
1387 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR2
1388 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR3
1389	VL
1390	DNA VL
1391	接头
1392	scFv (VH-接头-VL)
1393	DNA scFv (VH-接头-VL)
1394	全长 CAR 氨基酸序列
1395	全长 CAR 核酸序列
CD20-C5H1	
1396 (Kabat)	HCDR1
1397 (Kabat)	HCDR2
1398 (Kabat)	HCDR3
1399 (Chothia)	HCDR1
1400 (Chothia)	HCDR2
1401 (Chothia)	HCDR3
1402 (IMGT)	HCDR1
1403 (IMGT)	HCDR2
1404 (IMGT)	HCDR3
1405 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR1
1406 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR2
1407 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR3
1408	VH
1409	DNA VH
1410 (Kabat)	LCDR1
1411 (Kabat)	LCDR2

[1143]

1412 (Kabat)	LCDR3
1413 (Chothia)	LCDR1
1414 (Chothia)	LCDR2
1415 (Chothia)	LCDR3
1416 (IMGT)	LCDR1
1417 (IMGT)	LCDR2
1418 (IMGT)	LCDR3
1419 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR1
1420 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR2
1421 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR3
1422	VL
1423	DNA VL
1424	接头
1425	scFv (VH-接头-VL)
1426	DNA scFv (VH-接头-VL)
1427	全长 CAR 氨基酸序列
1428	全长 CAR 核酸序列
CD20-C2H1	
1429 (Kabat)	HCDR1
1430 (Kabat)	HCDR2
1431 (Kabat)	HCDR3
1432 (Chothia)	HCDR1
1433 (Chothia)	HCDR2
1434 (Chothia)	HCDR3
1435 (IMGT)	HCDR1
1436 (IMGT)	HCDR2
1437 (IMGT)	HCDR3
1438 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR1
1439 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR2
1440 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR3
1441	VH
1442	DNA VH
1443 (Kabat)	LCDR1
1444 (Kabat)	LCDR2

[1144]

1445 (Kabat)	LCDR3
1446 (Chothia)	LCDR1
1447 (Chothia)	LCDR2
1448 (Chothia)	LCDR3
1449 (IMGT)	LCDR1
1450 (IMGT)	LCDR2
1451 (IMGT)	LCDR3
1452 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR1
1453 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR2
1454 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR3
1455	VL
1456	DNA VL
1457	接头
1458	scFv (VH-接头-VL)
1459	DNA scFv (VH-接头-VL)
1460	全长 CAR 氨基酸序列
1461	全长 CAR 核酸序列
CD20-C2H2	
1462 (Kabat)	HCDR1
1463 (Kabat)	HCDR2
1464 (Kabat)	HCDR3
1465 (Chothia)	HCDR1
1466 (Chothia)	HCDR2
1467 (Chothia)	HCDR3
1468 (IMGT)	HCDR1
1469 (IMGT)	HCDR2
1470 (IMGT)	HCDR3
1471 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR1
1472 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR2
1473 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR3
1474	VH
1475	DNA VH
1476 (Kabat)	LCDR1
1477 (Kabat)	LCDR2

[1145]

1478 (Kabat)	LCDR3
1479 (Chothia)	LCDR1
1480 (Chothia)	LCDR2
1481 (Chothia)	LCDR3
1482 (IMGT)	LCDR1
1483 (IMGT)	LCDR2
1484 (IMGT)	LCDR3
1485 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR1
1486 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR2
1487 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR3
1488	VL
1489	DNA VL
1490	接头
1491	scFv (VH-接头-VL)
1492	DNA scFv (VH-接头-VL)
1493	全长 CAR 氨基酸序列
1494	全长 CAR 核酸序列
CD20-C2H3	
1495 (Kabat)	HCDR1
1496 (Kabat)	HCDR2
1497 (Kabat)	HCDR3
1498 (Chothia)	HCDR1
1499 (Chothia)	HCDR2
1500 (Chothia)	HCDR3
1501 (IMGT)	HCDR1
1502 (IMGT)	HCDR2
1503 (IMGT)	HCDR3
1504 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR1
1505 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR2
1506 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR3
1507	VH
1508	DNA VH
1509 (Kabat)	LCDR1
1510 (Kabat)	LCDR2

[1146]

1511 (Kabat)	LCDR3
1512 (Chothia)	LCDR1
1513 (Chothia)	LCDR2
1514 (Chothia)	LCDR3
1515 (IMGT)	LCDR1
1516 (IMGT)	LCDR2
1517 (IMGT)	LCDR3
1518 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR1
1519 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR2
1520 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR3
1521	VL
1522	DNA VL
1523	接头
1524	scFv (VH-接头-VL)
1525	DNA scFv (VH-接头-VL)
1526	全长 CAR 氨基酸序列
1527	全长 CAR 核酸序列
CD20-C2H4	
1528 (Kabat)	HCDR1
1529 (Kabat)	HCDR2
1530 (Kabat)	HCDR3
1531 (Chothia)	HCDR1
1532 (Chothia)	HCDR2
1533 (Chothia)	HCDR3
1534 (IMGT)	HCDR1
1535 (IMGT)	HCDR2
1536 (IMGT)	HCDR3
1537 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR1
1538 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR2
1539 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR3
1540	VH
1541	DNA VH
1542 (Kabat)	LCDR1
1543 (Kabat)	LCDR2

[1147]

1544 (Kabat)	LCDR3
1545 (Chothia)	LCDR1
1546 (Chothia)	LCDR2
1547 (Chothia)	LCDR3
1548 (IMGT)	LCDR1
1549 (IMGT)	LCDR2
1550 (IMGT)	LCDR3
1551 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR1
1552 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR2
1553 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR3
1554	VL
1555	DNA VL
1556	接头
1557	scFv (VH-接头-VL)
1558	DNA scFv (VH-接头-VL)
1559	全长 CAR 氨基酸序列
1560	全长 CAR 核酸序列
CD20-C3H1	
1561 (Kabat)	HCDR1
1562 (Kabat)	HCDR2
1563 (Kabat)	HCDR3
1564 (Chothia)	HCDR1
1565 (Chothia)	HCDR2
1566 (Chothia)	HCDR3
1567 (IMGT)	HCDR1
1568 (IMGT)	HCDR2
1569 (IMGT)	HCDR3
1570 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR1
1571 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR2
1572 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR3
1573	VH
1574	DNA VH
1575 (Kabat)	LCDR1
1576 (Kabat)	LCDR2

[1148]

1577 (Kabat)	LCDR3
1578 (Chothia)	LCDR1
1579 (Chothia)	LCDR2
1580 (Chothia)	LCDR3
1581 (IMGT)	LCDR1
1582 (IMGT)	LCDR2
1583 (IMGT)	LCDR3
1584 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR1
1585 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR2
1586 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR3
1587	VL
1588	DNA VL
1589	接头
1590	scFv (VH-接头-VL)
1591	DNA scFv (VH-接头-VL)
1592	全长 CAR 氨基酸序列
1593	全长 CAR 核酸序列
CD20-C3H3	
1594 (Kabat)	HCDR1
1595 (Kabat)	HCDR2
1596 (Kabat)	HCDR3
1597 (Chothia)	HCDR1
1598 (Chothia)	HCDR2
1599 (Chothia)	HCDR3
1600 (IMGT)	HCDR1
1601 (IMGT)	HCDR2
1602 (IMGT)	HCDR3
1603	VH
1604	DNA VH
1605 (Kabat)	LCDR1
1606 (Kabat)	LCDR2
1607 (Kabat)	LCDR3
1608 (Chothia)	LCDR1
1609 (Chothia)	LCDR2

[1149]

1610 (Chothia)	LCDR3
1611 (IMGT)	LCDR1
1612 (IMGT)	LCDR2
1613 (IMGT)	LCDR3
1614 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR1
1615 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR2
1616 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR3
1617	VL
1618	DNA VL
1619	接头
1620	scFv (VH-接头-VL)
1621	DNA scFv (VH-接头-VL)
1622	全长 CAR 氨基酸序列
1623	全长 CAR 核酸序列
CD20-C3H4	
1624 (Kabat)	HCDR1
1625 (Kabat)	HCDR2
1626 (Kabat)	HCDR3
1627 (Chothia)	HCDR1
1628 (Chothia)	HCDR2
1629 (Chothia)	HCDR3
1630 (IMGT)	HCDR1
1631 (IMGT)	HCDR2
1632 (IMGT)	HCDR3
1633 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR1
1634 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR2
1635 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR3
1636	VH
1637	DNA VH
1638 (Kabat)	LCDR1
1639 (Kabat)	LCDR2
1640 (Kabat)	LCDR3
1641 (Chothia)	LCDR1
1642 (Chothia)	LCDR2

[1150]

1643 (Chothia)	LCDR3
1644 (IMGT)	LCDR1
1645 (IMGT)	LCDR2
1646 (IMGT)	LCDR3
1647 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR1
1648 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR2
1649 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR3
1650	VL
1651	DNA VL
1652	接头
1653	scFv (VH-接头-VL)
1654	DNA scFv (VH-接头-VL)
1655	全长 CAR 氨基酸序列
1656	全长 CAR 核酸序列
CD20-C5H2	
1657 (Kabat)	HCDR1
1658 (Kabat)	HCDR2
1659 (Kabat)	HCDR3
1660 (Chothia)	HCDR1
1661 (Chothia)	HCDR2
1662 (Chothia)	HCDR3
1663 (IMGT)	HCDR1
1664 (IMGT)	HCDR2
1665 (IMGT)	HCDR3
1666 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR1
1667 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR2
1668 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR3
1669	VH
1670	DNA VH
1671 (Kabat)	LCDR1
1672 (Kabat)	LCDR2
1673 (Kabat)	LCDR3
1674 (Chothia)	LCDR1
1675 (Chothia)	LCDR2

[1151]

1676 (Chothia)	LCDR3
1677 (IMGT)	LCDR1
1678 (IMGT)	LCDR2
1679 (IMGT)	LCDR3
1680 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR1
1681 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR2
1682 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR3
1683	VL
1684	DNA VL
1685	接头
1686	scFv (VH-接头-VL)
1687	DNA scFv (VH-接头-VL)
1688	全长 CAR 氨基酸序列
1689	全长 CAR 核酸序列
CD20-C5H3	
1690 (Kabat)	HCDR1
1691 (Kabat)	HCDR2
1692 (Kabat)	HCDR3
1693 (Chothia)	HCDR1
1694 (Chothia)	HCDR2
1695 (Chothia)	HCDR3
1696 (IMGT)	HCDR1
1697 (IMGT)	HCDR2
1698 (IMGT)	HCDR3
1699 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR1
1700 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR2
1701 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR3
1702	VH
1703	DNA VH
1704 (Kabat)	LCDR1
1705 (Kabat)	LCDR2
1706 (Kabat)	LCDR3
1707 (Chothia)	LCDR1
1708 (Chothia)	LCDR2

[1152]

1709 (Chothia)	LCDR3
1710 (IMGT)	LCDR1
1711 (IMGT)	LCDR2
1712 (IMGT)	LCDR3
1713 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR1
1714 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR2
1715 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR3
1716	VL
1717	DNA VL
1718	接头
1719	scFv (VH-接头-VL)
1720	DNA scFv (VH-接头-VL)
1721	全长 CAR 氨基酸序列
1722	全长 CAR 核酸序列
CD20-C5H4	
1723 (Kabat)	HCDR1
1724 (Kabat)	HCDR2
1725 (Kabat)	HCDR3
1726 (Chothia)	HCDR1
1727 (Chothia)	HCDR2
1728 (Chothia)	HCDR3
1729 (IMGT)	HCDR1
1730 (IMGT)	HCDR2
1731 (IMGT)	HCDR3
1732 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR1
1733 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR2
1734 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR3
1735	VH
1736	DNA VH
1737 (Kabat)	LCDR1
1738 (Kabat)	LCDR2
1739 (Kabat)	LCDR3
1740 (Chothia)	LCDR1
1741 (Chothia)	LCDR2

[1153]

1742 (Chothia)	LCDR3
1743 (IMGT)	LCDR1
1744 (IMGT)	LCDR2
1745 (IMGT)	LCDR3
1746 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR1
1747 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR2
1748 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR3
1749	VL
1750	DNA VL
1751	接头
1752	scFv (VH-接头-VL)
1753	DNA scFv (VH-接头-VL)
1754	全长 CAR 氨基酸序列
1755	全长 CAR 核酸序列
CD20-C8H1	
1756 (Kabat)	HCDR1
1757 (Kabat)	HCDR2
1758 (Kabat)	HCDR3
1759 (Chothia)	HCDR1
1760 (Chothia)	HCDR2
1761 (Chothia)	HCDR3
1762 (IMGT)	HCDR1
1763 (IMGT)	HCDR2
1764 (IMGT)	HCDR3
1765 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR1
1766 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR2
1767 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR3
1768	VH
1769	DNA VH
1770 (Kabat)	LCDR1
1771 (Kabat)	LCDR2
1772 (Kabat)	LCDR3
1773 (Chothia)	LCDR1
1774 (Chothia)	LCDR2

[1154]

1775 (Chothia)	LCDR3
1776 (IMGT)	LCDR1
1777 (IMGT)	LCDR2
1778 (IMGT)	LCDR3
1779 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR1
1780 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR2
1781 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR3
1782	VL
1783	DNA VL
1784	接头
1785	scFv (VH-接头-VL)
1786	DNA scFv (VH-接头-VL)
1787	全长 CAR 氨基酸序列
1788	全长 CAR 核酸序列
CD20-C8H2	
1789 (Kabat)	HCDR1
1790 (Kabat)	HCDR2
1791 (Kabat)	HCDR3
1792 (Chothia)	HCDR1
1793 (Chothia)	HCDR2
1794 (Chothia)	HCDR3
1795 (IMGT)	HCDR1
1796 (IMGT)	HCDR2
1797 (IMGT)	HCDR3
1798 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR1
1799 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR2
1800 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR3
1801	VH
1802	DNA VH
1803 (Kabat)	LCDR1
1804 (Kabat)	LCDR2
1805 (Kabat)	LCDR3
1806 (Chothia)	LCDR1
1807 (Chothia)	LCDR2

[1155]

1808 (Chothia)	LCDR3
1809 (IMGT)	LCDR1
1810 (IMGT)	LCDR2
1811 (IMGT)	LCDR3
1812 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR1
1813 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR2
1814 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR3
1815	VL
1816	DNA VL
1817	接头
1818	scFv (VH-接头-VL)
1819	DNA scFv (VH-接头-VL)
1820	全长 CAR 氨基酸序列
1821	全长 CAR 核酸序列
CD20-C8H3	
1822 (Kabat)	HCDR1
1823 (Kabat)	HCDR2
1824 (Kabat)	HCDR3
1825 (Chothia)	HCDR1
1826 (Chothia)	HCDR2
1827 (Chothia)	HCDR3
1828 (IMGT)	HCDR1
1829 (IMGT)	HCDR2
1830 (IMGT)	HCDR3
1831 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR1
1832 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR2
1833 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR3
1834	VH
1835	DNA VH
1836 (Kabat)	LCDR1
1837 (Kabat)	LCDR2
1838 (Kabat)	LCDR3
1839 (Chothia)	LCDR1
1840 (Chothia)	LCDR2

[1156]

1841 (Chothia)	LCDR3
1842 (IMGT)	LCDR1
1843 (IMGT)	LCDR2
1844 (IMGT)	LCDR3
1845 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR1
1846 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR2
1847 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR3
1848	VL
1849	DNA VL
1850	接头
1851	scFv (VH-接头-VL)
1852	DNA scFv (VH-接头-VL)
1853	全长 CAR 氨基酸序列
1854	全长 CAR 核酸序列
CD20-C8H4	
1855 (Kabat)	HCDR1
1856 (Kabat)	HCDR2
1857 (Kabat)	HCDR3
1858 (Chothia)	HCDR1
1859 (Chothia)	HCDR2
1860 (Chothia)	HCDR3
1861 (IMGT)	HCDR1
1862 (IMGT)	HCDR2
1863 (IMGT)	HCDR3
1864 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR1
1865 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR2
1866 (组合的 Chothia 和 Kabat)	HCDR3
1867	VH
1868	DNA VH
1869 (Kabat)	LCDR1
1870 (Kabat)	LCDR2
1871 (Kabat)	LCDR3
1872 (Chothia)	LCDR1
1873 (Chothia)	LCDR2

[1157]

1874 (Chothia)	LCDR3
1875 (IMGT)	LCDR1
1876 (IMGT)	LCDR2
1877 (IMGT)	LCDR3
1878 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR1
1879 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR2
1880 (组合的 Chothia 和 Kabat)	LCDR3
1881	VL
1882	DNA VL
1883	接头
1884	scFv (VH-接头-VL)
1885	DNA scFv (VH-接头-VL)
1886	全长 CAR 氨基酸序列
1887	全长 CAR 核酸序列
CD20-C2	
1888	VH
1889	DNA VH
1890	VL
1891	DNA VL
CD20-C3	
1892	VH
1893	DNA VH
1894	VL
1895	DNA VL
CD20-C5	
1896	VH
1897	DNA VH
1898	VL
1899	DNA VL
CD20-C6	
1900	VH
1901	DNA VH
1902	VL
1903	DNA VL

[1158]

CD20-C7	
1904	VH
1905	DNA VH
1906	VL
1907	DNA VL
CD20-C8	
1908	VH
1909	DNA VH
1910	VL
1911	DNA VL
CD20-3m	
1912	VH
1913	DNA VH
1914	VL
1915	DNA VL
1916	接头
1917	scFv (VH-接头-VL)
CD20-3J	
1918	VH
1919	DNA VH
1920	VL
1921	DNA VL
1922	接头
1923	scFv (VH-接头-VL)
CD20-3H5k1	
1924	VH
1925	DNA VH
1926	VL
1927	DNA VL
1928	接头
1929	scFv (VH-接头-VL)
CD20-3H5k3	
1930	VH
1931	DNA VH

[1159]

1932	VL
1933	DNA VL
1934	接头
1935	scFv (VH-接头-VL)
CD20-Ofa	
1936 (Kabat)	HCDR1
1937 (Kabat)	HCDR2
1938 (Kabat)	HCDR3
1939 (Chothia)	HCDR1
1940 (Chothia)	HCDR2
1941 (Chothia)	HCDR3
1942 (IMGT)	HCDR1
1943 (IMGT)	HCDR2
1944 (IMGT)	HCDR3
1945	VH
1946	DNA VH
1947 (Kabat)	LCDR1
1948 (Kabat)	LCDR2
1949 (Kabat)	LCDR3
1950 (Chothia)	LCDR1
1951 (Chothia)	LCDR2
1952 (Chothia)	LCDR3
1953 (IMGT)	LCDR1
1954 (IMGT)	LCDR2
1955 (IMGT)	LCDR3
1956	VL
1957	DNA VL
1958	接头
1959	scFv (VH-接头-VL)
1960	DNA scFv (VH-接头-VL)
CD20-3	
1961	VH
1962	VL
1963	接头

[1160]

1964	scFv (VH-接头-VL)
CD20-8aBBz	
1965	VH
1966	DNA VH
1967	VL
1968	DNA VL
1969	接头
1970	scFv (VH-接头-VL)
1971	DNA scFv (VH-接头-VL)

[1161] 对表11的CD20 scFv结构域的CDR (Kabat) 序列的序列标识号的综述对于重链可变结构域显示在表12中,并且对于轻链可变结构域显示在表13中。SEQ ID NO是指表11中发现的那些。

[1162] 表12. CD20 CAR分子的重链可变结构域CDR (Kabat) SEQ ID NO

[1163]

候选物	HCDR1	HCDR2	HCDR3
CD20-C3H2	1363	1364	1365
CD20-C5H1	1396	1397	1398
CD20-C2H1	1429	1430	1431
CD20-C2H2	1462	1463	1464
CD20-C2H3	1495	1496	1497
CD20-C2H4	1528	1529	1530
CD20-C3H1	1561	1562	1563
CD20-C3H3	1594	1595	1596
CD20-C3H4	1624	1625	1626
CD20-C5H2	1657	1658	1659
CD20-C5H3	1690	1691	1692
CD20-C5H4	1723	1724	1725
CD20-C8H1	1756	1757	1758
CD20-C8H2	1789	1790	1791
CD20-C8H3	1822	1823	1824
CD20-C8H4	1855	1856	1857

[1164] 表13. CD20抗体分子的轻链可变结构域CDR (Kabat) SEQ ID NO

[1165]

候选物	LCDR1	LCDR2	LCDR3
-----	-------	-------	-------

[1166]	CD20-C3H2	1377	1378	1379
	CD20-C5H1	1410	1411	1412
	CD20-C2H1	1443	1444	1445
	CD20-C2H2	1476	1477	1478
	CD20-C2H3	1509	1510	1511
	CD20-C2H4	1542	1543	1544
	CD20-C3H1	1575	1576	1577
	CD20-C3H3	1605	1606	1607
	CD20-C3H4	1638	1639	1640
	CD20-C5H2	1671	1672	1673
	CD20-C5H3	1704	1705	1706
	CD20-C5H4	1737	1738	1739
	CD20-C8H1	1770	1771	1772
	CD20-C8H2	1803	1804	1805
	CD20-C8H3	1836	1837	1838
	CD20-C8H4	1869	1870	1871

[1167] 另外的CD20抑制剂

[1168] 在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法与CD20抑制剂组合施用。

[1169] 在一个实施例中,所述CD20抑制剂是抗CD20抗体或其片段。在一个实施例中,所述抗体是单特异性抗体,并且在另一个实施例中,抗体是双特异性抗体。在一个实施例中,CD20抑制剂是嵌合小鼠/人单克隆抗体,例如利妥昔单抗。在一个实施例中,所述CD20抑制剂是人单克隆抗体,如奥法木单抗。在一个实施例中,所述CD20抑制剂是人源化抗体,如奥瑞珠单抗(ocrelizumab)、维妥珠单抗(veltuzumab)、奥比妥珠单抗(obinutuzumab)、奥卡妥珠单抗(ocaratumzumab)或PR0131921(基因泰克公司)。在一个实施例中,所述CD20抑制剂是融合蛋白,所述融合蛋白包含抗CD20抗体的一部分,如TRU-015(特鲁比昂药品公司(Trubion Pharmaceuticals))。

[1170] CD22 CAR

[1171] 在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法与表达CD22CAR的细胞疗法(例如,表达结合至人CD22的CAR的细胞)组合施用。

[1172] 在一些实施例中,所述表达CD22 CAR的细胞疗法包含根据WO 2016164731(将其内容通过引用并入本文)所述的抗原结合结构域。

[1173] CD22 CAR的序列提供如下。在一些实施例中,所述CD22 CAR是CAR22-65。在一些实施例中,所述CD22 CAR是CAR22-65s。在一些实施例中,所述CD22 CAR是CAR22-65ss。

[1174] 人CD22 CAR CD22-65 scFv序列

[1175] EVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEWLGRTYHRSTWYDDY
ASSVRGRVSINVDTSKNQYSLQLNAVTPEDTGVYYCARVRLQDGNWSDAFDVWGQGMVT
VSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGK
APKLMYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTQTLT
VL (SEQ ID NO: 1972)

[1176] 人CD22 CAR CD22-65s scFc序列(接头由斜体和下划线表示)
EVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEWLGRTYHRSTWYDDY
ASSVRGRVSINVDTSKNQYSLQLNAVTPEDTGVYYCARVRLQDGNWSDAFDVWGQGMVT

[1177] VSSGGGGSQSALTQPASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSN
RPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTQTLT (SEQ ID NO:
2036)

[1178] 人CD22 CAR CD22-65ss scFc序列
EVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEWLGRTYHRSTWYDDY
ASSVRGRVSINVDTSKNQYSLQLNAVTPEDTGVYYCARVRLQDGNWSDAFDVWGQGMVT

[1179] VSSQSALTQPASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSNRPSGV
SNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTQTLT (SEQ ID NO: 1973)

[1180] 人CD22 CAR重链可变区
EVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSMLSNSDTWNWIRQSPSRGLEWLGRTYHRSTWYDDY

[1181] ASSVRGRVSINVDTSKNQYSLQLNAVTPEDTGVYYCARVRLQDGNWSDAFDVWGQGMVT
VSS (SEQ ID NO: 1974)

[1182] 人CD22 CAR轻链可变区
QSALTQPASASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSNRPSGVSNR

[1183] FSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLYVFGTGTQTLT (SEQ ID NO: 1975)

[1184] 表14.CD22 CAR的重链可变结构域CDR (CD22-65)

[1185]

候选物	HCDR1	SEQ ID	HCDR2	SEQ ID	HCDR3	SEQ ID
		NO:		NO:		NO:
[1186] 组合的 CD22-65	GDSMLS NSDTW N	1976	RTYHRSTWYDDYAS SVRG	1978	VRLQDGNWSWSD AFDV	1980
	CD22-65 Kabat WN	SNSDT 1977	RTYHRSTWYDDYAS SVRG	1979	VRLQDGNWSWSD AFDV	1981

[1187] 表15.CD22 CAR的轻链可变结构域CDR (CD22-65)。所述表中的LC CDR序列在Kabat或组合定义下具有相同的序列。

候选物	LCDR1	SEQ ID NO:	LCDR2	SEQ ID NO:	LCDR3	SEQ ID NO:
[1188] 组合的 CD22-65	TGTSSDVGGYNYVS	1982	DVSNRPS	1983	SSYTSSSTLYV	1984

[1189] 在一些实施例中,抗原结合结构域包含表14中列出的任何重链结合结构域氨基酸序列的HC CDR1、HC CDR2、和HC CDR3。在实施例中,抗原结合结构域进一步包含LC CDR1、LC CDR2、和LC CDR3。在实施例中,抗原结合结构域包含表15中列出的LC CDR1、LC CDR2、和LC CDR3氨基酸序列。

[1190] 在一些实施例中,抗原结合结构域包含表15中列出的任何轻链结合结构域氨基酸序列的LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3中的一个、两个或全部,以及表14中列出的任何重链结合结构域氨基酸序列的HCCDR1、HC CDR2和HC CDR3中的一个、两个或全部。

[1191] 在一些实施例中,根据Kabat编号方案、Chothia编号方案、或其组合定义CDR。

[1192] VL和VH结构域在scFv中出现的顺序可以是变化的(即,VL-VH或VH-VL取向),并且其中“G4S”(SEQ ID NO:1032)亚基(其中每个亚基包含序列GGGS(SEQ ID NO:1032)(例如,(G4S)₃(SEQ ID NO:1040)或(G4S)₄(SEQ ID NO:1039))的一个、两个、三个或四个中任一种的拷贝可连接可变结构域以创建整个scFv结构域。替代性地,CAR构建体可以包含例如包含序列GSTSGSGKPGSGEGSTKG(SEQ ID NO:1985)的接头。替代性地,所述CAR构建体可包括,例如,包括序列LAEEAAK(SEQ ID NO:2033)的接头。在一个实施例中,所述CAR构建体不包括VL和VH结构域之间的接头。

[1193] 这些克隆均含有源自CD3ζ链的共刺激结构域的信号结构域中的Q/K残基变化。

[1194] 另外的CD22抑制剂

[1195] 在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法与CD20抑制剂组合施用。在一些实施例中,所述CD20抑制剂是小分子或抗CD20抗体分子。

[1196] 在一个实施例中,所述抗体是单特异性抗体,任选地缀合至第二药剂(例如化学治疗剂)。例如,在一个实施例中,所述抗体是抗CD22单克隆抗体-MMAE缀合物(例如,DCDT2980S)。在一个实施例中,所述抗体是抗CD22抗体的scFv,例如抗体RFB4的scFv。该scFv可以与假单胞菌外毒素-A的全部或片段融合(例如,BL22)。在一个实施例中,抗体是人源化抗CD22单克隆抗体(例如,依帕珠单抗(epratuzumab))。在一个实施例中,抗体或其片段包括抗CD22抗体的Fv部分,该Fv部分任选地与假单胞菌外毒素-A的全部或片段(例如,38KDa片段)共价融合(例如,帕舒托-莫塞妥莫单抗(moxetumomabpasudotox))。在一个实施例中,所述抗CD22抗体是抗CD19/CD22双特异性抗体,任选地缀合至毒素。例如,在一个实施例中,抗CD22抗体包含任选地与白喉毒素(DT)的全部或一部分(例如,白喉毒素(DT)的前389个氨基酸,DT 390)连接的抗CD19/CD22双特异性部分(例如,识别人CD19和CD22的两种scFv配体),例如配体定向毒素,如DT2219ARL)。在另一个实施例中,双特异性部分(例如,抗CD19/抗CD22)与毒素如去糖基化的蓖麻毒蛋白A链(例如,Combotox)连接。

[1197] 在一些实施例中,所述CD22抑制剂是多特异性抗体分子,例如双特异性抗体分子,例如结合CD20和CD3的双特异性抗体分子。结合至CD20和CD3的示例性双特异性抗体分子在

WO 2016086189和WO 2016182751中披露,其通过引用以其整体并入本文。在一些实施例中,所述结合CD20和CD3的双特异性抗体分子是如披露于WO 2016086189的图74以及SEQ ID NO:323、324和325中的XENP13676。

[1198] 多特异性CAR

[1199] 在一些实施例中,本文披露的CAR分子是多特异性,例如双特异性CAR分子,其包含一种、两种或更多种结合特异性,例如,针对第一抗原(例如,B细胞表位)的第一结合特异性,和针对相同或不同抗原(例如,B细胞表位)的第二结合特异性。

[1200] 在一个实施例中,第一结合特异性和第二结合特异性是抗体分子,例如抗原结合结构域(例如,scFv)。在双特异性CAR分子的每个抗体分子(例如,scFv)内,VH可以在VL的上游或下游。在一些实施例中,上游抗体或抗体片段(例如,scFv)排列为其VH(VH₁)在其VL(VL₁)上游,并且下游抗体或抗体片段(例如,scFv)排列为其VL(VL₂)在其VH(VH₂)上游,使得整个双特异性CAR分子从N末端至C末端取向具有VH₁-VL₁-VL₂-VH₂的排列。

[1201] 在一些实施例中,上游抗体或抗体片段或抗原结合结构域(例如,scFv)排列为其VL(VL₁)在其VH(VH₁)上游,并且下游抗体或抗体片段(例如,scFv)排列为其VH(VH₂)在其VL(VL₂)上游,使得整个双特异性CAR分子从N末端至C末端取向具有VL₁-VH₁-VH₂-VL₂的排列。

[1202] 在一些实施例中,上游抗体或抗体片段(例如,scFv)排列为其VL(VL₁)在其VH(VH₁)上游,并且下游抗体或抗体片段或抗原结合结构域(例如,scFv)排列为其VL(VL₂)在其VH(VH₂)上游,使得整个双特异性CAR分子从N末端至C末端取向具有VL₁-VH₁-VL₂-VH₂的排列。

[1203] 在一些实施例中,上游抗体或抗体片段或抗原结合结构域(例如,scFv)排列为其VH(VH₁)在其VL(VL₁)上游,并且下游抗体或抗体片段(例如,scFv)排列为其VH(VH₂)在其VL(VL₂)上游,使得整个双特异性CAR分子从N末端至C末端取向具有VH₁-VL₁-VH₂-VL₂的排列。

[1204] 在前述构型中的任一种中,任选地,在这两个抗体或抗体片段或抗原结合结构域(例如,scFv)之间布置接头,例如如果该构建体排列为VH₁-VL₁-VL₂-VH₂,则在VL₁与VL₂之间布置该接头;如果构建体排列为VL₁-VH₁-VH₂-VL₂,则在VH₁与VH₂之间布置接头;如果构建体排列为VL₁-VH₁-VL₂-VH₂,则在VH₁与VL₂之间布置接头;或者如果构建体排列为VH₁-VL₁-VH₂-VL₂,则在VL₁与VH₂之间布置接头。通常,两个抗体片段或抗原结合结构域,例如scFv之间的接头应足够长以避免两个scFv的结构域之间的错配。接头可以是如本文所述的接头。在一些实施例中,所述接头是(Gly₄-Ser)_n接头(SEQ ID NO:2034),其中n是1、2、3、4、5、或6。在一些实施例中,所述接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=1(SEQ ID NO:1032),例如,所述接头具有氨基酸序列Gly₄-Ser(SEQ ID NO:1032)。在一些实施例中,接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=3(SEQ ID NO:1040)。在一些实施例中,接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=4(SEQ ID NO:1039)。在一些实施例中,接头包含以下氨基酸序列,例如由以下氨基酸序列组成:LAEEAAK(SEQ ID NO:2033)。

[1205] 在前述构型中的任一种中,任选地,在第一抗原结合结构域,例如scFv的VL与VH之间布置接头。任选地,在第二抗原结合结构域,例如scFv的VL与VH之间布置接头。在具有多个接头的构建体中,接头中的任何两个或更多个可以相同或不同。因此,在一些实施例中,双特异性CAR在如本文描述的布置中包含VL、VH、和任选一个或多个接头。

[1206] 在一些实施例中,每个抗体分子,例如每个抗原结合结构域(例如,每个scFv)在VH区与VL区之间包含接头。在一些实施例中,在VH区与VL区之间的接头是(Gly₄-Ser)_n接头

(SEQ ID NO:2034),其中n是1、2、3、4、5、或6。在一些实施例中,所述接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=1(SEQ ID NO:1032),例如,所述接头具有氨基酸序列Gly₄-Ser(SEQ ID NO:1032)。在其他的实施例中,所述接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=3(SEQ ID NO:1040)。在一些实施例中,接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=4(SEQ ID NO:1039)。在一些实施例中,VH区和VL区在没有接头的情况下连接。

[1207] 在某些实施例中,CAR分子是双特异性CAR分子,该CAR分子具有针对第一B细胞表位的第一结合特异性和针对相同或不同B细胞抗原的第二结合特异性。例如,在一些实施例中,双特异性CAR分子具有针对BCMA的第一结合特异性和针对BCMA CD10、CD19、CD20、CD22、CD34、CD123、FLT-3、ROR1、CD79b、CD179b、或CD79a中的一种或多种的第二结合特异性。在一些实施例中,所述双特异性CAR分子具有针对BCMA的第一结合特异性和针对CD19的第二结合特异性。在一些实施例中,双特异性CAR分子具有针对BCMA的第一结合特异性和针对CD20的第二结合特异性。在一些实施例中,双特异性CAR分子具有针对BCMA的第一结合特异性和针对CD22的第二结合特异性。

[1208] 在一个实施例中,所述CAR分子是对BCMA、CD19、CD20和/或CD22具有结合特异性(例如,第一结合特异性和/或第二结合特异性)的双特异性CAR分子。在一个实施例中,结合特异性被构造为其VL(VL₁)在其VH(VH₁)上游并且下游抗体或抗体片段或抗原结合结构域(例如,scFv)排列为其VL(VL₂)在其VH(VH₂)上游,使得整个双特异性CAR分子从N末端至C末端取向具有VL₁-VH₁-VL₂-VH₂的排列。在一些实施例中,所述BCMA、CD19、CD20和/或CD22的第一结合特异性和/或第二结合特异性(例如,针对BCMA、CD19、CD20和/或CD22的第一和/或第二scFv)包含VH区与VL区之间的接头。在一些实施例中,在VH区与VL区之间的接头是(Gly₄-Ser)_n接头(SEQ ID NO:2034),其中n是1、2、3、4、5、或6。在一些实施例中,所述接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=1(SEQ ID NO:1032),例如,所述接头具有氨基酸序列Gly₄-Ser(SEQ ID NO:1032)。在一些实施例中,接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=3(SEQ ID NO:1040)。在一些实施例中,接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=4(SEQ ID NO:1039)。在一些实施例中,VH区和VL区在没有接头的情况下连接。

[1209] 在另一个实施例中,针对BCMA、CD19、CD20和/或CD22的结合特异性(例如,第一结合特异性和/或第二结合特异性)被构造为其VL(VL₁)在其VH(VH₁)上游并且下游抗体或抗体片段或抗原结合结构域(例如,scFv)排列为其VH(VH₂)在其VL(VL₂)上游,使得整个双特异性CAR分子从N末端至C末端取向具有VL₁-VH₁-VH₂-VL₂的排列。在一些实施例中,所述BCMA、CD19、CD20和/或CD22的第一结合特异性和/或第二结合特异性(例如,针对BCMA、CD19、CD20和/或CD22的第一和/或第二scFv)包含VH区与VL区之间的接头。在一些实施例中,在VH区与VL区之间的接头是(Gly₄-Ser)_n接头(SEQ ID NO:2034),其中n是1、2、3、4、5、或6。在一些实施例中,所述接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=1(SEQ ID NO:1032),例如,所述接头具有氨基酸序列Gly₄-Ser(SEQ ID NO:1032)。在一些实施例中,接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=3(SEQ ID NO:1040)。在一些实施例中,接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=4(SEQ ID NO:1039)。在一些实施例中,VH区和VL区在没有接头的情况下连接。

[1210] 在另一个实施例中,针对BCMA、CD19、CD20和/或CD22的结合特异性(例如,第一结合特异性和/或第二结合特异性)被构造为其VH(VH₁)在其VL(VL₁)上游并且下游抗体或抗体片段或抗原结合结构域(例如,scFv)排列为其VL(VL₂)在其VH(VH₂)上游,使得整个双特异性

CAR分子从N末端至C末端取向具有VH₁-VL₁-VL₂-VH₂的排列。在一些实施例中,所述BCMA、CD19、CD20和/或CD22的第一结合特异性和/或第二结合特异性(例如,针对BCMA、CD19、CD20和/或CD22的第一和/或第二scFv)包含VH区与VL区之间的接头。在一些实施例中,在VH区与VL区之间的接头是(Gly₄-Ser)_n接头(SEQ ID NO:2034),其中n是1、2、3、4、5、或6。在一些实施例中,所述接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=1(SEQ ID NO:1032),例如,所述接头具有氨基酸序列Gly₄-Ser(SEQ ID NO:1032)。在一些实施例中,接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=3(SEQ ID NO:1040)。在一些实施例中,接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=4(SEQ ID NO:1039)。在一些实施例中,VH区和VL区在没有接头的情况下连接。

[1211] 在另一个实施例中,针对BCMA、CD19、CD20和/或CD22的结合特异性(例如,第一结合特异性和/或第二结合特异性)被构造为其VH(VH₁)在其VL(VL₁)上游并且下游抗体或抗体片段或抗原结合结构域(例如,scFv)排列为其VH(VH₂)在其VL(VL₂)上游,使得整个双特异性CAR分子从N末端至C末端取向具有VH₁-VL₁-VH₂-VL₂的排列。在一些实施例中,所述BCMA、CD19、CD20和/或CD22的第一结合特异性和/或第二结合特异性(例如,针对BCMA、CD19、CD20和/或CD22的第一和/或第二scFv)包含VH区与VL区之间的接头。在一些实施例中,在VH区与VL区之间的接头是(Gly₄-Ser)_n接头(SEQ ID NO:2034),其中n是1、2、3、4、5、或6。在一些实施例中,所述接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=1(SEQ ID NO:1032),例如,所述接头具有氨基酸序列Gly₄-Ser(SEQ ID NO:1032)。在一些实施例中,接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=3(SEQ ID NO:1040)。在一些实施例中,接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=4(SEQ ID NO:1039)。在一些实施例中,VH区和VL区在没有接头的情况下连接。

[1212] 在一些实施例中,所述双特异性CAR分子包含针对BCMA的第一结合特异性,例如,如本文所述的针对BCMA的结合特异性中的任一种,和针对CD19的第二结合特异性,例如,如本文所述的针对CD19的结合特异性中的任一种。在一些实施例中,所述双特异性CAR分子包含针对BCMA的第一结合特异性,例如,如本文所述的针对BCMA的结合特异性中的任一种,和针对CD20的第二结合特异性,例如,如本文所述的针对CD20的结合特异性中的任一种。在一些实施例中,所述双特异性CAR分子包含针对BCMA的第一结合特异性,例如,如本文所述的针对BCMA的结合特异性中的任一种,和针对CD22的第二结合特异性,例如,如本文所述的针对CD22的结合特异性中的任一种。在一个实施例中,第一结合特异性和第二结合特异性在连续的多肽链,例如单链中。在一些实施例中,第一结合特异性和第二结合特异性任选地包含如本文所述的接头。在一些实施例中,所述接头是(Gly₄-Ser)_n接头(SEQ ID NO:2034),其中n是1、2、3、4、5、或6。在一些实施例中,所述接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=1(SEQ ID NO:1032),例如,所述接头具有氨基酸序列Gly₄-Ser(SEQ ID NO:1032)。在一些实施例中,接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=3(SEQ ID NO:1040)。在一些实施例中,接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=4(SEQ ID NO:1039)。在一些实施例中,接头包含以下氨基酸序列,例如由以下氨基酸序列组成:LAEEAAK(SEQ ID NO:2033)。

[1213] 在一些实施例中,本文披露的CAR分子包括双特异性CAR,该双特异性CAR包含例如,如本文所述的第一结合特异性和第二结合特异性(例如,两个抗体分子,例如,如本文所述的两个scFv)。在一些实施例中,双特异性CAR包含两个抗体分子,其中第一结合特异性,例如第一抗体分子(例如,第一抗原结合结构域,例如第一scFv)更靠近跨膜结构域,在本文中也称为近侧抗体分子(例如,近侧抗原结合结构域),并且第二结合特异性,例如第二抗体

分子(例如,第二抗原结合结构域,例如第二scFv)进一步远离膜,在本文中也称为作为远侧抗体分子(例如,远侧抗原结合结构域)。因此,从N末端至C末端,CAR分子包含远侧结合特异性,例如远侧抗体分子(例如,远侧抗原结合结构域,例如远侧scFv或scFv2),任选地是接头,接着是近侧结合特异性,例如近侧抗体分子(例如,近侧抗原结合结构域,例如近侧scFv或scFv1),任选地经由接头,至跨膜结构域和细胞内结构域,例如,如本文所述的。在一些实施例中,所述CAR分子包含针对BCMA的近侧或远侧结合特异性,例如,如本文所述的BCMA结合特异性。在一个实施例中,所述CAR分子包含针对BCMA的近侧结合特异性,例如,如本文所述的BCMA结合特异性,和针对CD19的远侧结合特异性,例如,如本文所述的CD19结合特异性。在一个实施例中,所述CAR分子包含针对BCMA的近侧结合特异性,例如,如本文所述的BCMA结合特异性,和针对CD20的远侧结合特异性,例如,如本文所述的CD20结合特异性。在一个实施例中,所述CAR分子包含针对BCMA的近侧结合特异性,例如,如本文所述的BCMA结合特异性,和针对CD22的远侧结合特异性,例如,如本文所述的CD22结合特异性。在一个实施例中,所述CAR分子包含针对BCMA的远侧结合特异性,例如,如本文所述的BCMA结合特异性,和针对CD19的近侧结合特异性,例如,如本文所述的CD19结合特异性。在一个实施例中,所述CAR分子包含针对BCMA的远侧结合特异性,例如,如本文所述的BCMA结合特异性,和针对CD20的近侧结合特异性,例如,如本文所述的CD20结合特异性。在一个实施例中,所述CAR分子包含针对BCMA的远侧结合特异性,例如,如本文所述的BCMA结合特异性,和针对CD22的近侧结合特异性,例如,如本文所述的CD22结合特异性。

[1214] 在一个实施例中,所述CAR分子包含针对BCMA的膜远侧结合特异性,例如,针对BCMA的VL1-VH1结合特异性,和针对CD19、CD20或CD22的膜近侧结合特异性,例如,针对CD19的VL2-VH2或VH2-VL1结合特异性。在一个实施例中,第一结合特异性和第二结合特异性在连续的多肽链,例如单链中。在一些实施例中,第一结合特异性和第二结合特异性任选地包含如本文所述的接头。在一些实施例中,所述接头是(Gly₄-Ser)_n接头(SEQ ID NO:2034),其中n是1、2、3、4、5、或6。在一些实施例中,所述接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=1(SEQ ID NO:1032),例如,所述接头具有氨基酸序列Gly₄-Ser(SEQ ID NO:1032)。在一些实施例中,接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=3(SEQ ID NO:1040)。在一些实施例中,接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=4(SEQ ID NO:1039)。在一些实施例中,接头包含以下氨基酸序列,例如由以下氨基酸序列组成:LAEEAAK(SEQ ID NO:2033)。

[1215] 在一个实施例中,所述CAR分子包含针对BCMA的膜近侧结合特异性,例如,针对BCMA的VL1-VH1结合特异性,和针对CD19、CD20或CD22的膜远侧结合特异性,例如,针对CD19、CD20或CD22的VL2-VH2或VH2-VL1结合特异性。在一个实施例中,第一结合特异性和第二结合特异性在连续的多肽链,例如单链中。在一些实施例中,第一结合特异性和第二结合特异性任选地包含如本文所述的接头。在一些实施例中,所述接头是(Gly₄-Ser)_n接头(SEQ ID NO:2034),其中n是1、2、3、4、5、或6。在一些实施例中,所述接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=1(SEQ ID NO:1032),例如,所述接头具有氨基酸序列Gly₄-Ser(SEQ ID NO:1032)。在一些实施例中,接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=3(SEQ ID NO:1040)。在一些实施例中,接头是(Gly₄-Ser)_n,其中n=4(SEQ ID NO:1039)。在一些实施例中,接头包含以下氨基酸序列,例如由以下氨基酸序列组成:LAEEAAK(SEQ ID NO:2033)。

[1216] FCRL2或FCRL5抑制剂

[1217] 在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法与FCRL2或FCRL5抑制剂组合施用。在一些实施例中,所述FCRL2或FCRL5抑制剂是抗FCRL2抗体分子,例如双特异性抗体分子,例如结合FCRL2和CD3的双特异性抗体。在一些实施例中,所述FCRL2或FCRL5抑制剂是抗FCRL5抗体分子,例如双特异性抗体分子,例如结合FCRL5和CD3的双特异性抗体。在一些实施例中,所述FCRL2或FCRL5抑制剂是表达FCRL2 CAR的细胞疗法。在一些实施例中,所述FCRL2或FCRL5抑制剂是表达FCRL5 CAR的细胞疗法。

[1218] 示例性的抗FCRL5抗体分子在US 20150098900、US 20160368985、WO 2017096120中披露(WO 2017096120中披露了ET200-001、ET200-002、ET200-003、ET200-006、ET200-007、ET200-008、ET200-009、ET200-010、ET200-011、ET200-012、ET200-013、ET200-014、ET200-015、ET200-016、ET200-017、ET200-018、ET200-019、ET200-020、ET200-021、ET200-022、ET200-023、ET200-024、ET200-025、ET200-026、ET200-027、ET200-028、ET200-029、ET200-030、ET200-031、ET200-032、ET200-033、ET200-034、ET200-035、ET200-037、ET200-038、ET200-039、ET200-040、ET200-041、ET200-042、ET200-043、ET200-044、ET200-045、ET200-069、ET200-078、ET200-079、ET200-081、ET200-097、ET200-098、ET200-099、ET200-100、ET200-101、ET200-102、ET200-103、ET200-104、ET200-105、ET200-106、ET200-107、ET200-108、ET200-109、ET200-110、ET200-111、ET200-112、ET200-113、ET200-114、ET200-115、ET200-116、ET200-117、ET200-118、ET200-119、ET200-120、ET200-121、ET200-122、ET200-123、ET200-125、ET200-005和ET200-124),其通过引用以其整体并入本文。

[1219] 示例性的FCRL5 CAR分子在WO 2016090337中披露,其通过引用以其整体并入本文。

[1220] IL-15和/或IL-15Ra

[1221] 在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法与IL-15组合施用。在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法与IL15/IL-15Ra复合物组合施用。在一些实施例中,IL-15/IL-15Ra复合物选自NIZ985(诺华公司)、ATL-803(亚拉斯托公司(Altor))或CYP0150(Cytune公司)。

[1222] 示例性IL-15/IL-15Ra复合物

[1223] 在一个实施例中,IL-15/IL-15Ra复合物包含人IL-15与可溶形式的人IL-15Ra复合。该复合物可以包含共价或非共价连接至IL-15Ra的可溶性形式的IL-15。在具体的实施例中,人IL-15非共价地与可溶形式的IL-15Ra结合。在具体的实施例中,组合物的人IL-15包含表16中SEQ ID NO:1001的氨基酸序列,并且可溶形式的人IL-15Ra包含表16中的SEQ ID NO:1002的氨基酸序列,如在WO 2014/066527中的描述,通过引用以其整体并入。本文所述的这些分子可以通过运载体、宿主细胞、和在WO 2007/084342中描述的方法制得,该申请通过引用以其整体并入。

[1224] 表16. 示例性IL-15/IL-15Ra复合物的氨基酸和核苷酸序列

[1225]

NIZ985

	SEQ ID NO: 1001	人 IL-15	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAM KCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTE SGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS
[1226]	SEQ ID NO: 1002	人可溶性 IL-15Ra	ITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSS LTECVLNKATNVAHWTTPLKCIKIRDPALVHQRPAAPPSTVT TAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGSQL MPSKSPSTGTTEISSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQP PGVYPQG

[1227] 其他示例性IL-15/IL-15Ra复合物

[1228] 在一个实施例中,所述IL-15/IL-15Ra复合物是ALT-803 (IL-15/IL-15Ra Fc融合蛋白 (IL-15N72D:IL-15RaSu/Fc可溶性复合物))。ALT-803披露在WO 2008/143794中,通过引用以其整体并入。在一个实施例中,IL-15/IL-15Ra Fc融合蛋白包含如表17中所披露的序列。

[1229] 在一个实施例中,所述IL-15/IL-15Ra复合物包含与IL-15Ra的sushi结构域融合的IL-15 (CYP0150,赛腾制药)。IL-15Ra的sushi结构域是指在IL-15Ra的信号肽之后的第一半胱氨酸残基处开始并且在所述信号肽之后的第四个半胱氨酸残基处结束的结构域。与IL-15Ra的sushi结构域融合的IL-15的复合物披露在WO 2007/04606和WO 2012/175222中,这些申请通过引用以其整体并入。在一个实施例中,IL-15/IL-15Rasushi结构域融合物包含如在表17中所披露的序列。

[1230] 表17. 其他示例性IL-15/IL-15Ra复合物的氨基酸序列

ALT-803 (Altor)			
	SEQ ID NO: 1003	IL-15N72D	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMK CFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANDSLSSNGNVTESG CKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS
[1231]	SEQ ID NO: 1004	IL-15RaSu/Fc	ITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSL TECVLNKATNVAHWTTPLKCIKIRDPALVHQRPAAPPSTVT LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS

		RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNI YTQKSLSLSPGK
IL-15/IL-15Ra sushi 结构域融合物 (Cytune)		
[1232] SEQ ID NO:1005	人 IL-15	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMK CFLLELQVISLES GDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESG CKECELEXKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS 其中 X 是 E 或 K
SEQ ID NO:1006	人 IL-15Ra sushi 和铰链 结构域	ITCPPMSVEHADIWVKSYSLSYRERYICNSGFKRKAGTSSL TECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRD PALVHQR PAPP

[1233] PD-1抑制剂

[1234] 在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法与PD-1抑制剂组合施用。在一些实施例中,所述PD-1抑制剂选自PDR001 (诺华公司)、纳武单抗(百时美施贵宝公司)、兰洛利珠单抗(默克公司(Merck&Co))、匹地利珠单抗(CureTech公司)、MEDI0680(英商梅迪缪思有限公司(Medimmune))、REGN2810(再生元公司(Regeneron))、TSR-042(Tesaro公司)、PF-06801591(辉瑞制药公司(Pfizer))、BGB-A317(百济神州公司(Beigene))、BGB-108(百济神州公司)、INCSHR1210(因赛特公司(Incyte))、或AMP-224(Amplimmune公司)。

[1235] 示例性PD-1抑制剂

[1236] 在一个实施例中,PD-1抑制剂是抗PD-1抗体分子。在一个实施例中,所述PD-1抑制剂是抗PD-1抗体分子,如题为“PD-1的抗体分子及其用途”的2015年7月30日公布的US 2015/0210769(将其通过引用以其整体并入)中所述的。

[1237] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含来自重链和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个互补决定区(CDR)(或总体上全部CDR),所述重链和轻链可变区包含表18(例如,来自表18中披露的BAP049-克隆-E或BAP049-克隆-B的重链和轻链可变区序列)中所示的氨基酸序列,或由表18中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列。在一些实施例中,CDR根据Kabat定义(例如,如表18中所列出的)。在一些实施例中,CDR根据Chothia定义(例如,如表18中所列出的)。在一些实施例中,CDR根据Kabat和Chothia两者的组合CDR定义(例如,如表18中所列出的)。在一个实施例中,VH CDR1的Kabat和Chothia CDR的组合包含氨基酸序列GYTFTTYWMH(SEQ ID NO:541)。在一个实施例中,相对于表18中所示的氨基酸序列,或由表18中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,CDR中的一个或多个(或总体上全部CDR)具有一个、两个、三个、四个、五个、六个或更多个变化,例如氨基酸取代(例如,保守氨基酸取代)或缺失。

[1238] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),该重链可变区包含SEQ ID NO:501的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:502的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:503的VHCDR3氨基酸序列,该轻链可变区包含SEQ ID NO:510的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:511的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:512的VLCDR3氨基酸序列,各自披露于表18中。

[1239] 在一个实施例中,抗体分子包含:含有由SEQ ID NO:524的核苷酸序列编码的VHCDR1、由SEQ ID NO:525的核苷酸序列编码的VHCDR2、和由SEQ ID NO:526的核苷酸序列编码的VHCDR3的VH;以及含有由SEQ ID NO:529的核苷酸序列编码的VLCDR1、由SEQ ID NO:530的核苷酸序列编码的VLCDR2、和由SEQ ID NO:531的核苷酸序列编码的VLCDR3的VL,各自披露于表18中。

[1240] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:506的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:506具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的VH。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:520的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:520具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:516的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:516具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:506的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:520的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:506的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:516的氨基酸序列的VL。

[1241] 在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:507的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:507具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列编码的VH。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:521或517的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:521或517具有至少85%、90%、95%、或99%或更高同一性的核苷酸序列编码的VL。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:507的核苷酸序列编码的VH和由SEQ ID NO:521或517的核苷酸序列编码的VL。

[1242] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:508的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:508具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的重链。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:522的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:522具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:518的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:518具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:508的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:522的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:508的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:518的氨基酸序列的轻链。

[1243] 在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:509的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:509具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列编码的重链。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:523或519的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:523或519具有至少85%、90%、95%、或99%或更高同一性的核苷酸序列编码的轻链。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:509的核苷酸序列编码的重链和由SEQ ID NO:523或519的核苷酸序列编码的轻链。

[1244] 本文所述的抗体分子可以通过载体、宿主细胞、和在US 2015/0210769(将其通过引用以其整体并入)中描述的方法制得。

[1245] 表18. 示例性抗PD-1抗体分子的氨基酸和核苷酸序列

[1246]

BAP049-克隆-B HC	
SEQ ID NO: 501 (Kabat)	HCDR1
SEQ ID NO: 502 (Kabat)	HCDR2
SEQ ID NO: 503 (Kabat)	HCDR3
SEQ ID NO: 504 (Chothia)	HCDR1
SEQ ID NO: 505 (Chothia)	HCDR2
SEQ ID NO: 503 (Chothia)	HCDR3
SEQ ID NO: 506	VH
SEQ ID NO: 507	DNA VH
SEQ ID NO: 508	重链
SEQ ID NO: 509	DNA 重链
BAP049-克隆-B LC	
SEQ ID NO: 510 (Kabat)	LCDR1
SEQ ID NO: 511 (Kabat)	LCDR2
SEQ ID NO: 512 (Kabat)	LCDR3
SEQ ID NO: 513 (Chothia)	LCDR1
SEQ ID NO: 514 (Chothia)	LCDR2
SEQ ID NO: 515 (Chothia)	LCDR3
SEQ ID NO: 516	VL
SEQ ID NO: 517	DNA VL
SEQ ID NO: 518	轻链
SEQ ID NO: 519	DNA 轻链
BAP049-克隆-E HC	
SEQ ID NO: 501 (Kabat)	HCDR1
SEQ ID NO: 502 (Kabat)	HCDR2
SEQ ID NO: 503 (Kabat)	HCDR3
SEQ ID NO: 504 (Chothia)	HCDR1

[1247]

SEQ ID NO: 505 (Chothia)	HCDR2
SEQ ID NO: 503 (Chothia)	HCDR3
SEQ ID NO: 506	VH
SEQ ID NO: 507	DNA VH
SEQ ID NO: 508	重链
SEQ ID NO: 509	DNA 重链
BAP049-克隆-E LC	
SEQ ID NO: 510 (Kabat)	LCDR1
SEQ ID NO: 511 (Kabat)	LCDR2
SEQ ID NO: 512 (Kabat)	LCDR3
SEQ ID NO: 513 (Chothia)	LCDR1
SEQ ID NO: 514 (Chothia)	LCDR2
SEQ ID NO: 515 (Chothia)	LCDR3
SEQ ID NO: 520	VL
SEQ ID NO: 521	DNA VL
SEQ ID NO: 522	轻链
SEQ ID NO: 523	DNA 轻链
BAP049-克隆-B HC	
SEQ ID NO: 524 (Kabat)	HCDR1
SEQ ID NO: 525 (Kabat)	HCDR2
SEQ ID NO: 526 (Kabat)	HCDR3
SEQ ID NO: 527 (Chothia)	HCDR1
SEQ ID NO: 528 (Chothia)	HCDR2
SEQ ID NO: 526 (Chothia)	HCDR3
BAP049-克隆-B LC	
SEQ ID NO: 529 (Kabat)	LCDR1
SEQ ID NO: 530 (Kabat)	LCDR2
SEQ ID NO: 531 (Kabat)	LCDR3
SEQ ID NO: 532 (Chothia)	LCDR1
SEQ ID NO: 533 (Chothia)	LCDR2
SEQ ID NO: 534 (Chothia)	LCDR3
BAP049-克隆-E HC	
SEQ ID NO: 524 (Kabat)	HCDR1
SEQ ID NO: 525 (Kabat)	HCDR2

	SEQ ID NO: 526 (Kabat)	HCDR3
	SEQ ID NO: 527 (Chothia)	HCDR1
	SEQ ID NO: 528 (Chothia)	HCDR2
	SEQ ID NO: 526 (Chothia)	HCDR3
	BAP049-克隆-E LC	
[1248]	SEQ ID NO: 529 (Kabat)	LCDR1
	SEQ ID NO: 530 (Kabat)	LCDR2
	SEQ ID NO: 531 (Kabat)	LCDR3
	SEQ ID NO: 532 (Chothia)	LCDR1
	SEQ ID NO: 533 (Chothia)	LCDR2
	SEQ ID NO: 534 (Chothia)	LCDR3

[1249] 其他示例性PD-1抑制剂

[1250] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子是纳武单抗(百时美施贵宝公司(Bristol-Myers Squibb)),也称为MDX-1106、MDX-1106-04、ONO-4538、BMS-936558、或**OPDIVO®**。纳武单抗(克隆5C4)和其他抗PD-1抗体披露于US 8,008,449和WO 2006/121168(将其通过引用以其整体并入)中。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含以下中的一种或多种:纳武单抗的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列,例如,如表19中所披露的。

[1251] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子是派姆单抗(默克公司(Merck&Co)),也称为兰罗利珠单抗(Lambrolizumab)、MK-3475、MK03475、SCH-900475、或**KEYTRUDA®**。派姆单抗和其他抗PD-1抗体披露于Hamid, O.等人(2013) New England Journal of Medicine [新英格兰医学杂志] 369 (2): 134-44、US 8,354,509和WO 2009/114335,其通过引用以其整体并入本文。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含以下中的一种或多种:派姆单抗的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列,例如,如表19中所披露的。

[1252] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子是匹地利珠单抗(治疗科技公司(CureTech)),也称为CT-011。匹地利珠单抗和其他抗PD-1抗体披露于Rosenblatt, J.等人,(2011) J Immunotherapy [免疫疗法杂志] 34 (5): 409-18; US 7,695,715; US 7,332,582; 和US 8,686,119(将其通过引用以其整体并入)中。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含以下中的一种或多种:匹地利珠单抗的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列,例如,如表19中所披露的。

[1253] 在一个实施例中,所述抗PD-1抗体分子是MEDI0680(英商梅迪缪思有限公司),也称为AMP-514。MEDI0680和其他抗PD-1抗体披露于US 9,205,148和WO 2012/145493(将其通过引用以其整体并入)中。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含以下中的一种或多种: MEDI0680的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1254] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子是REGN2810(再生元公司)。在一个实施例中,抗

PD-1抗体分子包含以下中的一种或多种:REGN2810的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1255] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子是PF-06801591(辉瑞公司)。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含以下中的一种或多种:PF-06801591的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1256] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子是BGB-A317或BGB-108(百济神州公司)。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含以下中的一种或多种:BGB-A317、或BGB-108的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1257] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子是INCSHR1210(因赛特公司),也称为INCSHR01210或SHR-1210。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含以下中的一种或多种:INCSHR1210的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1258] 在一个实施例中,抗PD-1抗体分子是TSR-042(泰萨罗公司),也称为ANB011。在一个实施例中,抗PD-1抗体分子包含以下中的一种或多种:TSR-042的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1259] 其他已知的抗PD-1抗体包括描述于例如以下中的那些:WO 2015/112800、WO 2016/092419、WO 2015/085847、WO 2014/179664、WO 2014/194302、WO 2014/209804、WO 2015/200119、US 8,735,553、US 7,488,802、US 8,927,697、US 8,993,731、和US 9,102,727(将其通过引用以其整体并入)。

[1260] 在一个实施例中,抗PD-1抗体是与本文所述的抗PD-1抗体之一竞争与PD-1上的相同表位结合和/或结合至PD-1上的相同表位的抗体。

[1261] 在一个实施例中,PD-1抑制剂是例如如US 8,907,053(将其通过引用以其整体并入)中所述的抑制PD-1信号传导途径的肽。在一个实施例中,PD-1抑制剂是免疫粘附素(例如包含融合到恒定区(例如免疫球蛋白序列的Fc区)的PD-L1或PD-L2的细胞外或PD-1结合部分的免疫粘附素)。在一个实施例中,PD-1抑制剂是AMP-224(B7-DCIg(安普利公司(Amplimmun)),例如,披露于WO 2010/027827和WO 2011/066342(将其通过引用以其整体并入)中。

[1262] 表19.其他示例性抗PD-1抗体分子的氨基酸序列

[1263]	纳武单抗	
	SEQ ID NO:535	重链
	SEQ ID NO:536	轻链
	派姆单抗	
	SEQ ID NO:537	重链
	SEQ ID NO:538	轻链
	匹地利珠单抗	
	SEQ ID NO:539	重链
	SEQ ID NO:540	轻链

[1264] PD-L1抑制剂

[1265] 在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法与PD-L1抑制剂组合施用。在一些

实施例中,所述PD-L1抑制剂选自FAZ053(诺华公司);阿特利珠单抗(基因泰克公司/罗氏公司);阿维鲁单抗(默克雪兰诺公司(Merck Serono)和辉瑞制药公司);度伐鲁单抗(英商梅迪缪思有限公司/阿斯利康公司);或BMS-936559(百时美施贵宝)。

[1266] 示例性PD-L1抑制剂

[1267] 在一个实施例中,所述PD-L1抑制剂是抗PD-L1抗体分子。在一个实施例中,所述PD-L1抑制剂是抗PD-L1抗体分子,如题为“PD-L1的抗体分子及其用途”的2016年4月21日披露的US 2016/0108123(将其通过引用以其整体并入)中所披露的。

[1268] 在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含来自重链和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个、或六个互补决定区(CDR)(或总体上全部CDR),所述重链和轻链可变区包含表20(例如,来自表20中披露的BAP058-克隆O、或BAP058-克隆N的重链和轻链可变区序列)中所示的氨基酸序列、或由表20中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列。在一些实施例中,CDR根据Kabat定义(例如,如表20中所列出的)。在一些实施例中,CDR根据Chothia定义(例如,如表20中所列出的)。在一些实施例中,CDR根据Kabat和Chothia两者的组合CDR定义(例如,如表20中所列出的)。在一个实施例中,VH CDR1的Kabat和Chothia CDR的组合包含氨基酸序列GYTFTSYWY(SEQ ID NO:647)。在一个实施例中,相对于表20中所示的氨基酸序列,或由表20中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,CDR中的一个或多个(或总体上全部CDR)具有一个、两个、三个、四个、五个、六个或更多个变化,例如氨基酸取代(例如,保守氨基酸取代)或缺失。

[1269] 在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),该重链可变区包含SEQ ID NO:601的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:602的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:603的VHCDR3氨基酸序列,该轻链可变区包含SEQ ID NO:609的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:610的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:611的VLCDR3氨基酸序列,各自披露于表20中。

[1270] 在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含:含有由SEQ ID NO:628的核苷酸序列编码的VHCDR1、由SEQ ID NO:629的核苷酸序列编码的VHCDR2、和由SEQ ID NO:630的核苷酸序列编码的VHCDR3的VH;以及含有由SEQ ID NO:633的核苷酸序列编码的VLCDR1、由SEQ ID NO:634的核苷酸序列编码的VLCDR2、和由SEQ ID NO:635的核苷酸序列编码的VLCDR3的VL,各自披露于表20中。

[1271] 在一个实施例中,所述抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:606的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:606具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的VH。在一个实施例中,所述抗PD-L1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:616的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:85具有至少616%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,所述抗PD-1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:620的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:620具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的VH。在一个实施例中,所述抗PD-L1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:624的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:85具有至少624%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,所述抗PD-L1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:606的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:616的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,所述抗PD-L1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:620的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:624的氨基酸序列的VL。

[1272] 在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:607的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:607具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列编码的VH。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:617的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:617具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列编码的VL。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:621的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:621具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列编码的VH。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:625的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:625具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列编码的VL。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:607的核苷酸序列编码的VH和由SEQ ID NO:617的核苷酸序列编码的VL。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:621的核苷酸序列编码的VH和由SEQ ID NO:625的核苷酸序列编码的VL。

[1273] 在一个实施例中,所述抗PD-L1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:608的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:608具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的重链。在一个实施例中,所述抗PD-L1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:618的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:618具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,所述抗PD-L1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:622的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:622具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的重链。在一个实施例中,所述抗PD-L1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:626的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:626具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:608的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:618的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含:含有SEQ ID NO:622的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:626的氨基酸序列的轻链。

[1274] 在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:615的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:615具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列编码的重链。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:619的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:619具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列编码的轻链。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:623的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:623具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列编码的重链。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:627的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:627具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列编码的轻链。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:615的核苷酸序列编码的重链和由SEQ ID NO:619的核苷酸序列编码的轻链。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:623的核苷酸序列编码的重链和由SEQ ID NO:627的核苷酸序列编码的轻链。

[1275] 本文所述的抗体分子可以通过载体、宿主细胞、和在US 2016/0108123(将其通过引用以其整体并入)中描述的方法制得。

[1276] 表20. 示例性抗PD-L1抗体分子的氨基酸和核苷酸序列

[1277]

BAP058-克隆 O HC	
SEQ ID NO: 601 (Kabat)	HCDR1
SEQ ID NO: 602 (Kabat)	HCDR2
SEQ ID NO: 603 (Kabat)	HCDR3
SEQ ID NO: 604 (Chothia)	HCDR1
SEQ ID NO: 605 (Chothia)	HCDR2
SEQ ID NO: 603 (Chothia)	HCDR3
SEQ ID NO: 606	VH
SEQ ID NO: 607	DNA VH
SEQ ID NO: 608	重链
SEQ ID NO: 615	DNA 重链
BAP058-克隆 O LC	
SEQ ID NO: 609 (Kabat)	LCDR1
SEQ ID NO: 610 (Kabat)	LCDR2
SEQ ID NO: 611 (Kabat)	LCDR3
SEQ ID NO: 612 (Chothia)	LCDR1
SEQ ID NO: 613 (Chothia)	LCDR2
SEQ ID NO: 614 (Chothia)	LCDR3
SEQ ID NO: 616	VL
SEQ ID NO: 617	DNA VL
SEQ ID NO: 618	轻链
SEQ ID NO: 619	DNA 轻链
BAP058-克隆 N HC	
SEQ ID NO: 601 (Kabat)	HCDR1

[1278]

SEQ ID NO: 602 (Kabat)	HCDR2
SEQ ID NO: 603 (Kabat)	HCDR3
SEQ ID NO: 604 (Chothia)	HCDR1
SEQ ID NO: 605 (Chothia)	HCDR2
SEQ ID NO: 603 (Chothia)	HCDR3
SEQ ID NO: 620	VH
SEQ ID NO: 621	DNA VH
SEQ ID NO: 622	重链
SEQ ID NO: 623	DNA 重链
BAP058-克隆 N LC	
SEQ ID NO: 609 (Kabat)	LCDR1
SEQ ID NO: 610 (Kabat)	LCDR2
SEQ ID NO: 611 (Kabat)	LCDR3
SEQ ID NO: 612 (Chothia)	LCDR1
SEQ ID NO: 613 (Chothia)	LCDR2
SEQ ID NO: 614 (Chothia)	LCDR3
SEQ ID NO: 624	VL
SEQ ID NO: 625	DNA VL
SEQ ID NO: 626	轻链
SEQ ID NO: 627	DNA 轻链
BAP058-克隆 O HC	
SEQ ID NO: 628 (Kabat)	HCDR1
SEQ ID NO: 629 (Kabat)	HCDR2
SEQ ID NO: 630 (Kabat)	HCDR3
SEQ ID NO: 631 (Chothia)	HCDR1
SEQ ID NO: 632 (Chothia)	HCDR2
SEQ ID NO: 630 (Chothia)	HCDR3
BAP058-克隆 O LC	
SEQ ID NO: 633 (Kabat)	LCDR1
SEQ ID NO: 634 (Kabat)	LCDR2
SEQ ID NO: 635 (Kabat)	LCDR3
SEQ ID NO: 636 (Chothia)	LCDR1
SEQ ID NO: 637 (Chothia)	LCDR2
SEQ ID NO: 638 (Chothia)	LCDR3

[1279]	BAP058-克隆 N HC	
	SEQ ID NO: 628 (Kabat)	HCDR1
	SEQ ID NO: 629 (Kabat)	HCDR2
	SEQ ID NO: 630 (Kabat)	HCDR3
	SEQ ID NO: 631 (Chothia)	HCDR1
	SEQ ID NO: 632 (Chothia)	HCDR2
	SEQ ID NO: 630 (Chothia)	HCDR3
	BAP058-克隆 N LC	
	SEQ ID NO: 633 (Kabat)	LCDR1
	SEQ ID NO: 634 (Kabat)	LCDR2
	SEQ ID NO: 635 (Kabat)	LCDR3
	SEQ ID NO: 636 (Chothia)	LCDR1
	SEQ ID NO: 637 (Chothia)	LCDR2
	SEQ ID NO: 638 (Chothia)	LCDR3

[1280] 其他示例性PD-L1抑制剂

[1281] 在一个实施例中,所述抗PD-L1抗体分子是阿特利珠单抗(基因泰克公司/罗氏公司),也称为MPDL3280A、RG7446、R05541267、YW243.55.S70、或TECENTRIQ™。阿特利珠单抗和其他抗PD-L1抗体在US 8,217,149中披露,这些抗体通过引用以其整体并入。在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含以下的一种或多种:阿特利珠单抗的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列,例如,在表21中所披露的。

[1282] 在一个实施例中,所述抗PD-L1抗体分子是阿维鲁单抗(默克雪兰诺公司和辉瑞公司),也称为MSB0010718C。阿维鲁单抗和其他抗PD-L1抗体披露于WO 2013/079174(将其通过引用以其整体并入)中。在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含以下的一种或多种:阿维鲁单抗的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列,例如,在表21中所披露的。

[1283] 在一个实施例中,所述抗PD-L1抗体分子是度伐鲁单抗(英商梅迪缪思有限公司/阿斯利康公司),也称为MEDI4736。度伐鲁单抗和其他抗PD-L1抗体披露于US 8,779,108(将其通过引用以其整体并入)中。在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含以下中的一种或多种:度伐鲁单抗的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列,例如,如表21中所披露的。

[1284] 在一个实施例中,所述抗PD-L1抗体分子是BMS-936559(百时美施贵宝公司),也称为MDX-1105或12A4。BMS-936559和其他抗PD-L1抗体披露于US 7,943,743和WO 2015/081158(将其通过引用以其整体并入)中。在一个实施例中,抗PD-L1抗体分子包含以下中的一种或多种:BMS-936559的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列,例如,如表21中所披露的。

[1285] 其他已知的抗PD-L1抗体包括描述于例如以下中的那些:WO 2015/181342、WO 2014/100079、WO 2016/000619、WO 2014/022758、WO 2014/055897、WO 2015/061668、WO

2013/079174、WO 2012/145493、WO 2015/112805、WO 2015/109124、WO 2015/195163、US 8,168,179、US 8,552,154、US 8,460,927、和US 9,175,082(将其通过引用以其整体并入)。

[1286] 在一个实施例中,所述抗PD-L1抗体是与本文所述的抗PD-L1抗体之一竞争与PD-L1上的相同表位结合和/或结合至PD-L1上的相同表位的抗体。

[1287] 表21.其他示例性抗PD-L1抗体分子的氨基酸序列

	阿特殊单抗	
	SEQ ID NO: 639	重链
	SEQ ID NO: 640	轻链
	阿维鲁单抗	
[1288]	SEQ ID NO: 641	重链
	SEQ ID NO: 642	轻链
	度伐鲁单抗	
	SEQ ID NO: 643	重链
	SEQ ID NO: 644	轻链
	BMS-936559	
[1289]	SEQ ID NO: 645	VH
	SEQ ID NO: 646	VL

[1290] LAG-3抑制剂

[1291] 在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法与LAG-3抑制剂组合施用。在一些实施例中,所述LAG-3抑制剂选自LAG525(诺华公司)、BMS-986016(百时美施贵宝公司)、或TSR-033(Tesaro公司)。

[1292] 示例性LAG-3抑制剂

[1293] 在一个实施例中,所述LAG-3抑制剂是抗LAG-3抗体分子。在一个实施例中,所述LAG-3抑制剂是抗LAG-3抗体分子,如题为“LAG-3的抗体分子及其用途”的2015年9月17日披露的US 2015/0259420(将其通过引用以其整体并入)中所披露的。

[1294] 在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含来自重链和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个、或六个互补决定区(CDR)(或总体上全部CDR),所述重链和轻链可变区包含表22(例如,来自表22中披露的BAP050-克隆I、或BAP050-克隆J的重链和轻链可变区序列)中所示的氨基酸序列、或由表22中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列。在一些实施例中,CDR根据Kabat定义(例如,如表22中所列出的)。在一些实施例中,CDR根据Chothia定义(例如,如表22中所列出的)。在一些实施例中,CDR根据Kabat和Chothia两者的组合CDR定义(例如,如表22中所列出的)。在一个实施例中,VH CDR1的Kabat和Chothia CDR的组合包含氨基酸序列GFTLTNYGMN(SEQ ID NO:766)。在一个实施例中,相对于表22中所示的氨基酸序列,或由表22中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,CDR中的一个或多个(或总体上全部CDR)具有一个、两个、三个、四个、五个、六个或更多个变化,例如氨基酸取代(例如,保守氨基酸取代)或缺失。

[1295] 在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),该重链可变区包含SEQ ID NO:701的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:702的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:703的VHCDR3氨基酸序列,该轻链可变区包含SEQ ID NO:710的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:711的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:712的VLCDR3氨基酸序列,各自披露于表22中。

[1296] 在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含:VH,所述VH含有由SEQ ID NO:736或737的核苷酸序列编码的VHCDR1、由SEQ ID NO:738或739的核苷酸序列编码的VHCDR2、和由SEQ ID NO:740或741的核苷酸序列编码的VHCDR3;以及VL,所述VL含有由SEQ ID NO:746或747的核苷酸序列编码的VLCDR1、由SEQ ID NO:748或749的核苷酸序列编码的VLCDR2、和由SEQ ID NO:750或751的核苷酸序列编码的VLCDR3,这些序列各自披露于表22中。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含:VH,所述VH含有由SEQ ID NO:758或737的核苷酸序列编码的VHCDR1、由SEQ ID NO:759或739的核苷酸序列编码的VHCDR2、和由SEQ ID NO:760或741的核苷酸序列编码的VHCDR3;以及VL,所述VL含有由SEQ ID NO:746或747的核苷酸序列编码的VLCDR1、由SEQ ID NO:748或749的核苷酸序列编码的VLCDR2、和由SEQ ID NO:750或751的核苷酸序列编码的VLCDR3,这些序列各自披露于表22中。

[1297] 在一个实施例中,所述抗LAG-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:706的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:706具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的VH。在一个实施例中,所述抗LAG-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:718的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:718具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,所述抗LAG-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:724的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:724具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的VH。在一个实施例中,所述抗LAG-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:730的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:730具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,所述抗LAG-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:706的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:718的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,所述抗LAG-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:724的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:730的氨基酸序列的VL。

[1298] 在一个实施例中,所述抗体分子包含:由SEQ ID NO:707或708的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:707或708具有至少85%、90%、95%、或99%或更高同一性的核苷酸序列编码的VH。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:719或720的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:719或720具有至少85%、90%、95%、或99%或更高同一性的核苷酸序列编码的VL。在一个实施例中,所述抗体分子包含:由SEQ ID NO:725或726的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:725或726具有至少85%、90%、95%、或99%或更高同一性的核苷酸序列编码的VH。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:731或732的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:731或732具有至少85%、90%、95%、或99%或更高同一性的核苷酸序列编码的VL。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:707或708的核苷酸序列编码的VH和由SEQ ID NO:719或720的核苷酸序列编码的VL。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:725或726的核苷酸序列编码的VH和由SEQ ID NO:731或732的核苷酸序列编码的VL。

[1299] 在一个实施例中,所述抗LAG-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:709的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:709具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的重

链。在一个实施例中,所述抗LAG-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:721的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:721具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,所述抗LAG-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:727的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:727具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的重链。在一个实施例中,所述抗LAG-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:733的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:733具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:709的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:721的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:727的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:733的氨基酸序列的轻链。

[1300] 在一个实施例中,所述抗体分子包含:由SEQ ID NO:716或717的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:716或717具有至少85%、90%、95%、或99%或更高同一性的核苷酸序列编码的重链。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:722或723的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:722或723具有至少85%、90%、95%、或99%或更高同一性的核苷酸序列编码的轻链。在一个实施例中,所述抗体分子包含:由SEQ ID NO:728或729的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:728或729具有至少85%、90%、95%、或99%或更高同一性的核苷酸序列编码的重链。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:734或735的核苷酸序列,或与SEQ ID NO:734或735具有至少85%、90%、95%、或99%或更高同一性的核苷酸序列编码的轻链。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:716或717的核苷酸序列编码的重链和由SEQ ID NO:722或723的核苷酸序列编码的轻链。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:728或729的核苷酸序列编码的重链和由SEQ ID NO:734或735的核苷酸序列编码的轻链。

[1301] 本文所述的抗体分子可以通过载体、宿主细胞、和在US 2015/0259420 (将其通过引用以其整体并入)中描述的方法制得。

[1302] 表22. 示例性抗LAG-3抗体分子的氨基酸和核苷酸序列

BAP050-克隆 I HC	
SEQ ID NO: 701 (Kabat)	HCDR1
SEQ ID NO: 702 (Kabat)	HCDR2
[1303] SEQ ID NO: 703 (Kabat)	HCDR3
SEQ ID NO: 704 (Chothia)	HCDR1
SEQ ID NO: 705 (Chothia)	HCDR2
SEQ ID NO: 703 (Chothia)	HCDR3

[1304]

SEQ ID NO:706	VH
SEQ ID NO: 707	DNA VH
SEQ ID NO: 708	DNA VH
SEQ ID NO: 709	重链
SEQ ID NO: 716	DNA 重链
SEQ ID NO: 717	DNA 重链
BAP050-克隆 I LC	
SEQ ID NO: 710 (Kabat)	LCDR1
SEQ ID NO: 711 (Kabat)	LCDR2
SEQ ID NO: 712 (Kabat)	LCDR3
SEQ ID NO: 713 (Chothia)	LCDR1
SEQ ID NO: 714 (Chothia)	LCDR2
SEQ ID NO: 715 (Chothia)	LCDR3
SEQ ID NO: 718	VL
SEQ ID NO: 719	DNA VL
SEQ ID NO: 720	DNA VL
SEQ ID NO: 721	轻链
SEQ ID NO: 722	DNA 轻链
SEQ ID NO: 723	DNA 轻链
BAP050-克隆 J HC	
SEQ ID NO: 701 (Kabat)	HCDR1
SEQ ID NO: 702 (Kabat)	HCDR2
SEQ ID NO: 703 (Kabat)	HCDR3
SEQ ID NO: 704 (Chothia)	HCDR1
SEQ ID NO: 705 (Chothia)	HCDR2
SEQ ID NO: 703 (Chothia)	HCDR3
SEQ ID NO: 724	VH
SEQ ID NO: 725	DNA VH
SEQ ID NO: 726	DNA VH
SEQ ID NO: 727	重链
SEQ ID NO: 728	DNA 重链
SEQ ID NO: 729	DNA 重链
BAP050-克隆 J LC	
SEQ ID NO: 710 (Kabat)	LCDR1

[1305]

SEQ ID NO: 711 (Kabat)	LCDR2
SEQ ID NO: 712 (Kabat)	LCDR3
SEQ ID NO: 713 (Chothia)	LCDR1
SEQ ID NO: 714 (Chothia)	LCDR2
SEQ ID NO: 715 (Chothia)	LCDR3
SEQ ID NO: 730	VL
SEQ ID NO: 731	DNA VL
SEQ ID NO: 732	DNA VL
SEQ ID NO: 733	轻链
SEQ ID NO: 734	DNA 轻链
SEQ ID NO: 735	DNA 轻链
BAP050-克隆 I HC	
SEQ ID NO: 736 (Kabat)	HCDR1
SEQ ID NO: 737 (Kabat)	HCDR1
SEQ ID NO: 738 (Kabat)	HCDR2
SEQ ID NO: 739 (Kabat)	HCDR2
SEQ ID NO: 740 (Kabat)	HCDR3
SEQ ID NO: 741 (Kabat)	HCDR3
SEQ ID NO: 742 (Chothia)	HCDR1
SEQ ID NO: 743 (Chothia)	HCDR1
SEQ ID NO: 744 (Chothia)	HCDR2
SEQ ID NO: 745 (Chothia)	HCDR2
SEQ ID NO: 740 (Chothia)	HCDR3
SEQ ID NO: 741 (Chothia)	HCDR3
BAP050-克隆 I LC	
SEQ ID NO: 746 (Kabat)	LCDR1
SEQ ID NO: 747 (Kabat)	LCDR1
SEQ ID NO: 748 (Kabat)	LCDR2
SEQ ID NO: 749 (Kabat)	LCDR2
SEQ ID NO: 750 (Kabat)	LCDR3
SEQ ID NO: 751 (Kabat)	LCDR3
SEQ ID NO: 752 (Chothia)	LCDR1
SEQ ID NO: 753 (Chothia)	LCDR1
SEQ ID NO: 754 (Chothia)	LCDR2

	SEQ ID NO: 755 (Chothia)	LCDR2
	SEQ ID NO: 756 (Chothia)	LCDR3
	SEQ ID NO: 757 (Chothia)	LCDR3
	BAP050-克隆 J HC	
	SEQ ID NO: 758 (Kabat)	HCDR1
	SEQ ID NO: 737 (Kabat)	HCDR1
	SEQ ID NO: 759 (Kabat)	HCDR2
	SEQ ID NO: 739 (Kabat)	HCDR2
	SEQ ID NO: 760 (Kabat)	HCDR3
	SEQ ID NO: 741 (Kabat)	HCDR3
	SEQ ID NO: 761 (Chothia)	HCDR1
	SEQ ID NO: 743 (Chothia)	HCDR1
	SEQ ID NO: 744 (Chothia)	HCDR2
	SEQ ID NO: 745 (Chothia)	HCDR2
[1306]	SEQ ID NO: 760 (Chothia)	HCDR3
	SEQ ID NO: 741 (Chothia)	HCDR3
	BAP050-克隆 J LC	
	SEQ ID NO: 746 (Kabat)	LCDR1
	SEQ ID NO: 747 (Kabat)	LCDR1
	SEQ ID NO: 748 (Kabat)	LCDR2
	SEQ ID NO: 749 (Kabat)	LCDR2
	SEQ ID NO: 750 (Kabat)	LCDR3
	SEQ ID NO: 751 (Kabat)	LCDR3
	SEQ ID NO: 752 (Chothia)	LCDR1
	SEQ ID NO: 753 (Chothia)	LCDR1
	SEQ ID NO: 754 (Chothia)	LCDR2
	SEQ ID NO: 755 (Chothia)	LCDR2
	SEQ ID NO: 756 (Chothia)	LCDR3
	SEQ ID NO: 757 (Chothia)	LCDR3

[1307] 其他示例性LAG-3抑制剂

[1308] 在一个实施例中,所述抗LAG-3抗体分子是BMS-986016(百时美施贵宝公司),也称为BMS986016。BMS-986016和其他抗LAG-3抗体披露于WO 2015/116539和US 9,505,839(将其通过引用以其整体并入)中。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含以下中的一种或多种:BMS-986016的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列,例如,如表23中所披露的。

[1309] 在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子是TSR-033(泰萨罗公司)。在一个实施例中,抗

LAG-3抗体分子包含以下的一种或多种:TSR-033的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1310] 在一个实施例中,所述抗LAG-3抗体分子是IMP731或GSK2831781(GSK公司和普瑞马生物医药公司)。IMP731和其他抗LAG-3抗体披露于WO 2008/132601和US 9,244,059(将其通过引用以其整体并入)中。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含以下中的一种或多种:IMP731的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列,例如,如表23中所披露的。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含以下中的一种或多种:GSK2831781的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1311] 在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子是IMP761(普瑞马生物医药公司)。在一个实施例中,抗LAG-3抗体分子包含以下的一种或多种:IMP761的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1312] 其他已知的抗LAG-3抗体包括在例如WO 2008/132601、WO 2010/019570、WO 2014/140180、WO 2015/116539、WO 2015/200119、WO 2016/028672、US 9,244,059、US 9,505,839(将其通过引用以其整体并入)中描述的那些。

[1313] 在一个实施例中,所述抗LAG-3抗体是与本文所述的抗LAG-3抗体之一竞争与LAG-3上的相同表位结合和/或结合至LAG-3上的相同表位的抗体。

[1314] 在一个实施例中,所述抗LAG-3抑制剂是可溶性LAG-3蛋白,例如,IMP321(普瑞马生物医药公司),例如,如WO 2009/044273(将其通过引用以其整体并入)中所披露的。

[1315] 表23.其他示例性抗LAG-3抗体分子的氨基酸序列

[1316]	BMS-986016	
	SEQ ID NO:762	重链
	SEQ ID NO:763	轻链
	IMP731	
	SEQ ID NO:764	重链
	SEQ ID NO:765	轻链

[1317] TIM-3抑制剂

[1318] 在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法与TIM-3抑制剂组合施用。在一些实施例中,所述TIM-3抑制剂是MGB453(诺华公司)或TSR-022(泰萨罗公司)。

[1319] 示例性TIM-3抑制剂

[1320] 在一个实施例中,所述TIM-3抑制剂是抗TIM-3抗体分子。在一个实施例中,所述TIM-3抑制剂是抗TIM-3抗体分子,如题为“TIM-3的抗体分子及其用途”的2015年8月6日披露的US 2015/0218274(将其通过引用以其整体并入)中所披露的。

[1321] 在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含来自重链和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个、或六个互补决定区(CDR)(或总体上全部CDR),所述重链和轻链可变区包含表24(例如,来自表24中披露的ABTIM3-hum11、或ABTIM3-hum03的重链和轻链可变区序列)中所示的氨基酸序列、或由表24中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列。在一些实施例中,CDR根据Kabat定义(例如,如表24中所列出的)。在一些实施例中,CDR根据Chothia定义(例如,如表24中所列出的)。在一个实施例中,相对于表24中所示的氨基酸序列,或由表24

中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,CDR中的一个或多个(或总体上全部CDR)具有一个、两个、三个、四个、五个、六个或更多个变化,例如氨基酸取代(例如,保守氨基酸取代)或缺失。

[1322] 在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),该重链可变区包含SEQ ID NO:801的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:802的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:803的VHCDR3氨基酸序列,该轻链可变区包含SEQ ID NO:810的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:811的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:812的VLCDR3氨基酸序列,各自披露于表24中。在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),该重链可变区包含SEQ ID NO:801的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:820的VHCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:803的VHCDR3氨基酸序列,该轻链可变区包含SEQ ID NO:810的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:811的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:812的VLCDR3氨基酸序列,各自披露于表24中。

[1323] 在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:806的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:806具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的VH。在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:816的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:816具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:822的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:822具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的VH。在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:826的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:826具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,所述抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:806的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:816的氨基酸序列的VL。在一个实施例中,所述抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:822的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:826的氨基酸序列的VL。

[1324] 在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:807的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:807具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列编码的VH。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:817的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:817具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列编码的VL。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:823的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:823具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列编码的VH。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:827的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:827具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列编码的VL。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:807的核苷酸序列编码的VH和由SEQ ID NO:817的核苷酸序列编码的VL。在一个实施例中,抗体分子包含由SEQ ID NO:823的核苷酸序列编码的VH和由SEQ ID NO:827的核苷酸序列编码的VL。

[1325] 在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:808的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:808具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的重链。在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:818的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:818具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:824的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:824具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的重链。在一个实施例中,抗TIM-3

抗体分子包含:含有SEQ ID NO:828的氨基酸序列、或与SEQ ID NO:828具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:808的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:818的氨基酸序列的轻链。在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含:含有SEQ ID NO:824的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:828的氨基酸序列的轻链。

[1326] 在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:809的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:809具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列编码的重链。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:819的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:819具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列编码的轻链。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:825的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:825具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列编码的重链。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:829的核苷酸序列、或与SEQ ID NO:829具有至少85%、90%、95%、或99%、或更高同一性的核苷酸序列编码的轻链。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:809的核苷酸序列编码的重链和由SEQ ID NO:819的核苷酸序列编码的轻链。在一个实施例中,抗体分子包含:由SEQ ID NO:825的核苷酸序列编码的重链和由SEQ ID NO:829的核苷酸序列编码的轻链。

[1327] 本文所述的抗体分子可以通过载体、宿主细胞、和在US 2015/0218274 (将其通过引用以其整体并入)中描述的方法制得。

[1328] 表24. 示例性抗TIM-3抗体分子的氨基酸和核苷酸序列

[1329]

ABTIM3-hum11	
SEQ ID NO: 801 (Kabat)	HCDR1
SEQ ID NO: 802 (Kabat)	HCDR2
SEQ ID NO: 803 (Kabat)	HCDR3
SEQ ID NO: 804 (Chothia)	HCDR1
SEQ ID NO: 805 (Chothia)	HCDR2
SEQ ID NO: 803 (Chothia)	HCDR3
SEQ ID NO: 806	VH
SEQ ID NO: 807	DNA VH
SEQ ID NO: 808	重链
SEQ ID NO: 809	DNA 重链
SEQ ID NO: 810 (Kabat)	LCDR1
SEQ ID NO: 811 (Kabat)	LCDR2
SEQ ID NO: 812 (Kabat)	LCDR3
SEQ ID NO: 813 (Chothia)	LCDR1
SEQ ID NO: 814 (Chothia)	LCDR2
SEQ ID NO: 815 (Chothia)	LCDR3
SEQ ID NO: 816	VL

[1330]

SEQ ID NO: 817	DNA VL
SEQ ID NO: 818	轻链
SEQ ID NO: 819	DNA 轻链
ABTIM3-hum03	
SEQ ID NO: 801 (Kabat)	HCDR1
SEQ ID NO: 820 (Kabat)	HCDR2
SEQ ID NO: 803 (Kabat)	HCDR3
SEQ ID NO: 804 (Chothia)	HCDR1
SEQ ID NO: 821 (Chothia)	HCDR2
SEQ ID NO: 803 (Chothia)	HCDR3
SEQ ID NO: 822	VH
SEQ ID NO: 823	DNA VH
SEQ ID NO: 824	重链
SEQ ID NO: 825	DNA 重链
SEQ ID NO: 810 (Kabat)	LCDR1
SEQ ID NO: 811 (Kabat)	LCDR2
SEQ ID NO: 812 (Kabat)	LCDR3
SEQ ID NO: 813 (Chothia)	LCDR1
SEQ ID NO: 814 (Chothia)	LCDR2
SEQ ID NO: 815 (Chothia)	LCDR3
SEQ ID NO: 826	VL
SEQ ID NO: 827	DNA VL
SEQ ID NO: 828	轻链
SEQ ID NO: 829	DNA 轻链

[1331] 其他示例性TIM-3抑制剂

[1332] 在一个实施例中,所述抗TIM-3抗体分子是TSR-022(安奈普泰斯生物有限公司(AnaptysBio)/泰萨罗公司)。在一个实施例中,所述抗TIM-3抗体分子包含以下中的一种或多种:TSR-022的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。在一个实施例中,抗TIM-3抗体分子包含以下中的一种或多种:APE5137、或APE5121的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列,例如,如表25中所披露的。APE5137、APE5121和其他抗TIM-3抗体披露于WO 2016/161270(将其通过引用以其整体并入)中。

[1333] 在一个实施例中,所述抗TIM-3抗体分子是抗体克隆F38-2E2。在一个实施例中,所述抗TIM-3抗体分子包含以下中的一种或多种:F38-2E2的CDR序列(或总体上全部CDR序列)、重链或轻链可变区序列、或重链或轻链序列。

[1334] 其他已知的抗TIM-3抗体包括例如在WO 2016/111947、WO 2016/071448、WO 2016/

144803、US 8,552,156、US 8,841,418、和US 9,163,087 (将其通过引用以其整体并入) 中描述的那些。

[1335] 在一个实施例中,所述抗TIM-3抗体是与本文所述的抗TIM-3抗体之一竞争与TIM-3上的相同表位结合和/或结合至TIM-3上的相同表位的抗体。

[1336] 表25.其他示例性抗TIM-3抗体分子的氨基酸序列

[1337]	APE5137	
	SEQ ID NO:830	VH
	SEQ ID NO:831	VL
	APE5121	
	SEQ ID NO:832	VH
	SEQ ID NO:833	VL

[1338] TGF- β 抑制剂

[1339] 在某些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法与转化生长因子 β (也称为TGF- β 、TGF β 、TGFb或TGF-beta,在本文中可互换使用) 抑制剂组合施用。

[1340] TGF- β 属于结构相关的细胞因子的大家族,包括例如骨形态发生蛋白(BMP)、生长和分化因子、活化素和抑制素。在一些实施例中,本文所述的TGF- β 抑制剂可以结合和/或抑制TGF- β 的一种或多种同种型(例如,TGF- β 1、TGF- β 2、或TGF- β 3中的一种、两种、或全部)。

[1341] 在一些实施例中,所述TGF- β 抑制剂包含XOMA 089或国际申请披露号WO 2012/167143 (将其通过引用以其整体并入) 中所披露的化合物。

[1342] XOMA 089也称为XPA.42.089.XOMA 089是完全人单克隆抗体,该抗体特异性结合并中和TGF- β 1和2配体。

[1343] XOMA 089的重链可变区具有以下氨基酸序列:QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISSWVRQAPGQGLEWMGGIIPFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLWEVRLPSVYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:1986) (在WO 2012/167143中披露为SEQ ID NO:6)。XOMA 089的轻链可变区具有以下氨基酸序列:SYELTQPPSVSVAPGQTARITCGANDIGSKSVHWYQQKAGQAPVLVSEDIIRPSGIPERISGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDRSDQYVFGTGTKVTVLG (SEQ ID NO:1987) (在WO 2012/167143中披露为SEQ ID NO:8)。

[1344] XOMA 089以高亲和力结合人TGF- β 同种型。一般而言,XOMA 089以高亲和力结合TGF- β 1和TGF- β 2,并且在较小程度上结合TGF- β 3。在Biacore测定中,人TGF- β 上的XOMA 089的 K_D 是14.6pM (对于TGF- β 1)、67.3pM (对于TGF- β 2)、和948pM (对于TGF- β 3)。鉴于与所有三种TGF- β 同种型的高亲和力结合,在某些实施例中,预期XOMA 089以如本文所述的XOMA 089的剂量结合TGF- β 1、2和3。XOMA 089与啮齿动物和食蟹猴TGF- β 交叉反应,并在体外和体内显示出功能活性,制作啮齿动物和食蟹猴相关物种用于毒理学研究。

[1345] 在一些实施例中,所述TGF- β 抑制剂包含夫苏木单抗(fresolimumab) (CAS登记号:948564-73-6)。夫苏木单抗也称为GC1008。夫苏木单抗是结合和抑制TGF- β 同种型1、2和3的人单克隆抗体。

[1346] 夫苏木单抗的重链具有以下氨基酸序列:QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFSSNVISSWVRQAPGQGLEWMGGVPIVDIANYAQRFKGRVTITADESTSTTYMELSSLRSEDTAVYYCASTLGLVLDAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL

SSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTC
VVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI S
KAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD
KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO:1988)。

[1347] 夫苏木单抗的轻链具有以下氨基酸序列:ETVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSLGSSY
LAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRAPGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYADSPITFGQGTRLEIKR
TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKA
DYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:1989)。

[1348] 夫苏木单抗披露于例如国际申请披露号W0 2006/086469、和美国专利号8,383,780和8,591,901(将其通过引用以其整体并入)中。

[1349] 抗CD73抗体分子

[1350] 在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法与抗CD73抗体分子组合施用。在一个实施例中,抗CD73抗体分子是完全抗体分子或其抗原结合片段。在一些实施例中,所述抗CD73抗体分子选自表26中列出的任何抗体分子。在其他实施例中,抗CD73抗体分子包含如在表26中披露的重链可变结构域序列、轻链可变结构域序列、或二者。在某些实施例中,所述抗CD73抗体分子结合CD73蛋白质并减少例如,抑制或拮抗CD73(例如,人CD73)的活性。

[1351] 在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子是在W0 2016/075099中披露的抗CD73抗体,该申请通过引用以其整体并入本文。在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子是MEDI 9447,例如,如披露于W0 2016/075099中。MEDI 9447的可替代的名称包括克隆10.3或73combo3。MEDI 9447是IgG1抗体,其抑制例如,拮抗CD73的活性。MEDI 9447和其他抗CD73抗体分子还披露于W0 2016/075176和US 2016/0129108中,这些申请的全部内容通过引用以其整体并于本文中。

[1352] 在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子包含MEDI 9477的重链可变结构域、轻链可变结构域、或二者。MEDI 9477的重链可变结构域的氨基酸序列被披露为SEQ ID NO:1990(参见表26)。MEDI 9477的轻链可变结构域的氨基酸序列被披露为SEQ ID NO:1991(参见表26)。

[1353] 在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子是在W0 2016/081748中披露的抗CD73抗体,该申请通过引用以其整体并入本文。在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子是11F11,例如,如披露于W0 2016/081748中。11F11是IgG2抗体,其抑制例如,拮抗CD73的活性。衍生自11F11的抗体,例如,CD73.4和CD73.10;11F11的克隆,例如,11F11-1和11F11-2;和披露于W0 2016/081748和US 9,605,080中的其他抗CD73抗体分子,这些申请的全部内容通过引用以其整体并于本文中。

[1354] 在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子包含11F11-1或11F11-2的重链可变结构域、轻链可变结构域、或二者。11F11-1的重链可变结构域的氨基酸序列被披露为SEQ ID NO:1998(参见表26)。11F11-1的轻链可变结构域的氨基酸序列被披露为SEQ ID NO:1999(参见表26)。11F11-2的重链可变结构域的氨基酸序列被披露为SEQ ID NO:1994(参见表26)。11F11-2的轻链可变结构域的氨基酸序列被披露为SEQ ID NO:1995(参见表26)。在一个实施例中,抗CD73抗体分子包含11F11-1或11F11-2的重链、轻链、或二者。11F11-1的重链和轻链氨基酸序列分别被披露为SEQ ID NO:1996和SEQ ID NO:1997(参见表26)。11F11-2

的重链和轻链氨基酸序列分别被披露为SEQ ID NO:1992和SEQ ID NO:1993(参见表26)。

[1355] 在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子是在例如,US 9,605,080中披露的抗CD73抗体,该申请通过引用以其整体并入本文。

[1356] 在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子是CD73.4,例如,如披露于US 9,605,080中。在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子包含CD73.4的重链可变结构域、轻链可变结构域、或二者。CD73.4的重链可变结构域的氨基酸序列被披露为SEQ ID NO:2000(参见表26)。11F11-2的轻链可变结构域的氨基酸序列被披露为SEQ ID NO:2001(参见表26)。

[1357] 在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子是CD73.10,例如,如披露于US 9,605,080中。在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子包含CD73.10的重链可变结构域、轻链可变结构域、或二者。CD73.10的重链可变结构域的氨基酸序列被披露为SEQ ID NO:2002(参见表26)。11F11-2的轻链可变结构域的氨基酸序列被披露为SEQ ID NO:2003(参见表26)。

[1358] 在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子是在W0 2009/0203538中披露的抗CD73抗体,该申请通过引用以其整体并入本文。在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子是067-213,例如,如披露于W0 2009/0203538中。

[1359] 在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子包含067-213的重链可变结构域、轻链可变结构域、或二者。067-213的重链可变结构域的氨基酸序列被披露为SEQ ID NO:2004(参见表26)。067-213的轻链可变结构域的氨基酸序列被披露为SEQ ID NO:2005(参见表26)。

[1360] 在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子是在US 9,090,697中披露的抗CD73抗体,该申请通过引用以其整体并入本文。在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子是TY/23,例如,如披露于US 9,090,697中。在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子包含TY/23的重链可变结构域、轻链可变结构域、或二者。

[1361] 在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子是在W0 2016/055609中披露的抗CD73抗体,该申请通过引用以其整体并入本文。在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子包含在W0 2016/055609中披露的抗CD73抗体的重链可变结构域、轻链可变结构域、或二者。

[1362] 在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子是在W0 2016/146818中披露的抗CD73抗体,该申请通过引用以其整体并入本文。在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子包含在W0 2016/146818中披露的抗CD73抗体的重链可变结构域、轻链可变结构域、或二者。

[1363] 在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子是在W0 2004/079013中披露的抗CD73抗体,该申请通过引用以其整体并入本文。在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子包含在W0 2004/079013中披露的抗CD73抗体的重链可变结构域、轻链可变结构域、或二者。

[1364] 在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子是在W0 2012/125850中披露的抗CD73抗体,该申请通过引用以其整体并入本文。在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子包含在W0 2012/125850中披露的抗CD73抗体的重链可变结构域、轻链可变结构域、或二者。

[1365] 在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子是在W0 2015/004400中披露的抗CD73抗体,该申请通过引用以其整体并入本文。在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子包含在W0 2015/004400中披露的抗CD73抗体的重链可变结构域、轻链可变结构域、或二者。

[1366] 在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子是在W0 2007/146968中披露的抗CD73抗体,该申请通过引用以其整体并入本文。在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子包含在W0 2007146968中披露的抗CD73抗体的重链可变结构域、轻链可变结构域、或二者。

[1367] 在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子是在US 2007/0042392中披露的抗CD73抗体,该申请通过引用以其整体并入本文。在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子包含在US 2007/0042392中披露的抗CD73抗体的重链可变结构域、轻链可变结构域、或二者。

[1368] 在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子是在US 2009/0138977中披露的抗CD73抗体,该申请通过引用以其整体并入本文。在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子包含在US 2009/0138977中披露的抗CD73抗体的重链可变结构域、轻链可变结构域、或二者。

[1369] 在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子是在Flocke等人,Eur J Cell Biol.[欧洲细胞生物学杂志]1992年6月;58(1):62-70中披露的抗CD73抗体,该文献通过引用以其整体并入本文。在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子包含在Flocke等人,Eur J Cell Biol.[欧洲细胞生物学杂志]1992年6月;58(1):62-70中披露的抗CD73抗体的重链可变结构域、轻链可变结构域、或二者。

[1370] 在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子是在Stagg等人,PNAS.[美国国家科学院院刊]2010年1月107(4):1547-1552中披露的抗CD73抗体,该文献通过引用以其整体并入本文。在一些实施例中,所述抗CD73抗体分子是如在Stagg等人中披露的TY/23或TY11.8。在一个实施例中,所述抗CD73抗体分子包含在Stagg等人中披露的抗CD73抗体的重链可变结构域、轻链可变结构域、或二者。

[1371] 表26:示例性抗CD73抗体分子的序列

	<i>WO201/6075099</i>	
	MEDI 9447	
	SEQ ID NO: 1990	VH
	SEQ ID NO: 1991	VL
	<i>WO2016/081748</i>	
	11F11-2	
	SEQ ID NO: 1992	HC
	SEQ ID NO: 1993	LC
	SEQ ID NO: 1994	VH
	SEQ ID NO: 1995	VL κ
[1372]	<i>WO2016/081748</i>	
	11F11-1	
	SEQ ID NO: 1996	HC
	SEQ ID NO: 1997	LC
	SEQ ID NO: 1998	VH
	SEQ ID NO: 1999	VL κ
	<i>US9605080</i>	
	CD73.4	
	SEQ ID NO: 2000	VH
	SEQ ID NO: 2001	VL κ
	<i>US9605080</i>	
	CD73.10	
	SEQ ID NO: 2002	VH
	SEQ ID NO: 2003	VL κ
[1373]	<i>US9388249</i>	
	067-213	
	SEQ ID NO: 2004	VH
	SEQ ID NO: 2005	VL

[1374] 本文披露的组合疗法中使用的抗CD73抗体分子可以包括表26中披露的任何VH/VL序列,或与其基本上相同的氨基酸序列(例如,与其具有至少80%、85%、90%、95%、99%或更高同一性)。CD73抗体的示例性序列包括:

[1375] (i) 分别针对MEDI 9447,SEQ ID NO:1990-1991的VH和VL氨基酸序列,或与其基本上相同的氨基酸序列(例如,与SEQ ID NO:1990-1991具有至少80%、85%、90%、95%、99%或更高同一性);

[1376] (ii) 分别针对11F11-2, SEQ ID NO:1992-1993的HC和LC氨基酸序列,或与其基本上相同的氨基酸序列(例如,与SEQ ID NO:1992-1993具有至少80%、85%、90%、95%、99%或更高同一性);

[1377] (iii) 分别针对11F11-2, SEQ ID NO:1994-1995的VH和VL氨基酸序列,或与其基本上相同的氨基酸序列(例如,与SEQ ID NO:1994-1995具有至少80%、85%、90%、95%、99%或更高同一性);

[1378] (iv) 分别针对11F11-1, SEQ ID NO:1996和1997的HC和LC氨基酸序列,或与其基本上相同的氨基酸序列(例如,与SEQ ID NO:1996和1997具有至少80%、85%、90%、95%、99%或更高同一性);

[1379] (v) 分别针对11F11-1, SEQ ID NO:1998-1999的VH和VL氨基酸序列,或与其基本上相同的氨基酸序列(例如,与SEQ ID NO:1998-1999具有至少80%、85%、90%、95%、99%或更高同一性);

[1380] (vi) 分别针对CD73.4, SEQ ID NO:2000-2001的VH和VL氨基酸序列,或与其基本上相同的氨基酸序列(例如,与SEQ ID NO:2000-2001具有至少80%、85%、90%、95%、99%或更高同一性);

[1381] (vii) 分别针对CD73.10, SEQ ID NO:2002-2003的VH和VL氨基酸序列,或与其基本上相同的氨基酸序列(例如,与SEQ ID NO:2002-2003具有至少80%、85%、90%、95%、99%或更高同一性);或者

[1382] (viii) 分别针对067-213, SEQ ID NO:2004-2005的VH和VL氨基酸序列,或与其基本上相同的氨基酸序列(例如,与SEQ ID NO:2004-2005具有至少80%、85%、90%、95%、99%或更高同一性)。

[1383] IL-17抑制剂

[1384] 在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法与白介素-17 (IL-17) 抑制剂组合施用。

[1385] 在一些实施例中,所述IL-17抑制剂是苏金单抗(CAS登记号:875356-43-7(重链)和875356-44-8(轻链))。苏金单抗还被称为AIN457和**COSENTYX®**。苏金单抗是特异性结合至IL-17A的重组人单克隆IgG1/ κ 抗体。其表达于重组中国仓鼠卵巢(CHO)细胞系中。

[1386] 苏金单抗描述于,例如,WO 2006/013107、US 7,807,155、US 8,119,131、US 8,617,552、和EP 1776142中。苏金单抗的重链可变区具有以下氨基酸序列:

[1387] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAAINQDGSEKYYVGSVKGRF TISRDNAKNSLYLQMNSLRVEDTAVYYCVRDYDILTDYYIHYWYFDLWGRGTLVTVSS (SEQ ID NO:2006) (在WO 2006/013107中披露为SEQ ID NO:8)。苏金单抗的轻链可变区具有以下氨基酸序列:

[1388] EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSPPCTFGQGRLEIKR (SEQ ID NO:2007) (在WO 2006/013107中披露为SEQ ID NO:10)。苏金单抗的重链CDR1具有NYWMN的氨基酸序列(SEQ ID NO:2008) (在WO 2006/013107中披露为SEQ ID NO:1)。苏金单抗的重链CDR2具有AINQDGSEKYYVGSVKG的氨基酸序列(SEQ ID NO:2009) (在WO 2006/013107中披露为SEQ ID NO:2)。苏金单抗的重链CDR3具有DYDILTDYYIHYWYFDL的氨基酸序列(SEQ ID NO:2010) (在WO 2006/013107中披露为SEQ ID NO:3)。苏金单抗的轻链CDR1具有RASQSVSSSYLA的氨基酸序列(SEQ ID NO:

2011) (在WO 2006/013107中以SEQ ID NO:4披露)。苏金单抗的轻链CDR2具有GASSRAT的氨基酸序列(SEQ ID NO:2012) (在WO 2006/013107中披露为SEQ ID NO:5)。苏金单抗的轻链CDR3具有GASSRAT的氨基酸序列(SEQ ID NO:2013) (在WO 2006/013107中披露为SEQ ID NO:6)。

[1389] 在一些实施例中,所述IL-17抑制剂是CJM112。CJM112还被称为XAB4。CJM112是靶向IL-17A的(例如,IgG1/ κ 同种型的)完全人单克隆抗体。

[1390] CJM112披露于,例如,WO 2014/122613中。CJM112的重链具有以下氨基酸序列:

[1391] EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRF
TISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTAVYYCARDRGLSYWQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLC
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKRVEPKSCD
KTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(SEQ ID NO:2014) (在WO 2014/122613中披露为SEQ ID NO:14)。CJM112的轻链具有以下氨基酸序列:

[1392] AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRPSQGINWELAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLEQGVPSRFSGSGSG
TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNYSYPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYREA
KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID
NO:2015) (在WO 2014/122613中披露为SEQ ID NO:44)。

[1393] CJM112可以与人、食蟹猴、小鼠和大鼠IL-17A结合并在体外和体内中和这些细胞因子的生物活性。IL-17A作为IL-17家族的成员,是一种主要的促炎细胞因子,已被证明在许多免疫介导的病症,例如牛皮癣和癌症中发挥重要作用(Witowski等人(2004) *Cell Mol. Life Sci.* [细胞分子生命科学] 第567-79页; Miossec和Kolls (2012) *Nat. Rev. Drug Discov.* [自然评论药物发现] 第763-76页)。

[1394] 在一些实施例中,所述IL-17抑制剂是艾塞吉珠单抗(CAS注册号:1143503-69-8)。艾塞吉珠单抗还被称为LY2439821。艾塞吉珠单抗是靶向IL-17A的人源化IgG4单克隆抗体。

[1395] 艾塞吉珠单抗描述于,例如,WO 2007/070750、US 7,838,638、和US 8,110,191中。依奇珠单抗的重链可变区具有以下氨基酸序列:QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYSFTDYHIH
WVRQAPGQGLEWMGVINPMYGTDDYNQRFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARYDYFTGTGVYWGQ
GTLVTVSS (SEQ ID NO:2016) (在WO 2007/070750中披露为SEQ ID NO:118)。依奇珠单抗的轻链可变区具有以下氨基酸序列:

[1396] DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSRLVHVRGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFIGVPDRFS
GSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHLPFTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:2017) (在WO 2007/070750
中披露为SEQ ID NO:241)。

[1397] 在一些实施例中,所述IL-17抑制剂是布罗达单抗(CAS注册号:1174395-19-7)。布罗达单抗还被称为AMG 827或AM-14。布罗达单抗结合至白介素-17受体A(IL-17RA)并阻止IL-17激活受体。

[1398] 布罗达单抗披露于,例如,WO 2008/054603、US 7,767,206、US 7,786,284、US 7,833,527、US 7,939,070、US 8,435,518、US 8,545,842、US 8,790,648、和US 9,073,999中。

布罗达单抗的重链CDR1具有RYGIS的氨基酸序列(SEQ ID NO:2018)(如WO 2008/054603中披露为SEQ ID NO:146的)。布罗达单抗的重链CDR2具有WISTYSGNTNYAQKLQG的氨基酸序列(SEQ ID NO:2019)(如WO 2008/054603中披露为SEQ ID NO:147的)。布罗达单抗的重链CDR3具有RQLYFDY的氨基酸序列(SEQ ID NO:2020)(如WO 2008/054603中披露为SEQ ID NO:148的)。布罗达单抗的轻链CDR1具有RASQSVSSNLA的氨基酸序列(SEQ ID NO:2021)(如WO 2008/054603中披露为SEQ ID NO:224的)。布罗达单抗的重链CDR2具有DASTRAT的氨基酸序列(SEQ ID NO:2022)(如WO 2008/054603中披露为SEQ ID NO:225的)。布罗达单抗的重链CDR3具有QQYDNWPLT的氨基酸序列(SEQ ID NO:2023)(如WO 2008/054603中披露为SEQ ID NO:226的)。

[1399] IL-1 β 抑制剂

[1400] 在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法与白介素-1 β (IL-1 β)抑制剂组合施用。

[1401] 白介素-1(IL-1)细胞因子家族是一组分泌型多效性细胞因子,在炎症和免疫反应中起重要作用。在包括癌症的多种临床背景中观察到IL-1的增加(Apte等人(2006) *Cancer Metastasis Rev.* [癌症和转移综述] 387-408页; Dinarello(2010) *Eur. J. Immunol.* [欧洲免疫学杂志] 599-606页)。IL-1家族尤其包含IL-1 β (IL-1 β)和IL-1 α (IL-1 α)。IL-1 β 在肺癌、乳腺癌和结肠直肠癌中升高(Voronov等人(2014) *Front Physiol.* [生物学前沿] 114页)并且与预后不良相关(Apte等人(2000) *Adv. Exp. Med. Biol.* [实验医学与生物学进展] 277-88页)。不希望受理论束缚,据信在一些实施例中,衍生自肿瘤微环境和通过恶性细胞的分泌型IL-1 β 促进肿瘤细胞增殖、增加侵袭性并抑制抗肿瘤免疫反应(部分通过招募抑制性嗜中性粒细胞)(Apte等人(2006) *Cancer Metastasis Rev.* [癌症和转移综述] 387-408页; Miller等人(2007) *J. Immunol.* [免疫学杂志] 6933-42页)。实验数据指示IL-1 β 的抑制导致肿瘤负荷和转移的减少(Voronov等人(2003) *Proc. Natl. Acad. Sci.* [美国国家科学院院刊] U.S.A. 2645-50页)。

[1402] 在一些实施例中,所述IL-1 β 抑制剂选自阿那白滞素或利纳西普(Rilonacept)。

[1403] 在一些实施例中,所述IL-1 β 抑制剂是阿那白滞素(安进公司(Amgen)),也称为Kineret。阿那白滞素是与IL-1 β 竞争结合细胞表面受体的IL-1Ra拮抗剂。

[1404] 在一些实施例中,所述IL-1 β 抑制剂是利纳西普(Regeneron),也称为Arcalyst。利纳西普是一种融合蛋白,由人白介素-1受体组分(IL-1R1)的胞外部分的配体结合结构域和连接至人IgG1的片段可结晶部分(Fc区域)的IL-1受体辅助蛋白(IL-1RAcP)组成。利纳西普是IL-1 β 抑制剂,它可以,例如,结合并中和IL-1。

[1405] CD32B抑制剂

[1406] 在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法与CD32B抑制剂组合施用。

[1407] 在一些实施例中,所述CD32B抑制剂是抗CD32B抗体分子。示例性的抗CD32B抗体分子在US 8187593、US 8778339、US 8802089、US 20060073142、US 20170198040、US 20130251706和WO 2009083009中披露,其通过引用以其整体并入本文。在一些实施例中,所述抗CD32B抗体分子是US 20170198040中披露的抗体分子。

[1408] 化学治疗剂

[1409] 在一些实施例中,所述表达BCMA CAR的细胞疗法与化学治疗剂组合施用。示例性

化疗剂包括蒽环类(例如,多柔比星(例如,脂质体多柔比星))、长春花生物碱(例如,长春花碱、长春新碱、长春地辛、长春瑞滨)、烷基化剂(例如,环磷酰胺、达卡巴嗪、美法仑、异环磷酰胺、替莫唑胺)、免疫细胞抗体(例如,阿仑珠单抗、吉妥单抗、利妥昔单抗、托西莫单抗)、抗代谢物(包括例如叶酸拮抗剂、嘧啶类似物、嘌呤类似物和腺苷脱氨酶抑制剂(例如,氟达拉滨))、mTOR抑制剂、TNFR糖皮质激素诱导的TNFR相关蛋白(GITR)激动剂、蛋白酶体抑制剂(例如,阿克拉霉素A、胶霉毒素或硼替佐米)、免疫调制剂如沙利度胺或沙利度胺衍生物(例如,来那度胺)。

[1410] 考虑用于组合疗法的一般化疗药剂包括阿那曲唑(Arimidex®)、比卡鲁胺(Casodex®)、硫酸博莱霉素(Blenoxane®)、白消安(Myleran®)、白消安注射液(Busulfex®)、卡培他滨(Xeloda®)、N4-戊氧基羰基-5-脱氧-5-氟胞苷、卡铂(Paraplatin®)、卡莫司汀(BicNU®)、苯丁酸氮芥(Leukeran®)、顺铂(Platinol®)、克拉屈滨(Leustatin®)、环磷酰胺(Cytoxan®或Neosar®)、阿糖胞苷、胞嘧啶阿拉伯糖苷(Cytosar-U®)、阿糖胞苷脂质体注射液(DepoCyt®)、达卡巴嗪(DTIC-Dome®)、更生霉素(放线菌素D、Cosmegen)、盐酸柔红霉素(Cerubidine®)、柠檬酸柔红霉素脂质体注射液(DaunoXome®)、地塞米松、多西他赛(Taxotere®)、盐酸多柔比星(Adriamycin®、Rubex®)、依托泊苷(Vepesid®)、磷酸氟达拉滨(Fludara®)、5-氟尿嘧啶(Adrucil®、Efudex®)、氟他胺(Eulexin®)、tezacitibine、吉西他滨(二氟脱氧胞苷(difluorodeoxycytidine))、羟基脲(Hydra®)、伊达比星(Idamycin®)、异环磷酰胺(IFEX®)、伊立替康(Camptosar®)、L-天冬酰胺酶(ELSPAR®)、甲酰四氢叶酸钙、美法仑(Alkeran®)、6-巯基嘌呤(Purinethol®)、甲氨蝶呤(Folex®)、米托蒽醌(mitoxantrone)(Novantrone®)、吉妥单抗(mylotarg)、紫杉醇(Taxol®)、phoenix(Yttrium90/MX-DTPA)、喷司他丁、polifeprosan 20共卡莫司汀植入物(Gliadel®)、柠檬酸它莫西芬(Nolvadex®)、替尼泊苷(Vumon®)、6-巯鸟嘌呤、噻替派(thiotepa)、替拉扎明(tirapazamine)(Tirazone®)、注射用托泊替康盐酸盐(Hycamptin®)、长春花碱(Velban®)、长春新碱(Oncovin®)、和长春瑞滨(Navelbine®)。

[1411] 示例性的烷化剂包括但不限于氮芥、乙烯亚胺衍生物、烷基磺酸盐、亚硝基脲和三氮烯):乌拉莫司汀(Aminouracil Mustard®)、

Chlorethaminacil®、Demethyldopan®、Desmethyldopan®、Haemanthamine®、Nordopan®、Uracil nitrogen mustard®、Uracillost®、

Uracilmostaza®、Uramustin®、Uramustine®)、氮芥(chlormethine)(Mustargen®)、环磷酰胺(Cytosan®、Neosar®、Clafen®、Endoxan®、Procytox®、Revimmune™)、异环磷酰胺(Mitoxana®)、美法仑(Alkeran®)、苯丁酸氮芥(Leukeran®)、哌泊溴烷(Amedel®、Vercyte®)、三乙烯蜜胺(Hemel®、Hexalen®、Hexastat®)、三乙烯硫代磷酰胺、替莫唑胺(Temodar®)、噻替派(Thioplex®)、白消安(Busilvex®、Myleran®)、卡莫司汀(BiCNU®)、洛莫司汀(CeeNU®)、链脲佐菌素(Zanosar®)和达卡巴嗪(DTIC-Dome®)。另外的示例性烷基化剂包括但不限于奥沙利铂(Eloxatin®);替莫唑胺(Temodar®和Temodal®);放线菌素(也称为放线菌素-D, Cosmegen®);美法仑(也称为L-PAM、L-肌溶素和苯丙氨酸芥末, Alkeran®);六甲蜜胺(也称为六甲基三聚氰胺(HMM)、Hexalen®);卡莫斯汀(BiCNU®);苯达莫司汀(Treanda®);白消安(Busulfex®和Myleran®);卡铂(Paraplatin®);洛莫斯汀(也称为CCNU, CeeNU®);顺铂(也称为CDDP、Platinol®和Platinol®-AQ);苯丁酸氮芥(Leukeran®);环磷酰胺(Cytosan®和Neosar®);达卡巴嗪(也称为DTIC、DIC和咪唑甲酰胺、DTIC-Dome®);Altretamine(也称为六甲基三聚氰胺(HMM)、Hexalen®);异环磷酰胺(Ifex®);泼尼丁星;丙吡嗪(Matulane®);甲乙胺(也称为氮芥菜、芥子碱和甲乙胺盐酸盐, Mustargen®);链霉素(Zanosar®);噻替派(也称为硫代磷酰胺、TESPA和TSPA、Thioplex®);环磷酰胺(Endoxan®、Cytosan®、Neosar®、Procytox®、Revimmune®);和盐酸苯达莫司汀(Treanda®)。

[1412] 示例性mTOR抑制剂包含例如坦罗莫司;地磷莫司(ridaforolimus)(正式地称为deferolimus, (1R,2R,4S)-4-[(2R)-2-[(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28Z,30S,32S,35R)-1,18-二羟基-19,30-二甲氧基-15,17,21,23,29,35-六甲基-2,3,10,14,20-五氧杂-11,36-二氧杂-4-氮杂三环[30.3.1.0^{4,9}]三十六碳-16,24,26,28-四烯-12-基]丙基]-2-甲氧基环己基二甲基次膦酸酯,也称为AP23573和MK8669,并且描述于PCT公布号WO 03/064383中);依维莫司(Afinitor®或RAD001);雷帕霉素(AY22989, Sirolimus®);塞马莫德(CAS 164301-51-3);emsirolimus, (5-{2,4-双[(3S)-3-甲基吗啉-4-基]吡啶并[2,3-d]嘧啶-7-基}-2-甲氧基苯基)甲醇(AZD8055);2-氨基-8-[反式-4-(2-羟基乙氧基)环己基]-6-(6-甲氧基-3-吡啶基)-4-甲基-吡啶并[2,3-d]嘧啶-7(8H)-酮(PF04691502, CAS 1013101-36-4);和N²-[1,4-二氧化-4-[[4-(4-氧代-8-苯基-4H-1-苯并吡喃-2-基)吗啉-4-基]甲氧基]丁基]-L-精氨酸甘氨酸-L-α-天冬氨酸-L-丝氨酸-(SEQ ID NO:2035)、内盐(SF1126, CAS 936487-67-1)和XL765。

[1413] 示例性的免疫调节剂包括,例如阿夫土珠(可从Roche®获得);吡非司亭(Neulasta®);来那度胺(CC-5013, Revlimid®);沙利度胺(Thalomid®),

actimid (CC4047); 和 IRX-2 (包括白介素1、白介素2和干扰素 γ 的人细胞因子的混合物, CAS 951209-71-5, 可从 IRX Therapeutics 获得)。

[1414] 示例性蒽环类药物包括, 例如多柔比星 (Adriamycin®) 和 Rubex®; 博来霉素 (lenoxane®); 柔红霉素 (盐酸柔红霉素、道诺霉素和盐酸柔比霉素, Cerubidine®); 柔红霉素脂质体 (柠檬酸柔红霉素脂质体, DaunoXome®); 米托蒽醌 (DHAD, Novantrone®); 表柔比星 (E11ence™); 伊达比星 (Idamycin®, Idamycin PFS®); 丝裂霉素C (Mutamycin®); 格尔德霉素; 除莠霉素; 近灰霉素 (ravidomycin); 和去乙酰近灰霉素 (desacetyl ravidomycin)。

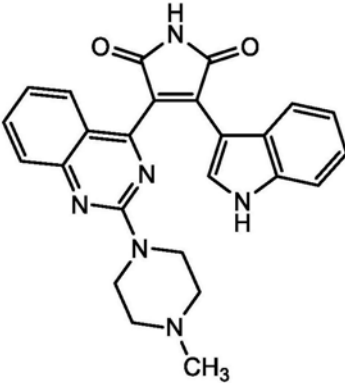
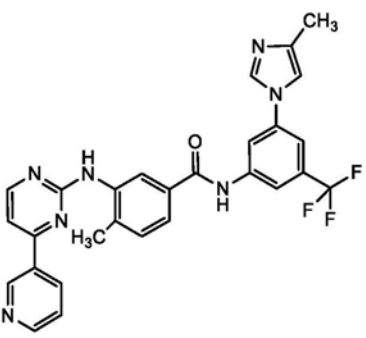
[1415] 长春花生物碱的实例包括, 例如酒石酸长春瑞滨 (Navelbine®)、长春新碱 (Oncovin®) 和长春地辛 (Eldisine®); 长春碱 (又称硫酸长春碱、长春花碱和 VLB, Alkaban-AQ® 和 Velban®); 和长春瑞滨 (Navelbine®)。

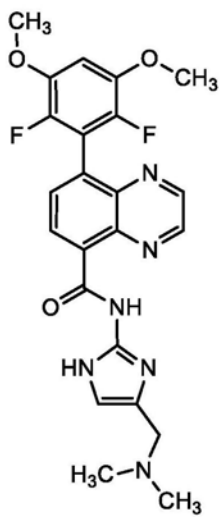
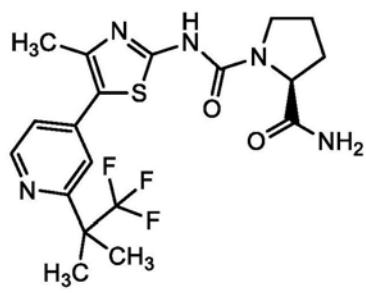
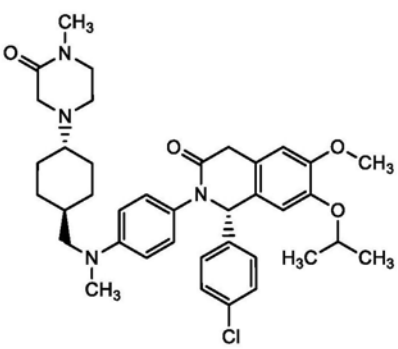
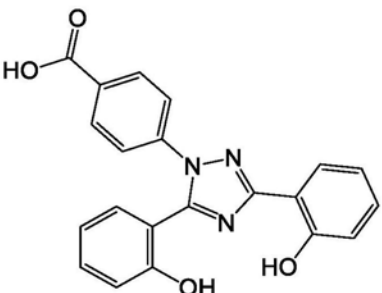
[1416] 示例性蛋白体抑制剂包含硼替佐米 (Velcade®); 卡非佐米 (PX-171-007, (S)-4-甲基-N-((S)-1-(((S)-4-甲基-1-((R)-2-甲基环氧乙烷-2-基)-1-氧代戊-2-基)氨基)-1-氧代-3-苯基丙-2-基)-2-((S)-2-(2-吗啉代乙酰氨基)-4-苯基丁酰氨基)-戊酰胺); 马里佐布 (marizomib) (NPI-0052); 柠檬酸艾沙佐米 (MLN-9708); 迪兰佐布 (delanzomib) (CEP-18770); 和 0-甲基-N-[(2-甲基-5-噻唑基)羰基]-L-丝氨酰胺-0-甲基-N-[(1S)-2-[(2R)-2-甲基-2-环氧乙烷基]-2-氧代-1-(苯基甲基)乙基]-L-丝氨酰胺 (ONX-0912)。

[1417] 用于组合的另外的药剂

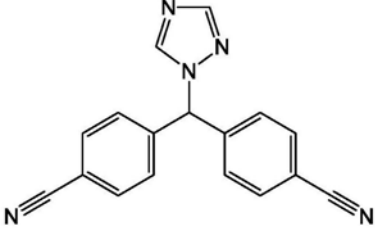
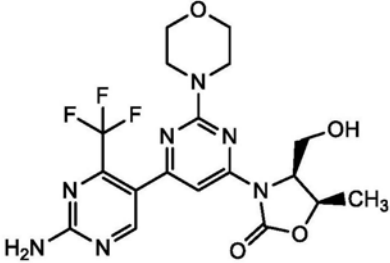
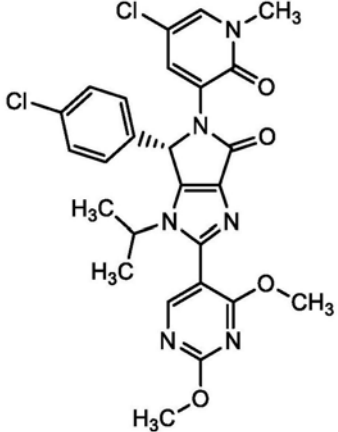
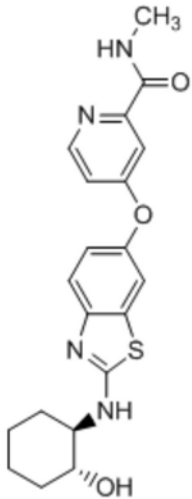
[1418] 表27. 可以与表达 BCMA CAR 的细胞疗法组合施用的所选择的治疗剂, 例如所述疗法作为单一药剂或与本文所述的其他药剂组合施用。该表中列出的每个出版物通过引用以其整体并入本文, 包括其中的所有结构式。

[1419]

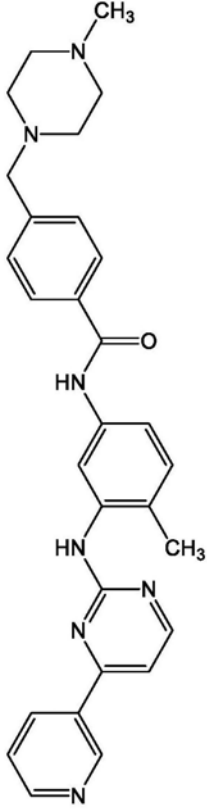
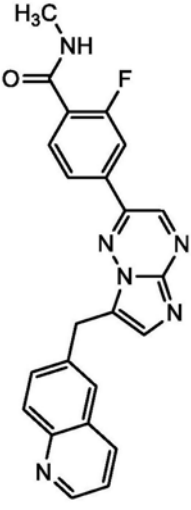
化合物名称	通用名 商品名	化合物结构	专利/专利申请出版物
A1	索曲滔林	 <p>The structure of Sorafenib is a complex heterocyclic molecule. It features a central pyrazole ring system. One nitrogen of the pyrazole is substituted with a piperazine ring, which has a methyl group attached to one of its nitrogens. The other nitrogen of the pyrazole is substituted with a benzimidazole ring system. The central carbon of the pyrazole is substituted with a benzimidazole ring system. The central carbon of the pyrazole is also substituted with a benzimidazole ring system.</p>	EP 1682103 US 2007/142401 WO 2005/039549
A2	尼罗替尼盐 酸一水合物 TASIGNA®	 <p>The structure of Nilotinib is a complex heterocyclic molecule. It features a central pyrimidine ring system. One nitrogen of the pyrimidine is substituted with a methyl group. The other nitrogen of the pyrimidine is substituted with a benzimidazole ring system. The central carbon of the pyrimidine is substituted with a benzimidazole ring system. The central carbon of the pyrimidine is also substituted with a benzimidazole ring system.</p>	WO 2004/005281 US 7,169,791

		HCl · H ₂ O	
A7			WO 2009/141386 US 2010/0105667
A8			WO 2010/029082
A10			WO 2011/076786
A11	地拉罗司 EXJADE®		WO 1997/049395

[1420]

A12	来曲唑 FEMARA®		US 4,978,672
A13			WO 2013/124826 US 2013/0225574
A14	[1421]		WO 2013/111105
A15			WO 2007/121484

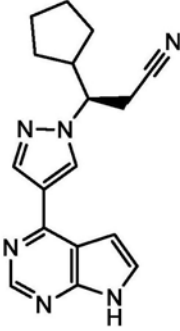
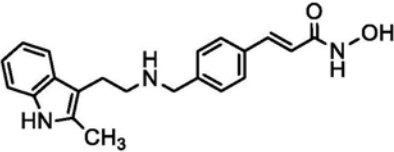
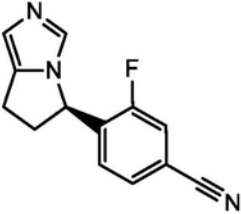
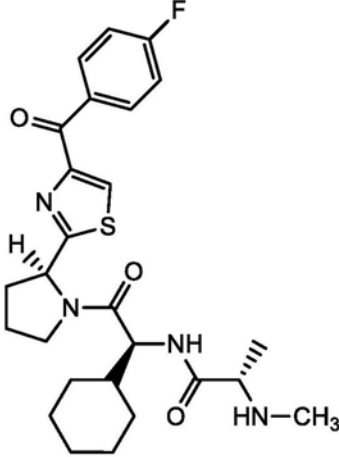
[1422]

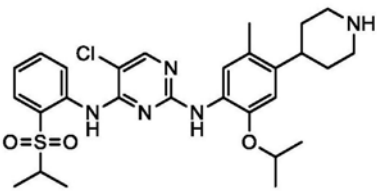
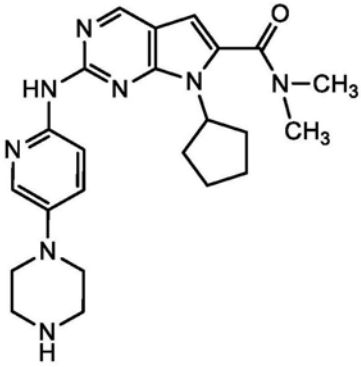
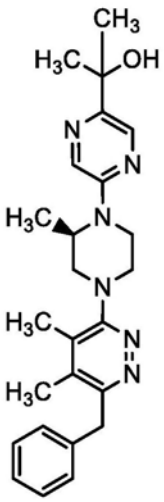
A16	甲磺酸伊马替尼 GLEEVEC®	 <p>Chemical structure of Imatinib mesylate (GLEEVEC®). It features a central pyrimidopyrimidine ring system. One ring is substituted with a methyl group (CH₃) and a 4-(4-(4-(4-(dimethylamino)butyl)phenoxy)phenyl)phenylamino group. The other ring is substituted with a 4-pyridinylamino group.</p>	WO 1999/003854
A17		 <p>Chemical structure of a pyrazoloquinoline derivative. It consists of a pyrazoloquinoline core. The quinoline ring is substituted with a methylamino group (H₃C-NH) and a carbonyl group (C=O). The pyrazole ring is substituted with a fluorine atom (F) and a 4-(4-(4-(4-(dimethylamino)butyl)phenoxy)phenyl)phenylamino group.</p>	EP 2099447 US 7,767,675 US 8,420,645

甲磺酸盐

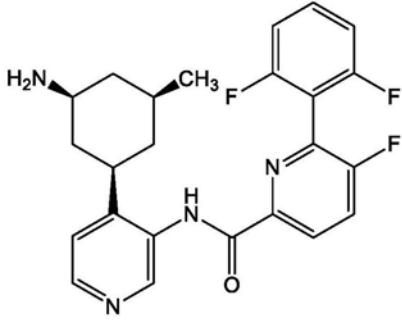
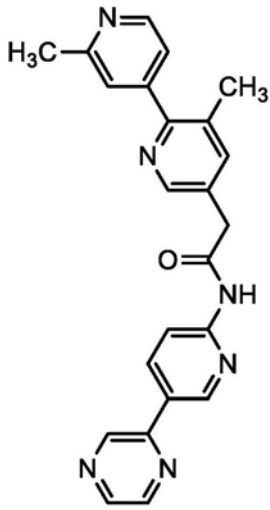
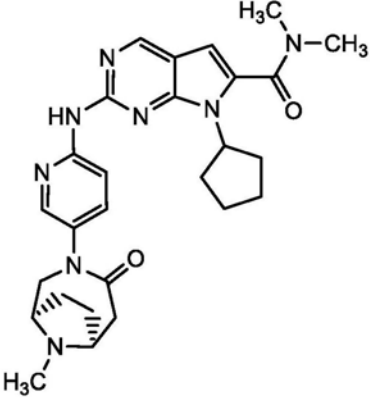
二盐酸盐

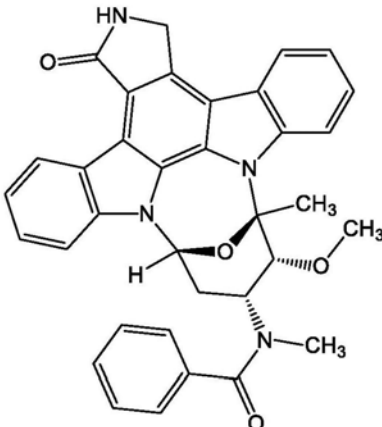
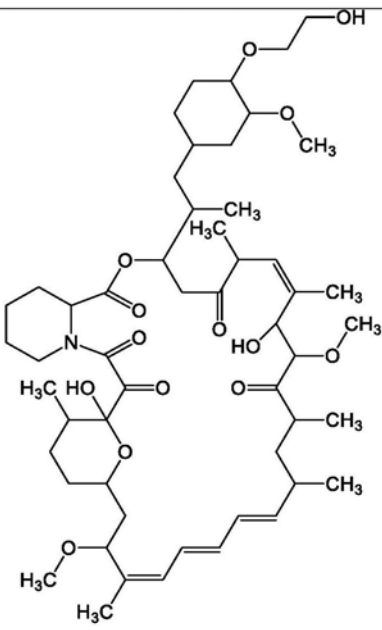
[1423]

A18	磷酸鲁索替尼 JAKAFI®	 <p style="text-align: center;">H₃PO₄</p>	WO 2007/070514 EP 2474545 US 7,598,257 WO 2014/018632
A19	帕比司他		WO 2014/072493 WO 2002/022577 EP 1870399
A20	奥斯洛左斯特		WO 2007/024945
A21			WO 2008/016893 EP 2051990 US 8,546,336

A23	色瑞替尼 (ceritinib) ZYKADIA TM	 <p>The chemical structure of ceritinib consists of a central pyrimidopyrimidine ring system. It features a chlorine atom at the 2-position, a tert-butylsulfonamide group at the 4-position, a tert-butyl ether group at the 6-position, and a piperidine ring attached to the 7-position.</p>	WO 2008/073687 US 8,039,479
A24		 <p>This structure is a derivative of ceritinib. It features a central pyrimidopyrimidine ring system with a methylpiperazine ring attached to the 4-position, a dimethylacetamide group at the 6-position, and a piperidine ring at the 7-position. The 2-position is substituted with a 4-(piperidin-1-yl)pyridin-2-ylamino group.</p>	US 8,415,355 US 8,685,980
[1424] A25		 <p>This structure is a derivative of ceritinib. It features a central pyrimidopyrimidine ring system with a benzyl group at the 4-position, a dimethylacetamide group at the 6-position, and a piperidine ring at the 7-position. The 2-position is substituted with a 1-(1-hydroxypropan-2-yl)pyridin-4-ylamino group. The piperidine ring has a methyl group at the 4-position.</p>	WO 2010/007120
A26		针对 PRLR 的人单克隆抗体	US 7,867,493

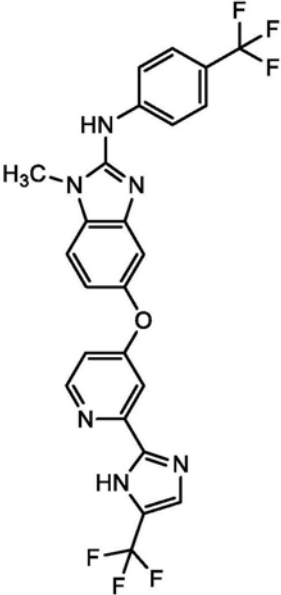
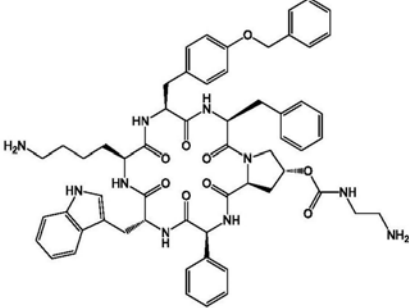
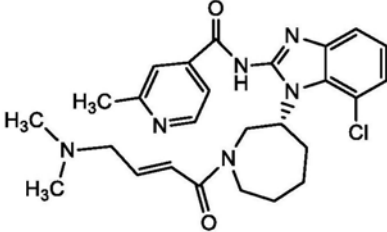
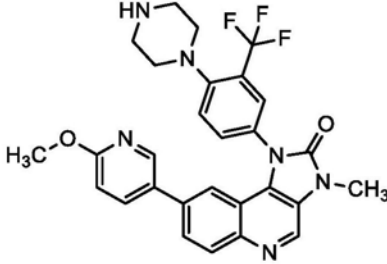
[1425]

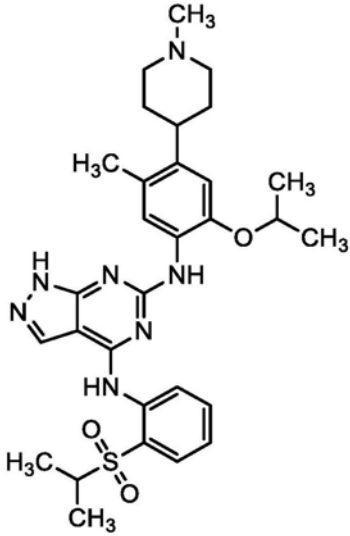
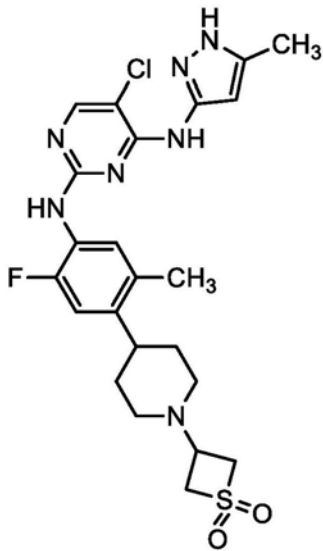
A27			WO 2010/026124 EP 2344474 US 2010/0056576 WO2008/106692
A28			WO 2010/101849
A30			WO 2011/101409
A31		针对 HER3 的人单克隆抗体	WO 2012/022814 EP 2606070 US 8,735,551
A32		抗体药物缀合物 (ADC)	WO 2014/160160

			Ab: 12425 (参见表 1, 段落[00191]) 接头: SMCC (参见段落[00117]) 有效负载: DMI (参见段落[00111]) 还参见权利要求 29
A33		单克隆抗体或 Fab 至 M-CSF	WO 2004/045532
A35	米哌妥林		WO 2003/037347 EP 1441737 US 2012/252785
A36	依维莫司 AFINITOR [®]		WO 2014/085318

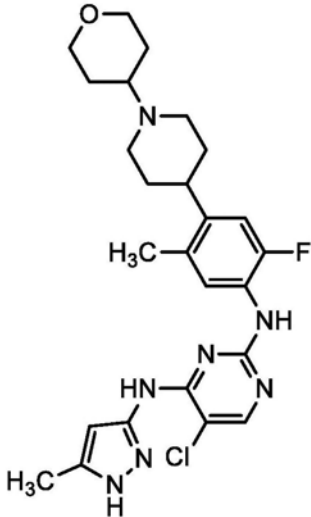
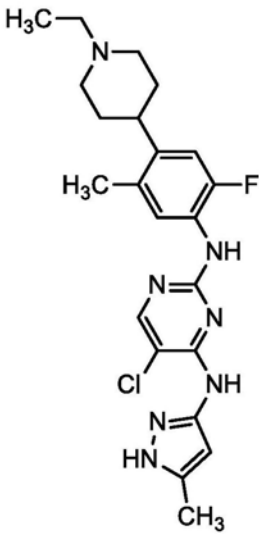
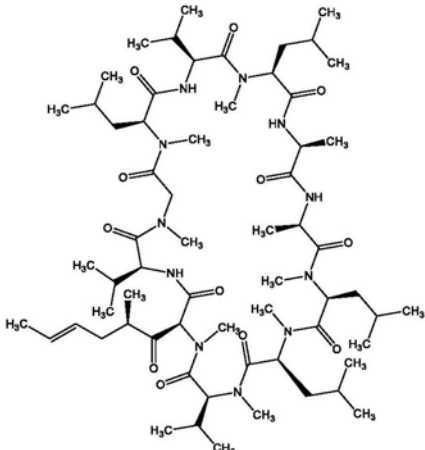
[1426]

[1427]

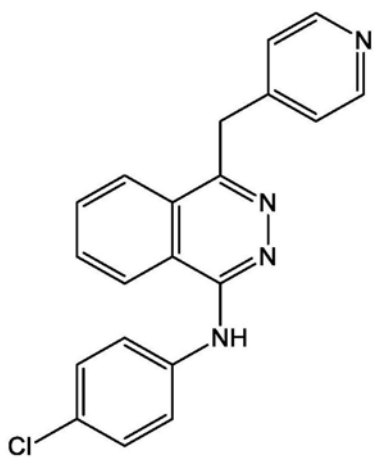
A37			WO 2007/030377 US 7,482,367
A38	天门冬氨酸 帕瑞肽 SIGNIFOR ®		WO2002/010192 US 7,473,761
A40			WO 2013/184757
A41			WO 2006/122806

A42		 <p>The structure shows a central pyridine ring substituted at the 2-position with a piperidine ring (N-CH₃), at the 3-position with a methyl group (H₃C), at the 4-position with a propyl ether group (-O-CH₂-CH₂-CH₃), and at the 5-position with a complex heterocyclic substituent. This substituent consists of a pyrazole ring fused to a pyrimidine ring, which is further substituted with a benzene ring and a sulfonamide group (-NH-SO₂-CH(CH₃)₂).</p>	WO 2008/073687 US 8,372,858
[1428] A43		 <p>The structure shows a central pyridine ring substituted at the 2-position with a chlorine atom (Cl), at the 3-position with a methyl group (CH₃), and at the 5-position with a fluorine atom (F). The pyridine ring is also substituted at the 4-position with a piperidine ring, which is further substituted at the 2-position with a sulfonamide group (-NH-SO₂-CH₂-CH₂-). The piperidine ring is also substituted at the 4-position with a methyl group (CH₃).</p>	WO 2010/002655 US 8,519,129
A44			WO 2010/002655 US 8,519,129

[1429]

			
<p>A45</p>			<p>WO 2010/002655</p>
<p>A46</p>	<p>戊司泊达 AMDRAY TM</p>		<p>EP 296122</p>

[1430]

A47	琥珀酸瓦他拉尼	 <p>琥珀酸盐</p>	WO 98/35958
A48		IDH 抑制剂	WO2014/141104
A49		BCR-ABL 抑制剂	WO2013/171639 WO2013/171640 WO2013/171641 WO2013/171642
A50		cRAF 抑制剂	WO2014/151616
A51		ERK1/2 ATP 竞争性抑制剂	WO2015/066188

[1431] 生物聚合物递送方法

[1432] 在一些实施例中,如本文所披露的一种或多种表达CAR的细胞可以经由生物聚合物支架(例如,生物聚合物植入物)施用或递送至受试者。生物聚合物支架可以支持或增强本文所述的表达CAR的细胞的递送、扩增和/或分散。生物聚合物支架包含可以是天然存在的或合成的生物相容的(例如,基本上不诱导炎性或免疫反应)和/或可生物降解的聚合物。

[1433] 合适的生物聚合物的实例包括但不限于琼脂、琼脂糖、藻酸盐、藻酸盐/磷酸钙水泥(CPC)、 β -半乳糖苷酶(β -GAL)、(1,2,3,4,6-戊乙酰基 α -D-半乳糖)、纤维素、几丁质、壳聚糖、胶原蛋白、弹性蛋白、明胶、透明质酸胶原、羟基磷灰石、聚(3-羟基丁酸酯-共-3-羟基己酸酯)(PHBHHx)、聚(丙交酯)、聚(己内酯)(PCL)、聚(丙交酯-共-乙交酯)(PLG)、聚环氧乙烷(PEO)、聚(乳酸-共-羟基乙酸)(PLGA)、聚环氧丙烷(PPO)、聚乙烯醇(PVA)、丝、大豆蛋白、和大豆蛋白分离物,单独地或以任何浓度和任何比率与任何其他聚合物组合物组合。生物聚合物可以用粘附或迁移促进分子(例如,与淋巴细胞的胶原受体结合的胶原模拟肽、和/或刺激性分子)强化或修饰以增强待递送细胞的递送、扩增或功能(例如,抗癌活性)。生物聚合物支架可以是可注射的,例如凝胶或半固体、或固体组合物。

[1434] 在一些实施例中,在递送至受试者之前,将本文所述的表达CAR的细胞接种到生物聚合物支架上。在实施例中,生物聚合物支架进一步包含一种或多种本文所述的另外的治疗剂(例如,另一种表达CAR的细胞、抗体、或小分子)或例如并入或缀合到支架的生物聚合物的增强表达CAR的细胞活性的药剂。在实施例中,生物聚合物支架被注射(例如,瘤内、或通过外科手术植入)到肿瘤处或足以介导抗肿瘤作用的肿瘤附近。生物聚合物组合物及其

递送方法的另外的实例描述于Stephan等人,Nature Biotechnology[自然生物技术],2015,33:97-101;和WO 2014/110591中。

[1435] 药物组合物和治疗

[1436] 本发明的药物组合物可以包含表达CAR的细胞(例如如本文描述的多种表达CAR的细胞),以及一种或多种药学上或生理学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。此类组合物可以包含缓冲液,如中性缓冲盐水、磷酸盐缓冲盐水等;碳水化合物,如葡萄糖、甘露糖、蔗糖或葡聚糖、甘露醇;蛋白质;多肽或氨基酸如甘氨酸;抗氧化剂;螯合剂,如EDTA或谷胱甘肽;佐剂(例如氢氧化铝);以及防腐剂。在一个方面,本发明的组合物被配制用于静脉内施用。

[1437] 本发明的药物组合物能以适合于待治疗(或预防)的疾病的方式施用。施用的总量和频率将由如患者的状况以及患者的疾病的类型和严重程度等因素来确定,然而适当的剂量可以通过临床试验来确定。

[1438] 在一个实施例中,药物组合物基本上不含,例如不存在可检测水平的例如选自下组的污染物,该组由以下组成:内毒素、支原体、复制型慢病毒(RCL)、p24、VSV-G核酸、HIV gag、残留的抗CD3/抗CD28包被的珠、小鼠抗体、合并的人血清、牛血清白蛋白、牛血清、培养基组分、载体包装细胞或质粒组分、细菌和真菌。在一个实施例中,细菌是选自下组的至少一种,该组由以下组成:粪产碱菌、白色念珠菌、大肠杆菌、流感嗜血杆菌、脑膜炎奈瑟氏菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、以及酿脓链球菌A组。

[1439] 当指示“免疫有效量”、“抗肿瘤有效量”、“肿瘤抑制有效量”或“治疗量”时,医生可以考虑到年龄、体重、肿瘤大小、感染或转移的程度以及患者(受试者)的状况的个体差异来确定待施用的本发明组合物的精确量。通常可以说,可以将包含本文所述T细胞的药物组合物按以下剂量施用: 10^4 至 10^9 个细胞/kg体重,在一些情况下为 10^5 至 10^6 个细胞/kg体重,包括这些范围内的所有整数值。还可以将T细胞组合物以这些剂量多次施用。可以通过使用在免疫疗法中通常已知的输注技术来施用细胞(参见例如Rosenberg等人,New Eng. J. of Med. [新英格兰医学杂志]319:1676,1988)。

[1440] 在某些方面,可能需要将激活的T细胞施用于受试者,然后随后重新抽取血液(或进行单采术),根据本发明激活来自血液的T细胞,并用这些激活和扩增的T细胞重新输入患者。该过程可以每隔几周进行多次。在某些方面,可以将来自10cc至400cc抽血的T细胞激活。在某些方面,将来自20cc、30cc、40cc、50cc、60cc、70cc、80cc、90cc、或100cc抽血的T细胞激活。

[1441] 能以任何常规方式施用主题组合物,包括通过雾化吸入、注射、摄取、输血、植入或移植。可以向患者经动脉、皮下、真皮内、瘤内、结内、髓内、肌内、通过静脉内(i.v.)注射、或者腹膜内施用本文描述的组合物。在一个方面,通过真皮内或皮下注射向患者施用本发明的T细胞组合物。在一个方面,本发明的表达CAR的细胞(例如,T细胞或NK细胞)组合物通过静脉内注射来施用。可以将表达CAR的细胞(例如,T细胞或NK细胞)的组合物直接注射至肿瘤、淋巴结或感染部位。

[1442] 在具体的示例性方面,受试者可经历白细胞单采术,其中离体收集、富集或耗减白细胞以选择和/或分离感兴趣的细胞,例如免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)。这些免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)分离物可以通过本领域已知的方法来扩增,并进行处理,使得可以引入本发明的一种或多种CAR构建体,从而产生本发明的表达CAR的细胞(例如,

CAR T细胞或表达CAR的NK细胞)。有需要的受试者可以随后经历使用高剂量化疗的标准治疗,随后进行外周血干细胞移植。在某些方面,在移植之后或与移植同时,受试者接受本发明的扩增的表达CAR的细胞(例如,CAR T细胞或NK细胞)的输注。在另外的方面,在手术之前或之后施用扩增的细胞。

[1443] 在实施例中,例如在施用表达本文所述的CAR(例如,本文所述的BCMA结合CAR)的一种或多种细胞之前,对受试者进行淋巴细胞耗减。在实施例中,淋巴细胞清除包括施用美法仑、cytoxan、环磷酰胺和氟达拉滨中的一种或多种。

[1444] 有待向患者施用的以上治疗的剂量将随着所治疗病症的确切性质和该治疗的受者而变化。可以根据本领域接受的做法来进行人类施用的剂量的缩放。例如,对于成年患者,CAMPATH的剂量通常将在1至约100mg的范围内,通常每天施用持续1与30天之间的时间。优选的每天剂量是每天1至10mg,但在一些情况下,可以使用每天最多40mg的较大剂量(描述于美国专利号6,120,766中)。

[1445] 在一个实施例中,例如使用体外转录将CAR引入免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞),并且受试者(例如,人)接受本发明的CAR免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)的初始施用,以及本发明的CAR免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)的一次或多次后续施用,其中一次或多次后续施用在前一次施用后的小于15天(例如在14天、13天、12天、11天、10天、9天、8天、7天、6天、5天、4天、3天或2天)施用。在一个实施例中,每周将本发明的CAR免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)施用于受试者(例如,人)超过一次,例如每周施用本发明的CAR免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)2次、3次或4次。在一个实施例中,受试者(例如,人受试者)每周接受CAR免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)的超过一次施用(例如,每周2次、3次或4次施用)(本文也称为周期),然后不施用CAR免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)一周,然后给受试者施用CAR免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)的一次或多次另外施用(例如,每周施用CAR免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)超过一次)。在另一个实施例中,受试者(例如,人受试者)接受CAR免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)超过一个周期,并且每个周期之间的时间小于10天、9天、8天、7天、6天、5天、4天或3天。在一个实施例中,每隔一天施用CAR免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞),每周施用3次。在一个实施例中,施用本发明的CAR免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)至少两周、三周、四周、五周、六周、七周、八周或更多周。

[1446] 在一个方面,使用慢病毒病毒载体(如慢病毒)来产生表达BCMACAR的细胞(例如,BCMA CART或表达BCMA CAR的NK细胞)。以这种方式产生的表达CAR的细胞(例如,CART或表达CAR的NK细胞)将具有稳定的CAR表达。

[1447] 在一个方面,使用病毒载体如 γ 逆转录病毒载体(例如本文描述的 γ 逆转录病毒载体)产生表达CAR的细胞,例如CART。使用这些载体产生的CART可以具有稳定的CAR表达。

[1448] 在一个方面,表达CAR的细胞(例如,CART或表达CAR的NK细胞)在转导后瞬时表达CAR载体4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天。CAR的瞬时表达可能受RNACAR载体递送的影响。在一个方面,通过电穿孔将CAR RNA转导进细胞(例如,T细胞或NK细胞)。

[1449] 使用瞬时表达的表达CAR的细胞(例如,CART或表达CAR的NK细胞)(特别是与携带鼠scFv的表达CAR的细胞(例如,CART或表达CAR的NK细胞)一起)治疗的患者可能产生的潜

在问题是多次治疗后的过敏反应。

[1450] 不受该理论的束缚,据信这种过敏反应可能是由患者发展体液抗CAR反应,即具有抗IgE同种型的抗CAR抗体引起的。认为当存在暴露于抗原的10至14天中断时,患者的抗体产生细胞经历从IgG同种型(不引起过敏反应)到IgE同种型的类别转换。

[1451] 如果患者在瞬时CAR疗法过程中具有产生抗CAR抗体反应的高风险(如由RNA转导产生的那些),则表达CAR的细胞(例如,CART或表达CAR的NK细胞)输注中断不应持续超过十至十四天。

[1452] 实例

[1453] 通过参考以下实验实例进一步详细描述本发明。提供这些实例仅用于说明的目的,除非另有说明,否则不应旨在是限制性的。因此,本发明决不应被解释为限于以下实例,而是应该被解释为涵盖由于本文提供的传授内容而变得明显的任何和所有变化。

[1454] 无需进一步描述,相信本领域普通技术人员可以使用前述说明和以下说明性实例制备和利用本发明的组合物并实践所要求保护的方法。以下工作实例具体指出了本发明的不同方面,并且不应被解释为以任何方式限制本披露的其余部分。

[1455] 实例1:多发性骨髓瘤中的BCMA-CART

[1456] CART-BCMA (MCM998) 证明有效的体内抗肿瘤活性

[1457] 输注PBS、未转导的T细胞(“UTD”)或用工具CAR(“J6M0”)、BCMA-4、BCMA-9、BCMA-10(“MCM998”)、BCMA-13或BCMA-15转导的T细胞后,KMS11肿瘤模型中肿瘤负荷的水平。BCMA-10证明最有效的抗肿瘤活性(图14)。

[1458] 多发性骨髓瘤临床试验(NCT编号:NCT02546167;UPCC 14415)中的CART-BCMA

[1459] 设计了开放标签、单中心、先导研究,用于评估在患有多发性骨髓瘤(MM)的患者中将表达BCMA特异性嵌合抗原受体的自体T细胞与4-1BB和CD3 ζ 信号传导结构域(本文中称为“CART-BCMA”)一起输注的安全性和可行性(图15)。

[1460] 将患者分为三组(图15)。群组1的患者在3天内接受了作为分剂量输注给与的 $1-5 \times 10^8$ 个CART-BCMA细胞。群组2的患者在3天内在施用作为分剂量输注给与的 $1-5 \times 10^7$ 个CART-BCMA细胞之前接受环磷酸胺输注。群组3的患者在3天内在施用作为分剂量输注给与的 $1-5 \times 10^8$ 个CART-BCMA细胞之前接受环磷酸胺输注。图16A提供了患者疾病特征。图16B提供了关于由于疾病和既往疗法引起的基线淋巴细胞减少症的存在的信息。

[1461] CART-BCMA (MCM998) 制造和给药

[1462] 所有CART-BCMA产物均以最小目标阈值剂量成功制造。制成品的中位转导效率为22.5%(9.6-33.3%);平均倍数扩增为20.7(7.9-60.4);中位群体倍数为4.4(2.98-5.92);中位单采CD4/CD8比率为1.03(0.61-3.2);中位产物CD4/CD8比率为1.72(0.84-3.9)。十四名患者中有十三名达到了最大目标剂量 5×10^8 或 5×10^7 。群组1的患者2接受了 1.9×10^8 个细胞,包括所述产物中的69%的T细胞。十四名患者中有十二名接受了计划剂量的100%。群组1的患者1和患者3仅在第2天因发烧才接受前两次输注(40%)。这些数据证明,CART-BCMA制造在经过大量预治疗的多发性骨髓瘤患者中是可行的。

[1463] 临床结果

[1464] 群组1、2和3的临床活性分别显示在图17A、17B和17C中。

[1465] 通过流式细胞术(图18A和18B)和通过PCR(图19A和19B)评价CART-BCMA的扩增。

CART-BCMA的体内扩增可能与疗法相关并预测对疗法的反应(图20A和20B)。没有观察到通过流式细胞术确定的多发性骨髓瘤细胞上的BCMA表面表达与临床结果之间的相关性(数据未显示)。

[1466] 实例2:临床试验数据的相关性分析

[1467] 为了鉴定预测患者对CART-BCMA治疗有反应的生物标记物,分析了表28中列出的参数。

[1468] 表28.生物标记物参数

参数	样品类型	技术
释放图谱: QC 和信息	产物	几种: 扩增、T 细胞计数、CD4/CD8、CAR+、IFN- γ 、细胞毒素
CART PK	骨髓 (BM)、血液	流式细胞术、qPCR
血清细胞因子	血液	MSD/Luminex
免疫表型	单采术和产物	流式细胞术
[1469] 基因签名分析	单采术和产物	RNA 序列
TCR 多样性	单采术和产物	深度测序
血清蛋白	血清: 输注前和输注后	Somascan
靶标表达 (表面和可溶性)	骨髓 (BM)、血液	ELISA: BCMA 水平、可溶性配体
(CAR)T 细胞肿瘤浸润/抑制	骨髓 (BM)	ISH/IHC

[1470] 在CART-BCMA输注后的各个时间点,对于有反应者(具有完全反应(CR)、非常好的部分反应(VGPR)或部分反应(PR)的患者)和无反应者(具有微小反应(MR)、疾病稳定(SD)或疾病进展(PD)的患者),获取患者样品中CAR+CD4/CD8细胞的分数(图21A、21B、21C和21D)。这些数据证明,与无反应者相比,有反应者具有更大的随着时间的推移的CAR+CD4/CD8细胞群持久性。

[1471] 细胞因子水平的评价

[1472] 评价了在输注CART-BCMA后各个时间点的细胞因子表达水平的变化(图22)。这些数据证明,相对于基线(第0天)最大的变化发生在IL-6(图23A和23B)、IL-10、由 γ 干扰素(MIG)诱导的单因子和IFN- γ 的水平上(图24A和24B)。重要的是,IFN- γ 可区分对CART-BCMA治疗的有反应者与无反应者。

[1473] 血清中BCMA水平的评价

[1474] 在14名正常供体和12名骨髓瘤患者中评价了BCMA的血清水平(图25A和25B)。BCMA在正常供体中的血清浓度约为40ng/mL,在骨髓瘤患者中的基线中位血清浓度为176ng/mL。在输注CART-BCMA后的各个时间点也获取了BCMA的血清水平(图26A、26B、26C和26D)。这些数据证明,具有高基线血清BCMA水平的一些患者对CART-BCMA治疗反应良好(图26A)。另外,血清BCMA水平可以用作对CART-BCMA治疗的反应的标记物(图26C和26D)。

[1475] CD4+和CD8+CART细胞百分比的评价

[1476] 在三名患者中,在输注CART-BCMA之后的各个时间点获取了CD4+和CD8+CART细胞

的百分比(图27A、27B和27C)。如通过高BBz拷贝数所见,如图27A和27C所示的有反应者具有CAR T细胞的显著扩增。扩增主要由CD8+CAR驱动。尽管无反应者也具有高BCMA水平,但是未观察到扩增(图27B)。

[1477] CD4+和CD8+ T细胞亚群的评价

[1478] 比较了正常供体和多发性骨髓瘤(MM)患者的CD4+和CD8+ T细胞亚群的水平(图28A、28B、28C和28D)。与正常供体相比,MM患者的Tn1细胞百分比更低。正常供体和MM患者的Tscm和Te细胞水平相似。MM患者的Tem细胞中位百分比更高。还从MM患者获取单样品中的CD4+和CD8+ T细胞亚群的水平(图28E和28F)。

[1479] 从MM患者中获取单样品中的T细胞分化(图29)。在MM患者中也测定了CD4+和CD8+ T细胞亚群(例如,基于PD1、CD27和/或GzB的表达的CD4+或CD8+细胞)的水平(图30A和30B)。

[1480] 实例3:多发性骨髓瘤患者对BCMA嵌合抗原受体(CAR) T细胞疗法的反应的预测相关性

[1481] 本实例描述了旨在发现如下生物标记物的研究,所述生物标记物可以预测在制造CART-BCMA之前受试者对用CART-BCMA治疗的临床反应。

[1482] 从总共八名多发性骨髓瘤(MM)人类患者中采集外周血样品,并用14参数流式细胞术面板进行染色,并在流式细胞仪上进行分析。

[1483] 这些MM患者如实例1所述接受了CART-BCMA治疗。根据输注后28天的临床反应,将患者样品分类为有反应者(R,定义为具有CR、VGPR或PR的患者, $N_R=3$)或无反应者(NR,定义为具有MR、SD、或PD的患者, $N_{NR}=5$)。

[1484] 为了鉴定与临床反应相关的生物标记物签名,进行了预门控以将分析限制为可存活的单线态淋巴细胞。随后,使用flowType(Aghaeepour等人Bioinformatics.[生物信息学]28(7):1009-1016,2012),一种基于R+(<https://www.r-project.org/about.html>)的生物统计学自动化算法,将预门控数据用于数据挖掘和生物标记物鉴定。FlowType使用简单的阈值或聚类算法,以根据标记物表达的开启或关闭(即有两个不同的群体)的假设,将每个通道/标记物密度分配到阳性和阴性细胞群。然后将这些分配合并以生成一组多维表型。另外,为了从亚群鉴定中排除标记物,还可以为每个标记物分配一个‘中性’值(即,将所述标记物从一个表型中排除)。该算法生成了 3^N 的可能表型总数,其中N是标记物数量(本实验中 $N=14$)。

[1485] 表型的长度被限制为最多四个标记物,以允许鉴定生物学上有意义的表型,因为太多的标记物可能会导致细胞计数非常少的表型的产生,这将难以解释。这个过程产生了一组1,697种可能的表型。除了这些探索性表型之外,还考虑了上述表型的组合的亚群,如CD4:CD8比率、可存活T细胞(%)、单核细胞%和B细胞%。

[1486] 为了测量每种表型的预测能力,使用T检验来评价有反应者(R)和无反应者(NR)之间所测量表型的细胞频率(处于该表型的细胞数除以亲本群体中的细胞总数)之间的差异。选择最具有统计意义的表型,以便使用FlowJo进行手动确认。

[1487] 就临床反应而言,发现CD4:CD8比率是单样品中的明显区别(图1A和1B)。最有可能将有反应者与无反应者区分开的区域对应于CD4:CD8比率范围在1与1.6之间,这表明在单样品中具有较高水平的CD4群体(例如,CD4:CD8比率大于或等于1.6)的患者可能会对

CART-BCMA治疗产生反应(图1B)。

[1488] 在有反应者中还观察到与无反应者相比更高水平的CD8+干记忆T细胞(TSCM)群体HLADR-CD95+CD27+(图2A)、CD45RO-CD27+(图2B)和CCR7+CD45RO-CD27+(图2C),这表明在单采样品中这些TSCM群体水平较高的患者可能对CART-BCMA治疗有反应。

[1489] 如上所述,对来自多名骨髓瘤患者的BCMA制造前的单采样品中的T细胞进行了分析,证明在后来对CART-BCMA疗法有反应的患者中CD4:CD8比率更高,且在无反应者中CD4:CD8比率低。因此,选择单采材料中CD4:CD8比率高的患者可能会获得更有效的治疗结果。此外,这些数据和生物信息学工具表明,可以将免疫生物标记物整合在一起,作为用以鉴定哪些患者最有可能对CART-BCMA疗法有反应的手段,从而得到理想的个性化细胞疗法途径。

[1490] 实例4:多发性骨髓瘤肿瘤活检的分析

[1491] 从标题为“Pilot Study Of Redirected Autologous T Cells Engineered To Contain an Anti-BCMA scFv Coupled To TCR ζ And 4-1BB Signaling Domains in Patients With Relapsed and/or Refractory Multiple Myeloma[在复发和/或难治性多发性骨髓瘤患者中工程化重定向自体T细胞以包含与TCR ζ 和4-1BB信号传导结构域偶联的抗BCMA scFv的先导研究]”(NCT编号:NCT02546167;UPCC 14415)的宾夕法尼亚大学临床试验登记的患者获取了骨髓芯活检样品以进行分析。施用前(“治疗前”或“Pre”)或输注后第28天、第43天或第90天收集骨髓芯活检样品。活检样品用Immunocal™脱钙进行福尔马林固定并包埋在石蜡中;并通过与管家基因PPIB RNA的原位杂交(ISH)确认了样品处理质量。

[1492] CD138+ MM细胞定位和BCMA表达的分析

[1493] 在施用前(“治疗前”或“Pre”)以及在输注后第28天和第90天(“3个月”)获取了来自患者13、患者14、患者15、患者16和患者17的骨髓芯活检样品的CD138+ MM细胞定位数据(图3)。患者13在其治疗前、第28天和第90天样品中具有最少的CD138表达(图3)。与其治疗前样品相比,患者14在第28天的样品中CD138+ MM细胞数量增加(图3)。患者15、患者16和患者17在基线时均具有广泛的CD138+ MM细胞浸润,随后在第28天样品中减少,而在3个月样品中增加(图3)。

[1494] 表29中提供了CART-BCMA治疗的患者结果以及估算的CD138浸润%。

[1495] 表29. CART-BCMA治疗的患者结果和估算的CD138浸润%

[1496]

患者	CD138 染色				估算的 CD138 浸润%	
	Pre	第 28 天	第 90 天	D43	反应	无进展生存期 (PFS)
患者 7				50%	部分消退 (PR)	1.5
患者 8	70%				疾病进展 (PD)	0.5
患者 12		40%			疾病稳定 (SD)	1.5
患者 13	1%	0%	0%		微小反应 (MR)	4+
患者 14	80%	90%			疾病稳定 (SD)	1.5
患者 15	95%	5%	10%		很好的部分消退 (VGPR)	
患者 16	50%	5%	95%		部分消退 (PR)	2+
患者 17	50%	5%	75%		部分消退 (PR)	2+

[1497] 以相似的方式获取和分析了来自骨髓芯活检样品的BCMA表达数据(图4)。

[1498] 在患者13和患者14中观察到通过IHC测量的BCMA蛋白表达与通过ISH测量的BCMA mRNA表达之间的不一致(图5)。

[1499] 在患者15中,在治疗前样品中观察到高的BCMA蛋白和mRNA水平,随后在第28天样品中显著减少并且在第90天样品中再出现(图6A)。在第28天和第90天的样品中观察到罕见的CAR^{Lo}阳性细胞(图6A)。在患者16中,在第28天观察到BCMA蛋白和mRNA信号显著降低,随后在第90天增加(图6B)。在第28天和第90天观察到罕见的CAR^{Lo}阳性细胞(图6B)。在患者17中,在第28天观察到BCMA阳性细胞数量减少和BCMA mRNA信号/细胞减少(图6C)。BCMA mRNA信号/细胞在第90天回到基线水平(图6C)。在第90天检测到模糊的CAR^{Lo}mRNA信号(图6C)。

[1500] 总之,在基线处观察到了BCMA蛋白和mRNA表达的差异,并且似乎与所检查的样品组中的反应相关。在28天时,每5名患者中有3名观察到CD138阳性细胞浸润减少,并且这与BCMA蛋白和mRNA表达降低相关。在这些相同的患者中,在3个月时发现CD138阳性细胞浸润增加,并且这与BCMA表达的回复相关。

[1501] IDO1、IFN- γ 和TGF β mRNA水平的分析

[1502] 在从患者15(图7A)、患者16(图7B)和患者17(图7C)获取的治疗前、第28天和第90天骨髓芯活检样品中,通过ISH确定IDO1、IFN- γ 和TGF β mRNA水平的表达。

[1503] 在患者15中,与治疗前样品相比,在第28天和第90天样品中观察到IDO1 mRNA水平增加(图7A)。在所有测试样品中观察到IFN- γ mRNA水平的变化最小(图7A)。与治疗前样品相比,在第28天和第90天样品中观察到TGF β mRNA水平降低,并且该变化可能是由于MM细胞水平的降低(图7A)。

[1504] 在患者16中,在持久性MM细胞的部位观察到IDO1 mRNA水平增加(图7B)。在第28天和第90天样品中观察到罕见的IFN- γ mRNA阳性细胞,而在第90天样品中的MM细胞中观察到TGF β mRNA水平显著高于基线(图7B)。

[1505] 在患者17中,与治疗前样品相比,在第28天样品中观察到IDO1mRNA水平增加(图7C)。在所有时间点都观察到低水平的IFN- γ mRNA(图7C)。与Pre样品相比,在第28天样品中观察到TGF β mRNA水平降低,并且该变化可能是由于MM细胞水平的降低(图7C)。

[1506] 这些数据表明,在第28天,在骨髓中观察到IDO1 mRNA表达的适度增加。

[1507] 在从患者19(图7D)和患者20(图7E)获取的治疗前、第10天和第28天活检样品中进行了相似的ISH分析。在第10天观察到IFN- γ 和IDO1 mRNA表达增加。

[1508] PD-L1、PD1、CD3和FoxP3蛋白表达水平的分析

[1509] 在治疗前、第28天和第90天从患者15(图8A)、患者16(图8B)和患者17(图8C)获取的骨髓芯活检组织中,通过IHC确定了PD-L1、PD1、CD3和FoxP3蛋白的表达水平。

[1510] 在患者15中,在第90天观察到PD-L1基质细胞表达增加(图8A)。在测试样品中未观察到PD1、CD3或FoxP3表达的变化(图8A)。

[1511] 在患者16中,在第90天观察到PD-L1基质细胞表达增加(图8B)。没有检测到PD1+细胞浸润(图8B)。没有检测到CD3+或FoxP3+细胞数量的变化(图8B)。

[1512] 在患者17中,在所有时间点都观察到PD-L1基质细胞表达(图8C)。在测试样品中未检测到PD1+细胞浸润,并且未观察到CD3或FoxP3表达的变化(图8C)。

[1513] 在从患者19(图8D)和患者20(图8E)获取的治疗前、第10天和第28天活检样品中进

行了相似的IHC分析。这两名患者在第10天的样品中显示PD1或PD-L1增加。

[1514] 这些数据表明,虽然未观察到PD-L1、PD1、CD3和FoxP3的一致变化,但在某些患者中PD-L1和/或PD1的上调可能代表了潜在的逃逸机制。

[1515] CD19蛋白表达水平的分析

[1516] 在治疗前、第28天和第90天从患者13、患者14、患者15、患者16和患者17获取的骨髓芯活检组织中,通过IHC测定CD19蛋白的表达(图9)。在28天和3个月时,在患者15和患者17中观察到CD19阳性MM细胞的相对比例增加(图9)。

[1517] 在治疗前和第90天从患者15获取的骨髓芯活检组织中,BCMA阳性细胞和CD19阳性细胞被确定为单独的群体(图11A和11B)。

[1518] CD19+CD34^{dim}细胞群存在于从患者15(图12A)和患者17(图12B)获取的治疗前的骨髓芯活检组织中。

[1519] 在从患者15获取的治疗前样品中,CD19群体可变地为CD138+和CD138-(图13)。

[1520] 这些数据表明,包括CART-BCMA和CD19靶向疗法的组合疗法可能对MM患者的治疗有益。

[1521] CD20蛋白表达水平的分析

[1522] 在CART-BCMA施用前(“治疗前”)以及输注后第28天和第90天,从患者13、患者14、患者15、患者16和患者17体内获取的骨髓芯活检组织中通过IHC测定的CD20蛋白表达(图10)。在从患者14获取的样品中观察到预先存在的CD20阳性MM细胞(图10)。在患者15和患者17中观察到CD20阳性MM细胞的出现(图10)。

[1523] 这些数据表明,包括CART-BCMA和CD20靶向疗法的组合疗法可能对MM患者的治疗有益。

[1524] 实例5:难治性多发性骨髓瘤中B细胞成熟抗原特异性嵌合抗原受体T细胞(CART-BCMA)的临床和生物学活性

[1525] 概要

[1526] 嵌合抗原受体(CAR) T细胞正在成为血液恶性肿瘤中有前途的新疗法。B细胞成熟抗原(BCMA)是一种细胞表面受体,其表达在很大程度上局限于浆细胞,使其成为多发性骨髓瘤(MM)疗法的合理靶标。在3个或更多个既往治疗线后的复发/难治性MM受试者中,进行了用新型的、完全人的、含有CD3 ζ 和4-1BB信号传导结构域的BCMA特异性CAR转导的自体T细胞(CART-BCMA)的I期研究。此处报道的是该研究的群组1的成熟结果,使用了 $1-5 \times 10^8$ 个CART-BCMA细胞的剂量,在先前未进行化疗调整的情况下施用。既往治疗线中位数为9的九名受试者进行了治疗;全部受试者都有高风险的细胞遗传学。CAR T细胞成功制造,并且在所有病例中在输注后可检测到。四名受试者(44%)具有客观反应(1PR,2VGPR,1sCR),中位反应持续时间为4个月,其中1名受试者在接受CART-BCMA治疗21个月后仍具有严格的完全反应。与无反应者相比,有反应者体内CART-BCMA扩增的幅度更大,这又与制造前的CD4:CD8比率和制造过程中的扩增幅度相关。细胞因子释放综合征是最常见的与治疗有关的不良事件,发生在9名受试者中的8名中(3级3/4)。在2名受试者中观察到4级脑病。中位总生存期估算为551天。在经过大量预治疗的MM患者中,在不进行淋巴细胞耗减化学疗法的情况下给与CART-BCMA输注具有临床活性,并且代表了一种新的MM疗法途径。

[1527] 结果

[1528] 方案设计和登记

[1529] 已开始进行I期研究 (NCT02546167), 以评价制造并向复发/难治性骨髓瘤患者施用CART-BCMA细胞的可行性、安全性、临床活性和生物学活性。通过流式细胞术评估骨髓瘤细胞上的BCMA表达, 但登记不要求预先指定的水平。从疗法中退出2周后, 受试者经受稳态白细胞单采术以收集T细胞用于CART-BCMA制造, 典型地为3到4周的过程。抗骨髓瘤疗法可以在制造过程中恢复, 直到首次CART-BCMA输注前2周为止。根据先前的成人CTL019试验, 在门诊研究单位中以分批剂量静脉内输注的方式在3天之内施用CART-BCMA细胞 (第0天给与剂量的10%, 第1天30%, 第2天60%) (Porter等人, *Sci. Transl. Med.* [科学·转化医学] 7, 303ra139 (2015))。在群组2和3 (如下所述) 中, 在首次CART-BCMA输注前3天施用环磷酰胺 (Cy) 进行淋巴细胞耗减 (图31)。

[1530] 最初使用标准的3+3剂量递增设计, 探索了3个连续群组: 1) 单独的 $1-5 \times 10^8$ 个CART-BCMA细胞; 2) Cy $1.5 \text{g/m}^2 + 1-5 \times 10^7$ 个CART-BCMA细胞; 和3) Cy $1.5 \text{g/m}^2 + 1-5 \times 10^8$ 个CART-BCMA细胞。后来对所述方案进行了修改, 以允许在每个群组中治疗更多受试者, 以便获得有关在进行或不进行淋巴细胞耗减调整 (即Cy) 以及更高 ($1-5 \times 10^8$) 和更低 ($1-5 \times 10^7$) 剂量的条件下CART-BCMA细胞的安全性和功效的更多信息。此处报道的是在群组1中用单独的CART-BCMA细胞治疗的9名受试者的结果, 目前有成熟的随访。群组2和3的登记和随访正在进行中。

[1531] 群组1登记期间十二名受试者表示同意; 2名从未收集过T细胞 (1名由于严重的限制性肺病而无资格; 1名疾病进展迅速/临床下降)。十名成功制造出CART-BCMA细胞; 在2015年11月至2016年9月之间, 1名由于进展迅速/临床下降从未接受输注, 9名接受了输注 (图37)。受试者和CART-BCMA产物特征

[1532] 表30总结了受试者人口统计学资料、既往治疗线和疾病特征, 表32列出了个体详细信息。治疗的受试者的中位年龄为57岁, 男性占67%。这些受试者的既往治疗线中位数为9个, 并且8/9 (89%) 对至少1种蛋白酶体抑制剂和免疫调节剂双重难治。全部受试者均具有至少1个高危细胞遗传学异常; 67%的受试者有缺失17p或TP53突变。基线肿瘤负荷高 (治疗前骨髓活检的中位骨髓瘤细胞中位数为80%), 而2/9 (22%) 患有髓外疾病。白细胞单采术前的中位绝对淋巴细胞计数 (ALC) 和总CD3计数分别为830和325个细胞/ μL , 到CART-BCMA输注时分别降至500和258个细胞/ μL , 反映了该群组中的疾病的进展以及大量的既往治疗。

[1533] 所有9名受试者都成功制造了最低目标CART-BCMA细胞 (1×10^8), 尽管1名受试者需要进行2次白细胞单采术/制造尝试。中位转导效率为22.2% (范围9.6-33.3%), 制造过程中接种细胞有中位12.7倍扩增。最终产物由中位数为96%的CD3+ T细胞组成, 中位CD4/CD8比率为1.6。六名受试者接受了全部3次计划的CART-BCMA输注, 3名 (受试者01、03和15) 仅接受了计划剂量的40% (由于发烧和CRS体征而暂缓第三次输注)。表33中显示了每个受试者的制造、产物特征和剂量的更多详细信息。

[1534] 临床结果

[1535] 9名受试者中有四名 (44%) 达到了部分反应 (PR) 或更好, 包括1名PR、2名非常好的部分反应 (VGPR) 和1名严格的完全反应 (sCR)。另外两名受试者具有微小反应 (MR), 而三名受试者没有反应 (图32A)。至首次反应的中位时间为14天。根据卡普兰-梅尔估算, 中位反应持续时间 (对于PR或更好的患者) 为120天 (范围29-665+); 无进展生存期 (PFS) 为65天 (范围

13-679+)。三名受试者在CART-BCMA输注后第28天(受试者01、15)或第45天(受试者03)进行的骨髓抽吸物中通过流式细胞术未检测到骨髓瘤(估算灵敏度为 10^{-5})。受试者03和15达到了VGPR,但分别在5个月和4个月时进展。受试者01有11个既往治疗线,对硼替佐米、来那度胺、卡非佐米和泊马利度有难治性,并且具有缺失17p以及TP53和NRAS突变,反映了非常不良风险的疾病。在进行CART-BCMA疗法之前,他进展迅速,有70%骨髓浆细胞、2.0g/dL的血清M峰值、3900mg的24小时尿M峰值、6794mg/L的无血清κ、高钙血症和急性肾功能不全(血清肌酐1.82mg/dL)。从PR(第14天)到VGPR(第3个月)、CR(第6个月)、再到sCR(第9个月),他的反应逐渐演变,并在CART-BCMA输注后21个月保持sCR。在CART-BCMA输注后5周,一名有椎旁肌和胸膜的髓外累及的受试者(03)在PET/CT上具有完全的代谢反应,包括恶性胸腔积液的消退(图32B),证明了CART-BCMA细胞在血液和骨髓腔外的运输能力。另一名患有髓外疾病的受试者(08)没有反应。在数据截止时(9/11/17),有5名受试者死亡,并且估算的中位总生存期(图32C)为551天(范围24-679+)。

[1536] 安全性

[1537] 在8/9(88%)的受试者中发现了3级或更高级别的不良事件,并在表31中进行了汇总,每名受试者的所有不良事件均在表34中列出。细胞因子释放综合征(CRS)是CAR T细胞疗法的一种详细描述并发症,在8名受试者中观察到:1名1级,4名2级、3名3级和1名4级。CRS发作的中位时间为首次输注后3.5天(范围1-8),中位持续时间为8天(范围3-12),中位住院时间为9天(范围3-40)。CRS与铁蛋白和C反应蛋白升高相关。四名受试者接受了抗IL6受体抗体托珠单抗,其中3名需要第二次施用(受试者01、03、08),而2名需要在重症监护室进行护理。

[1538] 神经毒性是CAR T细胞疗法后的常见不良事件,包括从轻度意识混乱或注意力缺陷到局灶性神经功能缺损、整体性脑病、失语症、癫痫发作和/或反应迟钝。受试者01患有1级意识混乱,在3级CRS的情况下无需干预即消退。CART-BCMA输注后,两名受试者(03和08)出现了严重的神经毒性(4级)。二人均具有较高的肿瘤负荷并伴有髓外疾病,并且在治疗时进展迅速,且均已接受托珠单抗治疗严重CRS。受试者03在周围淋巴细胞计数升高的情况下出现了反应迟钝和复发性癫痫发作,需要插管,表明CART-BCMA快速增殖。第15天的大脑MRI显示,弥漫性白质增强在后叶最明显,伴有脑沟消失,表明早期脑水肿。当时尚未将脑水肿描述为CAR T细胞疗法的后果(Abbasi等人,JAMA[美国医学会杂志]317,2271(2017)),并且她的临床和放射学影像被认为最符合可逆性后部脑病综合征(PRES)。她接受了大剂量的静脉内类固醇治疗(甲基泼尼松龙1g/天x 3天),但没有改善,然后在第17天接受了1.5g/m²的环磷酰胺,并在48小时内神经功能迅速改善,在第23天MRI显示异常增强接近完全消退,并且没有残留的神经功能缺损。进一步的细节被分别描述(Garfall等人,Blood[血液]128,5702-5702(2016),通过引用以其整体并入)。

[1539] 受试者08在CART-BCMA输注时骨髓瘤迅速进展,具有80%骨髓浆细胞和皮肤、淋巴结、肝脏、肾上腺和肾脏的髓外累及,以及进展性肾功能不全(Cr 2.87g/dL)。他在第15天出现了与肾脏损伤、心房纤颤、缺氧、低血压、凝血病、谵妄和转氨酶升高相关的4级CRS。他在接受托珠单抗治疗后血流动力学稳定,但在第17天有进展性4级脑病/反应迟钝,需要插管。大脑的MRI没有值得注意的问题,没有脑水肿的证据,但注意到颅底有进展性骨髓瘤。他接受了类固醇治疗,精神状态得到改善,并在第20天拔管。在第22天,他出现了复发性休克和

缺氧,需要插管;血液培养随后显示念珠菌血症。现在,外周血显示有13%的循环浆细胞,实验室确认为进展性骨髓瘤;在这种情况下,他的家人选择了仅进行舒适护理,他于第24天死亡。在研究期间没有发生其他死亡。CART-BCMA移植的动力学和持久性

[1540] 通过qPCR分析,所有接受输注的受试者在外周血中具有可检测到的CART-BCMA细胞,并且在8/9受试者中通过流式细胞术可检测到CAR⁺ T细胞(图33A;代表性染色见图38)。对于大多数受试者,扩增在第10天达到峰值,在两名受试者(01、03)中CART-BCMA细胞占有所有循环CD3⁺ T细胞的75%以上,具有最大的扩增,在扩增峰值时分别相当于每 μ L的血液5300和8700个循环CART-BCMA细胞(图39)。尽管在CART-BCMA产物预输注中CD4⁺ T细胞占主导地位,但血液中循环的CART-BCMA细胞主要为CD8⁺,并被高度激活,在峰值扩增期间表达HLA-DR的CAR⁺CD3⁺细胞的中位数为94%(范围为33%-98%)(表35)。对于受试者03,骨髓抽吸物中的CART-BCMA水平与外周血中的水平大致相同,并且在胸膜液和脑脊液中也升高(表36)。在大多数受试者中,CART-BCMA细胞在血液中的检测持续时间有限。除2名受试者(01、03)外,在第28天后在所测试的7/8名中CART-BCMA细胞不再可通过流式细胞术检测到,但直到60天时仍可以通过qPCR检测到,包括在受试者01(处于严格的CR)中,该受试者在21个月时继续有可检测到的细胞(图33A)。反应与如下显著相关;通过qPCR得到的峰值扩增(\geq PR的中位数为102507个拷贝/ μ g DNA,对比 $<$ PR为4187个拷贝/ μ g, $p=0.016$),以及前28天的持久性,如按曲线下面积测量的(AUC_{0-28d})(\geq PR的中位数为885181个拷贝*天/ μ g DNA,对比 $<$ PR的中位数为26183个拷贝*天/ μ g DNA, $p=0.016$)(图33B)。

[1541] CART-BCMA后可溶性因子的变化

[1542] 在输注CART-BCMA之前和之后,外周血中共有30种细胞因子被定量。对于IL-6、IL-10、干扰素- γ (MIG,CXCL9)诱导的单核因子、IP10和IL-1受体 α ,观察到相对于基线的最一致的变化(增加了5倍以上)(图40)。细胞因子的增加在具有最大扩增和反应、在峰值扩增时达到峰值并且具有细胞因子释放综合征的临床表现的受试者中最为明显,类似于先前针对CD19的CAR T细胞描述的模式(Porter等人, *Sci. Transl. Med.* [科学·转化医学] 7, 303ra139 (2015); Teachey等人, *Cancer Discov.* [癌症发现] 6, 664-679 (2016))。反应最深的受试者(01、03、15)的峰值IL-6、IL-10和MIG浓度均比基线高 $>$ 50倍。CRS的时机也与反应相关,PR或更好的受试者中首次输注后中位发病时间为2天(范围1-3),相比之下没有PR的受试者则为4.5天(范围4-8) ($p=0.029$,曼-惠特尼检验)。

[1543] BCMA通过 γ -分泌酶介导的裂解从浆细胞表面脱落(Laurent等人, *Nat Commun* [自然通讯] 6, 7333 (2015)),导致循环中可检测到可溶性形式(sBCMA)。在骨髓瘤患者中发现sBCMA水平升高,且更高的sBCMA浓度与更差的临床结果相关(Sanchez等人, *Br. J. Haematol.* [英国血液学杂志] 158, 727-738 (2012))。连续评估了CART-BCMA对sBCMA及其配体BAFF和APRIL的血清浓度的影响。与一组健康供体(HD, $n=6$, sBCMA中位数41.6ng/ml,范围25.2-84.4)相比,大多数受试者在基线时血液中的sBCMA浓度升高(中位数1532ng/ml,范围78.2-6101.3),连同伴随APRIL抑制(中位数0.04ng/ml,范围0.01-0.96,相比之下,HD的中位数5.69ng/ml,范围3.07-6.24)。BAFF浓度(中位数0.84ng/ml,范围0.51-4.98)与HD(中位数0.93ng/ml,范围0.58-1.24)无显著差异。基线sBCMA浓度与反应无相关性(图41),但是在具有最深反应的受试者(01、03、15)中CART-BCMA后sBCMA浓度的下降最为明显。对于受试者03、07、15, sBCMA也在进展时再次开始升高(图34),这表明血液中sBCMA的浓度

可能是评估骨髓瘤疾病负荷的有用的生物标记物。

[1544] 所有受试者基线时均具有降低的血液CD19+B细胞频率(CD45+CD14-门控中位数为1.9%，范围为0.1%-4.5%)，可能是由于进展性骨髓瘤的免疫抑制和大量的既往疗法所致。然而，与用CD19定向的CAR T细胞治疗的患者相比，所述CD19定向的CAR T细胞导致长时间的B细胞发育不全(Maude等人, *N. Engl. J. Med.* [新英格兰医学杂志] 371, 1507-1517 (2014))，使用CART-BCMA细胞治疗的9名受试者中6名受试者的B细胞恢复，典型地在输注后2-3个月。B细胞恢复在反应最深的受试者(01、03、15)中最为明显，并且通常但并非总是与血清BAFF和/或APRIL浓度的增加相关(图34)，它们是已知的促进正常的B细胞发育、增殖和存活的配体(Rickert等人, *Immunol. Rev.* [免疫学评论] 244, 115-133 (2011))。重要的是，尽管循环CART-BCMA细胞持续存在时间延长，但受试者01中的B细胞频率仍保持正常，这与之前报道的大多数循环B细胞中BCMA表达的缺乏一致(Seckinger等人, *Cancer Cell* [癌症细胞] 31, 396-410 (2017)；O'Connor等人, *J. Exp. Med.* [实验医学杂志] 199, 91-98 (2004))。

[1545] 骨髓瘤细胞上的BCMA表达

[1546] 在治疗之前，通过流式细胞术评价了八名受试者的在骨髓瘤细胞上的BCMA表达，并且全部受试者均具有可检测到的BCMA表达(图35) (代表性门控参见图42)。BCMA的基线强度因受试者而异，并且在该小群组中似乎与CART-BCMA的扩增或反应程度不相关(图43)。治疗后，有7名受试者的骨髓瘤细胞可评价BCMA表达。与治疗前相比，在进展时(第164天)，一名受试者(03)具有相对于荧光减一(FMO)对照显著降低的BCMA染色强度，这表明表面表达下调、BCMA-dim/阴性变体的免疫选择和/或从细胞表面脱落增加。

[1547] CART-BCMA扩增的预测因子

[1548] 如上所述，并且与先前的CAR T细胞研究(Turtle等人, *Sci. Transl. Med.* [科学·转化医学] 8, 355ra116 (2016)；Porter等人, *Sci. Transl. Med.* [科学·转化医学] 7, 303ra139 (2015)；Ali等人, *Blood* [血液] 128, 1688-1700 (2016))一致，与无反应者相比，有反应的受试者具有更大的CART-BCMA细胞扩增和持久性，并且细胞因子释放更深远。为了探究可能与强扩增相关的治疗前特征，分析了CART-BCMA产物在制造之前、期间和结束时的特性。发现受试者的白细胞单采产物中以及制造开始时(即在去除单核细胞的淘洗步骤之后)的接种培养物中更高的CD4/CD8比率与更大的CART-BCMA扩增相关(图36A和36B)，而白细胞单采产物或接种培养物中的总CD3 T细胞数，或制造结束时最终产物中的CD4/CD8比率则不是(数据未显示)。制造过程中接种细胞的倍数扩增也与体内CART-BCMA的扩增相关(图36C)，表明体外增殖能力可预测体内活性。最后，先前对接受CD19定向CAR T细胞治疗的CLL患者的分析证明，更好的CAR T细胞扩增和临床反应与表达CD27+CD45RO表型(24)的白细胞单采样本中CD8+ T细胞百分比更高相关。检查了仅用CART-BCMA细胞治疗的9名受试者的白细胞单采产物内的CD8+ T细胞，并且发现CD27+CD45RO-细胞的频率和体内CART-BCMA的扩增之间具有相似的相关性(图36D)。

[1549] 讨论

[1550] CAR T细胞疗法正在成为B细胞恶性肿瘤的有前途的治疗选择，具有在单次治疗后持久控制疾病的潜力，使其与需要重复和/或连续施用的其他疗法有所区别。在该报告中，证明了CAR T细胞疗法在晚期和难治性骨髓瘤中的潜力，有4/9名受试者达到了部分反应或更好的效果，包括在输注后21个月持续严格的完全缓解，以及另外2名受试者的微小反应。

鉴于已登记受试者的骨髓瘤具有高度不利的生物学特性,包括高肿瘤负荷、疾病的快速进展和高风险的遗传学,这一点是值得注意的。尽管基线T细胞淋巴细胞减少,从所有受试者成功制造了CAR T细胞产物,并且尽管在受试者中CAR T细胞的峰值水平和持久性存在显著差异,但在所有受试者中均观察到了移植。

[1551] 骨髓瘤长期以来一直与T细胞的数量和功能缺陷相关,尤其是在较晚期的难治性疾病中,CD4/CD8 T细胞比率倒置,离体抗肿瘤活性受损且获得疲惫或衰老表型的获得(Kay, 等人, Blood [血液] 98, 23-28 (2001); Dhodapkar, 等人, J. Exp. Med. [实验医学杂志] 198, 1753-1757 (2003); Suen, 等人, Leukemia [白血病] 30, 1716-1724 (2016))。在该研究中,反应与体内扩增程度相关,而后者又与更高的制造前CD4/CD8 T细胞比率、制造前CD45RO-CD27+CD8+ T细胞的频率以及制造过程中体外增殖的幅度相关。这表明,更有效的CART-BCMA产物可能源自分化程度较低、更“幼稚”的T细胞区室的受试者,如先前在使用CD19定向CART细胞的CLL试验中所观察到的(Fraietta等人, Blood [血液] 128, 57-57 (2016))。这些发现表明,治疗前的表型和/或功能性T细胞特征可能最终有助于预测可能对CART-BCMA疗法有反应或无反应的受试者。他们还提出,当T细胞可能本质上是“修理工(fitter)”时,在疾病早期对患者进行治疗可能会更有效。

[1552] 观察到的CAR T细胞扩增和临床活性也是显著的,这是由于在该群组中缺乏任何作为输注前调整给与的化疗。已证明化学疗法(如环磷酰胺)可通过多种潜在机制增强T细胞介导的抗肿瘤免疫力,包括减少细胞“下沉”,从而导致IL-7和IL-15的可用性增加;耗减抑制细胞群(例如调节性T细胞);通过释放增强抗原呈递细胞成熟的Toll样受体激动剂诱导粘膜损伤;以及改变肠道菌群(Gattinoni等人, Nat. Rev. Immunol. [自然免疫学综述] 6, 383-393 (2006); Viaud等人, Science [科学] 342, 971-976 (2013))。因此,人类中肿瘤特异性T细胞(包括CAR T细胞)的过继转移最常见地是遵循某种形式的淋巴细胞耗减调整(Porter等人, Sci. Transl. Med. [科学·转化医学] 7, 303ra139 (2015); Rapoport等人, Nat. Med. [自然医学] 21, 914-921 (2015); Noonan等人, Sci. Transl. Med. [科学·转化医学] 7, 288ra278 (2015); Morgan等人, Science [科学] 314, 126-129 (2006)),一些研究显示,调整强度的增加会导致更好的移植和临床结果(Turtle等人, Sci. Transl. Med. [科学·转化医学] 8, 355ra116 (2016); Dudley等人, J. Clin. Oncol. [临床肿瘤学杂志] 26, 5233-5239 (2008))。与此相符的是,在不进行淋巴细胞耗减调整的情况下给与的CAR T细胞疗法的早期研究仅观察到低水平的扩增和转移T细胞的有限的持久性,尽管应当承认的是,这些研究使用的是第一代CAR构建体,所述构建体缺乏共刺激结构域,并且包含也造成了较差的移植的免疫原性序列(Pule等人, Mol. Ther. [分子疗法] 15, 825-833 (2007); Park等人, Mol. Ther. [分子疗法] 15, 825-833 (2007); Ti11等人, Blood [血液] 112, 2261-2271 (2008))。

[1553] 然而,这项研究清楚地证明,至少在某些患者(例如受试者01)中,稳健而持续的CAR T细胞移植和临床疗效不需要化疗调整。可能促成此成功的条件包括在CAR构建体中包含4-1BB共刺激结构域,高肿瘤负荷与抗原的广泛可用性,以及患者群体中明显的基线淋巴细胞减少。尽管如此,鉴于上述化疗调整的已知有益作用,淋巴细胞耗减很可能会增加具有成功的CART-BCMA扩增和持久性以及临床反应的受试者的比例。该问题将在于CART-BCMA细胞之前接受环磷酰胺的群组2和群组3中得到解决。

[1554] 连同NCI先前报道的BCMA特异性CAR T细胞试验(Ali等人, Blood [血液] 128, 1688-

1700 (2016))，该研究证实BCMA是骨髓瘤中具高度吸引力的靶标。对于双特异性抗体和靶向BCMA的抗体-药物缀合物，有前途的临床前和早期临床活性进一步加强了这一点(Tai等人, Blood[血液]123,3128-3138 (2014); Hipp等人, Leukemia[白血病]31,1743-1751 (2017); Cohen等人, Blood[血液]128,1148-1148 (2016))。此外，其他两项关于与淋巴细胞耗减化学疗法结合给与的BCMA特异性CAR T细胞并且在预防程度较小的患者人群中进行的研究的初步报告显示甚至更高的反应率，其中几个在报告时间上可以持续>1年(Fan等人, J.Clin.Oncol.[临床肿瘤学杂志]35,摘要LBA3001 (2017); Berdeja等人, J.Clin.Oncol.[临床肿瘤学杂志]35,摘要3010 (2017))。重要的是，这些研究均未报告任何意外的脱靶或脱瘤毒性，证实了BCMA正常组织的表达有限，并将其与骨髓瘤中具有更为广泛的表达的其他潜在的CAR T细胞靶标(例如CD138、CD38、CS1/SLAMF7)区分开来(Jiang等人, Mol.Oncol.[分子肿瘤学]8,297-310 (2014); Drent等人, Haematologica[血液学]101,616-625 (2016); Chu等人, Clin.CancerRes.[临床癌症研究]20,3989-4000 (2014))。

[1555] 对于靶向BCMA的CAR T细胞，一个重要的未解决问题是，对于最佳识别和杀伤，是否需要MM细胞上BCMA表达的阈值。该研究不需要任何特定水平的BCMA作为资格要求，相比之下，其他3个已报道的BCMA特异性CAR T细胞研究要求至少50%的骨髓瘤细胞表达BCMA(通过免疫组织化学(IHC)或流式细胞术)(Ali等人, Blood[血液]128,1688-1700 (2016); Fan等人, J.Clin.Oncol.[临床肿瘤学杂志]35,摘要LBA3001 (2017); Berdeja等人, J.Clin.Oncol.[临床肿瘤学杂志]35,摘要3010 (2017))。在NCI试验中，通过IHC，只有52/85(62%)的BCMA染色的预筛查骨髓活检达到了此阈值，这意味着将排除三分之一以上的潜在符合资格的MM患者(Ali等人, Blood[血液]128,1688-1700 (2016))。虽然这种途径仍然可能使更多可能有反应的患者受益，但它也可能排除了可能受益的患者，至少在本研究的这一最初群组中，反应与流式细胞仪检测的基线BCMA表达不相关(图43)。需要更大的数据集才能更全面地解决这个问题。另一个问题与CAR T细胞疗法后BCMA的潜在下调或BCMA-dim/阴性变体的选择有关，如本研究 and NCI研究中迄今各自均在1名患者中观察到的那样(Ali等人, Blood[血液]128,1688-1700 (2016))。更大型的研究和更长的随访将有助于确定这种现象的真实发生率，但表明这可能是MM细胞逃逸的手段。

[1556] CAR T细胞的主要毒性仍然是细胞因子释放综合征(CRS)和神经毒性。所述群组中CRS的频率和严重程度与CD19靶向的CAR T细胞试验中报道的相似(Maude等人, N.Engl.J.Med.[新英格兰医学杂志]371,1507-1517 (2014); Porter等人, Sci.Transl.Med.[科学·转化医学]7,303ra139 (2015))，而幸运的是在IL-6受体阻滞疗法上取消。鉴于托珠单抗对输注的CAR T细胞的扩增和持久性明显缺乏影响，因此正在进行研究(例如NCT02906371)探索其在输注后早期的使用，即使CRS仅是低级的，这可能会限制严重或危及生命的毒性的发展。在一些CAR T细胞试验中，在多达50%的受试者中报告了神经毒性(Turtle等人, Sci.Transl.Med.[科学·转化医学]8,355ra116 (2016); Turtle等人, J.Clin.Invest.[临床研究杂志]126,2123-2138 (2016); Kochenderfer等人, J.Clin.Oncol.[临床肿瘤学杂志]33,540-549 (2015))，并且仍然更多的是挑战。它可以与CRS同时发生或继发于CRS，并且在托珠单抗治疗后通常不会改善(或可能恶化)。CAR T细胞在中枢神经系统(CNS)中的存在(通过对脑脊液的分析评估)本身不一定预测神经毒性，但是神经毒性与CRS的早期发作以及血清和CNS中炎性细胞因子(例如IL6、IFN- γ)的迅速升

高相关(可能导致CNS血管通透性增加)(Gust等人.,Cancer Discov.[癌症发现],(2017))。对轻度病例使用支持治疗,对于较严重的病例通常施用类固醇治疗。幸运的是,尽管已经报道了致命的脑水肿病例,但大多数病例都是可逆的且具有自限性(Abbasi等人,JAMA[美国医学会杂志]317,2271(2017);Gust等人,Cancer Discov.[癌症发现],(2017))。这项研究的经验证明,使用环磷酰胺可快速逆转受试者03的PRES样综合征,表明这在类固醇难治性病例中可能是一个合理的选择,尤其是当症状与广泛伴随的CAR T细胞扩增相关时。

[1557] 总之,在难治性MM患者中,即使不进行淋巴细胞耗减化学疗法,表达完全人BCMA特异性CAR的自体T细胞也可以扩增并诱导客观反应。随后的探索不同剂量水平结合环磷酰胺调整的群组将有助于进一步优化该途径的安全性和有效性。

[1558] 材料与方法

[1559] 受试者

[1560] 受试者患有多发性骨髓瘤,其在至少3个既往治疗线后或在2个既往治疗线后如果对蛋白酶体抑制剂和IMiD双重难治,则为复发或难治(定义为在最近的疗法的60天或以内进展)。其他关键的资格标准包括可测量的疾病;ECOG体能状态为0-2;血清肌酐 $\leq 2.5\text{mg/dL}$ 或估算的肌酐清除率 $\geq 30\text{ml/min}$;绝对中性粒细胞计数 $\geq 1000/\mu\text{l}$ 和血小板计数 $\geq 50,000/\mu\text{l}$ (如果骨髓浆细胞的细胞构成 $\geq 50\%$,则 $\geq 30,000/\mu\text{l}$);SGOT \leq 正常值上限的3倍和总胆红素综合征 $\leq 2.0\text{mg/dl}$ (高胆红素血症归因于吉尔伯特的患者除外);左心室射血分数 $\geq 45\%$;缺乏活动性自身免疫性疾病;并且缺乏骨髓瘤中枢神经系统累及。所有受试者均进行脑部基线MRI检查,并由指定的研究神经科医生进行连续评价。获得每个受试者的知情同意,并根据赫尔辛基宣言在获得宾夕法尼亚大学IRB的批准的情况下进行所述研究。

[1561] 研究设计

[1562] 该临床试验是一项1期开放标签研究,其主要目标是安全性。毒性等级是根据美国国家癌症研究所针对不良事件的通用术语标准4.0版确定的,细胞因子释放综合征除外,它根据宾夕法尼亚大学CRS分级系统(表38)进行了分级,如(Porter等人,Sci.Transl.Med.[科学·转化医学]7,303ra139(2015))所述。所述研究得到了重组DNA咨询委员会、FDA、艾布拉姆森癌症中心临床试验科学审查委员会以及宾夕法尼亚大学机构生物安全委员会和机构审查委员会的批准。所述试验已在Clinicaltrials.gov中以NCT02546167进行了注册,并按照“结果”部分和图31中的“方案设计和登记”中的说明进行。骨髓瘤反应通过更新的国际骨髓瘤工作组标准进行评估(Kumar等人,Lancet Oncol.[柳叶刀肿瘤学]17,e328-346(2016),通过引用以其整体并入本文)。该分析的数据截止为9/11/17。

[1563] CART-BCMA制造和输注

[1564] 用编码CAR的慢病毒载体刺激并转导外周血T细胞:与CD8的铰链和跨膜结构域以及人4-1BB和CD3z细胞内信号传导结构域融合的人抗BCMA单链可变片段。CART-BCMA细胞是在宾夕法尼亚大学的临床细胞和疫苗生产工厂制造的,所述工厂已获得FACT认证(<http://www.factwebsite.org>),如先前所述(Porter等人,Sci.Transl.Med.[科学·转化医学]7,303ra139(2015);Kalos等人,Sci.Transl.Med.[科学·转化医学]3,95ra73(2011))。CD3、CD4和CD8细胞的频率是在白细胞单采产物内、在制造开始时(通过淘洗以减少单核细胞后)的接种培养物中(Powell等人,Cytotherapy[细胞疗法]11,923-935(2009))以及在制造结束时使用通过流式细胞术测定的。通过在Coulter MultisizerTM上进行细胞计数来测量接

种细胞的倍数扩增和群体倍增。配制CART-BCMA细胞并冷冻保存直至输注时间,然后在进行质量控制测试和质量保证审查后通过3天静脉内输注进行给药,每天给与所述剂量的10%、30%和60%。

[1565] CART-BCMA扩增的测量

[1566] 研究样品的处理、冷冻和实验室分析是在宾夕法尼亚大学的转化与相关研究实验室中进行的,使用建立的标准操作程序(SOP)进行样品的接收、处理、冷冻和分析。从在方案规定的时间点获得的外周血或骨髓样品中定量CART-BCMA细胞。将样品收集在淡紫色顶部(K2EDTA)或红色顶部(无添加剂)真空管中(贝迪公司(Becton Dickinson))。在抽取样品后的2小时内将淡紫色顶管交付到实验室。根据确定的SOP,在抽取后的16小时内处理样品。纯化、处理PBMC并将其存储在液氮的气相中。在抽取后的2小时内(包括凝结时间)对红色顶管进行处理,并通过离心分离血清,等分试样并在-80℃下保存。

[1567] Ficoll-Paque处理后,直接通过流式细胞术评价细胞。根据样品中细胞的产率,在每个条件下使用大约 2×10^5 至 5×10^5 个总细胞进行PBMC免疫分型。仅FMO(荧光减一)次级对照用于CART-BCMA和BCMA评价。补充方法中描述了用于流式细胞术的试剂和方案。

[1568] 对于外周血和骨髓样品,每个时间点直接从全血或骨髓抽吸物中分离基因组DNA,并使用ABI TaqMan技术和经验证的测定进行qPCR分析,一式三份使用200ng基因组DNA,以检测整合的CAR转基因序列,如(Kalos等人,Sci.Transl.Med.[科学·转化医学]3,95ra73(2011))所述。为了确定每单位DNA的拷贝数,生成了八点标准曲线,所述曲线由掺入100ng非转导的对照基因组DNA的5到 10^6 拷贝的慢病毒质粒组成。使用具有相同引物/探针组的数字qPCR验证标准曲线中存在的质粒的拷贝数,并在QuantStudio 3D数字PCR仪器(生命技术公司(LifeTechnologies))上进行。每个数据点(样品和标准曲线)一式三份评价,三个重复中三个有正Ct值,所有可定量值的变异系数百分率均小于0.95%。为了控制被研究的DNA的质量,使用20ng基因组DNA和CDKN1A(p21)基因上游非转录基因组序列特异的引物/探针组合进行平行扩增反应,如(Kalos等人,Sci.Transl.Med.[科学·转化医学]3,95ra73(2011))所述。这些扩增反应产生校正因子,以针对计算的与实际的DNA输入进行调整。根据以下公式计算每微克DNA的转基因拷贝:每微克基因组DNA拷贝数=(根据CART-BCMA标准曲线计算的拷贝数)×校正因子/(以纳克评价的DNA量)×1000ng。

[1569] 血清细胞因子的测量

[1570] 人细胞因子磁性30-plex面板(LHC6003M)来自生命技术公司)。

[1571] 将在CART-BCMA输注前1天或从基线起和在排定的时间点直到输注后28天收集的的血清样品于-80℃下冷冻保存。根据制造商的方案解冻分批样品并进行分析。使用FlexMAP 3D仪器测量测定板,并使用xPONENT软件进行数据采集和分析。根据以下标准检查数据质量。使用xPONENT软件,每种分析物的标准曲线的5P R²值均>0.95(进行或不进行轻微拟合)。为了通过质量控制,内部对照血清的结果必须在95%的CI(置信区间)以内,所述CI是从>25种被测分析物的内部历史对照数据得出的。对结果超出低范围(<0OR)的样品没有进行进一步的测试。在较高稀释度下重新测试结果超出高范围(>0OR)或大于标准曲线最大值(SC max)两倍的样品。报告了通过上述质量控制的结果或重新测试的结果。

[1572] 可溶性BCMA、BAFF和APRIL的测量

[1573] 人BCMA(DY193)、APRIL(DY884B)和BAFF(DT124-05)的抗体组来自R&D系统公司(R&

D Systems)。ELISA珠带 (bead-strip) 和4柱储液槽 (SOW-A16735) 来自Assay Depot。ELISA底物ADHP (10010469) 来自卡曼化学公司 (Cayman Chemical)。测定板 (OX1263) 来自E&K科技公司 (E&K Scientific)。根据DuoSet ELISA的方案制备所有的ELISA试剂,颜色试剂B除外,该试剂补充了100uM的ADHP。由于血清量有限,并且缺乏适用于BCMA、APRIL和BAFF的Luminex测定,因此使用ELISA珠带对三种分析物进行了测量。不是将捕获抗体 (cAB) 包被到ELISA板的孔中,而是将其包被到大球表面上,这使得可以使用100uL血清测量所有三种分析物。根据针对抗体组的方案的测定图,在测定板中使用珠带进行测定。在测定结束时,通过添加100uL/孔的底物溶液 (1:1的颜色试剂A和ADHP) 来制备每12个珠带一个基板。根据测定图将每个珠带放置在所述基板的一列中。显色10至30分钟。在FLUO STAR OMEGA仪器上读取板。如针对Luminex数据所述执行数据质量控制。

[1574] 骨髓骨髓瘤细胞的评估,包括BCMA表达

[1575] 在短暂的氯化铵红细胞裂解步骤之后,直接在抽吸物中进行骨髓抽吸物的流式细胞术评估。所述程序改编自 (Flores-Montero等人, Leukemia [白血病] 31, 2094-2103 (2017)) 中所述的EuroFlow方案。简而言之,用48ml Pharm Lyse溶液 (BD生物科学公司目录号555899) 稀释多达2ml的骨髓抽吸物,并在室温下在摇动装置上孵育15分钟。然后通过以800g离心10分钟收集细胞,用流式细胞仪缓冲液 (含1%胎牛血清的PBS) 洗涤两次,并用L/D Aqua存活力染料 (赛默飞世尔公司 (Thermo Fisher) 目录号L34957) 染色。用针对CD45、CD19、CD138、CD38、CD14、CD56、CD20、CD3、CD269 (BCMA)、CD274 (PD-L1) 的抗体混合物进行表面染色。仅FM0 (荧光减一) 次级对照用于BCMA评价。将正常供体PBMC细胞的等分试样平行染色作为对照。然后在室温下使用Cytotfix/Cytoperm试剂 (BD生物科学公司) 将细胞洗涤/透化/固定之前,洗涤20分钟,洗涤并用针对 κ 和 λ 免疫球蛋白轻链的抗体的混合物染色。然后洗涤样品,然后重悬于PBS中,并在配备有紫色,蓝色,绿色和红色激光的17色LSR Fortessa特别定制研究产品流式细胞仪 (BD) 上进行采集。使用FlowJo (TreeStar) 或FCS Express分析列表模式文件。

[1576] 统计

[1577] 由于所述试验的先导性质和患者的样本量较小,因此所述研究的统计分析主要是描述性的。使用卡普兰-梅尔方法估算反应持续时间、无进展生存期和总生存期以及相关的中位生存时间。使用曼-惠特尼检验评价反应与峰值CART-BCMA扩增、前28天扩增曲线下面积 (AUC-28)、基线可溶性BCMA水平以及基线MM细胞上BCMA表达之间的相关的显著性。使用斯皮尔曼相关性测量两个连续变量之间的相关性。基于置换计算了斯皮尔曼相关性对无相关性零假设的重要性。使用Graphpad Prism 6.0版进行分析。

[1578] 表30. 受试者特征

特征 (n = 9)	中位数 (范围) 或%
年龄	57 (44-70)
性别	67%男性; 33%女性
自诊断起的中位时间 (年)	4.9 (1.8 - 9.6)
高危细胞遗传学*	100%
缺失 17p 或 TP53 突变	67%
既往治疗线	9 (4 - 11)
Len/Bort/Pom/Carf/Dara (暴露%)	100%/100%/100%/100%/44%
Len/Bort/Pom/Carf/Dara (难治%)	78%/89%/89%/89%/44%
%双重-/%四重-/%五重难治	100%/56%/33%
自体 SCT	78%
髓外疾病	22%
%骨髓浆细胞	80 (15-95)
第 0 天绝对淋巴细胞计数 (细胞/ μ L)	500 (200 - 1420)
第 0 天绝对 CD3 计数 (细胞/ μ L)	258 (117 - 1354)
第 0 天 LDH (xx/xx)	175 (109 - 385)
第 0 天血清肌酐 (mg/dL)	1.58 (0.83 - 2.87)
第 0 天血红蛋白 (g/dL)	8.7 (6.4 - 11.3)
第 0 天血小板 ($\times 10^3/\mu$ L)	100 (13 - 221)

[1580] *包括复杂的核型,增加1q,缺失17p和/或t(4;14)。Bort=硼替佐米;Carf=卡非佐米;Dara=达雷木单抗;Del=缺失;双重难治=对蛋白酶体抑制剂(PI)和免疫调节剂(IMiD)均难治;LDH=乳酸脱氢酶;Len=来那度胺;五重难治=对2种PI、2种IMiD和达雷木单抗难治;Pom=泊马度胺;四重难治=对2种PI和2种IMiD难治;SCT=干细胞移植。

[1581] 表31. 3级或更高级别的不良事件

事件	3 级	4 级	5 级	所有
----	-----	-----	-----	----

	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
低磷血症	4 (44%)	0	0	4 (44%)
细胞因子释放综合征	2 (22%)	1 (11%)	0	3 (33%)
血小板减少症	2 (33%)	1 (11%)	0	3 (33%)
神经毒性*	0	2 (22%)	0	2 (22%)
贫血	2 (22%)	0	0	2 (22%)
肺部感染	0	2 (22%)	0	2 (22%)
嗜中性粒细胞减少症	0	2 (22%)	0	2 (22%)
低钙血症	1 (11%)	1 (11%)	0	2 (22%)
低钾血症	2 (22%)	0	0	2 (22%)
死亡 NOS**	0	0	1 (11%)	1 (11%)
疲劳	1 (11%)	0	0	1 (11%)
其他感染 (念珠菌血症)	0	1 (11%)	0	1 (11%)
尿路感染	1 (11%)	0	0	1 (11%)
碱性磷酸酶升高	1 (11%)	0	0	1 (11%)
AST 升高	1 (11%)	0	0	1 (11%)
纤维蛋白原减少	1 (11%)	0	0	1 (11%)
淋巴球减少症	0	1 (11%)	0	1 (11%)
白血球减少症	0	1 (11%)	0	1 (11%)
低钠血症	1 (11%)	0	0	1 (11%)
胸腔积液	1 (11%)	0	0	1 (11%)
高血压	1 (11%)	0	0	1 (11%)

[1584] n=发生事件的受试者人数。表中报告了受试者经历的最高等级的毒性。*神经毒性包括1名患有3级癫痫发作、4级谵妄和4级可逆性后部脑白质病综合征 (RPLS) (也称为可逆性后部脑病综合征 (PRES)) 的受试者;以及1名3级谵妄和4级脑病受试者。

[1585] **在有念珠菌血症和快速骨髓瘤进展的受试者08情况死亡NOS (未另作说明);家人选择只采取舒适措施。

[1586] 补充方法

[1587] 流式细胞术的试剂和方案

[1588] 用于T细胞检测面板的抗体是抗CD45 V450 (克隆HI30)、抗CD14 V500 (克隆M5E2)、抗CD56 Ax488 (克隆B159)、抗CD4 PerCP-Cy5.5 (克隆RPA-T4)、抗-CD8 APC-H7 (克隆SK1) (全部来自BD生物科学公司)。另外,使用了来自百进公司 (Biolegend) 的抗CD3 BV605 (克隆OKT3)、抗HLA-DR BV711 (克隆L243)、抗CD19 PE-Cy7 (克隆H1B19)。通过使用双生物素化的BCMA-Fc重组蛋白和来自BD生物科学公司的二级染色试剂链霉亲和素-PE (目录号554061) 评估CART-BCMA的表达。将细胞重悬于含有1%胎牛血清、0.02%叠氮化钠和双生物素化

BCMA-Fc的100 μ L PBS中,并在冰上孵育30分钟,洗涤,重悬于含有1%胎牛血清、0.02%叠氮化钠、表面抗体和SA-PE的100 μ L PBS中,并在冰上孵育30分钟,洗涤,重悬于含有1%胎牛血清、0.02%叠氮化钠的250 μ L PBS中,并使用配备有紫罗兰色(405nm)、蓝色(488nm)、绿色(532nm)和红色(628nm)激光的Fortessa流式细胞仪进行采集。使用FlowJo软件(10版, Treestar)分析数据。使用eBioscience UltraComp eBeads(电子生物科学公司(eBioscience)目录号01-222-42)和DIVA软件确定补偿值。

[1589] 表32. 个体受试者特征

受试者	年龄	性别	人种	自诊断起的年数	同种类型	核型	FISH	突变	线数*	单采术、输注前最后一次治疗**
01	66	M	白人	9.6	IgGK	46XY	+11, -16q, -17p	<i>NRAS</i> , <i>TP53</i> , <i>TP53</i>	11	Pom/Dex Pom/Dex
[1590] 02	68	M	白人	6.3	IgAK	46XY	+1q, +4p, -17p	n/a	9	Carfilz/Len/Dex Carfilz/Cyclo/Dex
03	54	F	白人	3.1	IgAL	n/a	+1q, t(4;14), -16q	n/a	4	D-PACE D-AC
07	44	M	白人	1.8	K	n/a	+1q, -4, +11, -14, -16	<i>NRAS</i> , <i>TP53</i>	9	Carfilz/Pano Pom/Dex-ACE
08	70	M	白人	3.3	IgAL	复杂	+1q,	n/a	6	Carfilz/Pom/Dex
							-1p, -4, -17p			Carfilz/Pom/Dex
[1591] 09	61	M	白人	6.6	K	46XY	t(11;14), -16q, -17p	无	9	达雷木单抗 Pulse Dex
10	47	M	白人	4.9	IgGL	n/a	+1q, t(11;14)	<i>KRAS</i> , <i>SF3B1</i>	7	Pom/Dex Pom/Cyclo/Dex + 血浆置换
11	57	F	AA	6.3	IgGL	46XX	+1q, t(4;14), -17p	n/a	10	VDT-PACE VDT-PACE
15	51	F	亚洲人	4.7	IgAK	46XX	+1q, t(11;14)	<i>NRAS</i> , <i>KRAS</i> , <i>BIRC3</i> , <i>KIT</i>	7	Pembro/Pom/Dex Pom/Dex

[1592] *根据IMWG标准定义了治疗线。放射不算作一个线。**在收集T细胞(“单采术”-顶

线)和CART-BCMA输注(“输注”-底线)之前,接受最新疗法。所有疗法在单采术前至少暂停2周,在输注前再次暂停至少2周。

[1593] Carfilz=卡非佐米;cyclo=环磷酰胺;D-AC=地塞米松+输注用多柔比星和环磷酰胺;D-PACE=地塞米松+输注用顺铂、多柔比星、环磷酰胺和依托泊苷;Dex=地塞米松;Dx=诊断;Len=来那度胺;Pano=帕比司他;Pembro=派姆单抗;Pom=泊马度胺;Pom/Dex-ACE=泊马度胺、地塞米松+输注用多柔比星、环磷酰胺和依托泊苷;Tx=治疗;VDT-PACE=硼替佐米、地塞米松、沙利度胺+输注用顺铂、多柔比星、环磷酰胺和依托泊苷;Yrs=年。

[1594] 表33.CART-BCMA制造和产物详细信息

[1595]	受试者	aph 中的% CD3+	aph 中的 CD4: CD8	接种 培养 物中的 % CD3+	接种 培养 物中的 % CD4:	收获 时% CD3+	收获 时 CD4: CD8	扩增 倍数	Pop dblg	转导 效率 (%)	给与 的总 CAR 数 (x 10 ⁸)	最好 反应
					CD8							
	01	28.4	3.20	52.6	2.04	98.4	2.40	43.5	4.54	9.6	2.0*	sCR
	02	41.9	0.80	63	0.40	69.1	1.31	12.7	3.67	18.2	5.0	MR
	03	25.2	2.33	58.4	2.47	97.6	1.72	17.9	4.16	25.9	2.0*	VGPR
[1596]	07	10.2	2.18	20.3	1.47	94.9	1.60	38.9	5.28	24.2	5.0	PR
	08	9.2	0.62	20.8	0.31	92.5	2.99	7.9	2.98	22.7	5.0	PD
	09	54.6	0.77	86.8	0.49	87.5	1.69	10.0	3.33	22.2	5.0	SD
	10	19.2	1.09	47.3	1.07	96.7	1.32	11.5	3.52	16.5	1.77	PD
	11	5.56	1.14	21.4	0.81	96.9	1.20	8.7	3.11	19.4	5.0	MR
	15	39.8	0.82	90.8	0.71	96	1.24	22.6	4.50	33.3	2.0*	VGPR

[1597] 通过流式细胞术评估单采产物中,在制造开始时(“接种培养”,淘洗后)和制造结束时(“收获时”)的总CD3+、CD3+CD4+和CD3+CD8+细胞的频率。Aph=单采产物;fold exp=倍数扩增;pop dblg=群体倍增;trans eff=转导效率。MR=最小反应;PD=疾病进展;PR=部分反应;sCR=严格的完全反应;SD=疾病稳定;VGPR=很好的部分反应

[1598] *由于发烧/早期CRS,受试者01、03和15仅收到计划剂量的40%。

[1599] 表34.个体受试者不良事件

[1600]

受试者	1 级	2 级	3 级	4 级	5 级
01	干眼症 口干 流感样症状 代谢障碍-其他(铁缺乏症) 肌痛 头痛 脑血管缺血 神经系统障碍-其他(意识混乱) 血管障碍-其他(水肿)	DIC 眩晕 肠梗阻 恶心 呕吐 发热 肌酐增加 血小板减少症 肌肉骨骼障碍-其他(全身性肌肉疼痛) 尿潴留 呼吸系统障碍-其他(肺水肿和肺不张) 皮肤/SQ 障碍-其他	贫血 疲劳 CRS 碱性磷酸酶增加 AST 增加 低钙血症 低钾血症 低磷血症	淋巴球减少症	

[1601]

		(皮肤撕裂) 高血压			
02	窦性心动过速 胃肠道障碍-其他(稀便) 恶心 疲劳 CRS 头晕 头痛 呼吸系统障碍-其他(鼻和鼻窦阻塞, 咳嗽)		血小板减少症		
03	窦性心动过缓 耳部障碍-其他(耳朵感觉塞满, 很难听见) 眼部障碍-其他(阅读困难) 便秘 水肿 发热 低钾血症 低镁血症 骨痛 注意力受损 头痛 嘶哑 皮肤/SQ 障碍-其他(瘀斑)	SVT 疲劳 感染-其他(链球菌/口腔链球菌) 上呼吸道感染 淋巴球减少症 高钠血症 肌肉骨骼障碍-其他(失调, 颅骨疼痛) 颅内出血 呼吸系统障碍-其他(鼻液倒流) 低血压	CRS UTI 纤维蛋白原减少 低磷血症 癫痫发作 胸腔积液 高血压	嗜中性粒细胞减少症 白血球减少症 低钙血症 RPLS 谵妄	
07	皮肤/SQ 障碍-其他(面部皮疹)	CRS 消化不良 低白蛋白血症 低钙血症	贫血 低钾血症 低钠血症		
08	窦性心动过速 一般性障碍-其他(寒颤)		肺部感染 谵妄	CRS 血小板减少症 脑病	死亡 NOS

[1602]

				感染-其他(真菌血症)	
09	便秘 发冷 疲劳 血小板减少症 厌食症 低钾血症	贫血 心包积液 CRS 嗜中性粒细胞减少症 低钙血症 头痛			
10	发冷 发热	血小板减少症			
11	恶心 疲劳 血小板减少症 头痛 呼吸系统障碍-其他(咳嗽、充血)	CRS 感染-其他(艰难梭菌) 低钙血症	低磷血症		
15	低钙血症 头痛 咳嗽 呼吸困难	疲劳 CRS 感染-其他(志贺氏菌毒素检测阳性) 低血压	血小板减少症	嗜中性粒细胞减少症	

[1603] 列出了所有事件,无论其归因为何。如果事件在同一患者中发生超过一次,则报告为最高等级。Alk phos=碱性磷酸酶;AST=天冬氨酸转氨酶;CRS=细胞因子释放综合征;DIC=弥散性血管内凝血;NOS=未另作说明;RPLS=可逆性后部脑白质脑病综合征;SQ=皮下;SVT=室上性心动过速;UTI=尿路感染

[1604] 表35. 峰值扩增时外周血CART-BCMA+细胞的特征

[1605]

受试者	峰值当天	CD3+的 %CAR+	CD4+的 %CAR+	CD8+的 %CAR+	CAR+的 %HLADR+	最好反应
01	10	89.5	8.6	92.3	97	sCR
02	9	2.8	1.4	5.0	82	MR
03	14	76.2	13.7	85.9	97	VGPR

[1606]	07	10	29.2	7.3	39.3	89	PR
	08	16	9.3	0.4	16.9	95	PD
	09	11*	*	*	*	*	SD
	10	30	1.9	0.1	2.0	21	PD
	11	8	18.2	14.6	25.2	94	MR
	15	10	28.1	6.3	51.0	96	VGPR

[1607] 如图38中通过流式细胞术评估CART-BCMA细胞。在峰值扩增的当天,列出了CD3+、CD4+和CD8+群体中CAR+细胞的频率。还显示了峰值扩增时的激活状态(如通过表达HLA-DR的CAR+细胞的%所测量的)。MR=最小反应;PD=疾病进展;PR=部分反应;sCR=严格的完全反应;SD=疾病稳定;VGPR=很好的部分反应

[1608] *峰值通过qPCR确定;无法通过流式细胞术检测到CAR+细胞。

[1609] 表36. 通过qPCR将CART-BCMA移植入血液、骨髓和其他部位

受试者	第 28 天血液	第 28 天 BM	3 个月血液	3 个月 BM	其他 (部位、日期)
01	23447.33	10458.66	4373.95	n/a	n/a
02	454.57	383.62	334.90	n/a	n/a
[1610] 03	220081.08*	109964.97*	9517.67	9934.97	CSF, D4: 3285.88 CSF, D16: 158038.74 胸膜液, D8: 23941.97 胸膜液, D18: 144516.62 BM, D164: 105.81
07	1757.60	2140.31	n/a	n/a	n/a
08	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
09	32.15	16.75	n/a	n/a	n/a
10	62.64	0	n/a	n/a	n/a
11	731.44		n/a	n/a	n/a
15	724.49	1084.16	32.58	99.48	n/a

[1611] 在测试的时间点,血液和骨髓中的CART-BCMA水平(拷贝数/ μ g基因组DNA)通常是相当的。在受试者03的CSF和胸膜液中发现CART-BCMA水平很高。BM=骨髓;CSF=脑脊液。*在第45天进行的测定。

[1612] 表37. 骨髓瘤细胞上BCMA表达的详细信息

[1613]

受试者	治疗前 %BCMA+	治疗前 FMO MFI	治疗前 BCMA MFI	治疗后 %BCMA+	治疗后 FMO MFI	治疗后 BCMA MFI	最好反应
01	95	568	10864	n/a	n/a	n/a	sCR
02	93	355	2375	97	483	3254	MR
03	84	265	1873	19 (d164)	78 (d164)	268	VGPR
07	n/a	n/a	n/a	84	273	1426	PR
08	99	124	6859	n/a	n/a	n/a	PD
09	28	50	103	93.7	204	1116	SD
10	83	192	1998	99	54	2140	PD
11	81	332	1844	62	49	831	MR
15	99	249	24842	100	362 (d90)	30685 (d90)	VGPR

[1614] 门控骨髓骨髓瘤细胞并分析BCMA表达。描绘了表达BCMA的骨髓瘤细胞的%，以及BCMA和FMO阴性对照的平均荧光强度 (MFI)。n/a=不适用。Pre-tx=治疗前。Post-tx=治疗后，在第28天的时间点，除非另有说明。

[1615] 表38. 细胞因子释放综合征 (CRS) 的宾夕法尼亚大学分级系统

[1616]

宾夕法尼亚大学 CRS 毒性等级				
1	2	3	4	5
轻度反应：经过支持性治疗，例如退热药、止吐药等	中度反应需要IV输液或肠胃外营养；器官功能障碍的一些体征（即2级肌酐或3级肝功能检查[LFT]与CRS相关且不归因于任何其他病症）。用于管理CRS相关症状（包括伴有中性粒细胞减少症的发	更严重的反应：管理与器官功能障碍相关的症状（包括与CRS相关的4级LFT或3级肌酐，并且不归因于任何其他病症）所需的住院治疗。这包括发烧或肌痛的管理。包括用IVFs*或低剂量加压剂治疗的低血压，需要新鲜冷冻血浆 (FFP) 或冷凝蛋白质的凝血障碍，以及需要补充氧气的缺氧（鼻套管氧气、高	危及生命的并发症，例如需要高剂量加压剂的低血压，或需要机械通气的缺氧。	死亡

[1617]	烧)的住院治疗。	流量氧气、持续气道正压通气[CPAP]或双侧气道正压通气[BiPAP])。由于发烧和/或中性粒细胞减少的疑似感染而入院管理的患者可能有2级CRS。	
--------	----------	---	--

[1618] *定义为低血压,需要多次液体推注以维持血压。

[1619] 实例6:非多发性骨髓瘤的B细胞恶性肿瘤中的BCMA表面表达材料与方法

[1620] 测试了以下激活的B细胞亚型弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)细胞系:HBL-1、Oci-Ly3和TMD-8。此外,还测试了以下生发中心B细胞(GCB)亚型DLBCL系:SuDHL-4、SuDHL-6和SuDHL-10。多发性骨髓瘤(MM)系U266和KMS11用作阳性对照,急性淋巴母细胞白血病Nalm6系以及慢性髓细胞性白血病(CML)系K562用作阴性对照。以1:50稀释度用PE标记抗BCMA抗体(百进公司,目录号357504)对细胞染色。抗体结合能力(ABC)使用Quantum Simply Cellular定量试剂盒(班斯实验室(Bangs Laboratories),目录号815)根据制造商的方案确定。在BD Fortessa流式细胞仪上分析细胞,并使用FlowJo分析数据。

[1621] 结果

[1622] 图44A显示了BCMA表达的直方图,并且在图44B中,绘制了每种细胞系的抗体结合能力曲线图。如在直方图中和通过定量所见,两个阳性对照系均显示出高的BCMA表达(图44A和44B)。所有其他系均显示显著更低的BCMA表达。但是,除Oci-Ly3外,测试的所有DLBCL系均明显为BCMA阳性。HBL-1和SuDHL-6显示出最高的表达,抗体结合能力>5,000。

[1623] 实例7:复发/难治性多发性骨髓瘤(MM)的B细胞成熟抗原特异性嵌合抗原受体T细胞疗法(CART-BCMA)后T细胞扩增和临床反应的预测因子

[1624] 背景:复发/难治性(rel/ref)MM与进展性免疫功能障碍相关,包括CD4:CD8 T细胞比率的逆转和终末分化T细胞表型的获得。BCMA定向的CAR T细胞在MM中具有有前途的活性,但尚不清楚预测稳健的体内扩增和反应的因素。在一项针对难治性MM患者的CART-BCMA(表达具有CD3 ζ /4-1BB信号传导结构域的人BCMA特异性CAR的自体T细胞)的1期研究(既往治疗中位数为7,96%高危细胞遗传学)中,在12/25(47%)中观察到部分反应(PR)或更好(Cohen等人,ASH2017,#505,通过引用以其整体并入本文)。最近,在接受CD19导向的CAR T细胞的CLL患者中证明,在生成CAR T产物之前某些T细胞表型与体内扩增和临床结果改善相关(Fraietta等人,Nat Med[自然医学]2018,通过引用以其整体并入本文)。因此,本研究试图确定与CART-BCMA扩增和/或反应相关的治疗前临床或免疫学特性。

[1625] 方法:登记了三个群组:1)单独使用 $1-5 \times 10^8$ CART细胞;2)环磷酰胺(Cy) $1.5 \text{g/m}^2 + 1-5 \times 10^7$ CART细胞;和3)Cy $1.5 \text{g/m}^2 + 1-5 \times 10^8$ CART单元。通过流式细胞术进行外周血(PB)和骨髓(BM)单核细胞、冷冻白细胞单采等分试样的表型分析以及制造过程中CART-BCMA生长的表型和体外动力学。通过流式细胞术和qPCR评估CART-BCMA的体内扩增。通过IMWG标准评估反应。

[1626] 结果:群组1中有4/9患者(44%,1sCR,2VPGR,1PR)(\geq PR);群组2中1/5(20%,1PR);群组3中7/11(64%,1CR,3VGPR,3PR)观察到反应。截至2018年7月9日,输注后11、14和

32个月,仍有3/25(12%)的患者无进展。如前所述,反应与体内CART-BCMA峰值扩增($p=0.002$)以及输注后第一个月的扩增($AUC-28, p=0.002$)相关。没有基线临床或与MM相关的特征与扩增或反应显著相关,包括年龄、同种型、自诊断起的时间、既往治疗数、四重或五重难治性、缺失17p或TP53突变、血清血红蛋白、BM MM细胞百分比、MM细胞BCMA强度或可溶性BCMA浓度。白细胞单采术或CART-BCMA输注前给与的治疗方案也没有预测价值。但是,发现白细胞单采产物中更高的CD4:CD8 T细胞比率与体内CART-BCMA的更大扩增(斯皮尔曼 $r=0.56, p=0.005$)和临床反应(PR或更好; $p=0.014$,曼-惠特尼)相关。此外,且类似于CLL数据,发现白细胞单采产物中更高频率的具有CD45RO-CD27+“早期记忆”表型的CD8 T细胞也与改善的扩增(斯皮尔曼 $r=0.48, p=0.018$)和反应($p=0.047$)相关。对制造数据的分析证实,培养开始时更高的CD4:CD8比率与更大的扩增($r=0.41, p=0.044$)相关,并且在更低程度上与反应相关($p=0.074$),而最终CART-BCMA产物中的绝对T细胞数量或CD4:CD8比率则不是($p=NS$)。制造过程中的体外扩增确实与体内扩增相关($r=0.48, p=0.017$),但不能直接预测反应。在CART-BCMA输注时,PB或BM中的总T细胞、CD8+ T细胞、NK细胞、B细胞和CD3+CD56+细胞的频率与随后的CART-BCMA扩增或临床反应无关;更高的输注前PB和BMCD4:CD8比率预输注与扩增相关(分别为 $r=0.58, p=0.004$ 和 $r=0.64, p=0.003$),但与反应无关。

[1627] 结论:在该研究中,发现经大量预治疗的MM患者的CART-BCMA扩增和反应与肿瘤负荷或其他临床特征无关,但与T细胞收集和制造之前的某些免疫学特征相关,即正常CD4:CD8比率的保持和具有CD45RO-CD27+表型的CD8 T细胞的频率增加。这表明免疫系统失调较少的患者可能会在MM中产生更有效的CAR T细胞产物,并且对优化患者选择、T细胞收集的时机和制造技术以试图克服MM患者的这些局限具有影响。

[1628] 实例8:T细胞对多发性骨髓瘤中CAR T细胞制造和疗效的适合性的临床预测指标

[1629] 引言:在多发性骨髓瘤(MM)中嵌合抗原受体(CAR)T细胞疗法的最佳临床环境和细胞产物特性尚不确定。在进行抗CD19 CAR T细胞(CART19)治疗的CLL患者中,白细胞单采术时早期记忆(早期记忆)T细胞表型(CD27+CD45RO-CD8+)的发生率可独立于其他患者或疾病特异性因子预测临床反应,并与体外T细胞扩增和CD19反应激活的能力增强相关(Fraietta等人,Nat Med[自然医学]2018,通过引用以其整体并入本文)。因此,T细胞适合性是对CAR T细胞疗法的反应的主要决定因素。在这项研究中,比较了在诱导疗法完成后(post-ind)从MM患者中获得的白细胞单采样品与在复发/难治性(rel/ref)患者中获得的那些中的早期记忆T细胞频率、CD4/CD8比率和体外T细胞扩增。

[1630] 方法:通过流式细胞术和抗CD3/抗CD28珠刺激过程中的体外扩增动力学,分析了冷冻保存的白细胞单采样品的早期记忆T细胞百分比和CD4/CD8比率。从2007年至2014年之间从先前报道的MM试验中获得了诱导后样品,在所述试验中,在ASCT后注入了体外扩增的自体T细胞以促进免疫重建(NCT01245673、NCT01426828、NCT00046852);rel/ref样品来自在CART-BCMA(NCT02546167)的一期研究中进行治疗的MM患者。

[1631] 结果:诱导后群组包括38名中位年龄为55岁(范围在41-68岁)且先前曾暴露于来那度胺(22)、硼替佐米(21)、地塞米松(38)、环磷酰胺(8)、长春新碱(2)、沙利度胺(8)和多柔比星(4)的患者;从首次全身疗法到白细胞单采术的中位时间为152天(范围53-1886),既往治疗线中位数为1(范围1-4)。所述rel/ref群组包括25名中位年龄为58岁(范围为44-75),既往治疗线中位数为7(范围为3-13),并且先前曾暴露于来那度胺(25)、硼替佐米

(25)、泊马利度胺 (23), 卡非佐米/奥波佐布 (oprozomib) (24)、达雷木单抗 (19)、环磷酰胺 (25)、自体SCT (23)、同种SCT (1) 和抗PD1 (7) 的患者。与rel/ref群组 (65%, 范围0%-95%) 相比, 在诱导后群组中白细胞单采术的骨髓浆细胞含量较低 (12.5%, 范围0-80, n=37)。相对于rel/ref群组, 诱导后群组中早期记忆T细胞的百分比更高 (中位数43.9%对比29.0%, $p=0.001$, 图45A)。同样, 在诱导后群组中相对于rel/ref群组中, CD4/CD8比率更高 (中位数为2.6对比0.87, $p<0.0001$, 图45B)。在制造过程中体外T细胞扩增的幅度 (以第9天的人口倍增或PDL9测量的) 与CLL中对CART19的反应相关, 相对于rel/ref群组, 所述幅度在诱导后群组中更高 (中位PDL9 5.3对比4.5, $p=0.0008$, 图45C)。汇集来自两个群组的数据, PDL9与早期记忆T细胞百分比 (斯皮尔曼 $\rho 0.38$, 多重性调整后的 $p=0.01$) 和CD4/CD8比率 (斯皮尔曼 $\rho 0.42$, 多重性调整后的 $p=0.005$) 相关。在诱导后群组中, 早期T细胞百分比与自MM诊断起的时间、疗法持续时间、特定疗法 (包括环磷酰胺, 硼替佐米或来那度胺) 暴露或单采术时骨髓浆细胞含量之间不显著相关。然而, 在诱导后群组中, 患者的早期记忆表型百分比呈下降趋势 (29%对比49%, $p=0.07$), CD4/CD8比率较低 (中位数1.4对比2.7, $p=0.04$)。相较于其余群组 (n=35), 他们在单采术之前需要>2线治疗 (n=3)。

[1632] 结论: 在MM患者中, 诱导疗法后获得的白细胞单采产物的早期记忆T细胞表型 (一种经功能验证的适合制造CAR T细胞的生物标记物) 的频率显著高于复发/难治性疾病, CD4/CD8比率和体外T细胞扩增的幅度也一样。所述结果表明MM的CAR T细胞将在疾病过程的早期时间点, 相对较低的疾病负担时期和暴露于多种疗法之前产生更好的临床反应。

[1633] 实例9: PD-1抑制剂组合作为抢救疗法用于BCMA定向CART细胞后进展的复发/难治性多发性骨髓瘤 (MM) 患者

[1634] 背景: 表达对B细胞成熟抗原 (CART-BCMA细胞) 具有特异性的嵌合抗原受体 (CAR) 的自体T细胞在难治性MM中具有活性, 但复发仍很常见。抗PD-1抗体 (Ab) 在临床前增强CART细胞活性, 并诱导CD19特异性CART细胞后DLBCL患者的CART细胞再扩增和反应进展 (Chong等人, Blood [血液] 2017, 通过引用以其整体并入本文)。所述IMiD来那度胺 (len) 和泊马度胺 (pom) 可增强MM中CART细胞和PD-1抑制剂的功效, 但也会增加毒性。埃罗妥珠单抗 (elo) 与IMiD和地塞米松 (dex) 组合具有临床抗MM活性, 并在临床前模型中与抗PD-1Ab协同作用。

[1635] 方法: 先前已经描述了复发/难治性MM中的CART-BCMA细胞的1期研究中登记的25名受试者的结果中 (Cohen等人, ASH 2017, #505, 通过引用以其整体并入本文)。鉴定并回顾性审查了五名受试者, 他们在CART-BCMA后进展, 并接受PD-1抑制剂 (派姆单抗 (pembro)) 组合作为他们的下一疗法。通过IMWG标准评估反应。在首次Pembro给药后2-4周、然后4周一次直至进展, 通过流式细胞仪和qPCR治疗前评估CART-BCMA水平。Pembro给药为每3周200mg; Dex剂量为20-40mg/周。

[1636] 结果: 表39显示了五个受试者的特征。既往治疗线中位数为9; 全部受试者都有高风险的细胞遗传学。所有受试者都是pom难治性的, 2名是pembro/pom/dex难治性的, 1名是elo难治性的。对CART-BCMA的最好反应是2名中的PR, 2名中的MR, 1名中的PD。从CART-BCMA到以pembro为基础的疗法的中位时间为117天。所有患者仍有可通过qPCR检测到的CART-BCMA细胞, 其中2名 (患者07和21) 在挽救疗法开始时仍可通过流式检测到。第一名患者 (02) 接受pembro/pom/dex治疗, 并有MR, 但在2个月时进展, 没有可检测到的CART-BCMA重新扩增。第二名患者 (07) 在CART-BCMA后2个月的MM中 κ 轻链快速进展, 并且以前在pembro/pom/

dex后进展。他开始elo/pembro/pom/dex并在第12天出现MR (游离κ1446至937mg/L), 与CART-BCMA细胞的稳健扩增相关(通过qPCR得到的875.64至20505.07个拷贝/ μg DNA;通过流式得到的0.7%至6.4%的外周血CD3+细胞)。重新扩增的CART-BCMA细胞主要为CD8+, 并且高度激活(从疗法前的18%增至89%的HLA-DR+)。然而, 这种反应是短暂的, 但是在1周后进展, 在5周时CART-BCMA水平回到基线水平。随后三名受试者则接受elo/pembro/dex与len或pom; 2名MR和1名SD, 且PFS为3到4个月。没有人出现CART-BCMA细胞的再扩增。观察到非特异性免疫调节, 且包括改变的CD4:CD8 T细胞比率 (n=5)、增加的NK细胞/降低的T细胞频率 (n=4), 以及CAR阴性T细胞的HLA-DR上调 (n=2)。CART和其他免疫细胞(包括PD-1表达)的更详细的表型研究正在进行中。关于毒性, 患者02在pembro/pom/dex后4周出现自限性低烧和肌痛, 与铁蛋白/CRP轻度升高相关, 这表明轻度CRS。没有其他CRS被记录, 包括患者07, 尽管CART-BCMA重新扩增。一名患者(17)在elo/pembro/pom/dex后2个月开始出现复发性表达性失语症, 无CRS体征, 也未观察到血液或CSF中CART-BCMA细胞的扩增。通过停止疗法和短暂的类固醇渐减(steroid taper)解决了这一问题。

[1637] 结论: 这项研究证明, PD1抑制剂组合可以在CART-BCMA疗法后进展的MM患者中诱导CART细胞再扩增和抗MM反应。由于所述患者先前在pembro/pom/dex后进展, 因此观察到的临床活性可能与CART细胞有关, 而埃罗妥珠单抗也可能起作用。这项原理循证观察表明, 一部分患者可能对BCMA CART细胞疗法后的检查点阻断或其他免疫调节途径有反应, 值得进一步研究。

[1638] 表39. 患者特征

患者	年龄/性别	群组	最好 CART 反应	CART D0 至 Pembro D0 (天)	Pembro 方案	最好 Pembro 反应	Pembro 之后的 PFS (天)	Pembro 之前的 CART qPCR ^	Pembro 之后 的峰值 CART qPCR ^
2	68/M	1	MR	117	Pembro/Pom/Dex	MR	67	331.59	128.82
7	44/M	1	PR	51	Elo/Pembro/Pom/ Dex	MR	18	875.64	20505.07
13	59/M	2	MR	149	Elo/Pembro/Len/D ex	MR	105	50.34	50.72
17	64/F	3	PR	134	Elo/Pembro/Pom/ Dex	MR	130	405.56	320.61
21	73/M	3	PD	34	Elo/Pembro/Len/D ex	SD	83	8372.96	433.28

[1640] 群组1==单独的 5×10^8 个CART-BCMA细胞; 群组2= $1.5 \text{g}/\text{m}^2$ Cy和 5×10^7 细胞; 群组3= $1.5 \text{g}/\text{m}^2$ Cy和 5×10^8 细胞

[1641] Pembro=派姆单抗; Elo=埃罗妥珠单抗; Pom=泊马度胺; Len=来那度胺; Dex=地塞米松; Cy=环磷酰胺

[1642] SD=疾病稳定; MR=最小反应; PR=部分反应; PD=疾病进展; PFS=无进展生存

期;

[1643] 单位是拷贝数/ μg 基因组DNA

[1644] 实例10:难治性多发性骨髓瘤中B细胞成熟抗原特异性嵌合抗原受体T细胞(CART-BCMA)的临床和生物学活性:单中心、开放标签的1期试验

[1645] 摘要

[1646] 背景:嵌合抗原受体(CAR)T细胞是血液恶性肿瘤的一种有前途的新疗法。B细胞成熟抗原(BCMA)是一种细胞表面受体,其表达在很大程度上局限于浆细胞,使其成为多发性骨髓瘤(MM)疗法的合理靶标。方法:在患有复发/难治性MM的受试者中进行了用新型的、完全人的、含有CD3 ζ 和4-1BB信号传导结构域的BCMA特异性CAR慢病毒式转导的自体T细胞(CART-BCMA)的I期研究。在3个剂量群组中对25名受试者进行了治疗:1)单独的 $1-5 \times 10^8$ 个CART-BCMA细胞;2)环磷酰胺(Cy) $1.5\text{g}/\text{m}^2+1-5 \times 10^7$ 个CART-BCMA细胞;和3)Cy $1.5\text{g}/\text{m}^2+1-5 \times 10^8$ 个CART-BCMA细胞。不需要预先指定BCMA表达水平。发现:受试者的既往治疗线中位数为7;96%对蛋白酶体抑制剂和免疫调节药物双重难治;96%的人具有高风险的细胞遗传学。在所有情况下均成功制造了CAR T细胞。毒性包括细胞因子释放综合征和神经毒性,分别在8名(32%)和3名(12%)受试者中为3/4级,并且是可逆的。CART-BCMA细胞在所有受试者中均扩增,在群组3中最一致。在群组1中有4/9名(44%)、群组2中1/5名(20%)、群组3中7/11名(63%)中观察到临床反应,其中包括5名部分反应,5名非常好的局部反应和2名完全反应。三名受试者在11、14和32个月时持续有反应。在有反应者中注意到残留MM细胞上的BCMA表达降低;在大多数情况下,进展时表达增加。反应与CART-BCMA扩增相关,后者与制造前白细胞单采产物中的CD4:CD8细胞比率和CD45RO-CD27+CD8+T细胞的频率相关。解释:在进行或不进行淋巴细胞耗减化学疗法的情况下给与CART-BCMA输注在经过大量预治疗的MM患者中具有临床活性,并且代表了一种新的MM疗法途径。

[1647] 这项研究提供了对BCMA作为骨髓瘤疗法的合理靶点的进一步的临床验证,并表征了一种新型的、含有4-1BB共刺激结构域的完全人BCMA特异性CAR构建体的安全性和有效性。该研究进一步描述了BCMA特异性CAR T细胞在进行或不进行淋巴细胞耗减化学疗法的情况下的生物学和临床活性;证明了输注后骨髓瘤细胞上的动态BCMA表达,特别是在有反应的患者中;并鉴定出CAR T细胞扩增和临床反应的潜在的新的生物标记物。

[1648] 方法

[1649] 研究设计和参加者

[1650] 符合资格的受试者在至少3个先前方案后具有复发和/或难治性MM,或如果对蛋白酶体抑制剂(PI)和免疫调节药物(IMiD)双重难治,则在2个先前方案后具有复发和/或难治性MM。筛查的其他关键资格标准包括ECOG(东部合作肿瘤小组)体能状态为0-2;血清肌酐 $\leq 2.5\text{mg}/\text{dL}$ 或估算的肌酐清除率 $\geq 30\text{ml}/\text{min}$;绝对中性粒细胞计数 $\geq 1000/\mu\text{l}$ 和血小板计数 $\geq 50,000/\mu\text{l}$ (如果骨髓浆细胞的细胞构成 $\geq 50\%$,则 $\geq 30,000/\mu\text{l}$);SGOT \leq 正常值上限的3倍和总胆红素 $\leq 2.0\text{mg}/\text{dl}$;左心室射血分数 $\geq 45\%$;缺乏活动性自身免疫性疾病;并且缺乏骨髓瘤中枢神经系统累及。不需要预先指定MM细胞上的BCMA表达水平。

[1651] 所述临床试验(NCT02546167)为1期、单中心、开放标签的研究。最初使用标准的3+3剂量递增设计,探索了3个连续群组:1)单独的 $1-5 \times 10^8$ 个CART-BCMA细胞;2)环磷酰胺(Cy) $1.5\text{g}/\text{m}^2+1-5 \times 10^7$ 个CART-BCMA细胞;和3)Cy $1.5\text{g}/\text{m}^2+1-5 \times 10^8$ 个CART-BCMA细胞。对

所述方案进行了修改,以将每个群组扩展到9个治疗的受试者,以便获得有关在进行或不进行淋巴细胞耗减调整以及更高($1-5 \times 10^8$)和更低($1-5 \times 10^7$)剂量的条件下CART-BCMA细胞的安全性和功效的更多信息。随后的修订由于疗效欠佳而在5名受试者后停止了2名受试者的登记,并允许群组3中最多13名受试者登记;但是,资金限制最终在11位经治疗的群组3受试者后终止了登记(总共 $n=25$ 位经治疗)。

[1652] 程序

[1653] 从疗法中退出2周后(单克隆抗体4周),受试者经历稳态白细胞单采术以收集T细胞用于CART-BCMA制造。抗骨髓瘤疗法可以在制造过程中恢复,直到首次CART-BCMA输注前2周为止。如Porter DL等人,Sci Transl Med[科学·转化医学]2015;7(303):303ra139中所述,在3天内静脉内注射CART-BCMA细胞(第0天剂量的10%;第1天30%,第2天60%)。如果受试者出现CRS体征,则可以维持30%或60%的剂量。在首次CART-BCMA输注前3天施用Cy。根据图46进行临床和实验室评估。

[1654] CART-BCMA细胞是在宾夕法尼亚大学的FACT认可的临床细胞和疫苗生产设施中生产的,如Porter DL等人,Sci Transl Med[科学·转化医学]2015;7(303):303ra139;Kalos M等人,Sci Transl Med[科学·转化医学]2011;3(95):95ra73中所述。在制造开始和结束时,通过流式细胞术确定种子培养物中CD3、CD4和CD8细胞的频率。通过在Coulter Multisizer™上进行细胞计数来测量接种细胞的倍数扩增和群体倍增。经过制造和质量控制测试后,将CART-BCMA细胞冷冻保存直至输注。

[1655] 从首次CART-BCMA输注(或群组2和3的Cy施用)开始收集不良事件(AE)数据。毒性等级是根据美国国家癌症研究所针对不良事件的通用术语标准4.0版确定的,细胞因子释放综合征除外,它根据宾夕法尼亚大学CRS分级系统(表38)进行了分级(Porter DL等人,Sci Transl Med[科学·转化医学]2015;7(303):303ra139)。通过更新的国际骨髓瘤工作组标准(Kumar S等人,Lancet Oncol[柳叶刀肿瘤学]2016;17(8):e328-46)评估了骨髓瘤反应。

[1656] 研究样品处理、冷冻和实验室分析在宾夕法尼亚大学的转化和相关研究实验室进行,如(Maude SL等人,N Engl J Med[新英格兰医学杂志]2014;371(16):1507-17;Porter DL等人,Sci Transl Med[科学·转化医学]2015;7(303):303ra139;Kalos M等人,Sci Transl Med[科学·转化医学]2011;3(95):95ra73)所述。通过流式细胞术和定量PCR从外周血或骨髓样品中定量CART-BCMA细胞。补充方法中描述了用于流式细胞术的试剂和方案。根据补充方法,直接从全血或骨髓抽吸物中分离基因组DNA,并使用ABI TaqMan技术和经验证的测定进行qPCR分析,以检测整合的CAR转基因序列,如Kalos M等人,Sci. Transl. Med [科学·转化医学]2011;3(95):95ra73所述。

[1657] 使用来自生命技术公司的人细胞因子磁性30重板(LHC6003M),对分批冷冻保存的样品评估血清细胞因子水平,如Maude SL等人,N Engl J Med[新英格兰医学杂志]2014;371(16):1507-17中所述。通过ELISA使用来自R&D系统公司的人BCMA(DY193)、APRIL(DY884B)和BAFF(DT124-05)的抗体组,通过ELISA测定血清中的可溶性BCMA、BAFF和APRIL浓度。有关详细信息,参见补充方法。

[1658] 根据EuroFlow方案改编了新鲜骨髓抽吸物上MM细胞的流式细胞术评估,包括BCMA表达,如Flores-Montero J等人在Leukemia[白血病]2017;31(10):2094-103和补充方法中

所述。对冷冻保存的白细胞单采样本中的T细胞表型进行了流式细胞术评估,如Fraiotta JA等人,Nat Med[自然医学]2018;24(5):563-71)所述。

[1659] 结果

[1660] 主要目标是评价CART-BCMA在复发/难治性骨髓瘤患者中的安全性。主要终点是研究相关的3级或更高AE的发生率,包括剂量限制性毒性(DLT)。DLT被定义为严重且出乎意料不良事件,其不能排除与研究疗法的关系,发生在接受方案疗法的4周内。由于潜在疾病的难治性和预期的环磷酰胺引起的骨髓抑制,血液毒性不被认为是DLT。此外,与方案治疗相关的任何死亡,以及任何预期的4级器官毒性或4级神经系统毒性,即使经过药物治疗也未能在发病后4周内解决或改善至2级或更低,也被视为DLT。次要目标是评估制造CART-BCMA细胞的可行性和临床活性。次要终点是成功制造的频率和临床结果,包括反应率、无进展生存期和总体生存率。探索性终点包括体内CART-BCMA的扩增和持久性;血清细胞因子和可溶性BCMA浓度的变化,以及MM上的BCMA表达。

[1661] 统计学分析

[1662] 由于所述试验的先导性质和每个群组的样本量较小,因此所述研究的统计分析主要是描述性的。使用卡普兰-梅尔方法估算反应持续时间、无进展生存期和总生存期以及相关的中位生存时间。使用曼-惠特尼检验评价二进制终点(例如反应)和连续因子(例如CART细胞数)之间的关联。使用费希尔精确检验评价了二进制终点与分类因子(例如,缺失17p的存在与不存在)之间的关联。使用斯皮尔曼相关性测量两个连续变量之间的相关性。基于置换计算了斯皮尔曼相关性对无相关性零假设的重要性。由于此处进行的统计分析本质上是探索性的和假设生成的,因此没有对多重比较的p-值进行调整。如果适用,报告确切的p-值。使用Graphpad Prism 6.0版进行分析。

[1663] 结果

[1664] 从2015年11月至2017年12月,征得了34名受试者的同意,其中29名符合资格并开始制造,其中25名接受了CART-BCMA输注。由于在制造和桥接疗法过程中疾病的快速发展/临床恶化,有四名受试者未进行治疗(图52)。表40总结了基线特征和既往治疗线,表42列出了个体详细信息。受试者的既往治疗线中位数为7,其中96%为蛋白酶体抑制剂(PI)和免疫调节药物(IMiD)双重难治,72%为达雷木单抗难治,且44%为2种PI,2种IMiD和达雷木单抗五重难治性。百分之九十六%的受试者具有至少1个高危细胞遗传学异常;68%的受试者有缺失17p或TP53突变。基线肿瘤负荷高(骨髓活检的骨髓瘤细胞中位数为65%),而28%患有髓外疾病。

[1665] 表40. 受试者特征

	特征 (n = 25)	中位数 (范围) 或%
[1666]	年龄	58 (44 - 75)
	性别	68%男性; 32%女性

	自诊断起的中位时间 (年)	4.6 (1.8 - 14.5)
	高危细胞遗传学*	96%
	缺失 17p 或 TP53 突变	68%
	既往治疗线	7 (3 - 13)
	Len/Bort/Pom/Carf**/Dara (暴露%)	100%/100%/92%/96%/76%
	Len/Bort/Pom/Carf/Dara (难治%)	76%/88%/88%/80%/72%
	%双重-/%四重-/%五重难治	96%/56%/44%
[1667]	先前自体 SCT	92%
	髓外疾病	28%
	%骨髓浆细胞	65 (0 - 95)
	白细胞单采术前绝对 CD3+ T 细胞计数 (细胞/ μ L) ***	538 (151 - 1529)
	第 0 天 LDH (单位/L)	175 (75 - 385)
	第 0 天血清肌酐 (mg/dL)	0.93 (0.55 - 2.87)
	第 0 天血红蛋白 (g/dL)	9.1 (6.4 - 12.4)
	第 0 天血小板 ($\times 10^3/\mu$ L)	128 (13 - 316)

[1668] *包括复杂的核型,增加1q,缺失17p,t (14;16) 和/或t (4;14)。**包括1位接受奥波佐布的患者。***n=23 (受试者01和02没有进行单采术前T细胞计数)。正常范围=900-3245个细胞/ μ L

[1669] Bort=硼替佐米;Carf=卡非佐米;Dara=达雷木单抗;Del=缺失;双重难治=对蛋白酶体抑制剂(PI)和免疫调节剂(IMiD)均难治;LDH=乳酸脱氢酶;Len=来那度胺;五重难治=对2种PI、2种IMiD和达雷木单抗难治;Pom=泊马度胺;四重难治=对2种PI和2种IMiD难治;SCT=干细胞移植。

[1670] 所有受试者成功地制造了CART-BCMA细胞的最低目标,尽管1名受试者需要2次白细胞分离术和制造尝试。最终产物由中位数为97%的CD3+ T细胞组成,中位CD4/CD8比率为1.7。二十一名受试者接受了3次计划的CART-BCMA输注,其中4人接受了40%的计划剂量(由于早期CRS而进行了第三次输注)。表43中显示了每个受试者的制造、产物特征和剂量的更多详细信息。

[1671] 不论归因如何,在24/25名受试者中观察到3级或更高级别的不良事件(96%),并汇总在表41中,表44中列出了每个受试者的个别不良事件。在22/25名受试者中观察到细胞因子释放综合征(CRS)(88%),8名受试者(32%)中在Penn分级量表上为3/4级(Porter DL等人,Sci Transl Med[科学·转化医学]2015;7(303):303ra139)(表38),其中所有受试者均接受 $1-5 \times 10^8$ 剂量的治疗。至CRS发作的中位时间为4天(范围1-11),中位持续时间为6天(范围1-18),中位住院时间为7天(范围0-40)。CRS与铁蛋白和C反应蛋白的升高相关,如先前所述(Maude SL等人,N Engl J Med[新英格兰医学杂志]2014;371(16):1507-17)。七名受试者(28%)接受了托珠单抗(n=6)或司妥昔单抗(n=1)的IL-6阻断。

[1672] 表41. 3级或更高级别的不良事件,无论归因如何

事件	3级 n	4级 n	5级 n	所有 n (%)
白血球减少症	3	8	0	11 (44%)
嗜中性粒细胞减少症	2	9	0	11 (44%)
淋巴球减少症	3	6	0	9 (36%)
细胞因子释放综合征	7	1	0	8 (32%)
血小板减少症	3	4	0	7 (28%)
低磷血症	7	0	0	7 (28%)
发热性嗜中性粒细胞减少症	6	0	0	6 (24%)
低钠血症	6	0	0	6 (24%)
[1673] 贫血	4	1	0	5 (20%)
低钙血症	3	2	0	5 (20%)
AST 增加	2	1	0	3 (12%)
低钾血症	2	1	0	3 (12%)
神经毒性*	1	2	0	3 (12%)
高血压	3	0	0	3 (12%)
肺部感染	2	0	0	2 (8%)
低白蛋白血症	2	0	0	2 (8%)
室上性心动过速	1	0	0	1 (4%)
视神经乳头水肿	1	0	0	1 (4%)
腹痛	1	0	0	1 (4%)

[1674]	死亡 NOS**	0	0	1	1 (4%)
	疲劳	1	0	0	1 (4%)
	感染-其他 (真菌血症)	0	1	0	1 (4%)
	败血症	0	1	0	1 (4%)
	尿路感染	1	0	0	1 (4%)
	碱性磷酸酶增加	1	0	0	1 (4%)
	射血分数降低	1	0	0	1 (4%)
	纤维蛋白原减少	1	0	0	1 (4%)
	高血糖症	0	1	0	1 (4%)
	低血糖症	1	0	0	1 (4%)
	胸腔积液	1	0	0	1 (4%)
	胸膜出血	0	1	0	1 (4%)

[1675] 表中报告了受试者经历的最高等级的毒性。n=发生事件的受试者人数;Alk phos=碱性磷酸酶;AST=天冬氨酸转氨酶。*神经毒性包括1名患有3级癫痫发作、4级谵妄和4级可逆性后部脑白质病综合征 (RPLS) (也称为可逆性后部脑病综合征 (PRES)) 的受试者;1名患有3级谵妄和4级脑病的受试者;1名患有3级脑病的受试者。**在有念珠菌血症和快速骨髓瘤进展的受试者08情况死亡NOS (未另作说明);家人选择只采取舒适措施。

[1676] 在7/25名受试者中观察到了神经毒性 (28%), 在4名受试者中出现轻度 (1/2级) (暂时性意识混乱和/或失语)。3名受试者 (12%) 患有3/4级脑病, 包括群组1中1名受试者 (03) 患有PRES (可逆性后部脑病综合征) 的DLT伴严重反应迟钝, 复发癫痫发作和MRI (磁共振成像) 轻度脑水肿, 用大剂量甲基强的松龙 (1g/天x 3) 和环磷酰胺1.5g/m²治疗后脑水肿消退。其他患者在MRI上无客观变化。所有3名有严重神经毒性的受试者均具有较高的肿瘤负荷 (2名患有髓外疾病); 接受了5x 10⁸CART-BCMA细胞的剂量; 并且具有3或4级CRS。在CRS、凝血障碍、血小板减少和广泛的骨髓瘤性肋骨病变的情况下, 受试者27 (群组3) 的唯一的其他DLT是3级心肌病和4级胸膜出血/自发性血胸, 所有这些毒性都完全消退。一名患有4级脑病和CRS的受试者 (08) 最初使用托珠单抗和类固醇得到改善, 然后发展为念珠菌血症和进展性骨髓瘤/进化式浆细胞白血病。家人选择进行舒适护理, 他于第24天死亡。研究中没有发生其他死亡。没有观察到意外的脱靶毒性。

[1677] 关于临床结果, 在群组1中有4/9名受试者 (44%) 证实了客观反应 (部分反应 (PR) 或更好), 在群组2中1/5 (20%) 和群组3中7/11 (63%) 证实了客观反应 (图47A-47C), 包括5例PR、5例非常好的部分反应 (VGPR)、1例完全反应 (CR) 和1例严格的完全反应 (sCR)。因此, 总反应率为12/25 (48%), 在1-5x 10⁸个CART-BCMA细胞的更有效剂量下, 总反应率为11/20 (55%)。另外五名受试者的反应 (MR) 极小。7名患有髓外疾病的受试者中有四名有反应 (图32B)。四名受试者 (01、03、15、19) 从第1和/或3个月输注后的骨髓抽吸物中通过流式细胞术 (估算灵敏度10⁻⁵) 未检测到骨髓瘤 (即MRD阴性)。至首次反应的中位时间为14天。基于卡普兰-梅尔估算, 反应 (PR或更好) 的中位持续时间为124.5天 (范围29-939+) (图53A)。数据截止时, 分别有3名受试者 (01、19、33) 在953、427和322天 (大约32、14和11个月) 保持无进展。

所有其他受试者均已进展, 群组1、2和3的中位无进展生存期(PFS) 分别为65、57和125天(图53C)。在数据截止时, 有13名受试者已经死亡, 所有受试者的中位总生存期为502天(图53B), 而群组1、2和3分别为359天、502天和未达到(图47D)。

[1678] 通过qPCR, 所有输注的受试者在外周血中具有可检测到的CART-BCMA细胞(图48A-48C), 并且24/25通过流式细胞术具有可检测到的CAR⁺ T细胞(图54A-54C; 图38代表性染色)。扩增通常在第10-14天达到峰值, 并且在使用Cy调整和较高剂量的CART-BCMA细胞的第3组中显示最均匀, 而在群组1和2中异质性更高, 尽管这种差异未达到统计学意义(图48D)。尽管在输注产物中CD4⁺ T细胞占主导地位, 但血液中循环的CART-BCMA细胞主要为CD8⁺, 并被高度激活, 在峰值扩增期间表达HLA-DR的CAR⁺CD3⁺细胞的中位数为94% (范围为21%-94%) (表45)。骨髓抽吸物中的CART-BCMA水平与外周血中的水平大致相同, 并且在受试者03的胸膜液和脑脊髓液中以及来自受试者27的胸膜液中也升高, 证明广泛的运输(表46)。在峰值扩增后, 通过qPCR得到的CART-BCMA细胞水平在大多数患者中以对数线性方式下降(图48A-48C), 并且在输注后3个月在20/20 (100%) 受测受试者中和在输注后6个月在14/17 (82%) 受测受试者中仍可检测到。在输注后2.5年最后一次测试时, 通过qPCR发现受试者01 (处于严格CR) 继续具有可检测到的细胞。

[1679] 在输注CART-BCMA之前和之后, 外周血中三十种细胞因子被定量。在超过1名受试者中, 这些中有19种相对于基线增加>5倍, 其中IL-6、IL-10、干扰素- γ (MIG、CXCL9) 诱导的单核因子、IP-10、IL-8、GM-CSF和IL-1受体拮抗剂(IL-1RA) 观察到最频繁的增加(图55)。更严重的CRS (接受托珠单抗的3/4级或2级) 与多种细胞因子的增加相关(表47), 最显著的是IL-6、IFN- γ 、IL-2受体 α (IL2-R α)、巨噬细胞炎症蛋白1 α (MIP-1 α) 和IL-15(图49A-49E)。神经毒性与IL-6、IFN- γ 、IL-1RA和MIP-1 α 的增加最强相关(图49F-49I, 完整分析请参见表48)。在群组1和群组3之间未观察到细胞因子峰值倍数增加的显著差异, 群组1和群组3分别接受相同剂量的具有或不具有Cy调整的CART-BCMA细胞(图55)。

[1680] 还评估了sBCMA及其配体BAFF和APRIL的血清浓度。与一组健康供体(HD) 相比, 登记的受试者在基线时具有显著升高的sBCMA和降低的APRIL水平, 在受试者之间具有高差异性(图50A)。受试者中的BAFF浓度与HD无显著差异。血清sBCMA的连续评估显示, 输注CART-BCMA后降低, 与没有反应的受试者相比, 有反应的受试者更为明显(图50B), 并且随着受试者疾病进展而增加, 这表明血清sBCMA浓度可能是用于评估骨髓瘤疾病负荷的有用的辅助性生物标记物。

[1681] 二十名受试者的MM细胞上的BCMA表面表达可通过在治疗前对新鲜的骨髓抽吸物进行流式细胞术来评价, 并且全部受试者均有可检测到的BCMA表达, 尽管强度有所不同(中位平均荧光强度(MFI) = 3741, 范围206-24842; 代表性门控参见图42)。在18位具有可评价的连续BCMA表达的受试者中(图50C), 在1个月(n=16)、3个月(n=8) 和/或5.5个月(n=1) 时, 有12名(67%) 至少在输注后1个时间点, BCMA强度下降, 包括8/9反应者和4/9无反应者(图50D)。在CART-BCMA后1个月, 残留MM细胞上的BCMA强度最低, 在大多数但并非全部进行后续测试的受试者中, 又向着基线回增。表49中提供了各个受试者的详细信息。

[1682] 反应与通过qPCR得到的峰值扩增显著相关(\geq PR的中位数为75339个拷贝/ μ g DNA, 对比<PR为6368个拷贝/ μ g, $p=0.0002$), 以及前28天的持久性, 如按曲线下面积测量的(AUC_{0-28d}) (\geq PR的中位数为561796个拷贝*天/ μ g DNA, 对比<PR的中位数为52391个拷贝*

天/ μgDNA , $p=0.0002$) (图51A-51B)。在更严重的CRS (需要托珠单抗的3/4级或2级) 的情况下, 扩增和反应都更有可能 (图51C-51D)。扩增和反应均与年龄、自诊断起的年数、既往治疗线、 del117p 或TP53突变的存在、五重难治性、最近的单采前治疗、骨髓MM细胞百分比、基线血清sBCMA浓度或MM细胞BCMA强度均不显著相关 (图56A-56L和57A-57L)。

[1683] 为了探索可能与扩增和/或响应相关的其他治疗前特征, 分析了CART-BCMA产物在制造之前、期间和结束时的特征。已经发现, 在制造前, 白细胞单采产物中较高的CD4/CD8T细胞比率与体内更大的CART-BCMA扩增相关 (图51E), 在较小程度上与反应相关 (图51F), 而制造结束时白细胞单采产物中的绝对CD3⁺、CD4⁺或CD8⁺ T细胞数量, 或最终CART-BCMA产物中CD4/CD8比率未显示 (数据未显示)。制造过程中接种细胞的倍数扩增也与体内CART-BCMA的扩增相关 (图51G), 表明体外增殖能力可预测体内活性。最后, 检查了用CART-BCMA细胞治疗的受试者的白细胞单采产物内的CD8⁺ T细胞, 发现具有较高频率的CD27+CD45RO-CD8⁺ T细胞的受试者更有可能具有稳健的体内扩增和临床反应 (图51H-51I)。

[1684] 讨论

[1685] CAR T细胞疗法正在成为B细胞恶性肿瘤的有前途的治疗选择, 具有在单次治疗后持久控制疾病的潜力, 使其与需要重复和/或连续施用的其他疗法有所区别。在该报告中, 在晚期难治性骨髓瘤中证明了CAR T细胞疗法的潜力, 在淋巴细胞耗减化学疗法后, 有12/25名受试者 (48%) 达到部分反应或更好, 包括以最佳剂量 ($>10^8$ CART-BCMA细胞) 治疗的7/11 (63%) 名受试者。三名受试者在CART-BCMA疗法后的超过11个月持续缓解, 其中1名在2.5年时有正在进行的sCR。鉴于已登记受试者的骨髓瘤具有高度不利的生物学特性, 包括高肿瘤负荷、疾病的快速进展和高风险的遗传学, 这一点是值得注意的。这种临床活性进一步证实了BCMA是骨髓瘤中极具吸引力的靶标。重要的是, 尽管所述研究与之前的研究不同, 但仍观察到了这种活性, 与先前研究中的Cy+氟达拉滨相比, 所述研究并未排除BCMA表达低或肿瘤负荷高并且既未使用淋巴细胞耗减也未单独使用Cy的患者 (Ali SA等人, Blood [血液] 2016;128 (13):1688-700; Brudno JN等人, J Clin Oncol [临床肿瘤学杂志] 2018;36 (22):2267-80)。尽管基线T细胞淋巴细胞减少, 从所有受试者成功制造了CAR T细胞产物, 并且尽管在受试者中CAR T细胞的峰值水平和持久性存在显著差异, 但在所有受试者中均观察到了移植。

[1686] 在该研究中, 反应与体内扩增程度相关, 而后者又与更高的制造前CD4/CD8 T细胞比率、制造前CD45RO-CD27+CD8⁺ T细胞的频率以及制造过程中体外增殖的幅度相关。这表明, 更有效的CART-BCMA产物可能来自具有分化程度更低、更幼稚和/或干细胞记忆样T细胞区室的受试者。这些数据表明, 治疗前的表型和/或功能性T细胞特征可能有助于预测对CART-BCMA疗法的反应。他们还提出, 当T细胞可能本质上是“修理工”时, 或者在修改制造技术以产生更多表型上有利的CAR⁺ T细胞时, 在疾病早期对患者进行治疗可能会更有效。

[1687] 肿瘤特异性T细胞 (包括CAR T细胞) 在人类中成功的过继转移最常见地是遵循某种形式的淋巴细胞耗减调整 (Turtle CJ等人, Sci Transl Med [科学·转化医学] 2016;8 (355):355ra116; Maude SL等人, N Engl J Med [新英格兰医学杂志] 2014;371 (16):1507-17; Porter DL等人, Sci Transl Med [科学·转化医学] 2015;7 (303):303ra139; Dudley ME等人, J Clin Oncol [临床肿瘤学杂志] 2008;26 (32):5233-9), 其已被证明可通过多种潜在机制增强T细胞介导的抗肿瘤免疫力, 包括减少细胞“下沉 (sink)”, 导致体内稳态细胞因子

的可用性增加,以及尤其抑制细胞群如调节性T细胞的耗减(Gattinoni L等人,Nat Rev Immunol[自然免疫学综述]2006;6(5):383-93)。这项研究证明,对于稳健和持续的CAR T细胞扩增和临床活性,并非绝对需要淋巴细胞耗减,正如在群组1中的受试者01和03中所见。然而,与群组1相比,在受试者接受Cy调整的群组3中更一致地观察到短期扩增(图48A和48C),这证明过继转移后淋巴细胞耗减对CAR-T细胞动力学的影响。修改淋巴细胞耗减(例如将氟达拉滨添加到Cy中)可能会进一步增强CART-BCMA细胞的活性。

[1688] 对于靶向BCMA的CAR T细胞,一个重要的未解决问题是,对于最佳识别和杀伤,是否需要MM细胞上BCMA表达的阈值。在先前报道的NCI试验中,通过IHC,只有52/85(62%)的BCMA染色的预筛查骨髓活检达到了其预先制定的资格阈值,这意味着将排除三分之一以上的潜在符合资格的MM患者(Ali SA等人,Blood[血液]2016;128(13):1688-700)。该研究不需要任何特定水平的BCMA作为资格要求,并且通过流式细胞术在所有受试者中鉴定了MM细胞BCMA的表达,与最近的数据相一致,即流式细胞术对此目的比IHC更为敏感(Salem DA等人,Leuk Res[白血病研究]2018;71:106-11)。在该研究中,通过流式细胞术得到的基线BCMA强度与扩增或反应均不相关(图56A-56L和57A-57L),表明基于基线BCMA表达排除患者可能是不必要的。

[1689] 在MM细胞上观察到的BCMA表面表达的动力学,其中在该研究中,来自多个受试者的残留MM细胞在CAR T细胞治疗后的BCMA强度大大降低了(图50A-50D),凸显了未来研究CART-BCMA疗法抗性的一个重要领域。在NCI研究中,至少有1名受试者也观察到BCMA表达的下调(Brudno JN等人,J Clin Oncol[临床肿瘤学杂志]2018;36(22):2267-80),表明这可能是MM细胞从BCMA定向的CAR-T细胞疗法中逸出的一种常见手段。随后,大多数受试者在进展后表面BCMA表达增加,表明转录或翻译后机制,例如从细胞表面脱落增加。替代性地,可以对BCMA-dim/阴性克隆变体进行免疫选择,随后在失去CART-BCMA细胞后,将被残留的BCMA+克隆在竞争中胜出。这表明大多数在CART-BCMA之后进展的患者将仍然是另外的靶向BCMA的疗法的候选人。

[1690] CAR T细胞的主要毒性仍然是细胞因子释放综合征(CRS)和神经毒性。该研究中CRS的频率和严重程度与靶向CD19的CAR T细胞试验中报道的相似(Maude SL等人,N.Engl.J.Med.[新英格兰医学杂志]2014;371(16):1507-17;Porter DL等人,Sci.Transl.Med.[科学·转化医学]2015;7(303):303ra139),并且在IL-6受体阻滞疗法上取消。尽管患者人数很少,但是当CAR T细胞剂量保持相同时,在进行或不进行Cy淋巴细胞耗减的情况下,血清细胞因子的峰值增加似乎没有显著差异(群组1对比3,图55)。然而,有趣的是,所述研究中IL-6和其他几种细胞因子(例如IFN- γ 、IL-10、GM-CSF、IL-17)的峰值倍数增加中位数比NCI BCMA CAR T细胞研究中报告的低了1至2个数量级(Brudno JN等人,J Clin Oncol[临床肿瘤学杂志]2018;36(22):2267-80),尽管该研究中肿瘤负荷更高。对此差异的一种解释可能是在2种CAR构建物中使用了共刺激结构域,因为CD28结构域(如NCI CAR构建体中使用的CD28结构域)与相比于4-1BB结构域更快的CAR T细胞增殖和细胞因子释放相关(Milone MC等人,Mol Ther[分子治疗学]2009;17(8):1453-64),如该CAR构建体中所使用的结构域。但是,患者人数少,且在研究之间在纳入标准、剂量、时间表和淋巴细胞耗减方案方面存在多种差异,因此无法得出明确的结论。

[1691] 在某些CAR T细胞试验中,神经毒性在多达50%的受试者有报告(Turtle CJ等人,

Sci Transl Med[科学·转化医学]2016;8(355):355ra116;Turtle CJ等人,J Clin Invest[临床研究杂志]2016;126(6):2123-38;Kochenderfer JN等人,J Clin Oncol[临床肿瘤学杂志]2015;33(6):540-9;可以与CRS同时或之后发生;托珠单抗通常不能改善;在大多数(但不是全部)情况下都是可逆的。神经毒性与CRS的早期发作以及血清和CNS中炎症细胞因子的快速升高相关,可能导致CNS血管通透性增加(Gust J等人,Cancer Discov[癌症发现]2017)。与此一致的是,该研究确定了IL-6、IFN- γ 和MIP-1 α 的血清峰值增加与该研究中的神经毒性最相关(图49A-49I)。有趣的是,神经毒性也与IL-1RA的峰值倍数增加相关,IL-1RA是IL-1 α 和IL-1 β 促炎作用的内源性抑制剂,与CAR T细胞相关的神经毒性有关(Giavridis T等人,Nat Med[自然医学]2018;24(6):731-8;Norelli M等人,Nat Med[自然医学]2018;24(6):739-48)。这可能反映了有神经毒性的患者的(最终无效的)反馈机制的诱导,并表明通过重组IL-1RA阿那白滞素增强IL-1阻断在这种情况下可能具有治疗益处,如临床前模型所证明的(Giavridis T等人,Nat Med[自然医学]2018;24(6):731-8;Norelli M等人,Nat Med[自然医学]2018;24(6):739-48)。证明了受试者03中PRES样综合征的快速逆转的这项研究表明,在类固醇难治性病例中,环磷酰胺也可能是一种选择。

[1692] 总之,在患有晚期难治性MM的患者中,表达完全人BCMA特异性CAR的自体T细胞在进行或不进行淋巴细胞耗减化学疗法的情况下均可扩增并诱导客观反应,代表了一种有前途的新治疗途径。毒性图谱似乎与在B细胞恶性肿瘤中针对CD19的CAR T细胞所见相似。挑战包括制造过程中的疾病进展、由于BCMA表达变化而导致抗原逃逸的可能性以及反应的持久性。随后的研究探索了预处理程度/难治性不高的患者人群、靶向双重抗原的CAR结构、新颖的淋巴细胞耗减方案或生产方案以及现成的CART产物,可能会进一步优化该途径的安全性和长期疗效。

[1693] 补充方法

[1694] 流式细胞术的试剂和方案:用于CAR T细胞检测面板的抗体是抗CD45 V450(克隆HI30)、抗CD14 V500(克隆M5E2)、抗CD56 Ax488(克隆B159)、抗CD4 PerCP-Cy5.5(克隆RPA-T4)、抗-CD8 APC-H7(克隆SK1)(全部来自BD生物科学公司)。另外,使用了来自百进公司(Biolegend)的抗CD3 BV605(克隆OKT3)、抗HLA-DR BV711(克隆L243)、抗CD19 PE-Cy7(克隆H1B19)。通过使用双生物素化的BCMA-Fc重组蛋白和来自BD生物科学公司的二级染色试剂链霉亲和素-PE(目录号554061)评估CART-BCMA的表达。将细胞重悬于含有1%胎牛血清、0.02%叠氮化钠和双生物素化BCMA-Fc的100 μ L PBS中,并在冰上孵育30分钟,洗涤,重悬于含有1%胎牛血清、0.02%叠氮化钠、表面抗体和SA-PE的100 μ L PBS中,并在冰上孵育30分钟,洗涤,重悬于含有1%胎牛血清、0.02%叠氮化钠的250 μ L PBS中,并使用配备有紫罗兰色(405nm)、蓝色(488nm)、绿色(532nm)和红色(628nm)激光的Fortessa流式细胞仪进行采集。使用FlowJo软件(10版,Treestar)分析数据。使用eBioscience UltraComp eBeads(电子生物科学公司(eBioscience)目录号01-222-42)和DIVA软件确定补偿值。

[1695] 定量PCR:对于外周血和骨髓样品,每个时间点直接从全血或骨髓抽吸物中分离基因组DNA,并使用ABI TaqMan技术和经验证的测定进行qPCR分析,一式三份使用200ng基因组DNA,以检测整合的CAR转基因序列,如Kalos M等人,Sci Transl Med[科学·转化医学]2011;3(95):95ra73所述。为了确定每单位DNA的拷贝数,生成了八点标准曲线,所述曲线由掺入100ng非转导的对照基因组DNA的5到106拷贝的慢病毒质粒组成。使用具有相同引物/

探针组的数字qPCR验证标准曲线中存在的质粒的拷贝数,并在QuantStudio 3D数字PCR仪器(生命技术公司(Life Technologies))上进行。每个数据点(样品和标准曲线)一式三份评价,三个重复中三个有正Ct值,所有可定量值的变异系数百分率均小于0.95%。为了控制被研究的DNA的质量,使用20ng基因组DNA和CDKN1A(p21)基因上游非转录基因组序列特异的引物/探针组合进行平行扩增反应,如Kalos,Sci Transl Med[科学·转化医学]2011;3(95):95ra73等人所述。这些扩增反应产生校正因子,以针对计算的与实际的DNA输入进行调整。根据以下公式计算每微克DNA的转基因拷贝:每微克基因组DNA拷贝数=(根据CART-BCMA标准曲线计算的拷贝数)×校正因子/(以纳克评价的DNA量)×1000ng。

[1696] 血清细胞因子的测量:人细胞因子磁性30-plex面板(LHC6003M)来自生命技术公司)。将在基线和在排定的时间点直至输注后28天收集的血清样品于-80℃冷冻保存。根据制造商的方案解冻分批样品并进行分析。使用FlexMAP 3D仪器测量测定板,并使用xPONENT软件进行数据采集和分析。根据以下标准检查数据质量。使用xPONENT软件,每种分析物的标准曲线的5P R²值均>0.95(进行或不进行轻微拟合)。为了通过质量控制,内部对照血清的结果必须在95%的CI(置信区间)以内,所述CI是从>25种被测分析物的内部历史对照数据得出的。对结果超出低范围(<0OR)的样品没有进行进一步的测试。在较高稀释度下重新测试结果超出高范围(>0OR)或大于标准曲线最大值(SC max)两倍的样品。报告了通过上述质量控制的结果或重新测试的结果。

[1697] 可溶性BCMA、BAFF和APRIL的测量:人BCMA(DY193)、APRIL(DY884B)和BAFF(DT124-05)的抗体组来自R&D系统公司(R&D Systems)。ELISA珠带(bead-strip)和4柱储液槽(SOW-A16735)来自Assay Depot。ELISA底物ADHP(10010469)来自卡曼化学公司(Cayman Chemical)。测定板(OX1263)来自E&K科技公司(E&K Scientific)。根据DuoSet ELISA的方案制备所有的ELISA试剂,颜色试剂B除外,该试剂补充了100uM的ADHP。由于血清量有限,并且缺乏适用于BCMA、APRIL和BAFF的Luminex测定,因此使用ELISA珠带对三种分析物进行了测量。不是将捕获抗体(cAB)包被到ELISA板的孔中,而是将其包被到大球表面上,这使得可以使用100uL血清测量所有三种分析物。根据针对抗体组的方案的测定图,在测定板中使用珠带进行测定。在测定结束时,通过添加100uL/孔的底物溶液(1:1的颜色试剂A和ADHP)来制备每12个珠带一个基板。根据测定图将每个珠带放置在所述基板的一系列中。显色10至30分钟。在FLUO STAR OMEGA仪器上读取板。如针对Luminex数据所述执行数据质量控制。

[1698] 骨髓骨髓瘤细胞的评估,包括BCMA表达:在短暂的氯化铵红细胞裂解步骤之后,直接在抽吸物中进行骨髓抽吸物的流式细胞术评估。所述程序改编自Flores-Montero等人,Leukemia[白血病]201731(10):2094-103中所述的EuroFlow方案。简而言之,用48ml Pharm Lyse溶液(BD生物科学公司目录号555899)稀释多达2ml的骨髓抽吸物,并在室温下在摇动装置上孵育15分钟。然后通过以800g离心10分钟收集细胞,用流式细胞仪缓冲液(含1%胎牛血清的PBS)洗涤两次,并用L/D Aqua存活力染料(赛默飞世尔公司(Thermo Fisher)目录号L34957)染色。用针对CD45、CD19、CD138、CD38、CD14、CD56、CD20、CD3、CD269(BCMA)、CD274(PD-L1)的抗体混合物进行表面染色。仅FMO(荧光减一)次级对照用于BCMA评价。将正常供体PBMC细胞的等分试样平行染色作为对照。然后在室温下使用Cytotfix/Cytoperm试剂(BD生物科学公司)将细胞洗涤/透化/固定之前,洗涤20分钟,洗涤并用针对κ和λ免疫球蛋白轻链的抗体的混合物染色。然后洗涤样品,然后重悬于PBS中,并在配备有紫色,蓝色,绿色和

红色激光的17色LSR Fortessa特别定制研究产品流式细胞仪 (BD) 上进行采集。使用FlowJo (Treestar) 或FCS Express分析列表模式文件。

[1699] 表42. 个体受试者特征

受试者	年龄	性别	人种	自诊断起的年数	同种类型	核型	FISH	突变	线数*	单采术、输注前最后一次治疗**
群组 1										
01	66	M	白人	9.6	IgGK	46XY	+11, -16q, -17p	<i>NRAS</i> , <i>TP53</i> , <i>TP53</i>	11	Pom/Dex Pom/Dex
02	68	M	白人	6.3	IgAK	46XY	+1q, +4p,	n/a	9	Carfilz/Len/Dex Carfilz/Cyclo/Dex

[1700]

[1701]

							-17p			
03	54	F	白人	3.1	IgAL	n/a	+1q, t(4;14), -16q	n/a	4	D-PACE D-AC
07	44	M	白人	1.8	K	n/a	+1q, -4, +11, -14, -16	<i>NRAS</i> , <i>TP53</i>	9	Carfilz/Pano Pom/Dex-ACE
08	70	M	白人	3.3	IgAL	复杂	+1q, -1p, -4, -17p	n/a	6	Carfilz/Pom/Dex Carfilz/Pom/Dex
09	61	M	白人	6.6	K	46XY	t(11;14) , -16q, -17p	无	9	达雷木单抗 Pulse Dex
10	47	M	白人	4.9	IgGL	n/a	+1q, t(11;14)	<i>KRAS</i> , <i>SF3B1</i>	7	Pom/Dex Pom/Cyclo/Dex + 血浆置换
11	57	F	AA	6.3	IgGL	46XX	+1q, t(4;14), -17p	n/a	10	VDT-PACE VDT-PACE
15	51	F	亚洲人	4.7	IgAK	46XX	+1q, t(11;14)	<i>NRAS</i> , <i>KRAS</i> , <i>BIRC3</i> , <i>KIT</i>	7	Pembro/Pom/Dex Pom/Dex
群组 2										
12	51	F	白人	2.8	IgAL	46XX	+1q, -1p, t(4;14), +17p	<i>TET2</i>	5	CyBorD CyBorD
13	59	M	白人	9.4	IgGL	46XY	+11, -16q, -17p	n/a	10	抢救 ASCT VD-CE
14	54	F	白人	4.9	IgGK	46XX	t(11;14) , -16q,	n/a	7	维奈托克 无

[1702]

							-17p			
16	54	M	白人	4.1	IgGK	复杂	+1q, -16q, -17p	<i>BRAF</i>	7	D-CE D-CE + 放射
22	45	M	白人	2.7	IgGL	46XY	t(11;14) , +1q, -17p	<i>n/a</i>	7	D-ACE 无
群组 3										
17	64	F	白人	5.0	IgAK	46XX	t(14;16) , +1q, -1p, +11	<i>n/a</i>	7	CPI-610 D-AC
19	58	M	白人	4.1	L	46XY	r(11;14) , +1q, +17, -17p	<i>n/a</i>	5	Dara/Ixa/Pom/Dex Dara/Ixa/Pom/Dex
20	61	M	白人	2.6	IgGL	<i>n/a</i>	t(4;14), +1q, -17p	<i>n/a</i>	6	Carfilz/cyclo/pom/ dex VD-AC
21	73	M	白人	2.5	IgAK	46XY	+1q, +14, +17, -17p	<i>TET2</i>	5	Dara/Pom/Dex Bort/Pom/Dex
23	63	M	白人	2.3	IgGK	46XY	无	无	6	Carfilz/Pom/Dex/N elfin VD-PCE
25	51	M	AA	4.5	IgGK	46XY	t(11;14) , +1q	<i>FLT3</i>	7	Selinexor/Dex Bort/维奈托克 /Dex+ XRT
27	58	F	AA	10.3	IgGK	复杂	t(11;14) , +1q, -1p, -16, -17p	<i>BRAF</i> , <i>TET2</i>	13	Carfilz/维奈托克 /Dex Carfilz/维奈托克 /Dex

[1703]

29	60	F	白人	1.8	IgGK	45X,-X	无	<i>TET2</i> , <i>RBI</i> , <i>TP53</i>	3	VDT-PACE 无
32	65	F	白人	14.5	IgGL	46XX	t(4;14), +1q, -17	<i>TET2</i> , <i>TET2</i>	6	Carfilz/Cyclo/Dex Carfilz/Cyclo/Dex
33	75	M	白人	8.8	IgGK	超二倍 体	+5, +9, +11, +15, -17p	<i>RAD21</i>	5	Pembro/Len/Dex 无
34	47	M	白人	2.0	IgGL	46XY	+1q, -1p, +14q	<i>MYCN</i> , <i>TPMT</i>	4	Carfilz/Pom/Dex VD-PACE

[1704] *根据IMWG标准定义了治疗线。放射不算作一个线。**在收集T细胞(“单采术”-顶线)和CART-BCMA输注(“输注”-底线)之前,接受最新疗法。所有疗法在单采术前至少暂停2周,在输注前再次暂停至少2周(单克隆抗体则为4周)。

[1705] AA=非裔美国人;ASCT=自体干细胞移植;Bort=硼替佐米;Carfilz=卡非佐米;cyclo=环磷酰胺;CPI-610=研究型BET抑制剂;CyBorD=环磷酰胺、硼替佐米、地塞米松;D-AC=地塞米松+输注用多柔比星和环磷酰胺;D-ACE=地塞米松+输注用多柔比星、环磷酰胺和依托泊苷;D-CE:地塞米松+输注用环磷酰胺和依托泊苷;D-PACE=地塞米松+输注用顺铂、多柔比星、环磷酰胺和依托泊苷;Dara=达雷木单抗;Dex=地塞米松;Dx=诊断;Hyperdip=超二倍体;ixa=伊沙佐米;K=κ轻链;L=λ轻链;Len=来那度胺;Nelfin=奈非那韦;Pano=帕比司他;Pembro=派姆单抗;Pom=泊马度胺;Pom/Dex-ACE=泊马度胺、地塞米松+输注用多柔比星、环磷酰胺和依托泊苷;Tx=治疗;VD-AC=硼替佐米、地塞米松+输注用多柔比星和环磷酰胺;VD-CE=硼替佐米、地塞米松+输注用环磷酰胺和依托泊苷;VD-PCE=硼替佐米、地塞米松+输注用顺铂、环磷酰胺、依托泊苷;VDT-PACE=硼替佐米、地塞米松、沙利度胺+输注用顺铂、多柔比星、环磷酰胺和依托泊苷;Yrs=年。

[1706] 表43.CART-BCMA制造和产物详细信息

受试者	接种培养物中的% CD3+	接种培养物中的 CD4:C D8	收获时% CD3+	收获时 CD4:C D8	扩增倍数	Pop dblg	转导效率 (%)	给与的总 CAR+ 数 (x 10 ⁸)	最好反应
群组 1									
01	52.6	2.04	98.4	2.40	43.5	4.54	9.6	2.0*	sCR
02	63	0.40	69.1	1.31	12.7	3.67	18.2	5.0	MR
03	58.4	2.47	97.6	1.72	17.9	4.16	25.9	2.0*	VGPR
07	20.3	1.47	94.9	1.60	38.9	5.28	24.2	5.0	PR
08	20.8	0.31	92.5	2.99	7.9	2.98	22.7	3.5	PD
09	86.8	0.49	87.5	1.69	10.0	3.33	22.2	5.0	SD
10	47.3	1.07	96.7	1.32	11.5	3.52	16.5	1.77	PD
11	21.4	0.81	96.9	1.20	8.7	3.11	19.4	5.0	MR
15	90.8	0.71	96	1.24	22.6	4.50	33.3	2.0*	VGPR
群组 2									
12	80	0.38	96.2	3.23	31.7	4.98	21.7	0.5	SD
13	72	0.50	86.9	1.72	14.0	3.84	24.2	0.5	MR
14	94.6	0.81	98.9	2.21	60.4	5.92	31.8	0.5	SD
16	50.9	1.06	98.1	0.84	30.6	4.94	21.9	0.5	PR
22	65.1	0.46	98.4	1.39	49.3	5.62	11	0.5	SD
群组 3									
17	84.4	0.59	97.3	1.87	56.8	5.83	27.4	5.0	PR
19	88.1	0.91	94.9	2.09	16.8	4.07	13.7	5.0	CR
20	70	0.70	97.4	2.17	32.3	5.02	8.4	5.0	VGPR
21	83.5	0.46	98.9	3.26	45.9	5.52	7.5	5.0	SD
23	74.7	0.42	97.6	1.46	45.1	5.77	11	5.0	MR
25	69.2	0.54	99	0.93	23.7	4.57	10.7	2.0*	PR
27	69	0.91	97.9	0.90	25.1	4.65	15	5.0	VGPR
29	29.8	2.49	91.7	4.55	23.0	4.52	8.3	5.0	SD
32	71	1.23	98.3	1.87	40.0	5.32	8.9	5.0	MR
群组 4									
33	83.6	0.33	96.5	1.78	31.1	4.96	8.6	5.0	PR
34	62.7	1.73	96.4	4.02	29.3	4.87	14.7	5.0	VGPR

[1707]

[1708]

[1709] 通过流式细胞术评估开始制造时(“接种培养”, 淘洗后)和制造结束时(“收获时”)的总CD3+、CD3+CD4+和CD3+CD8+细胞的频率)。Aph=单采产物;fold exp=倍数扩增;pop dblg=群体倍增;trans eff=转导效率。MR=最小反应;PD=疾病进展;PR=部分反应;sCR=严格的完全反应;SD=疾病稳定;VGPR=很好的部分反应

[1710] *由于发烧/早期CRS,受试者01、03、15和25仅收到计划剂量的40%。

[1711] 表44. 个体受试者不良事件

受试者	1 级	2 级	3 级	4 级	5 级
群组 1					
[1712] 01	干眼症 口干 呕吐 流感样症状 代谢障碍-其他(铁缺乏症) 肌痛 头痛 脑血管缺血 神经系统障碍-其他(意识混乱) 血管障碍-其他(水肿)	DIC 眩晕 肠梗阻 恶心 发热 肺部感染 肌酐增加 血小板减少症 肌肉骨骼障碍-其他(全身性肌肉疼痛) 尿潴留 呼吸系统障碍-其他(肺水肿和肺不张) 皮肤/SQ 障碍-其他(皮肤撕裂) 高血压	贫血 疲劳 CRS 碱性磷酸酶增加 AST 增加 低钙血症 低钾血症 低磷血症	淋巴球减少症	
02	窦性心动过速 胃肠道障碍-其他(稀便)		血小板减少症		

[1713]

	恶心 疲劳 CRS 头晕 头痛 呼吸系统障碍-其他(鼻和鼻窦阻塞,咳嗽)				
03	窦性心动过缓 耳部障碍-其他(耳朵感觉塞满,很难听见) 眼部障碍-其他(阅读困难) 便秘 水肿 发热 低钾血症 低镁血症 骨痛 注意力受损 头痛 嘶哑 皮肤/SQ 障碍-其他(瘀斑)	SVT 疲劳 感染-其他(链球菌/口腔链球菌) 上呼吸道感染 淋巴球减少症 高钠血症 肌肉骨骼障碍-其他(失调,颅骨疼痛) 颅内出血 呼吸系统障碍-其他(鼻液倒流) 低血压	CRS UTI 纤维蛋白原减少 低磷血症 癫痫发作 胸腔积液 高血压	嗜中性粒细胞减少症 白血球减少症 低钙血症 RPLS 谵妄	
07	感染-其他(上呼吸道感染) 皮肤/SQ 障碍-其他(面部皮疹)	CRS 消化不良 低白蛋白血症 低钙血症 呼吸道、胸腔疾病-其他(血胸)	贫血 低钾血症 低钠血症		
08	窦性心动过速 一般性障碍-其他(寒颤)		肺部感染 谵妄	CRS 血小板减少症 脑病 感染-其他(真菌)	死亡 NOS

[1714]

				血症)	
09	便秘 发冷 疲劳 血小板减少症 厌食症 低钾血症	贫血 心包积液 CRS 嗜中性粒细胞减少症 低钙血症 头痛	肺部感染		
10	发冷 发热	血小板减少症			
11	恶心 疲劳 血小板减少症 头痛 呼吸系统障碍-其他(咳嗽、充血)	CRS 感染-其他(艰难梭菌) 低钙血症	低磷血症		
15	低钙血症 低钾血症 头痛 咳嗽 呼吸困难 呼吸系统障碍-其他(鼻塞) 脱发	疲劳 CRS 感染-其他(志贺氏菌毒素检测阳性) 碱性磷酸酶增加 低血压	血小板减少症 低血糖症	嗜中性粒细胞减少症	
群组 2					
12	贫血 呕吐 疲劳 发热 低钙血症	感染-其他(腺病毒)	发热性嗜中性粒细胞减少症	败血症 嗜中性粒细胞减少症 白血球减少症	
13	腹泻 疲劳 ALT 增加 AST 增加 厌食症	上呼吸道感染	嗜中性粒细胞减少症		

[1715]

	头晕 瘙痒 皮肤/皮下组织障碍-其他（双耳病变）				
14	背疼 四肢疼痛	CRS	贫血 发热性嗜中性粒细胞减少症	嗜中性粒细胞减少症 白血球减少症	
16	结肠炎 低钙血症 低钾血症 低镁血症 感觉异常 混乱 嘶哑 咽喉痛 低血压	流感样症状 CRS 低白蛋白血症 鼻出血	发热性嗜中性粒细胞减少症	淋巴球减少症 嗜中性粒细胞减少症 血小板减少症 白血球减少症	
22	疲劳 肌痛 失眠	恶心 CRS	发热性嗜中性粒细胞减少症	淋巴球减少症 白血球减少症	
群组 3					
17	腹泻 低钙血症 低钾血症 背疼 头痛 周围感觉神经病 失眠	发冷 CRS 关节痛		嗜中性粒细胞减少症 白血球减少症	
19	恶心 发冷	耳朵和迷路障碍-其他（季节性过敏） 胃肠道障碍-其他（食物中毒） 发热 鼻窦炎 上呼吸道感染	CRS 淋巴球减少症 低磷血症 高血压		

[1716]

20	便秘 腹泻 呕吐 发冷 CPK 增加 低钾血症 背疼 过敏性鼻炎	疲劳 ALT 增加 低磷血症 吞咽困难 嗜睡 混乱 低血压	CRS 低钠血症	AST 增加	
21	碱性磷酸酶增加 低钙血症 低钠血症 鼻出血	CRS 皮肤障碍-其他(蜂窝组织炎)	淋巴球减少症 嗜中性粒细胞减少症 血小板减少症 白血球减少症		
23	肛门出血 恶心 四肢水肿 低白蛋白血症 低钙血症 震颤	CRS 腹痛 结肠炎 腹泻 呕吐 痛 血小板减少症 低钾血症	发热性嗜中性粒细胞减少症		
25	恶心 面部疼痛 疲劳 低镁血症 头痛 周围感觉神经病	低白蛋白血症 低钾血症 高钙血症	CRS 低钙血症 视神经乳头水肿		
27	腹泻 恶心 口腔疼痛 疲劳 痛 感染-其他(上呼吸道感染) 背疼	窦性心动过缓 四肢水肿 尿路感染 肌酐增加 嗜中性粒细胞减少症 高钠血症 喘息	CRS SVT AST 增加 射血分数降低 淋巴球减少症 白血球减少症 低白蛋白血症 低钠血症	贫血 血小板减少症 高血糖症 低钙血症 低钾血症 胸膜出血	

[1717]

	肌痛 四肢疼痛 干性皮肤 血肿		脑病 高血压		
29	恶心 疲劳 痛 呼吸系统障碍-其他(嗓子发痒, 轻微咳嗽)	发冷 CRS 低蛋白血症	腹痛 低钠血症 低磷血症	淋巴球减少症 白血球减少症	
32	恶心 疲劳 脱发	腹泻 脑病 过敏性鼻炎	贫血 CRS 嗜中性粒细胞减少症 低蛋白血症 低钙血症 低钠血症 低磷血症	淋巴球减少症 血小板减少症 白血球减少症	
33	口腔疼痛 腹泻 疲劳 流感样症状 关节痛 腰腹痛 过敏性鼻炎	发冷 CRS 低蛋白血症	发热性嗜中性粒细胞减少症	嗜中性粒细胞减少症	
34	腹泻 恶心 窦性心动过速 混乱 ALT 增加	CRS 血小板减少症 低钙血症 流感样症状 AST 增加	白血球减少症 低磷血症 低钠血症	淋巴球减少症 嗜中性粒细胞减少症	

[1718] 列出了所有事件, 无论其归因为何。如果事件在同一患者中发生超过一次, 则报告为最高等级。Alk phos=碱性磷酸酶; ALT=丙氨酸转氨酶; AST=天冬氨酸转氨酶; CPK=肌酸磷酸激酶; CRS=细胞因子释放综合征; DIC=弥散性血管内凝血; NOS=未另作说明; RPLS=可逆性后部脑白质病综合征(也称为可逆性后部脑病综合征(PRES)); SQ=皮下; SVT=室上性心动过速; UTI=尿路感染

[1719] 表45. 峰值扩增时外周血CART-BCMA+细胞的特征

受试者	峰值当天	CD3+的 %CAR+	CD4+的 %CAR+	CD8+的 %CAR+	CAR+的 %HLADR+	最好反应
群组 1						
01	10	89.5	8.6	92.3	97	sCR
02	9	2.8	1.4	5.0	82	MR
03	14	76.2	13.7	85.9	97	VGPR
07	10	29.2	7.3	39.3	89	PR
08	16	9.3	0.4	16.9	95	PD
09	11*	*	*	*	*	SD
10	30	1.9	0.1	2.0	21	PD
11	8	18.2	14.6	25.2	94	MR
15	10	28.1	6.3	51.0	96	VGPR
群组 2						
12	10	2.0	0.8	2.3	76	SD
13	13	8.4	2.9	13.2	92	MR
14	10	7.8	3.5	10.6	95	SD
16	14	47.1	12.1	50.3	98	PR
22	9	4.3	0.6	8.6	94	SD
群组 3						
17	9	22.1	10.4	27.4	96	PR
19	15	9.7	8.9	10.2	87	CR
20	15	59.2	22.4	65.1	99	VGPR
21	9	16.0	9.2	19.9	97	SD
23	10	13.8	6.6	17.3	93	MR
25	10	5.1	3.8	5.9	85	PR
27	14	42.9	4.9	47.3	88	VGPR
29	7	4.1	2.8	15.0	77	SD
32	10	36.2	6.1	46.4	97	MR
33	11	41.8	29.8	46.9	91	PR
34	**	**	**	**	**	VGPR

[1720]

[1721] 如图38中通过流式细胞术评估CART-BCMA细胞。在峰值扩增的当天,列出了CD3+、CD4+和CD8+群体中CAR+细胞的频率。还显示了峰值扩增时的激活状态(如通过表达HLA-DR的CAR+细胞的%所测量的)。MR=最小反应;PD=疾病进展;PR=部分反应;sCR=严格的完全反应;SD=疾病稳定;VGPR=很好的部分反应

[1722] *峰值通过qPCR确定;无法通过流式细胞术检测到CAR+细胞。**在10-21天之间没

有可用的样品,因此无法确定峰值。

[1723] 表46. 通过qPCR将CART-BCMA移植入血液、骨髓和其他部位

受试者	第 28 天血液	第 28 天 BM	3 个月血液	3 个月 BM	其他 (部位、日期)
群组 1					
01	23447.33	10458.66	4373.95	n/a	n/a
02	454.57	383.62	334.90	n/a	n/a
03	220081.08*	109964.97*	9517.67	9934.97	CSF, D4: 3285.88 CSF, D16: 158038.74 胸膜液, D8: 23941.97 胸膜液, D18: 144516.62
07	1757.60	2140.31	n/a	n/a	n/a
08	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
09	32.15	16.75	n/a	n/a	n/a
10	62.64	0.00	n/a	n/a	n/a
[1724] 11	731.44	n/a	218.26	n/a	n/a
15	724.49	1084.16	32.58	99.48	n/a
群组 2					
12	140.60	25.59	n/a	n/a	n/a
13	193.80	43.64	94.70	27.04	n/a
14	66.69	255.76	8.80	0.00	n/a
16	25919.10	22077.89	n/a	n/a	n/a
22	34.56	22.09	77.71	63.76	n/a
群组 3					
17	1639.98	1398.82	1392.25	649.69	n/a
19	12987.83	6578.03	153.88	117.53	n/a
20	43463.65	28086.46	4107.95	5223.76	n/a
21	8372.96	1161.92	96.11	n/a	n/a
群组 4					
23	5946.81	n/a	102.68	n/a	n/a
25	256.33	259.97	149.20	160.33	n/a
27	51014.95	41242.37	14271.48	9634.66	胸膜液, D15: 58511.99
[1725] 29	738.84	210.05	n/a	n/a	n/a
32	6983.98	7055.94	58.15	15.72	n/a
33	7539.99	5142.13	230.66	39.09	n/a
34	5199.07	1512.03	n/a	n/a	n/a

[1726] 在测试的时间点,血液和骨髓中的CART-BCMA水平(拷贝数/ μ g基因组DNA)通常是

相当的。在受试者03的CSF和胸膜液以及受试者27的胸膜液中发现高水平的CART-BCMA。BM=骨髓；CSF=脑脊液。n/a=不适用。*在第45天进行的测定。

[1727] 表47. 血清细胞因子的峰值倍数增加和细胞因子释放综合征 (CRS) 的严重性

细胞因子	峰值倍数增加中位数: CRS 0-2 级	峰值倍数增加中位数: 3-4 级或 2 级 CRS + 托珠单抗	p-值
IL-6	3.88	76.26	< 0.0001
IFN- γ	1.26	11.95	< 0.0001
IL-2R α	4.13	18.40	< 0.0001
MIP-1 α	1.35	3.47	< 0.0001
IL-15	1.71	12.81	0.0004
IL-1RA	2.33	19.68	0.0036
MCP-1	2.11	6.99	0.0044
GM-CSF	2.69	36.27	0.0052
IL-1 β	1.28	2.23	0.0052
MIG	6.81	39.14	0.008
MIP-1 β	1.49	2.39	0.013
IL-5	2.84	35.32	0.019
VEGF	1.93	3.68	0.022
IL-17	1.16	3.13	0.026
IL-7	2.24	6.18	0.10
IP-10	6.63	10.97	0.10
IL-8	8.65	30.72	0.20
IL-4	1.29	1.95	0.24
IL-10	13.84	15.82	0.53

[1730] 通过Luminex测定测量了直至第28天的血清细胞因子浓度,以pg/ml计。将未接受托珠单抗的没有CRS、1级CRS或2级CRS的受试者(0-2级CRS)与接受托珠单抗的3-4级CRS或2级CRS的受试者(3-4级或2级CRS+托珠单抗)比较了每种细胞因子相对于基线的峰值倍数增加中位数。适用时列出了通过曼-惠特尼检验得出的精确p-值。

[1731] 表48. 血清细胞因子和神经毒性的峰值倍数增加

[1732]

细胞因子	峰值倍数增加中位数：无神经毒素	峰值倍数增加中位数：任何神经毒素	p-值
IL-6	3.92	76.26	0.0002
IFN- γ	1.28	15.77	0.0002
IL-1RA	2.33	19.68	0.0015
MIP-1 α	1.53	3.47	0.006
GM-CSF	3.46	36.27	0.013
IL-15	1.76	10.54	0.016
IL-1 β	1.32	3.70	0.018
IP-10	5.80	20.44	0.019
IL-7	3.29	10.28	0.019
IL-2R α	4.46	20.86	0.019
VEGF	1.93	3.68	0.050
MIP-1 β	1.56	2.24	0.056
MIG	7.17	39.14	0.057
MCP-1	2.13	6.41	0.066
IL-8	8.65	36.77	0.12
IL-17	1.32	1.57	0.19
IL-5	5.15	8.54	0.26
IL-4	1.47	2.20	0.40
IL-10	13.70	27.51	0.41

[1733] 通过Luminex测定测量了直至第28天的血清细胞因子浓度,以pg/ml计。将列出的无神经毒性(neurotox)的受试者的每种细胞因子的相对于基线的峰值倍数增加中位数与具有任何等级神经毒性的受试者的峰值倍数增加中位数进行比较。列出了通过曼-惠特尼检验得出的精确p-值。

[1734] 表49.骨髓瘤细胞上BCMA表达的详细信息

受试者	Pre %+	Pre FMO MFI	Pre BCMA MFI	D28 %+	D28 FMO MFI	D28 BCMA MFI	D90 %+	D90 BCMA MFI	D90 BCMA MFI	最好反应
群组 1										
01	95	568	10864	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	sCR
02	93	355	2375	97	483	3254	n/a	n/a	n/a	MR
03	84	265	1873	n/a	n/a	n/a	19*	78*	268*	VGPR
07	n/a	n/a	n/a	84	273	1426	n/a	n/a	n/a	PR
08	99	124	6859	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	PD
09	28	53	206	94	204	1116	n/a	n/a	n/a	SD
10	83	192	1998	99	54	2140	n/a	n/a	n/a	PD
11	81	332	1844	62	49	832	n/a	n/a	不适用	MR
15	99	249	24842	n/a	n/a	n/a	100	362	30685	VGPR
群组 2										
12	100	-142	6755	100	187	7268	n/a	n/a	n/a	SD
13	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	MR
14	99	192	4317	98	172	2388	n/a	n/a	n/a	SD
16	97	366	4039	48	394	850	93	488	3819	PR
22	100	321	5947	99	271	4947	100	126	5599	SD
群组 3										
17	87	646	2667	27	295	784	76	350	1543	PR
19	98	429	2923	65	316	992	n/a	n/a	n/a	CR
20	89	394	2643	29	369	944	36	185	377	VGPR
21	99	314	2704	86	252	1108	n/a	n/a	n/a	SD
23	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	MR
25	97	283	4000	54	259	833	92	223	2501	PR
27	100	618	6548	74	242	964	70	159	616	VGPR
29	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	SD
32	92	176	3482	85	169	1472	n/a	n/a	n/a	MR
33	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	PR
34	100	303	17109	92	1607	5001	100	309	11232	VGPR

[1735]

[1736] 门控骨髓骨髓瘤细胞,并根据图55分析BCMA表达。描绘了表达BCMA的骨髓瘤细胞的百分比(%+),以及BCMA和FMO(荧光减一)阴性对照的平均荧光强度(MFI)。n/a=不适用。Pre=治疗前。D28=治疗后第28天。D90=治疗后第90天。Sub=受试者。*实际上是D164。

[1737] 等同物

[1738] 本文引用的每一个专利、专利申请和出版物的披露内容据此通过引用以其整体并入本文。虽然已经参照具体方面披露了本发明,但是本领域其他技术人员可以在不偏离本

发明的真实精神以及范围的情况下设想本发明的其他方面以及变化。所附权利要求旨在理解为包括所有这类方面以及等同变化。

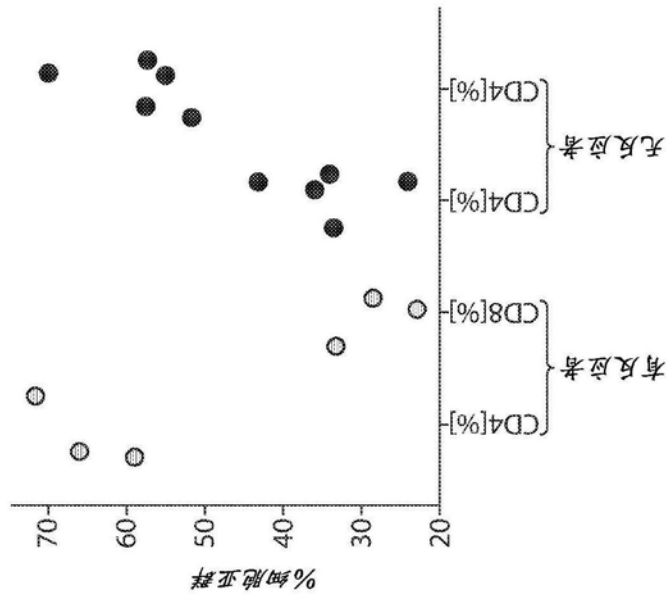


图1A

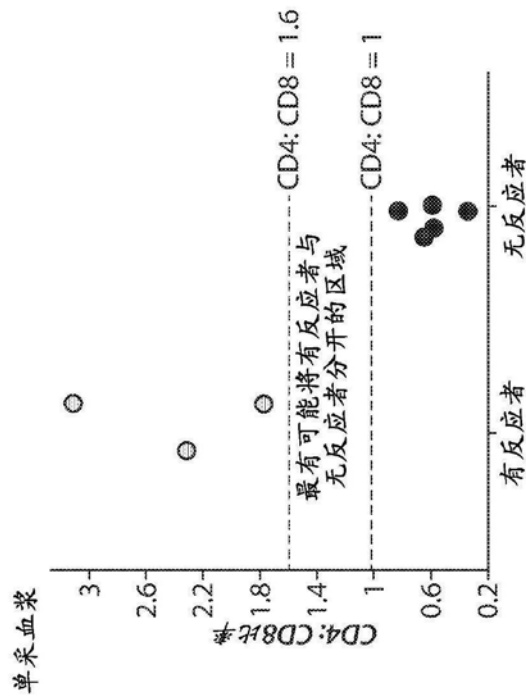


图1B

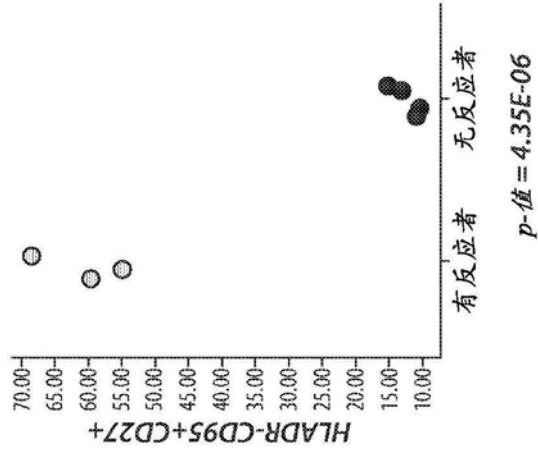


图2A

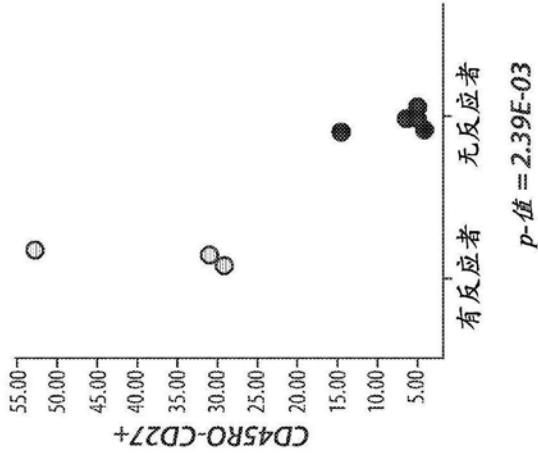


图2B

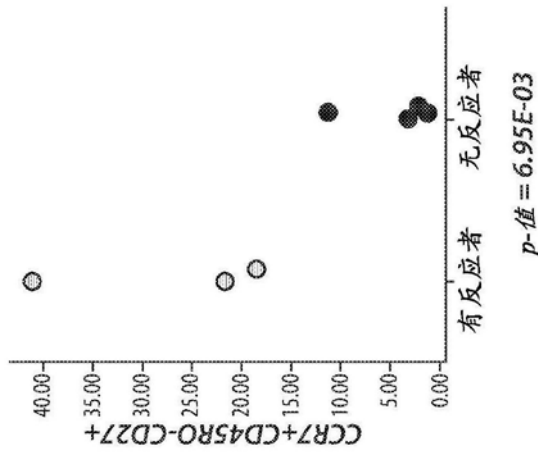
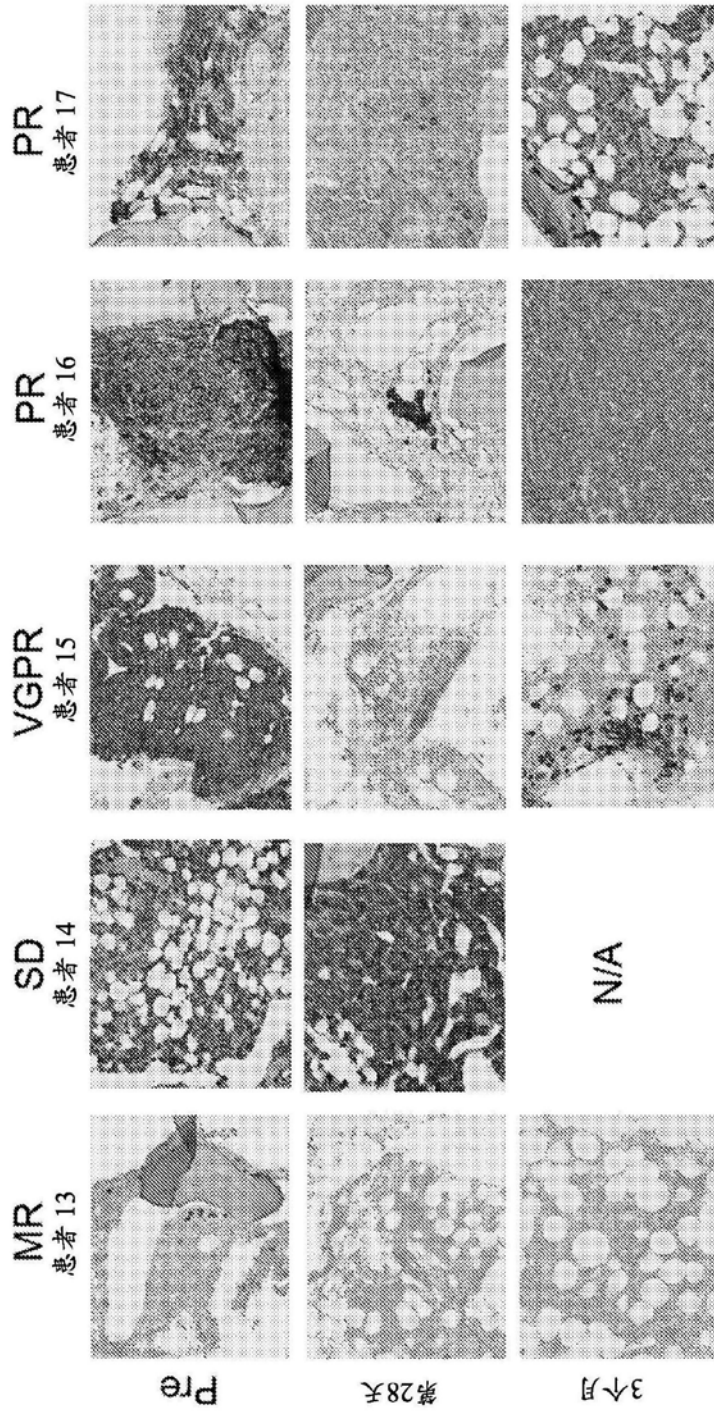


图2C

CD138定位



基线时在患者15、16和17中观察到CD138 MM细胞大量浸润，
随后在第28天减少，在3个月时数量增加

在第28天在患者13中
观察到CD138 MM
细胞数量增加

在所有时间点患者在
13中检测到极少的
CD138表达

图3

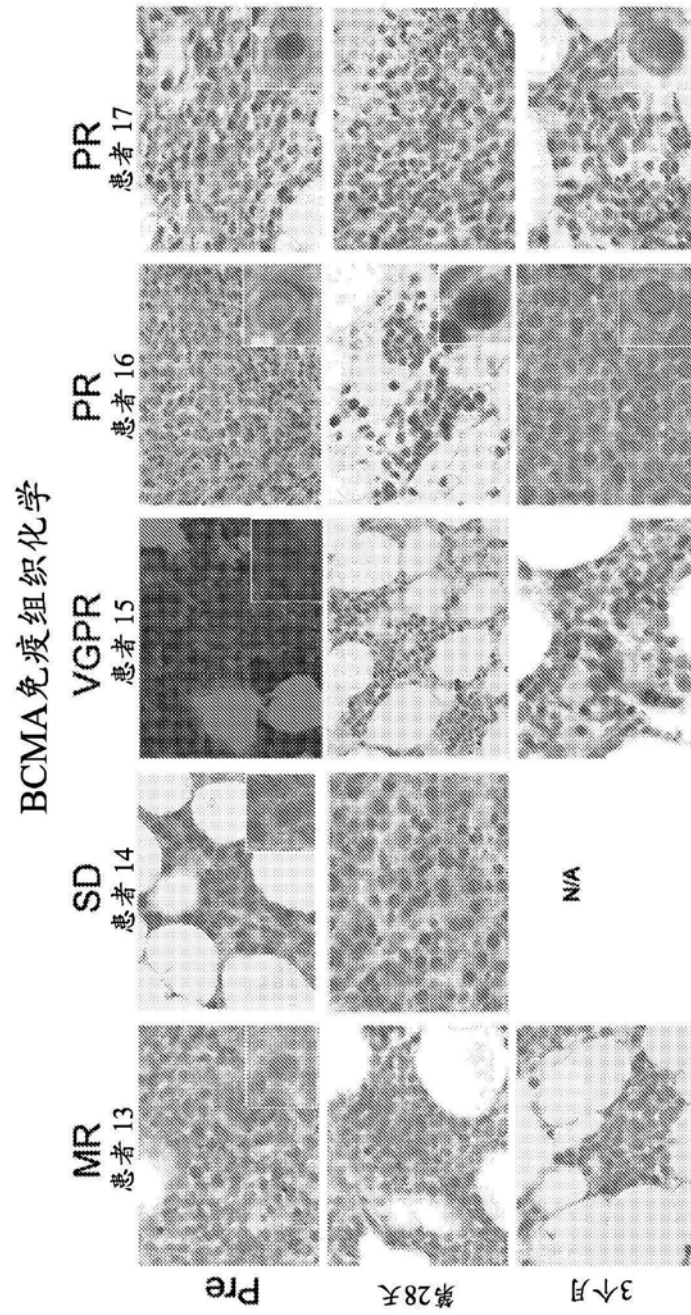


图4

基线时BCMA IHC对比ISH

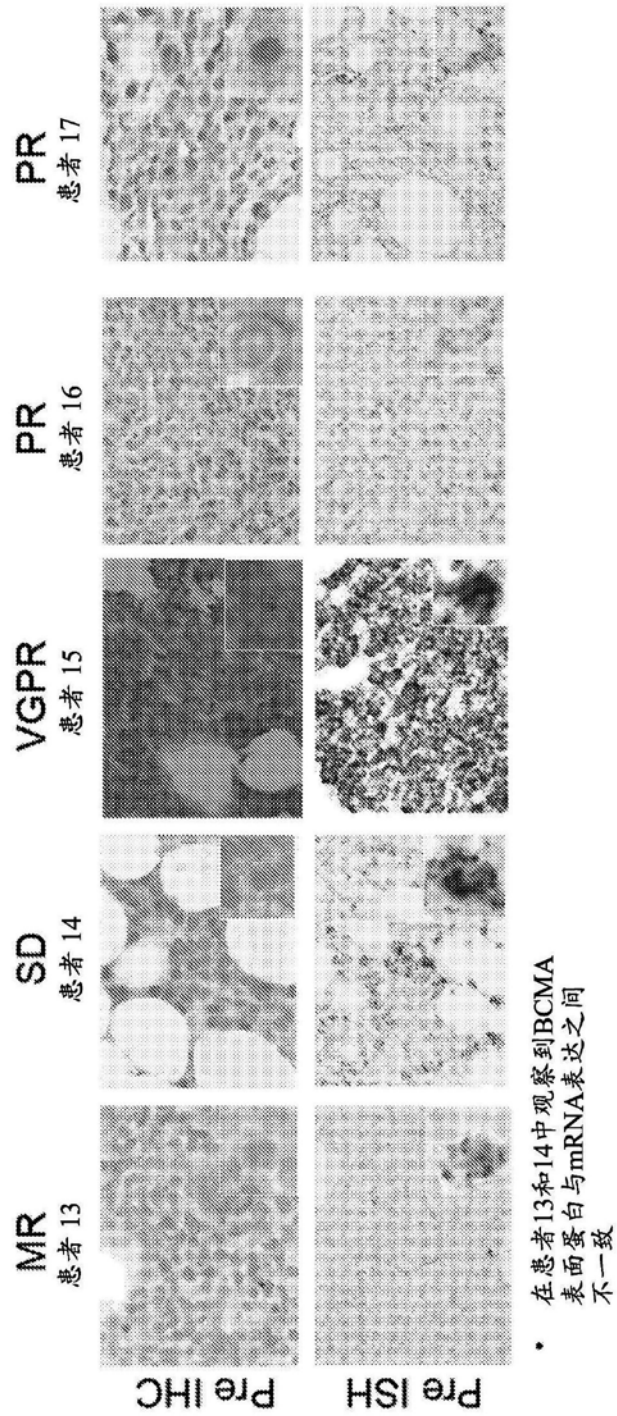


图5

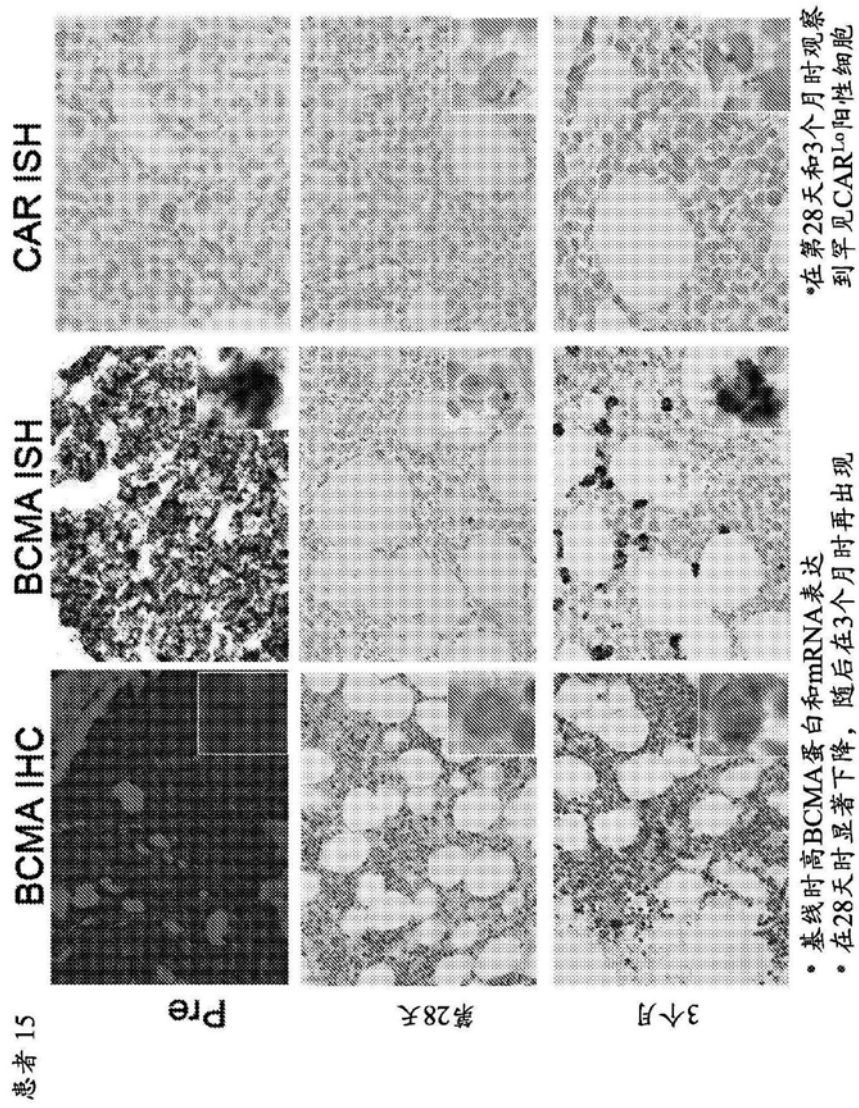


图6A

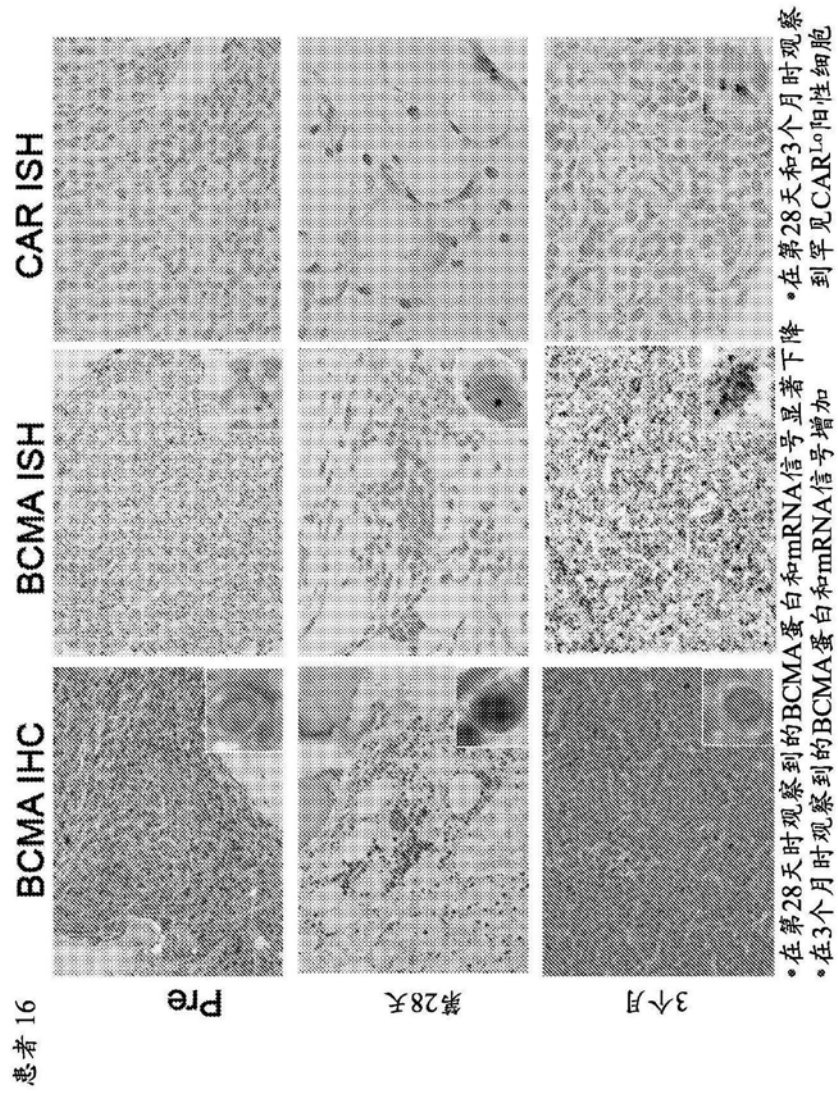


图6B

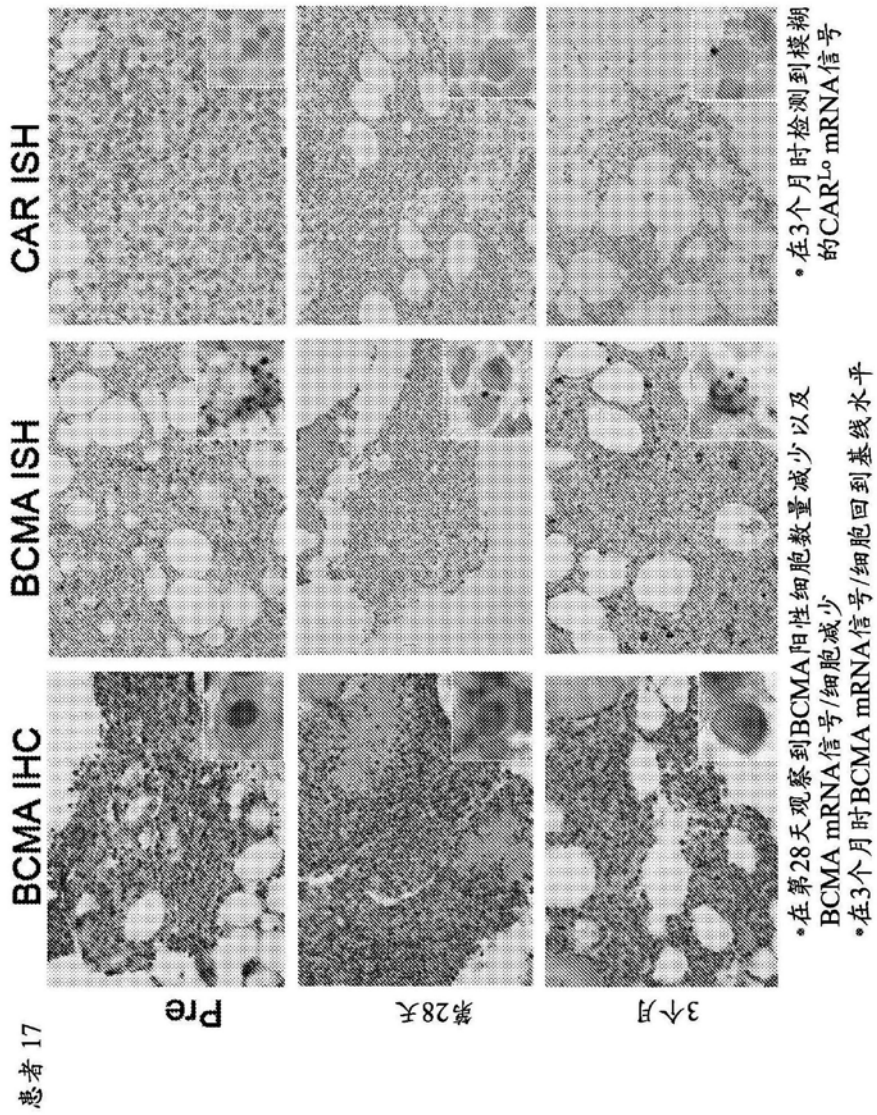


图6C

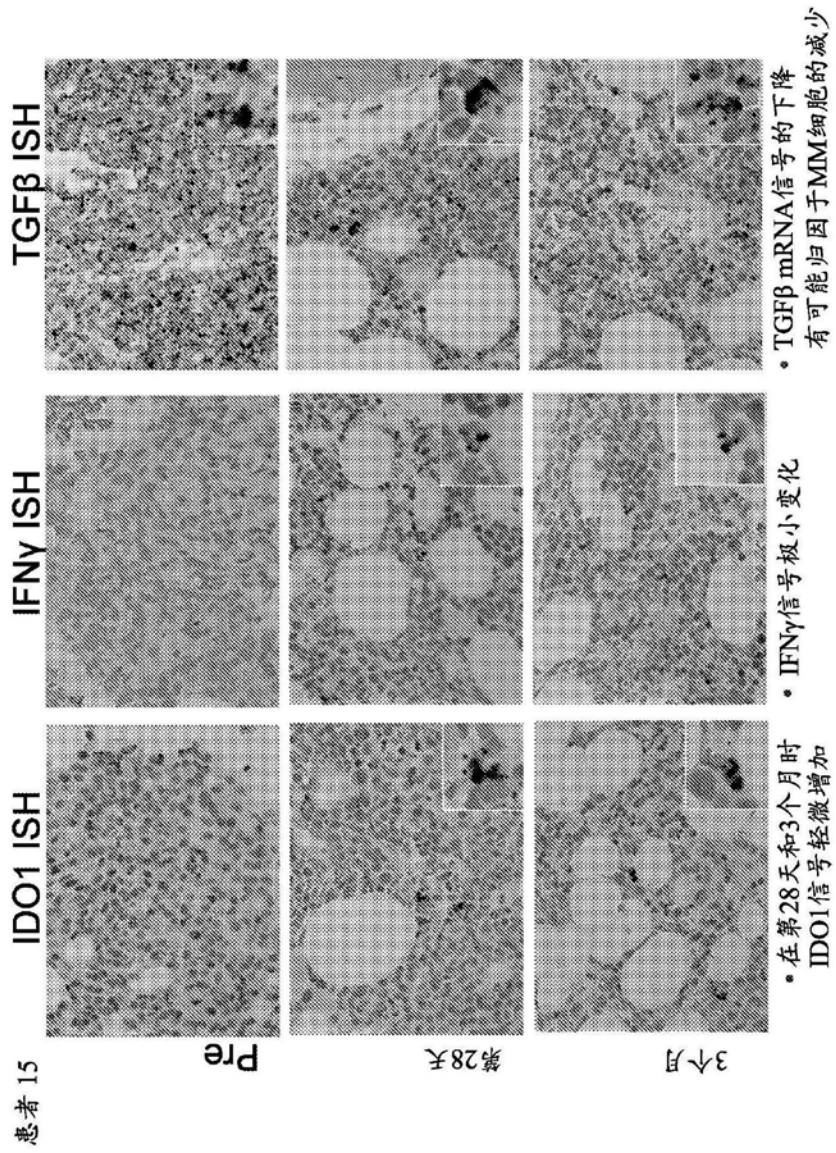


图7A

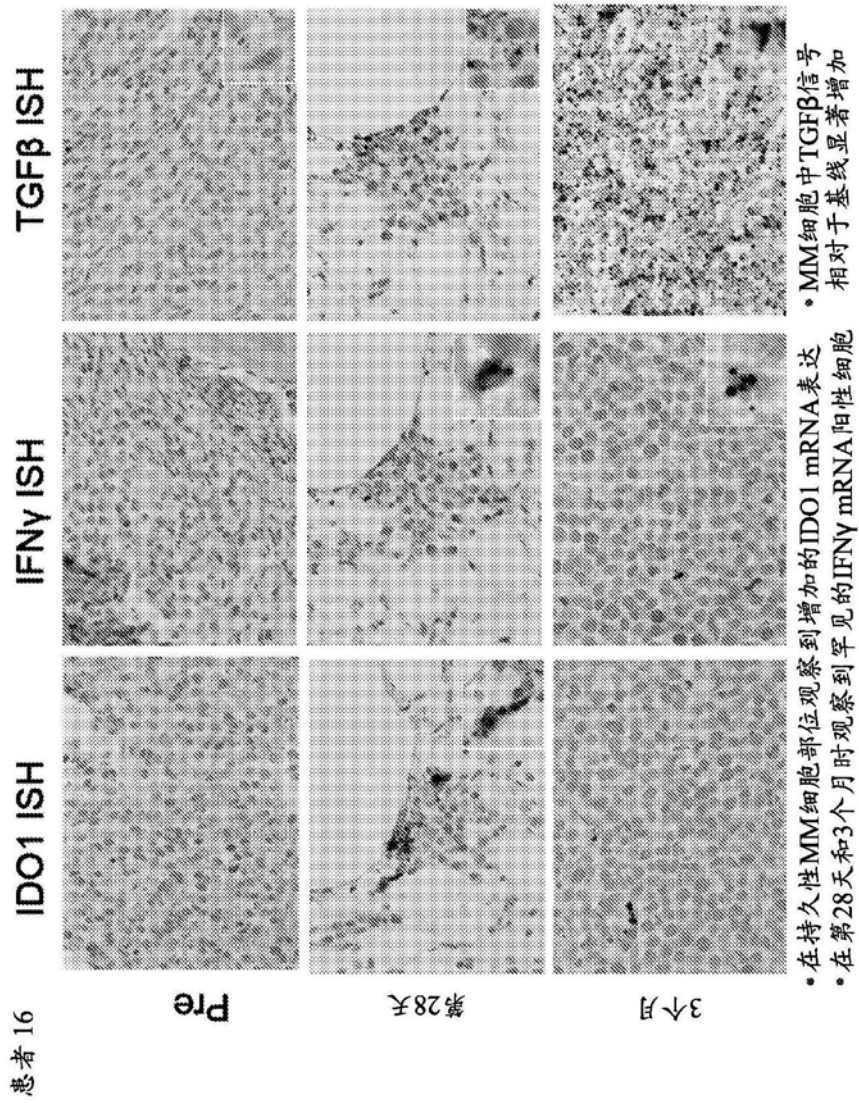


图7B

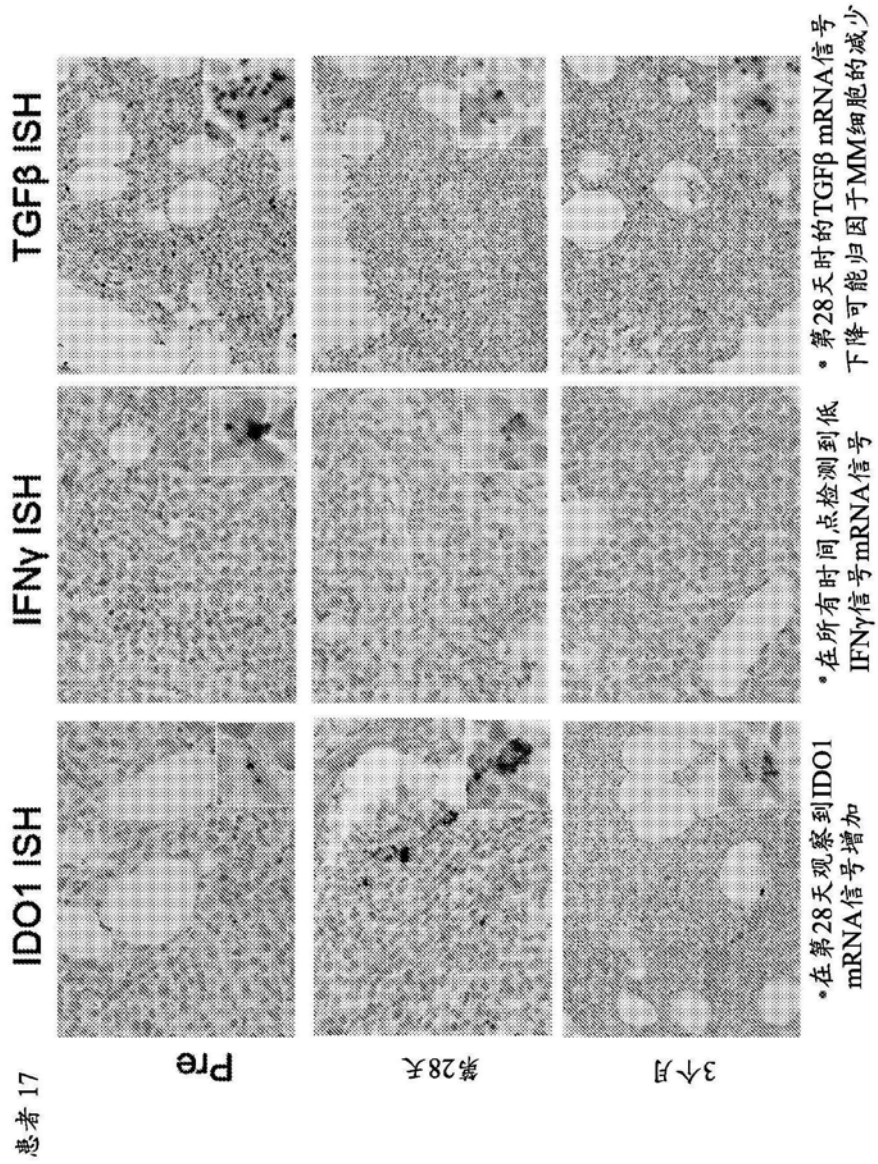


图7C

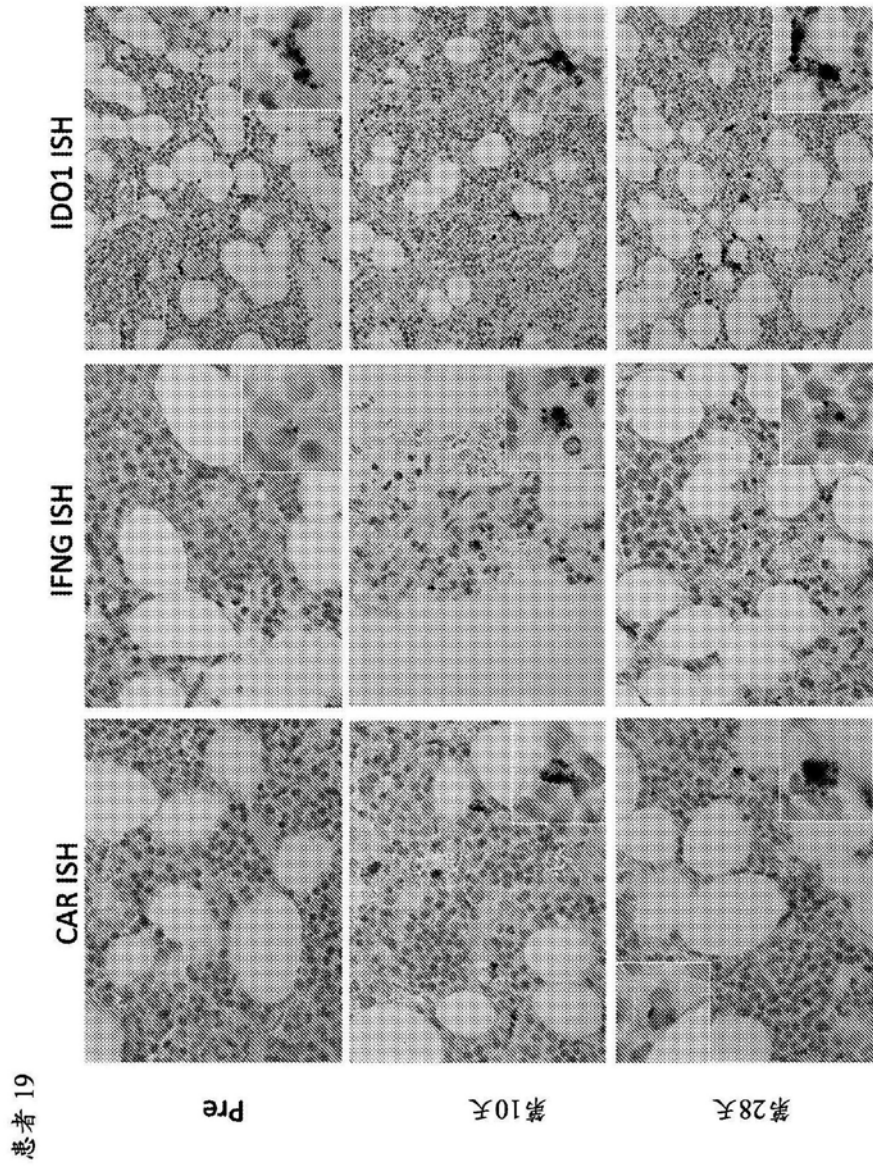


图7D

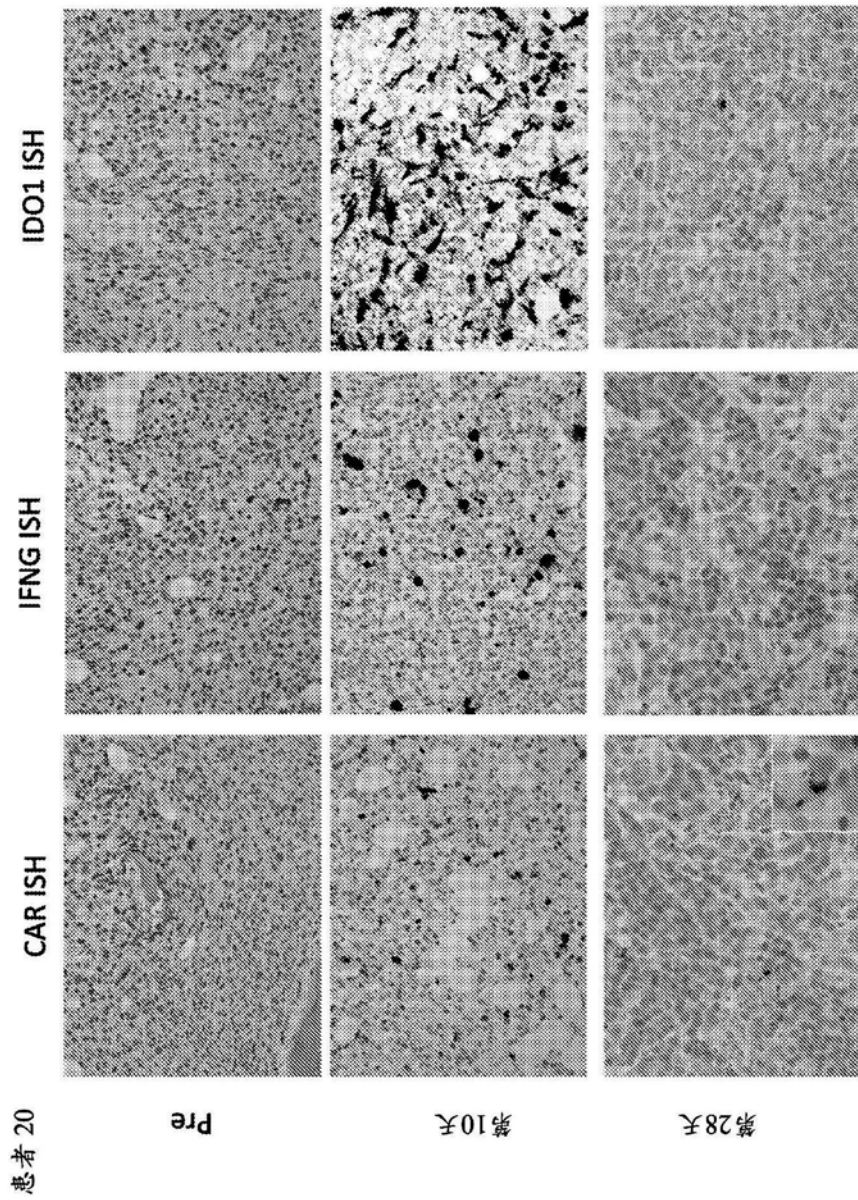


图7E

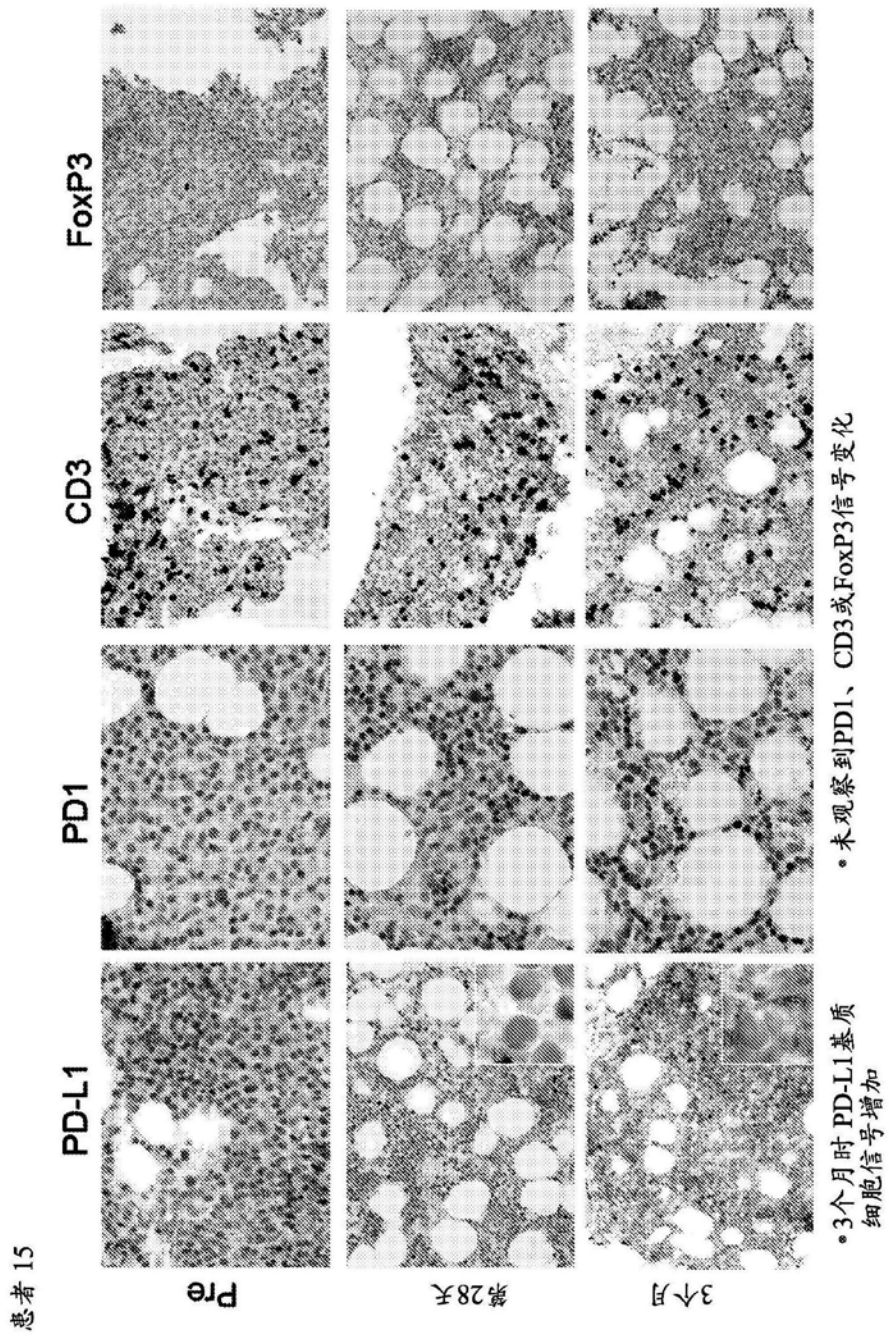


图8A

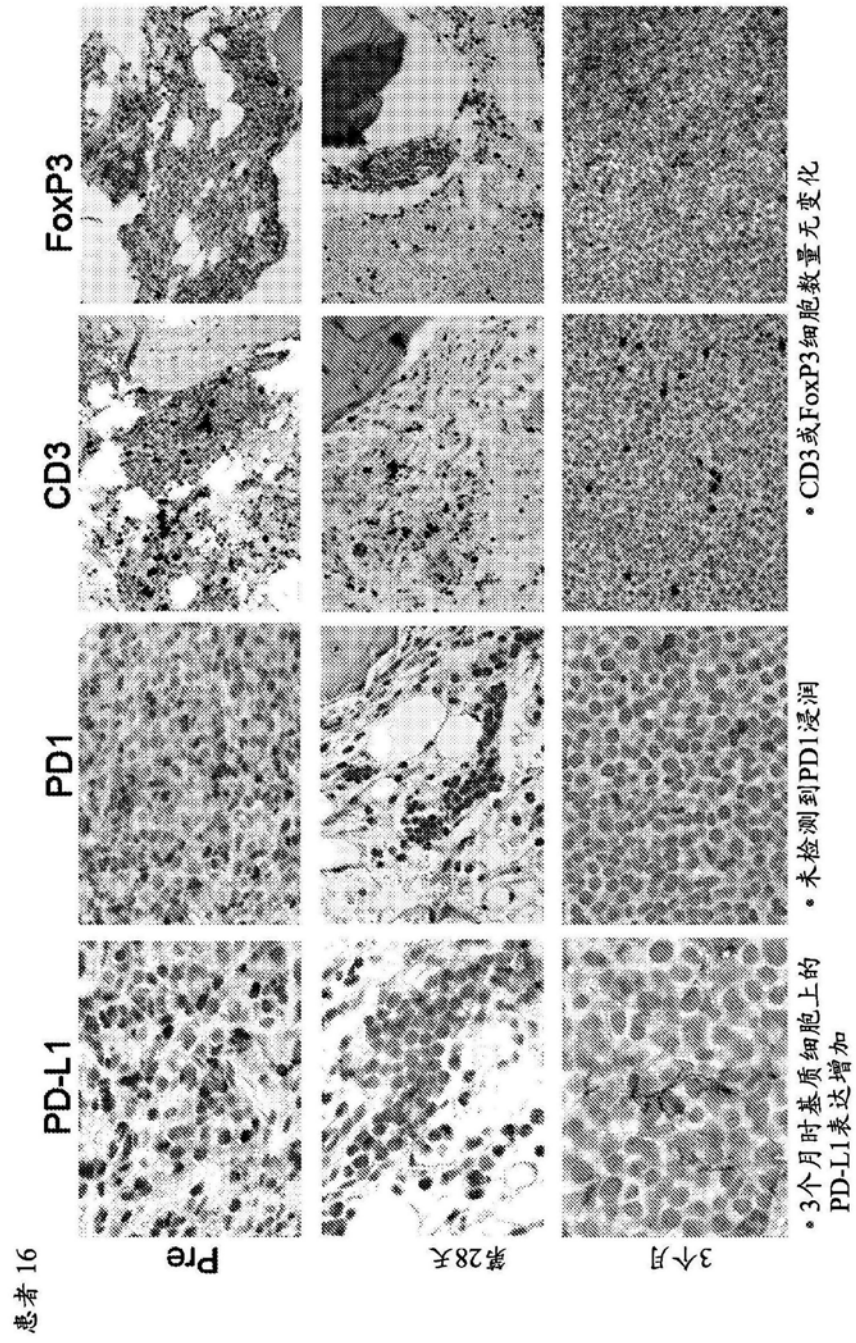


图8B

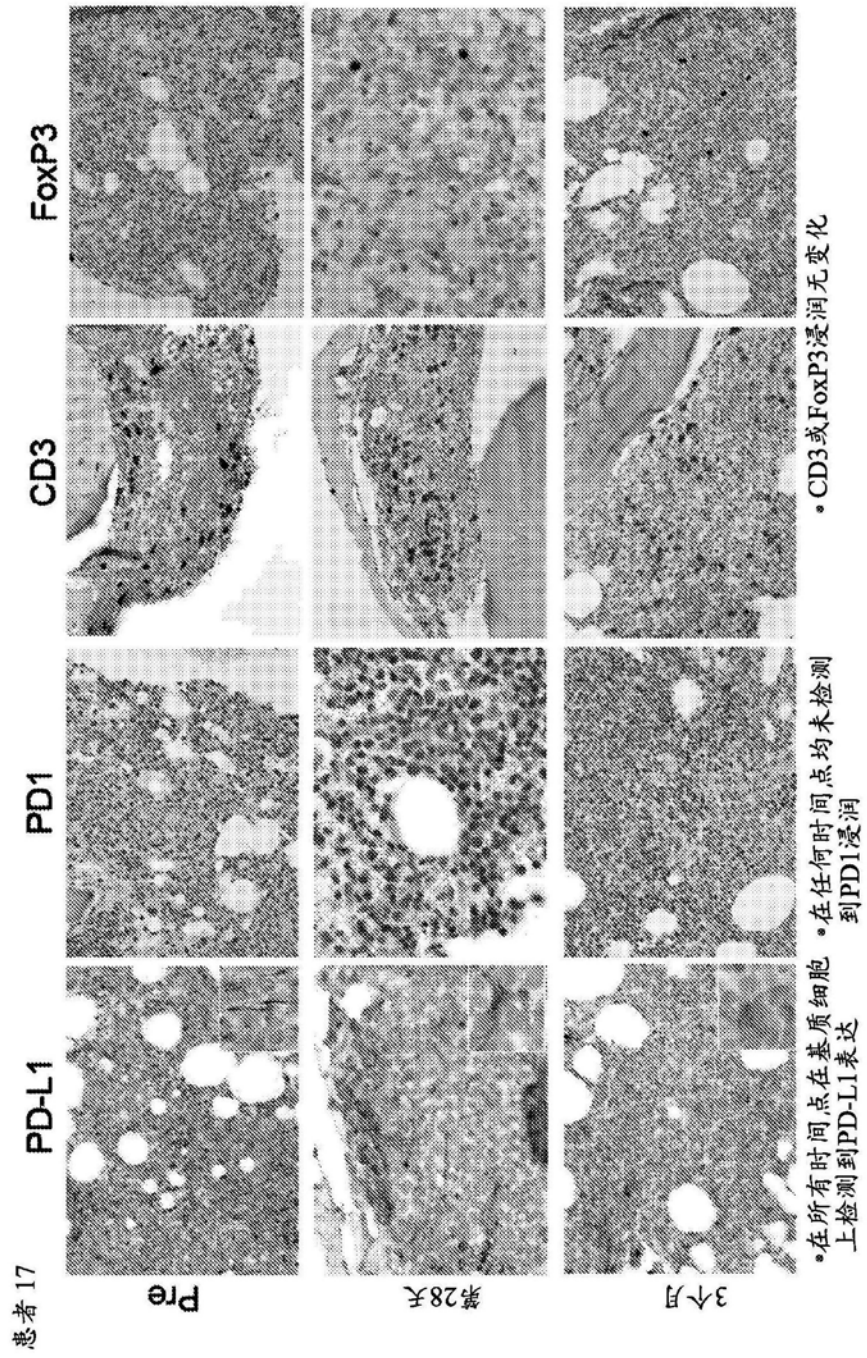


图8C

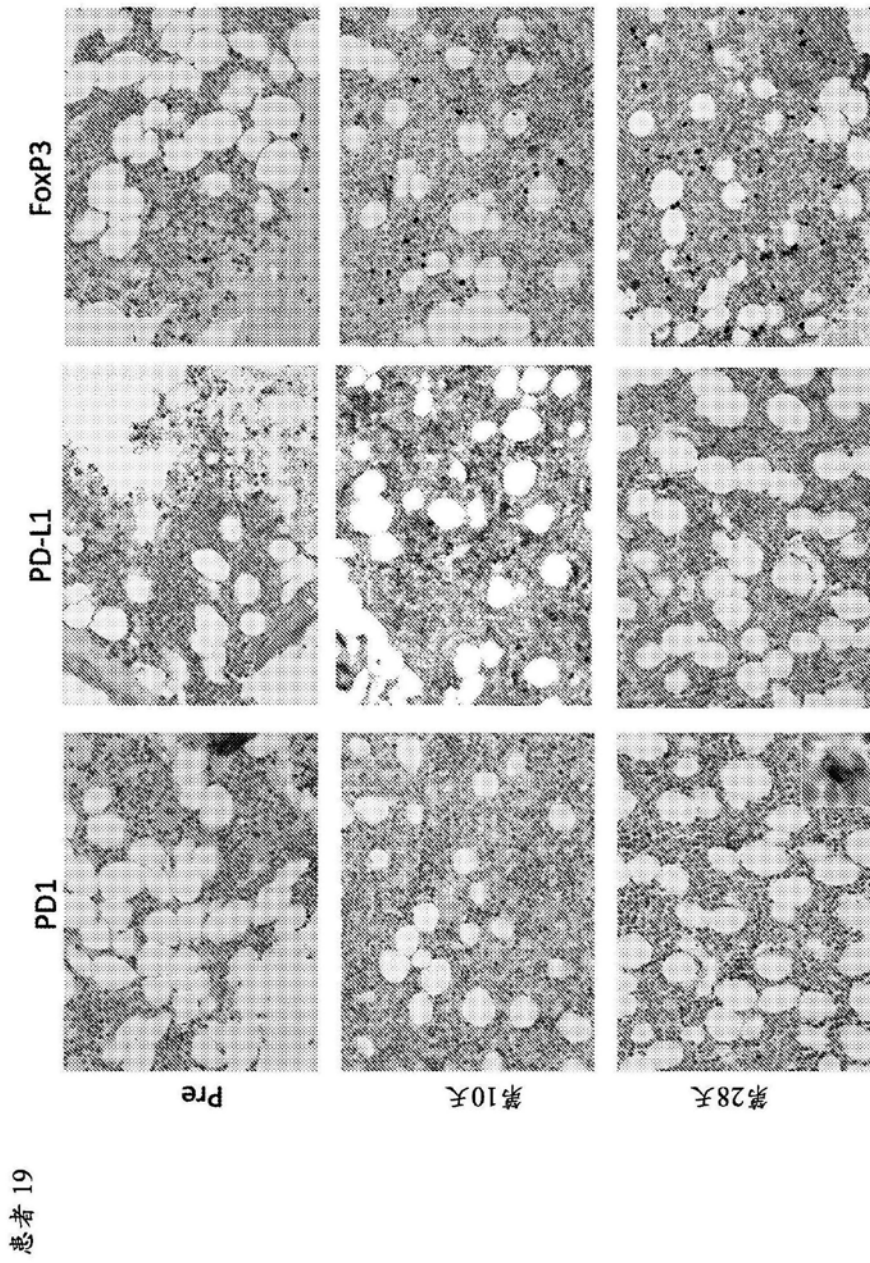


图8D

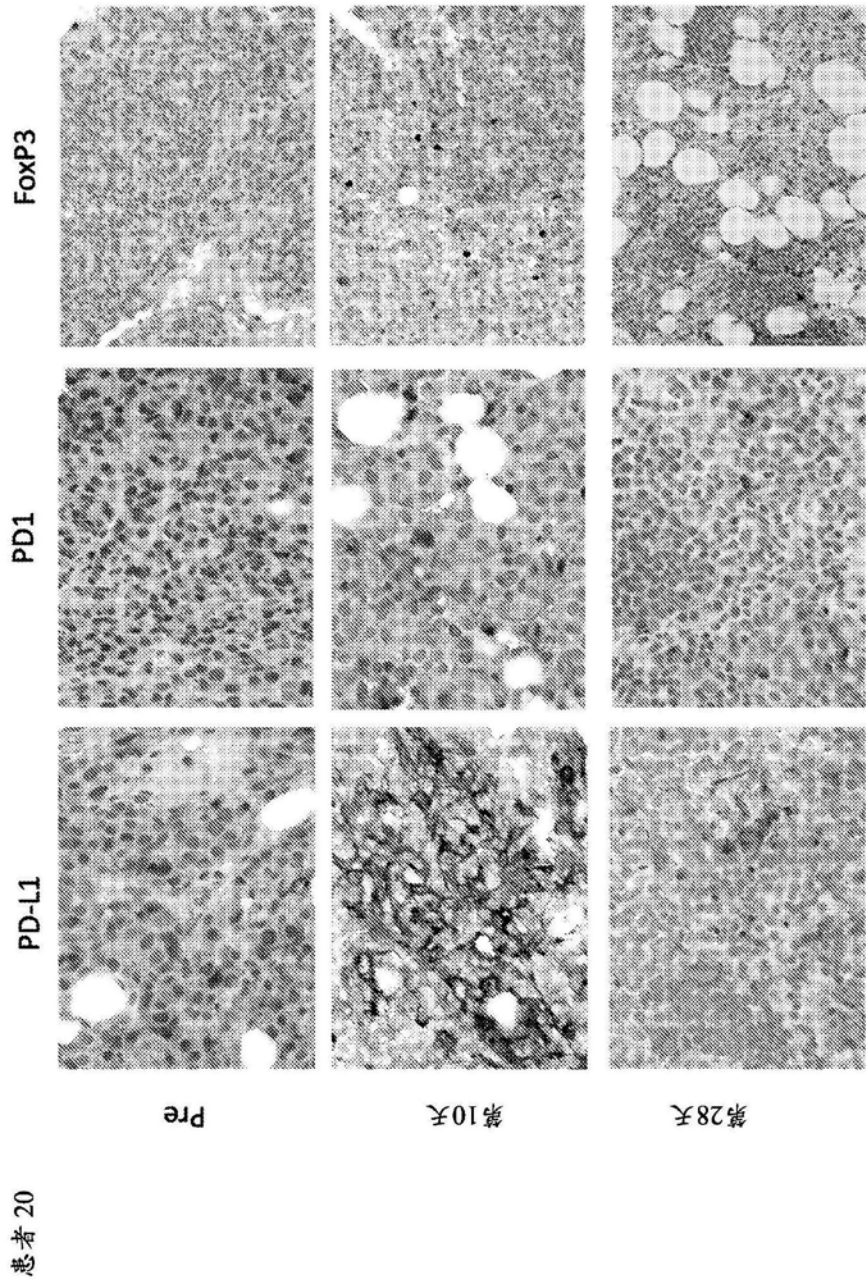


图8E

CD19免疫组织化学

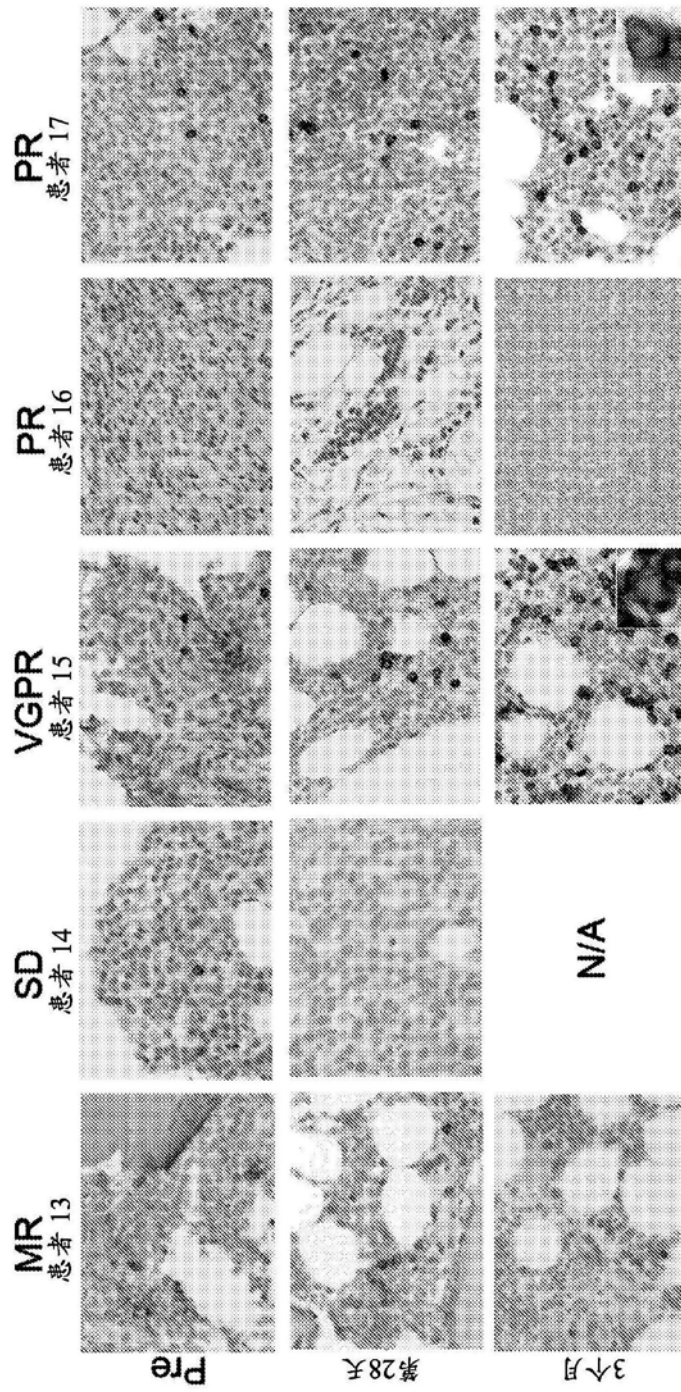


图9

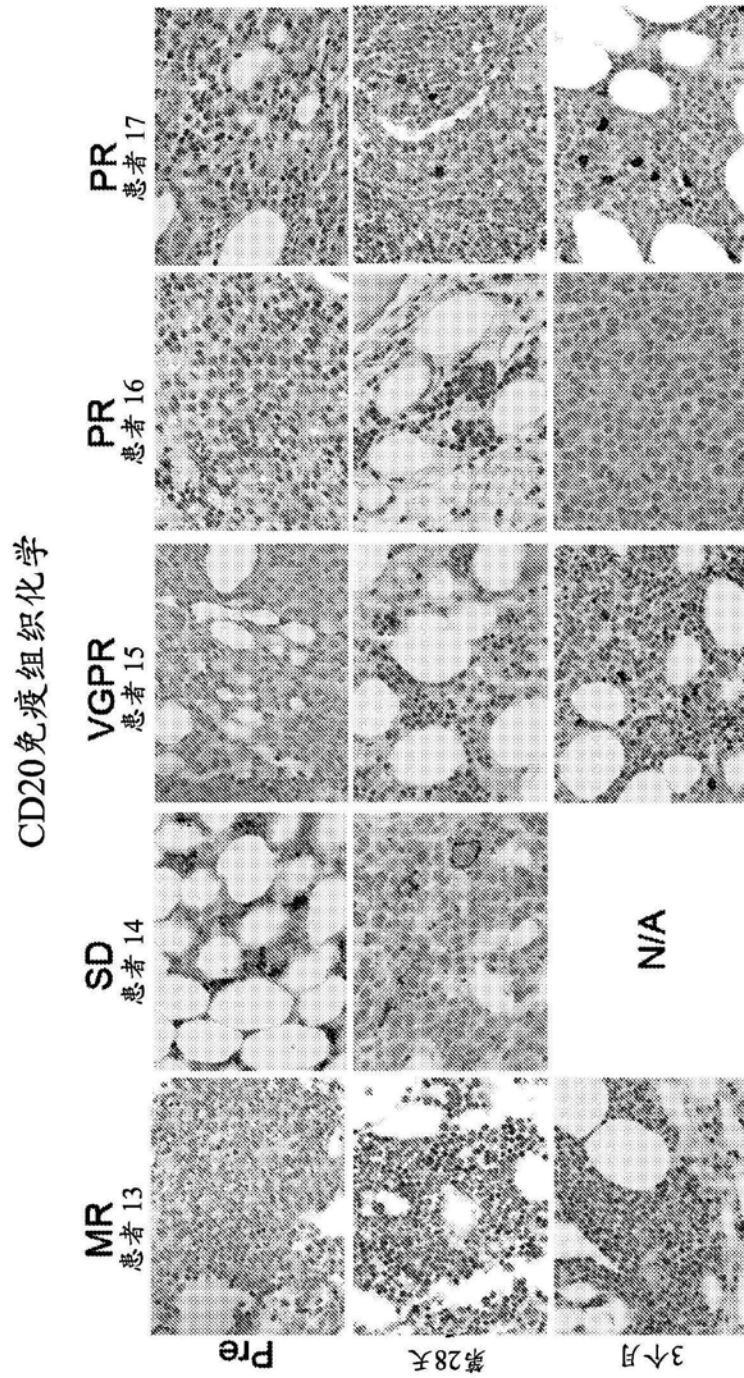


图10

患者15 Pre

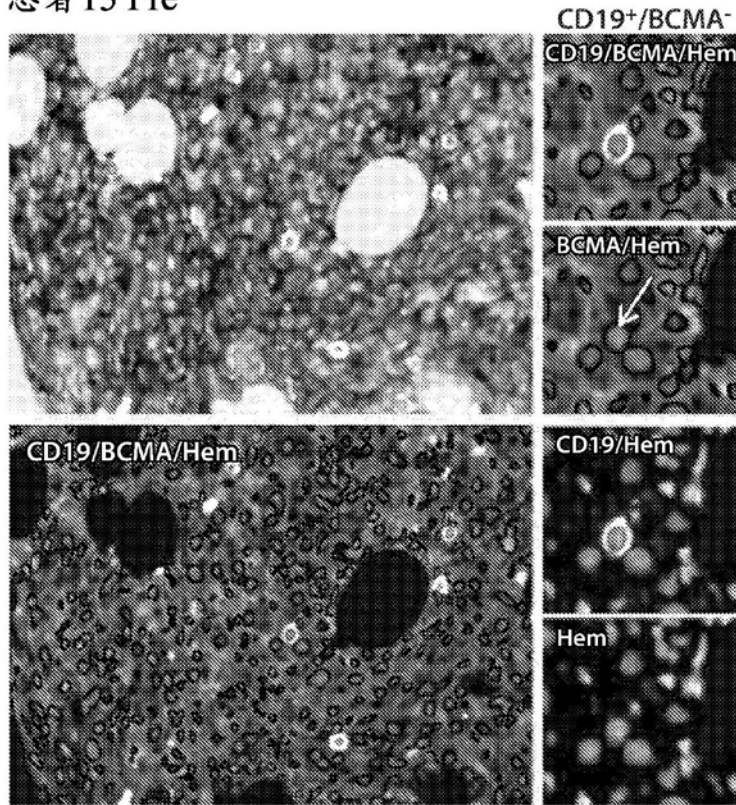


图11A

患者15 3个月

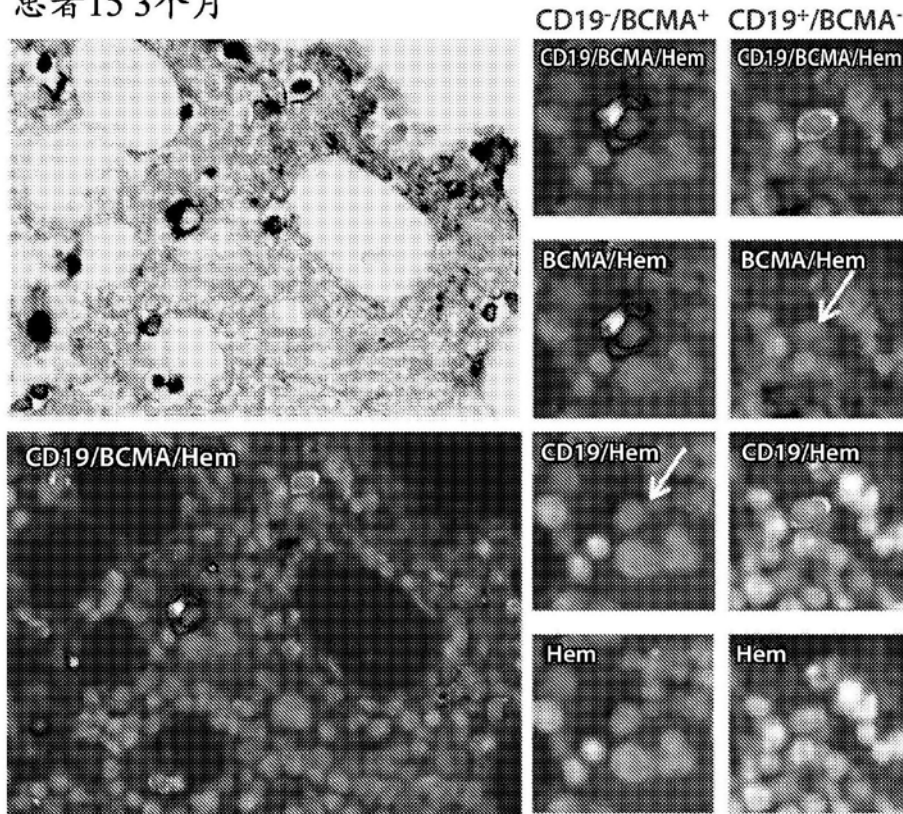


图11B

患者15 Pre

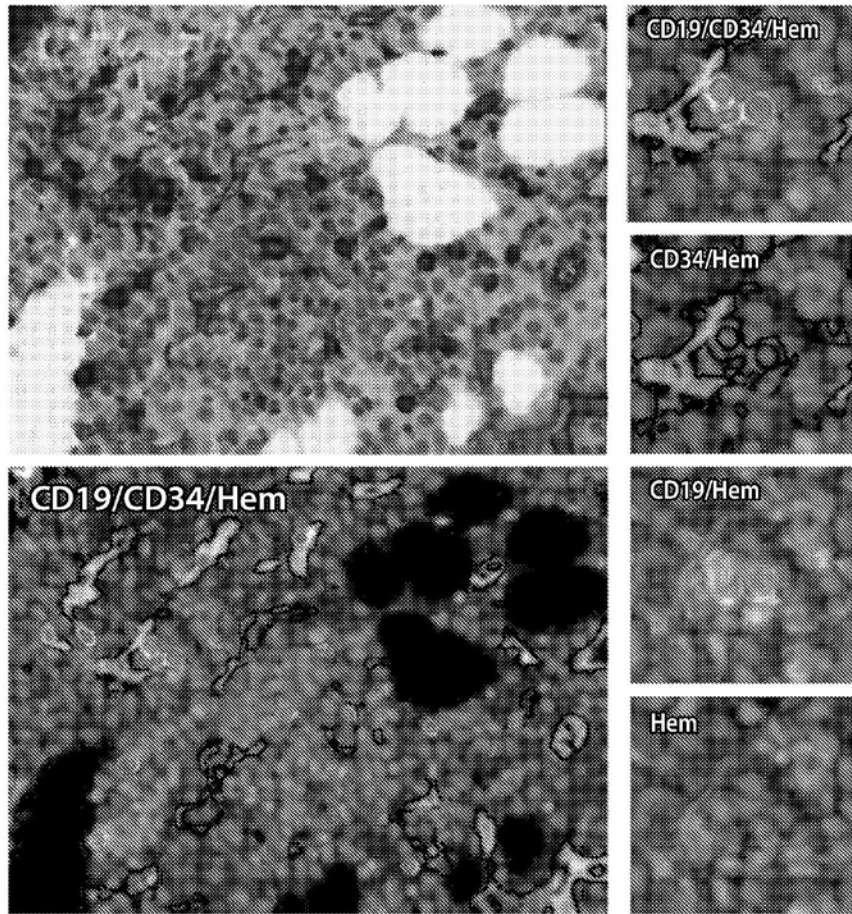


图12A

患者17 Pre

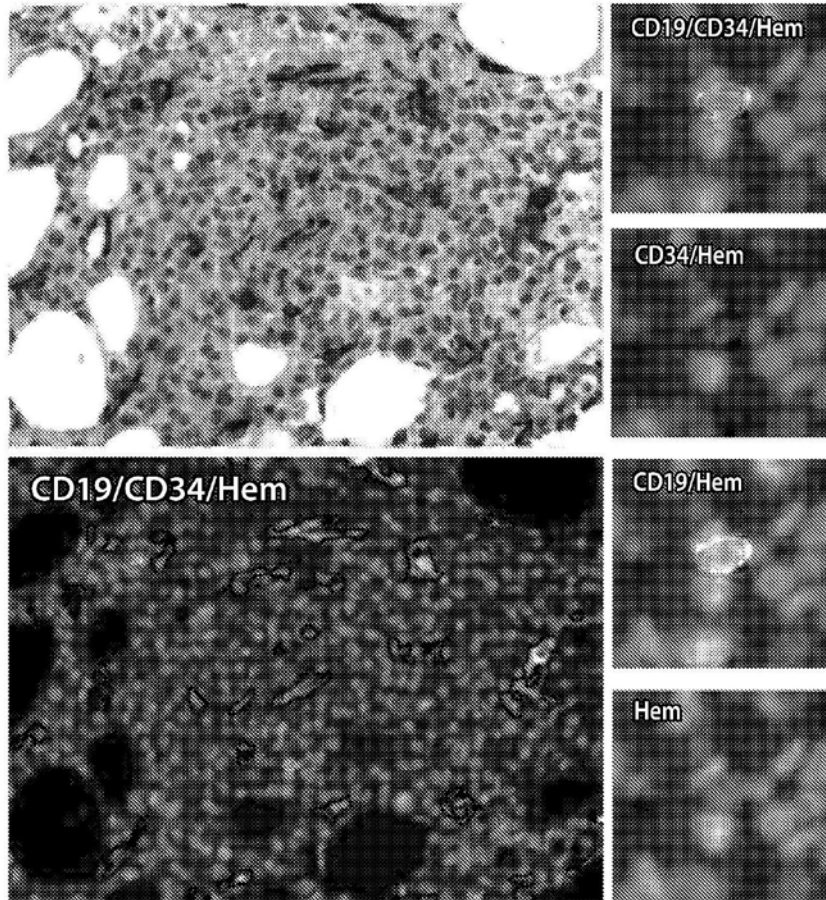


图12B

患者15 Pre

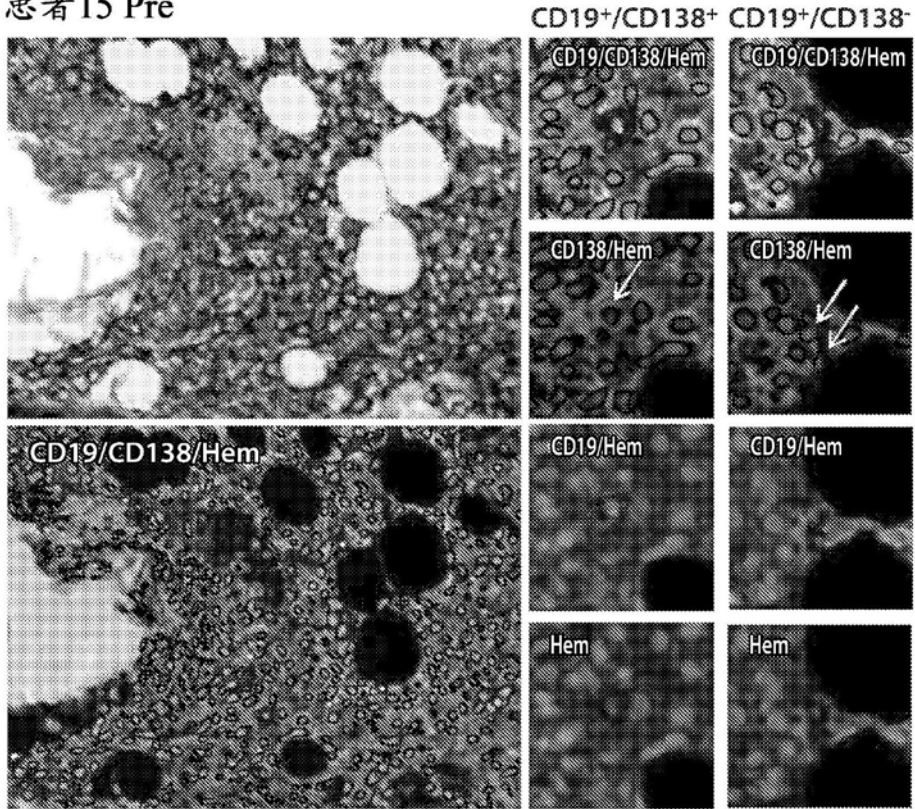


图13

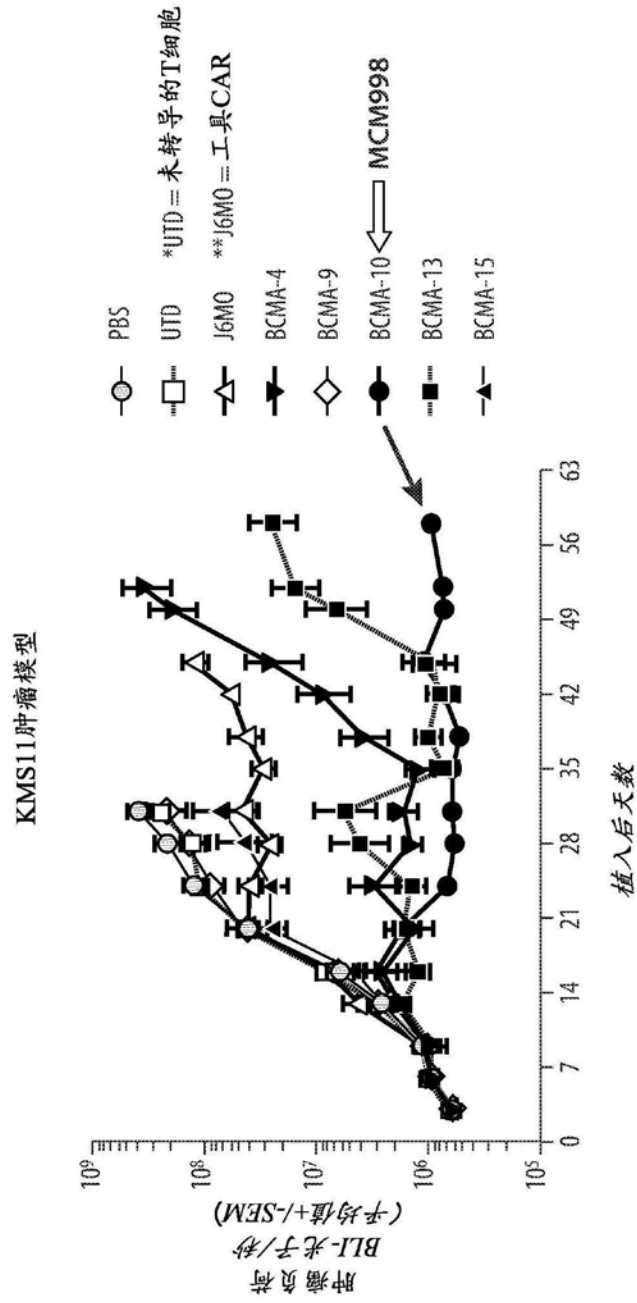


图14

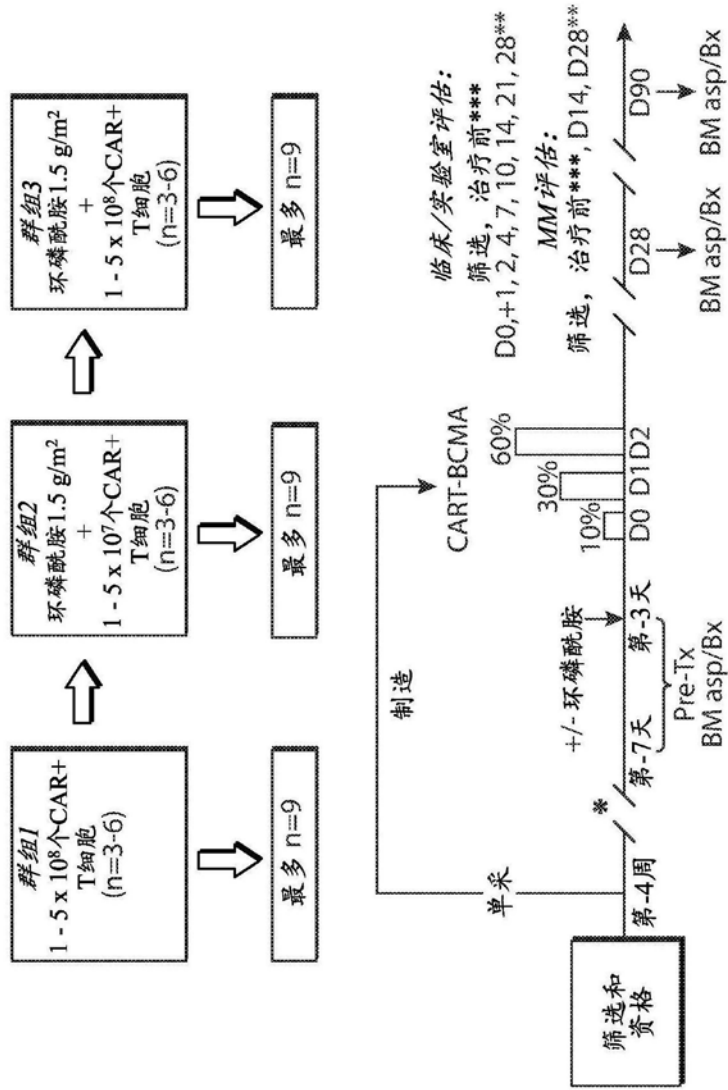


图15

	所有患者 (n=14)	群组1 (n=9)	群组2/3 (n=5)
年龄	55.5 (44-70)	57 (44-70)	54 (51-64)
性别	57%男性; 43%女性	67%男性; 33%女性	40%男性; 60%女性
自诊断起的年数	4.9 (1.8-9.6)	4.9 (1.8-9.6)	4.9 (2.9-9.4)
同种型	IgG (42%), IgA (42%) LC (14%)	IgG (33%), IgA (44%) LC (22%)	IgG (60%), IgA (40%)
既往治疗线	7 (4-11)	9 (4-11)	7 (5-10)
来那度胺	100% (参考值86%)	100% (难治性: 78%)	100% (参考值80%)
硼替佐米	100% (参考值86%)	100% (难治性: 89%)	100% (参考值80%)
泊马度胺	100% (参考值93%)	100% (难治性: 89%)	100% (参考值100%)
卡非佐米	93% (参考值92%)	100%* (难治性: 89%)	80% (参考值80%)
自体干细胞移植	86%	78%	100%
环磷酰胺	100% (参考值71%)	100% (难治性: 67%)	100% (参考值80%)
达雷木单抗	57% (参考值57%)	44% (难治性: 44%)	80% (参考值80%)
抗PD1	29% (参考值29%)	33% (难治性: 33%)	20% (参考值20%)
高风险遗传学 - 17P或TP53突变	100% 64%	100% 67%	100% 60%
髓外疾病	35%	33%	40%
% BM浆细胞	65% (0-95)	80 (15-95)	45% (0-95%)

图16A

中位外周血T细胞计数 (个细胞/ μ L)

	群组1 (n=9)	群组2/3 (n=5)
单采前	CD3: 325 (171 - 1134) CD4: 182 (42 - 519) CD8: 149 (80 - 600)	CD3: 633 (295 - 1231) CD4: 371 (129 - 518) CD8: 395 (168 - 706)
环磷酰胺前		CD3: 423 (237 - 646) CD4: 158 (95 - 296) CD8: 277 (140 - 343)
第0天	CD3: 258 (117 - 1354) CD4: 169 (36 - 497) CD8: 126 (66 - 832)	CD3: 138 (79 - 261) CD4: 62 (42 - 131) CD8: 84 (37 - 161)

图16B

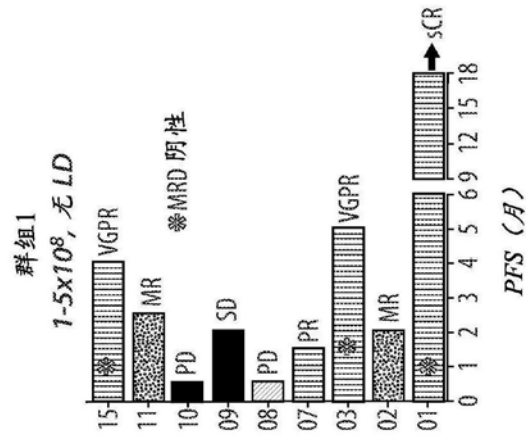


图17A

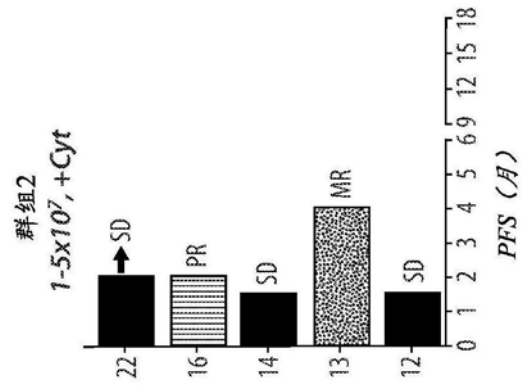


图17B

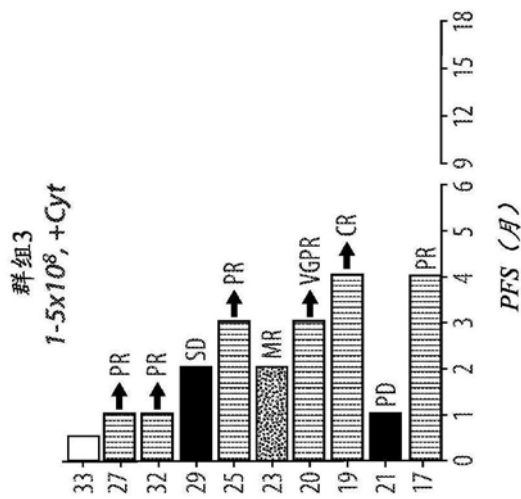


图17C

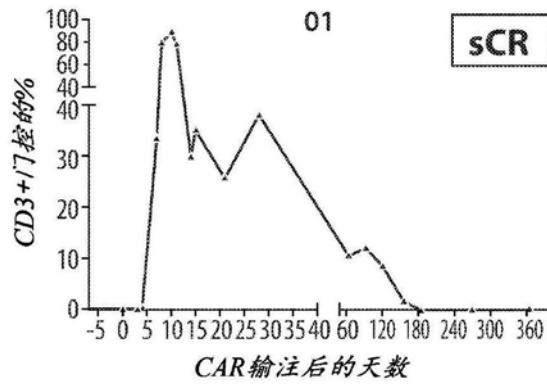


图18A-1

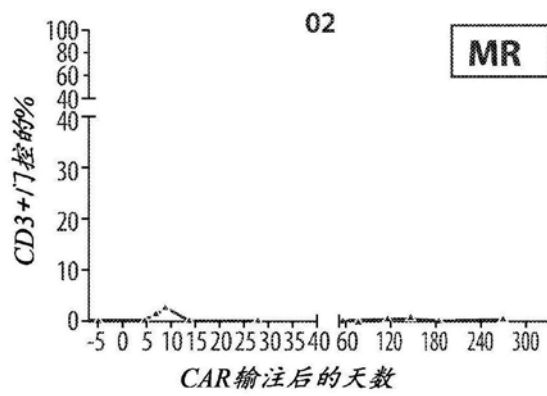


图18A-2

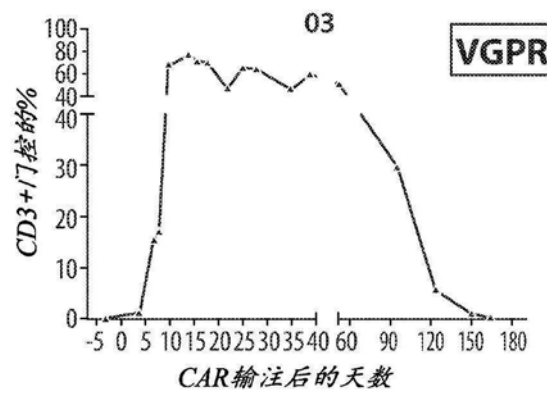


图18A-3

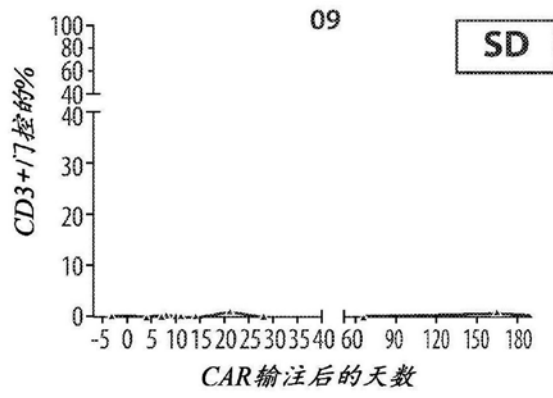


图18A-4

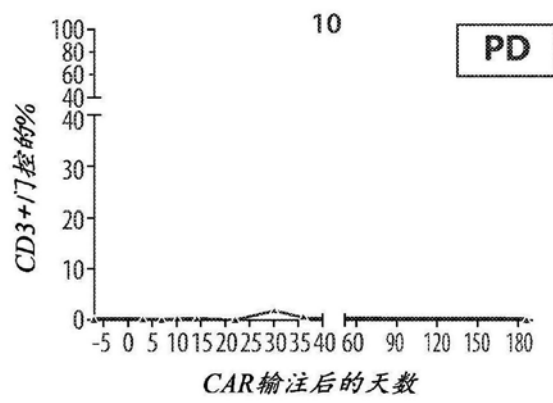


图18A-5

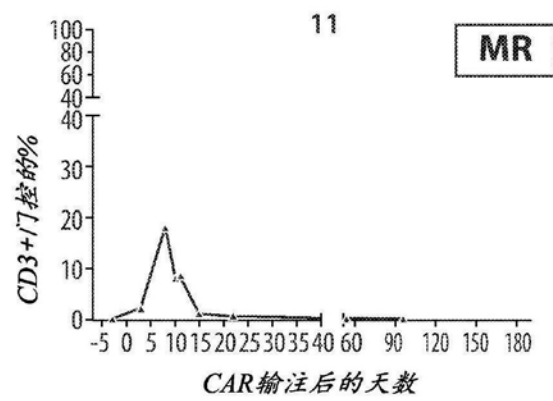


图18A-6

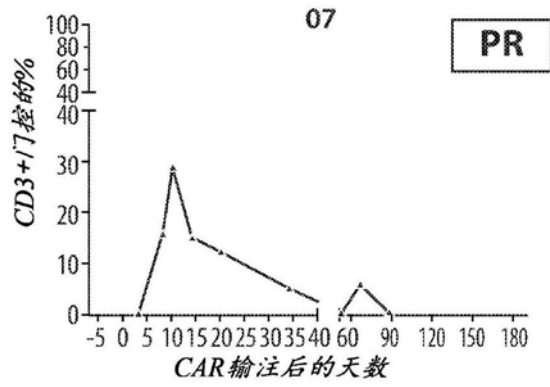


图18A-7

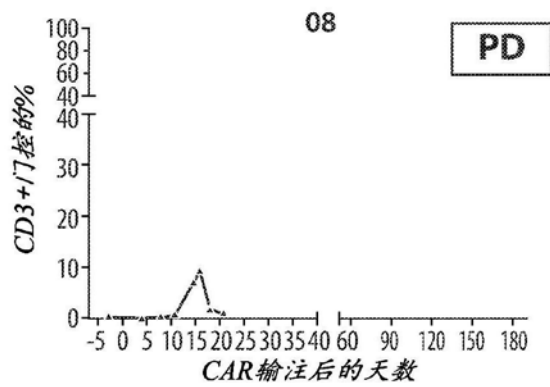


图18A-8

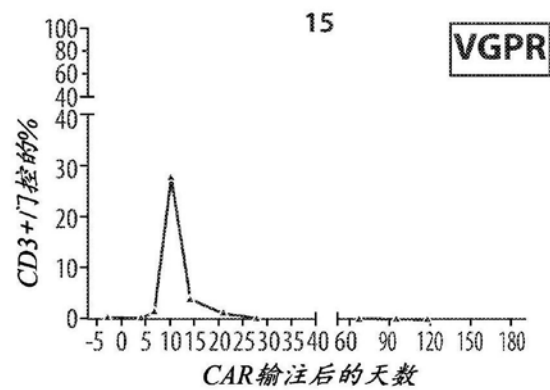


图18A-9

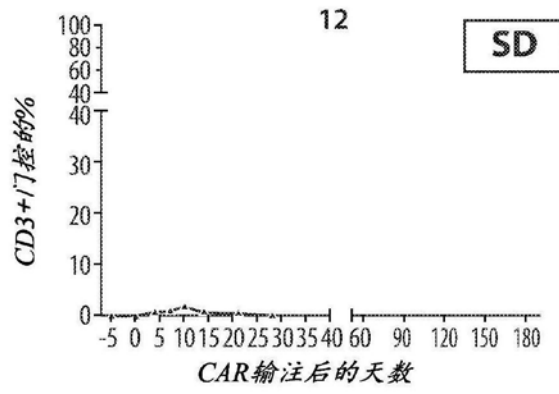


图18B-1

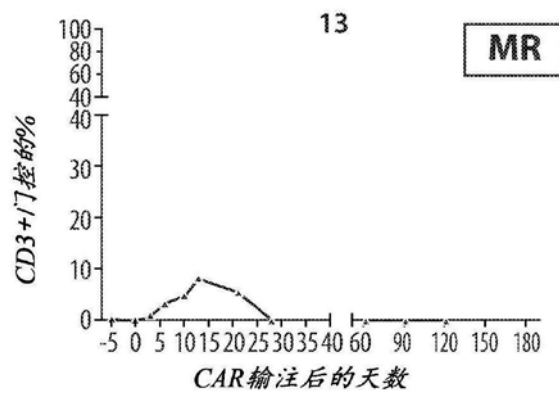


图18B-2

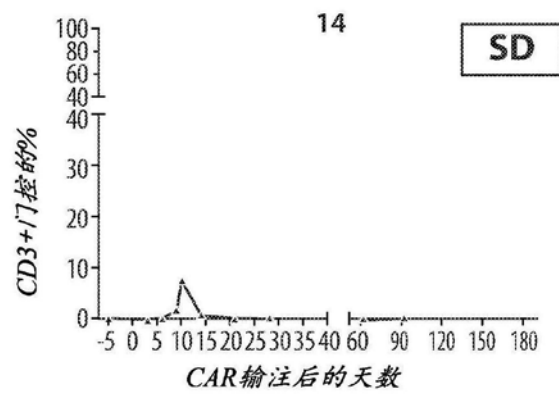


图18B-3

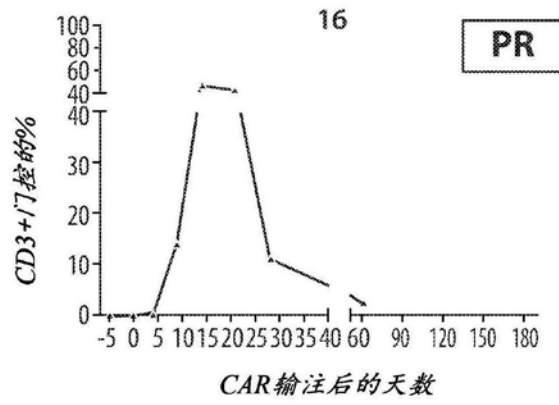


图18B-4

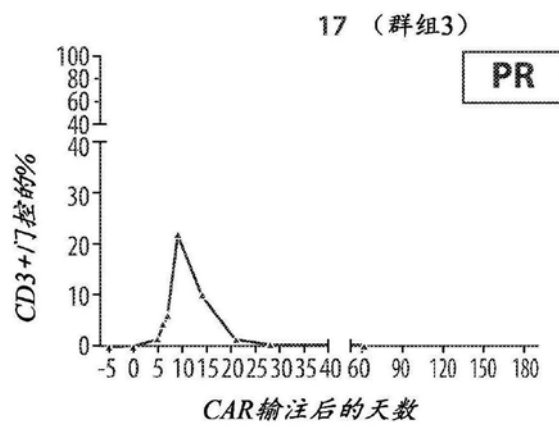


图18B-5

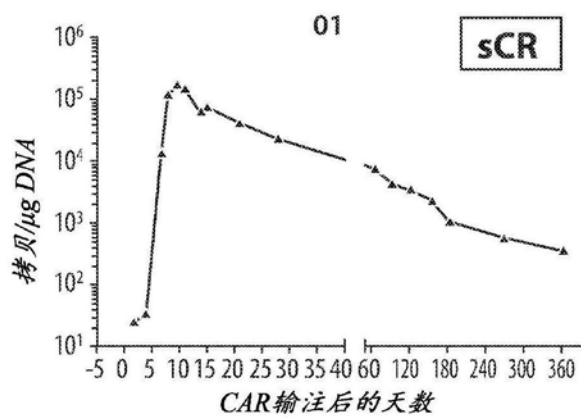


图19A-1

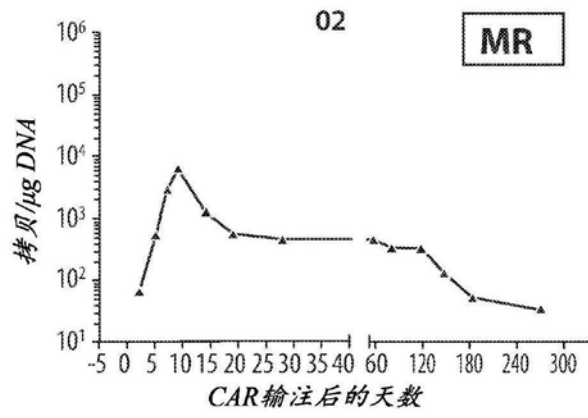


图19A-2

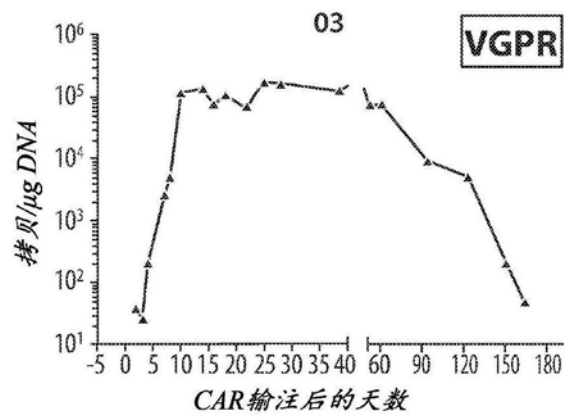


图19A-3

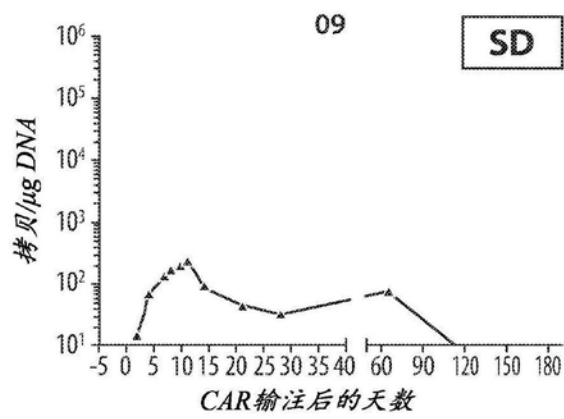


图19A-4

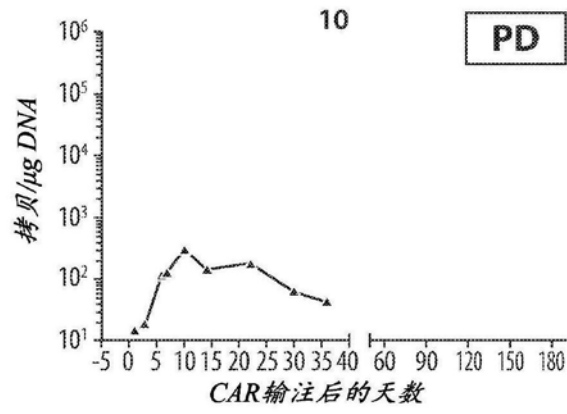


图19A-5

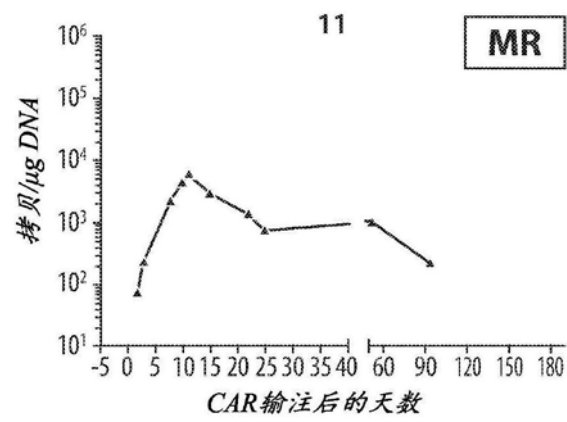


图19A-6

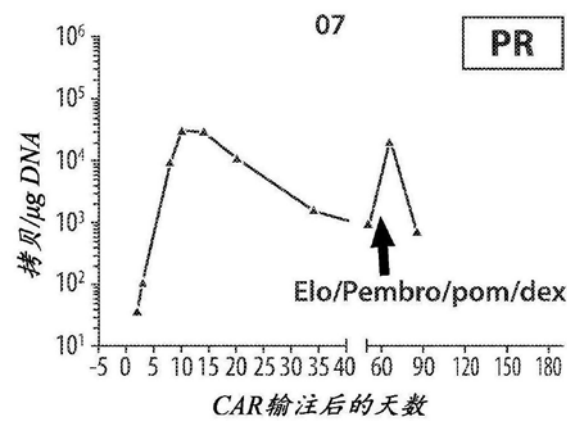


图19A-7

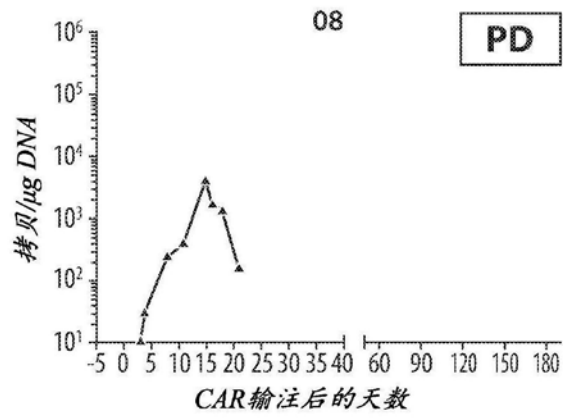


图19A-8

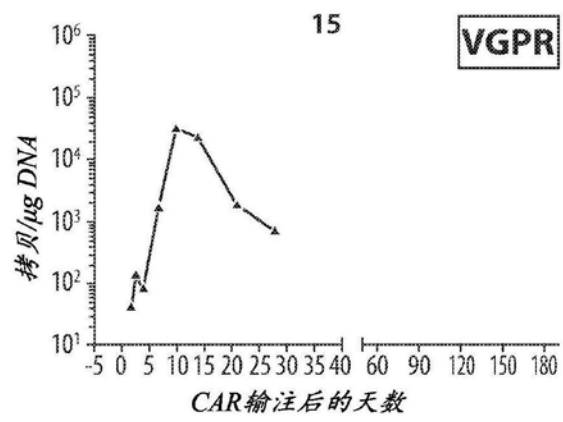


图19A-9

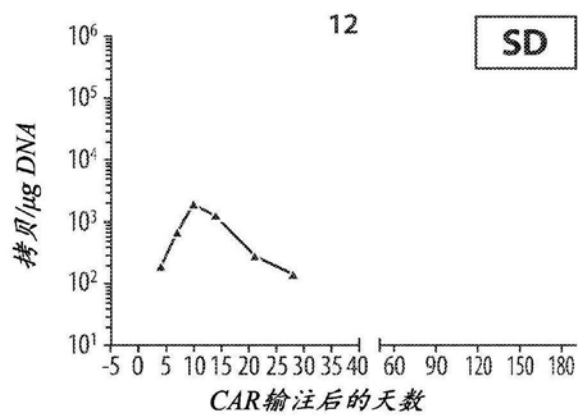


图19B-1

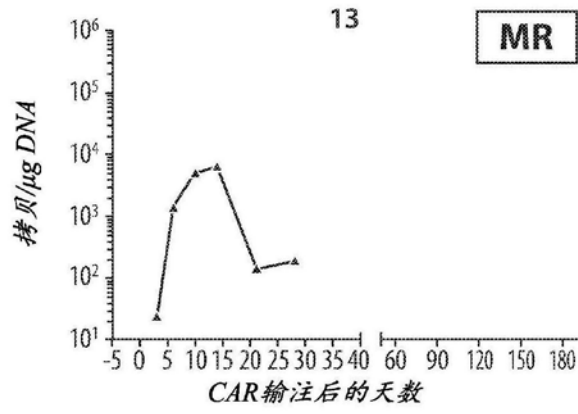


图19B-2

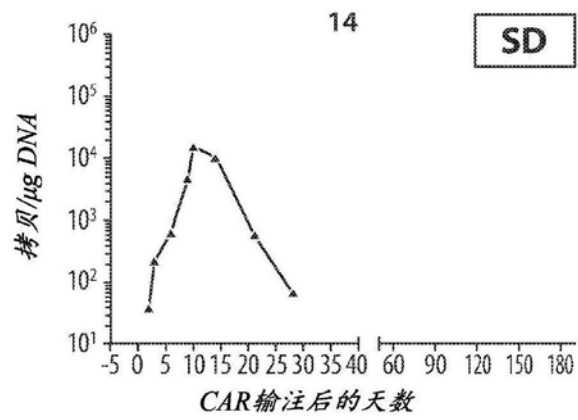


图19B-3

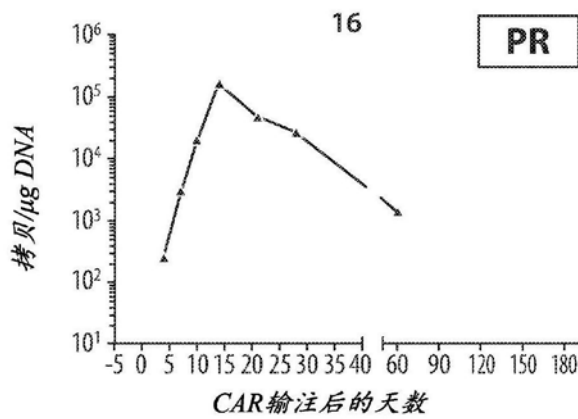


图19B-4

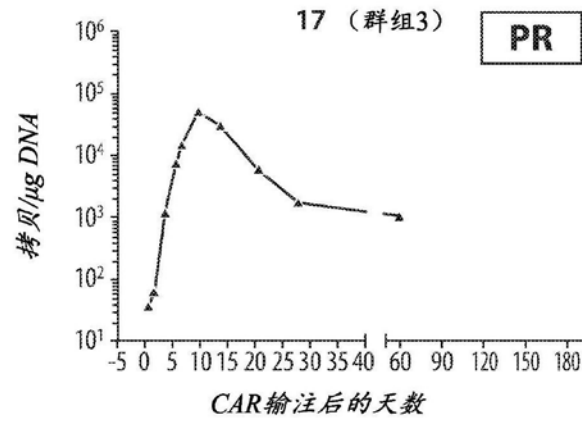


图19B-5

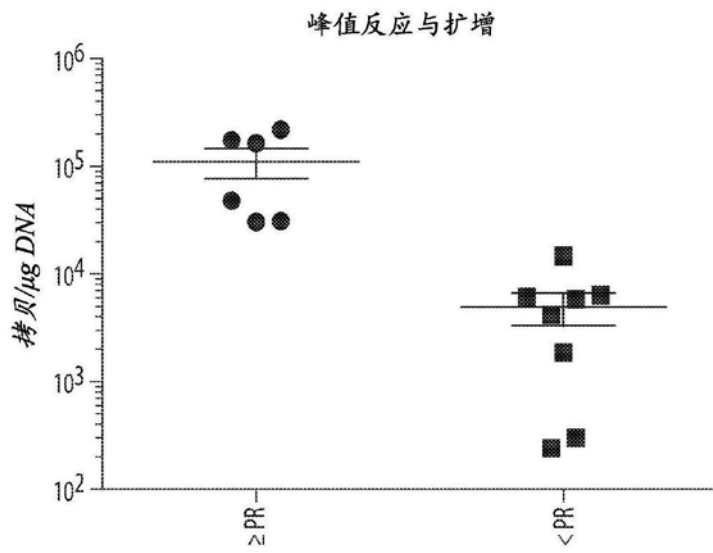


图20A

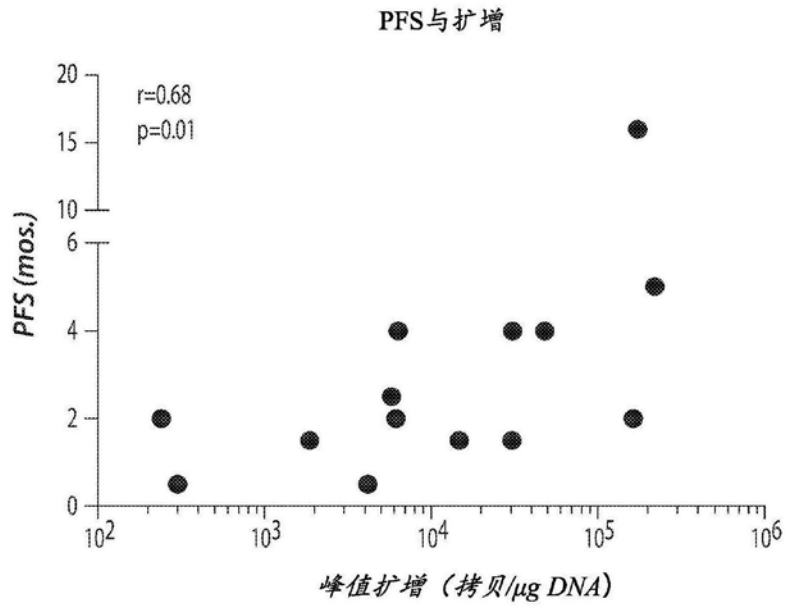


图20B

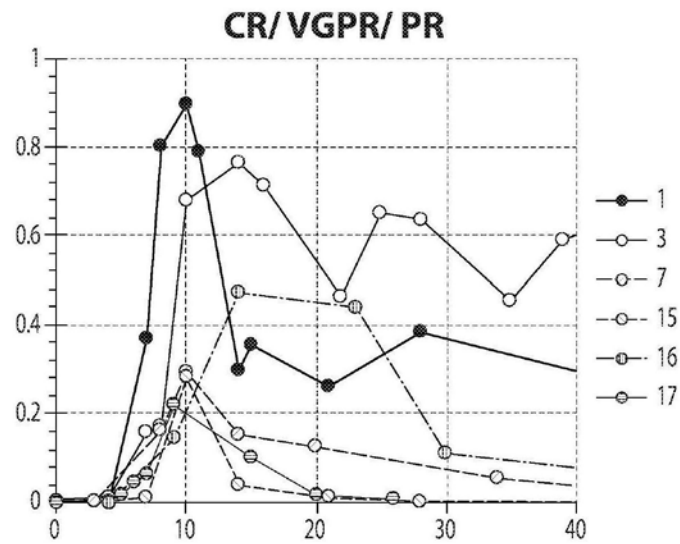


图21A

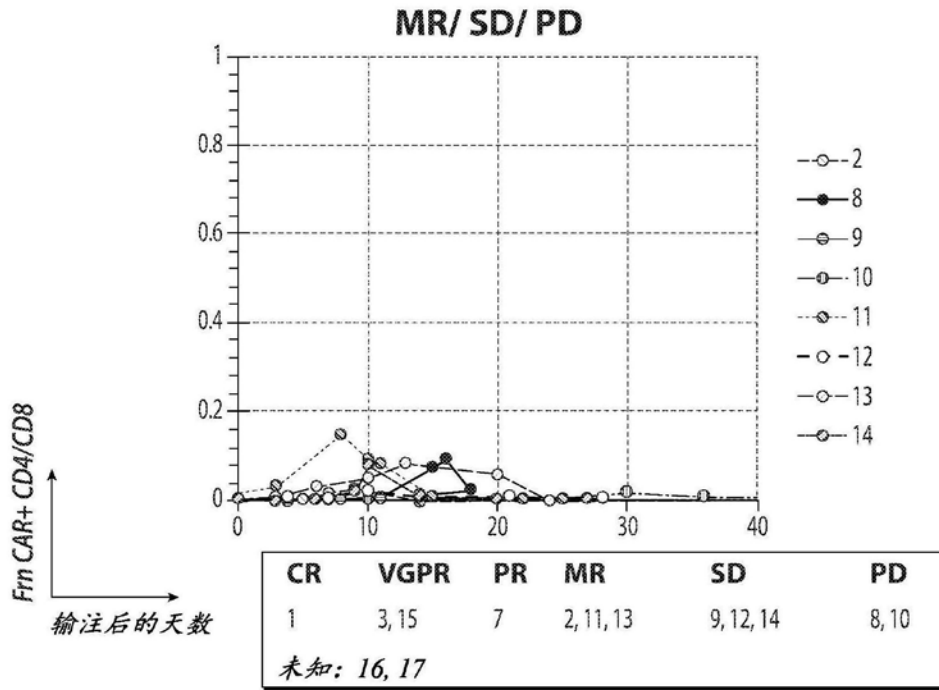


图21B

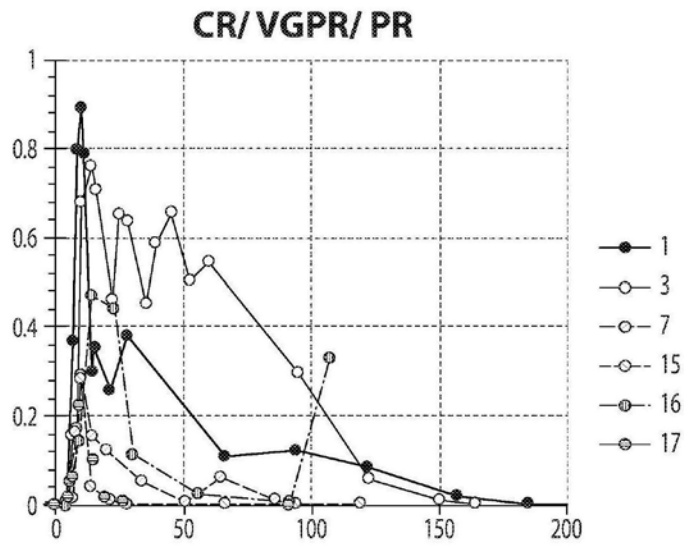


图21C

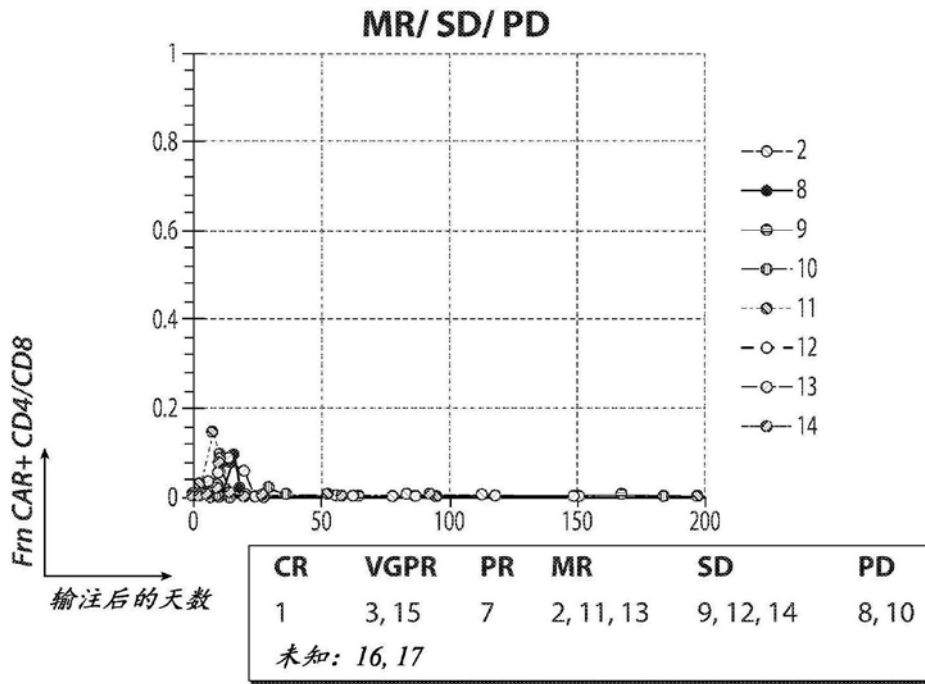


图21D

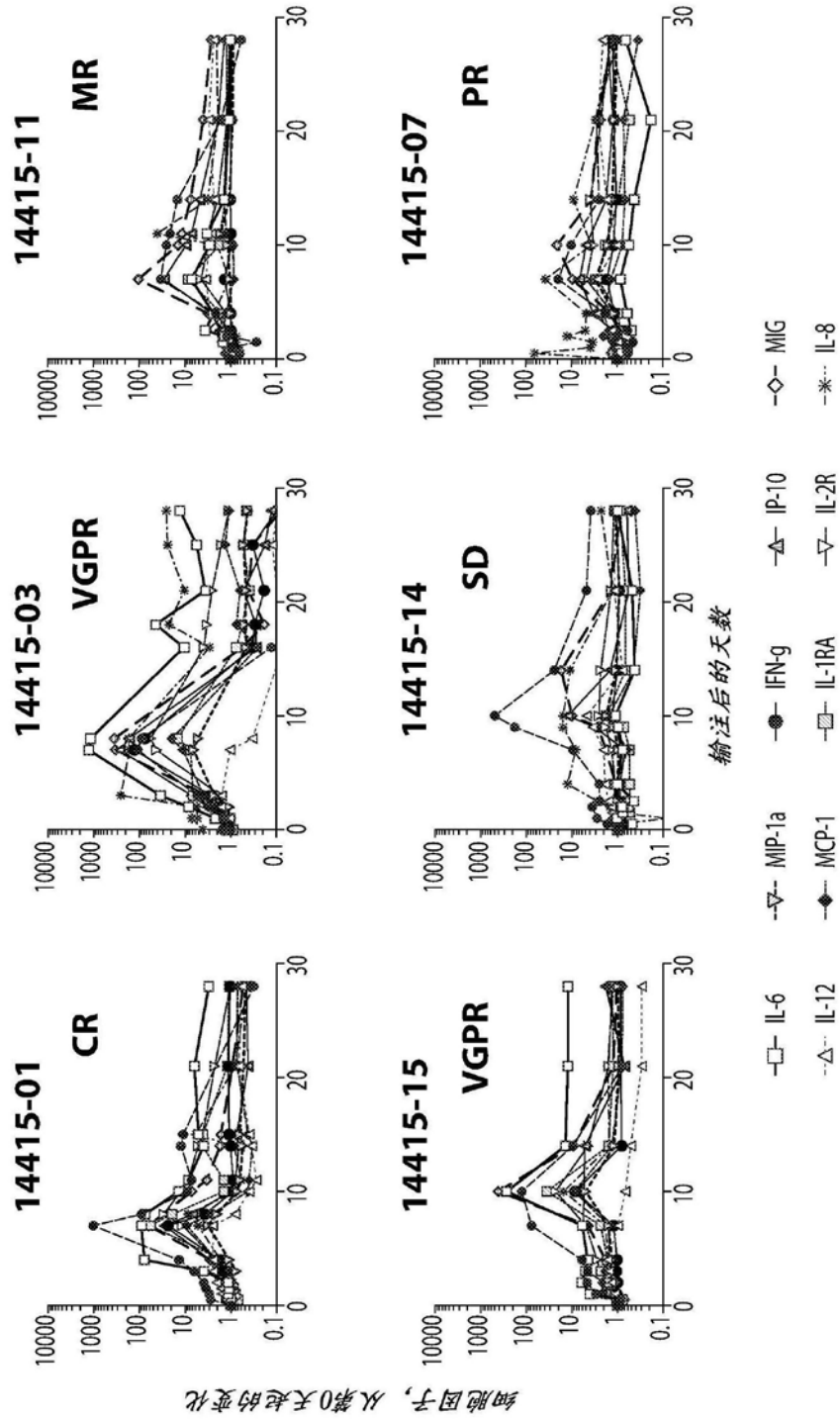


图22-1

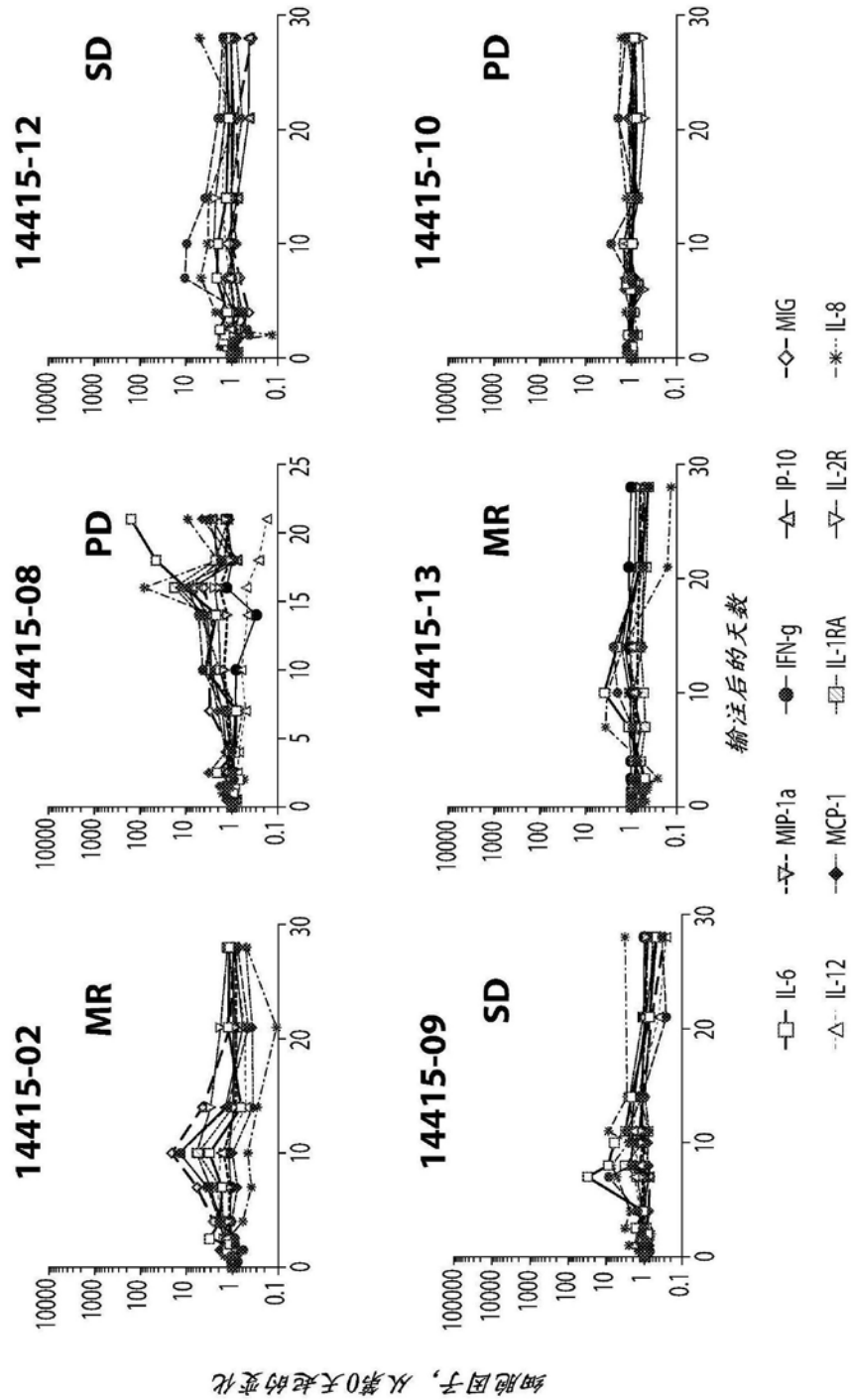


图22-2

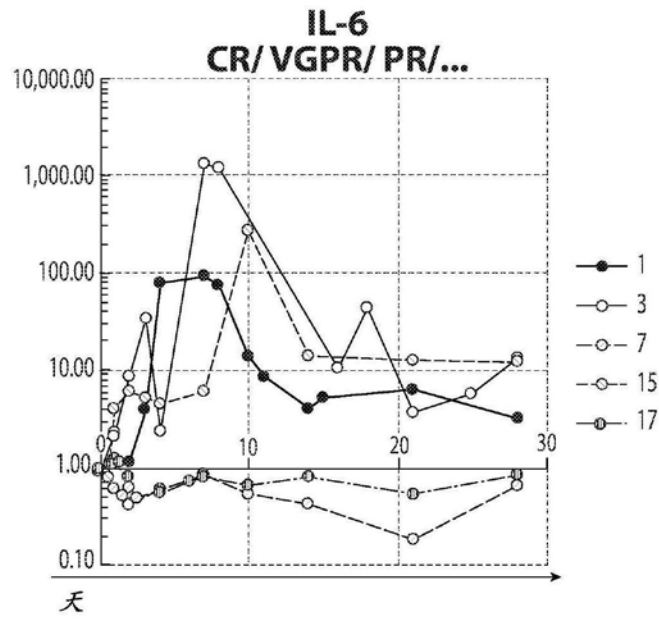


图23A

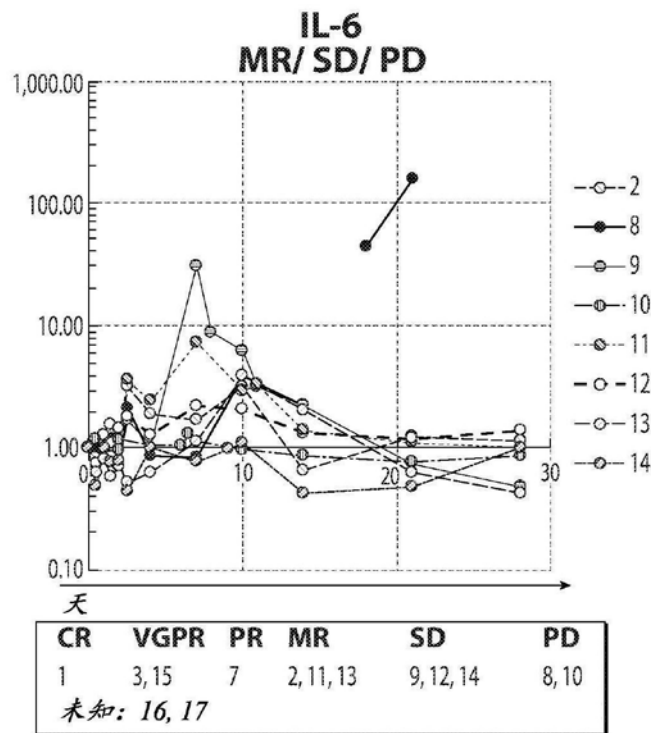


图23B

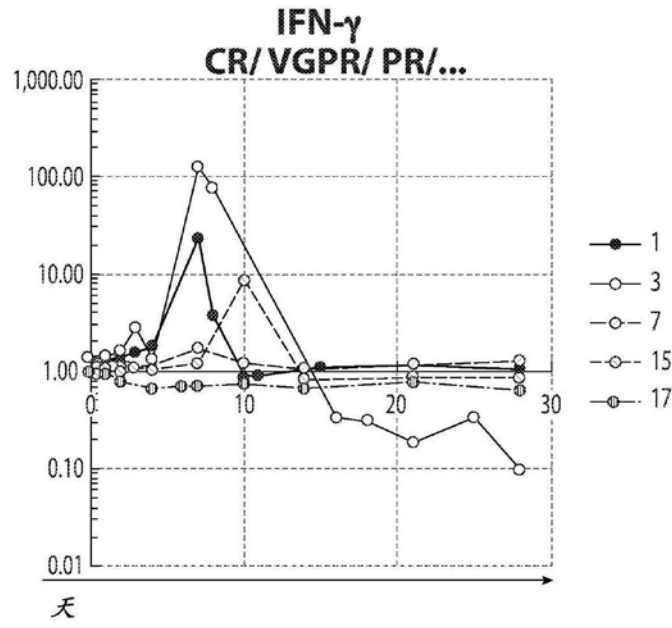


图24A

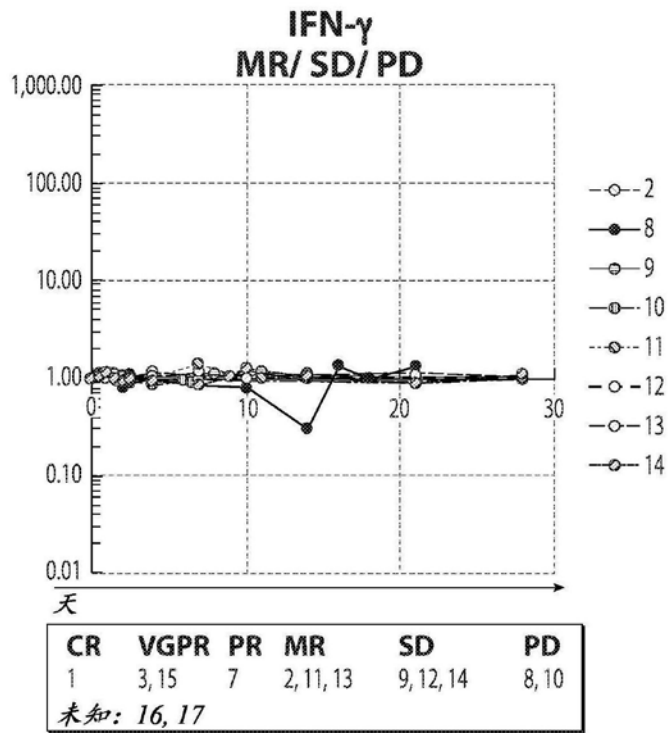


图24B

14名正常供体中的血清BCMA水平

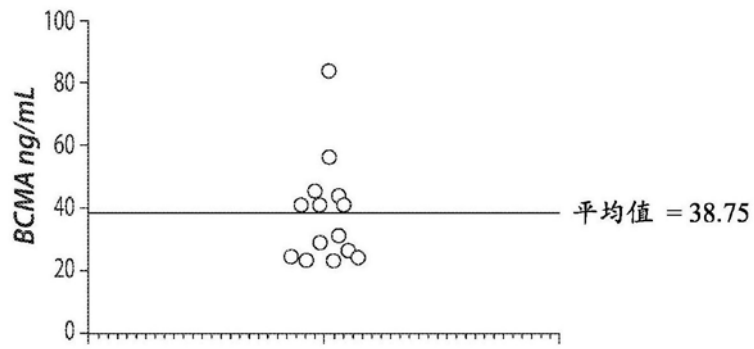


图25A

12名骨髓瘤患者中的血清BCMA水平 (基线)

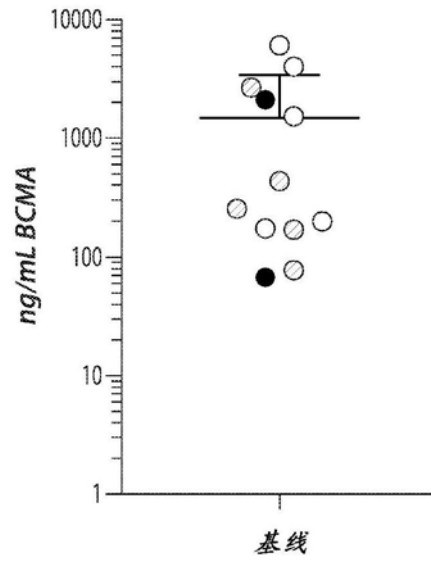


图25B

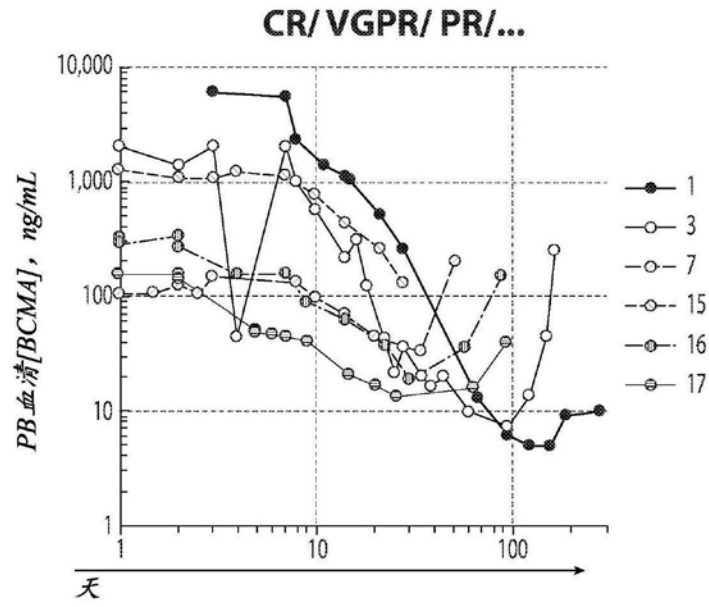
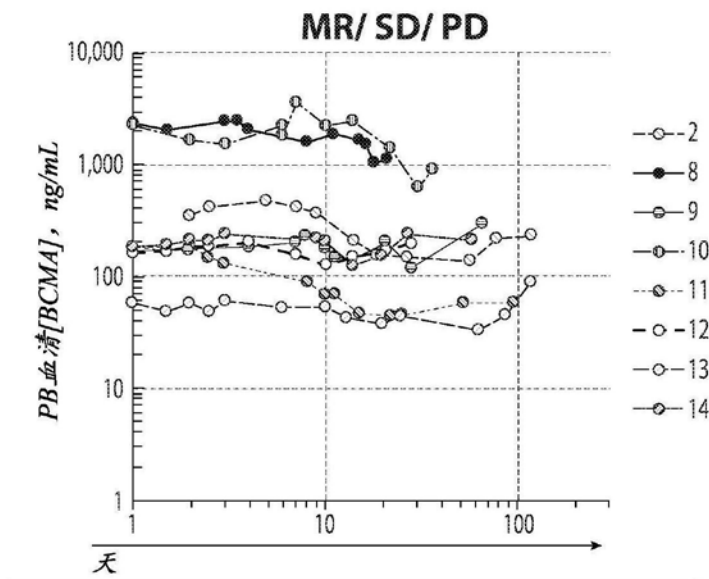


图26A



CR	VGPR	PR	MR	SD	PD
1	3, 15	7	2, 11, 13	9, 12, 14	8, 10
未知: 16, 17					

图26B

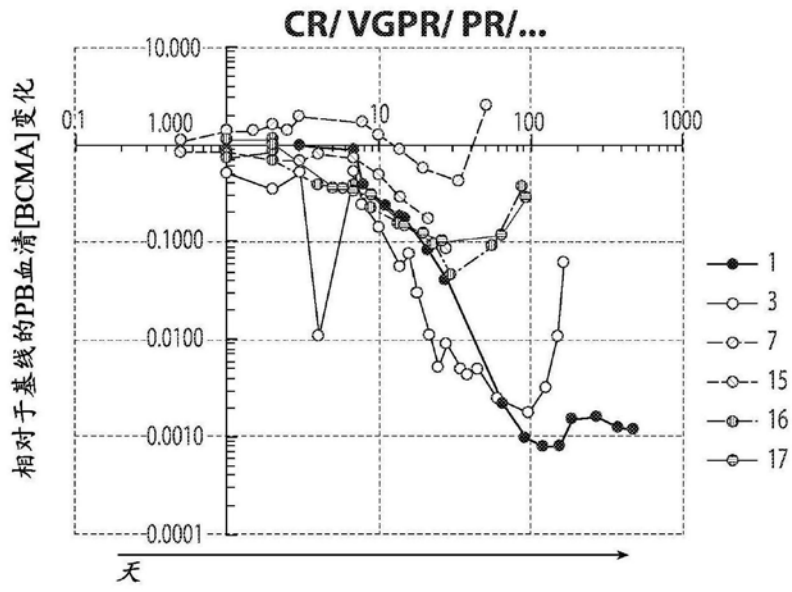
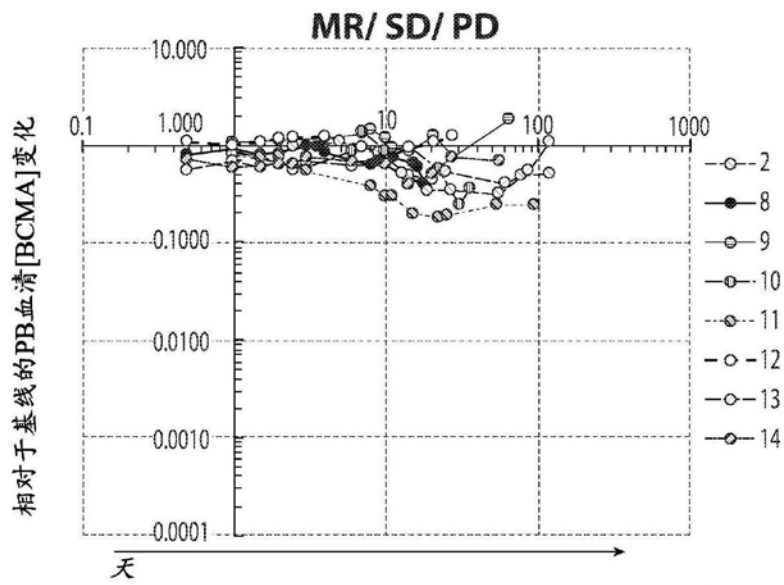


图26C



CR	VGPR	PR	MR	SD	PD
1	3, 15	7	2, 11, 13	9, 12, 14	8, 10
未知: 16, 17					

图26D

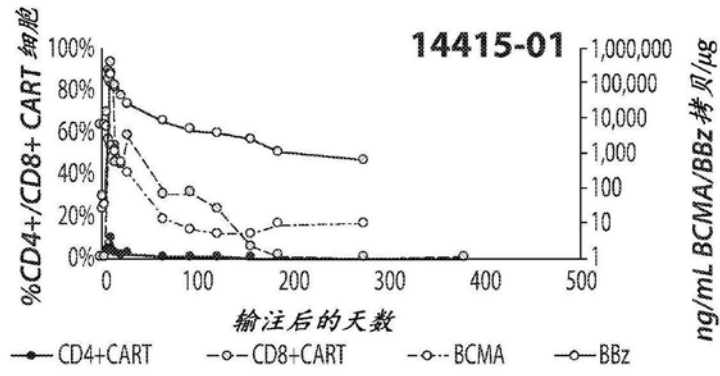


图27A

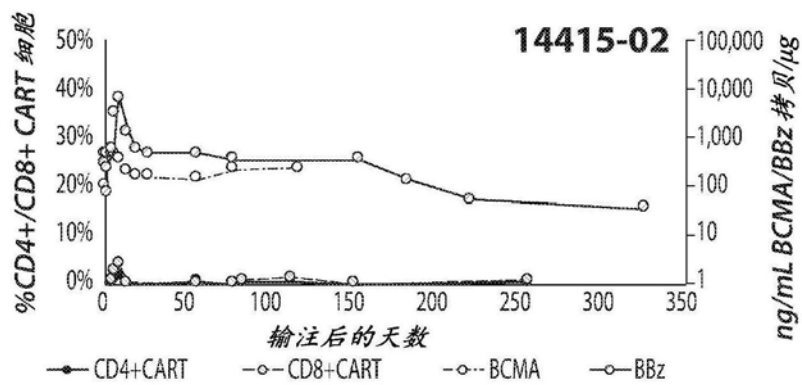


图27B

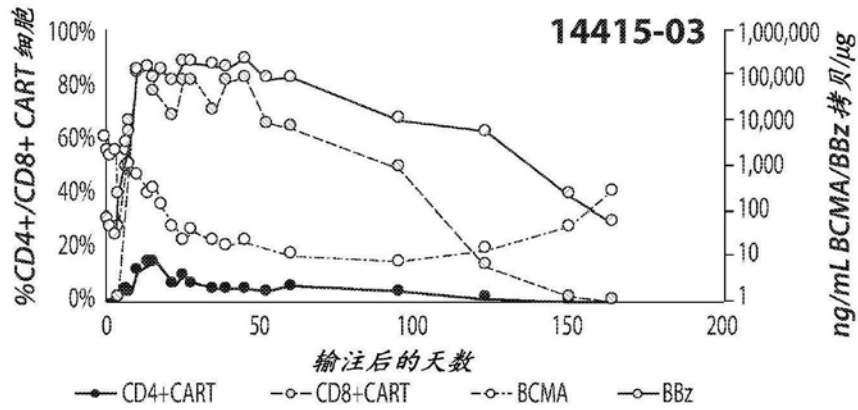


图27C

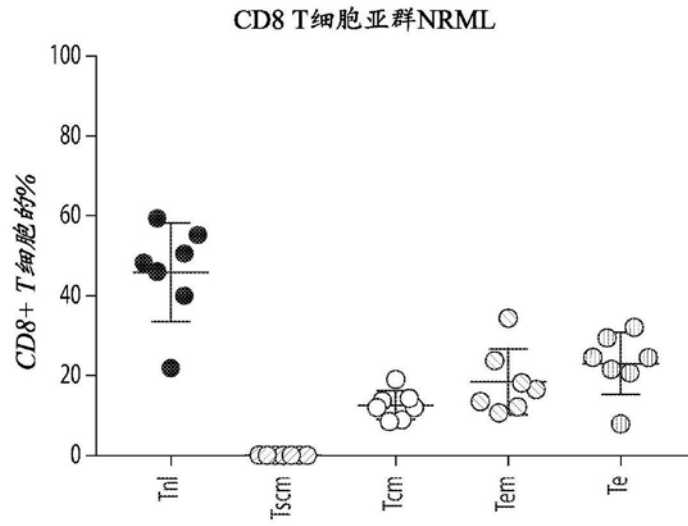


图28C

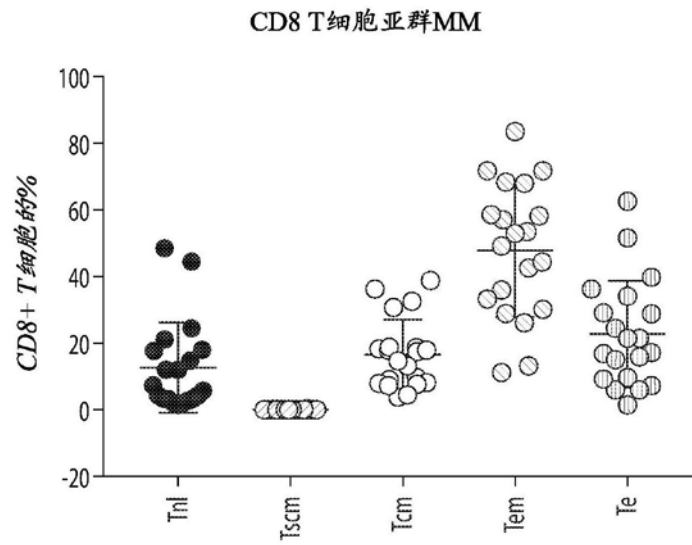


图28D

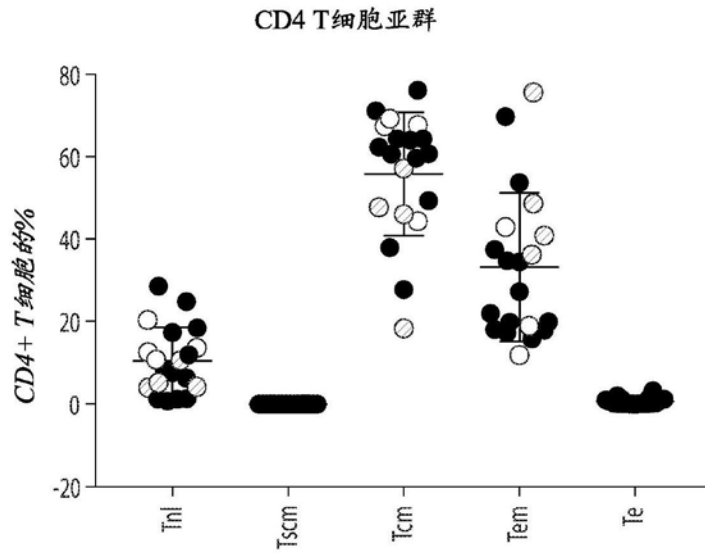


图28E

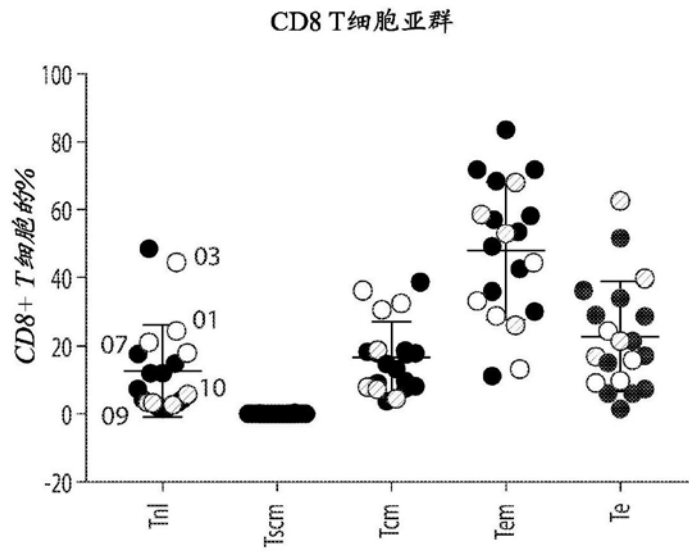


图28F

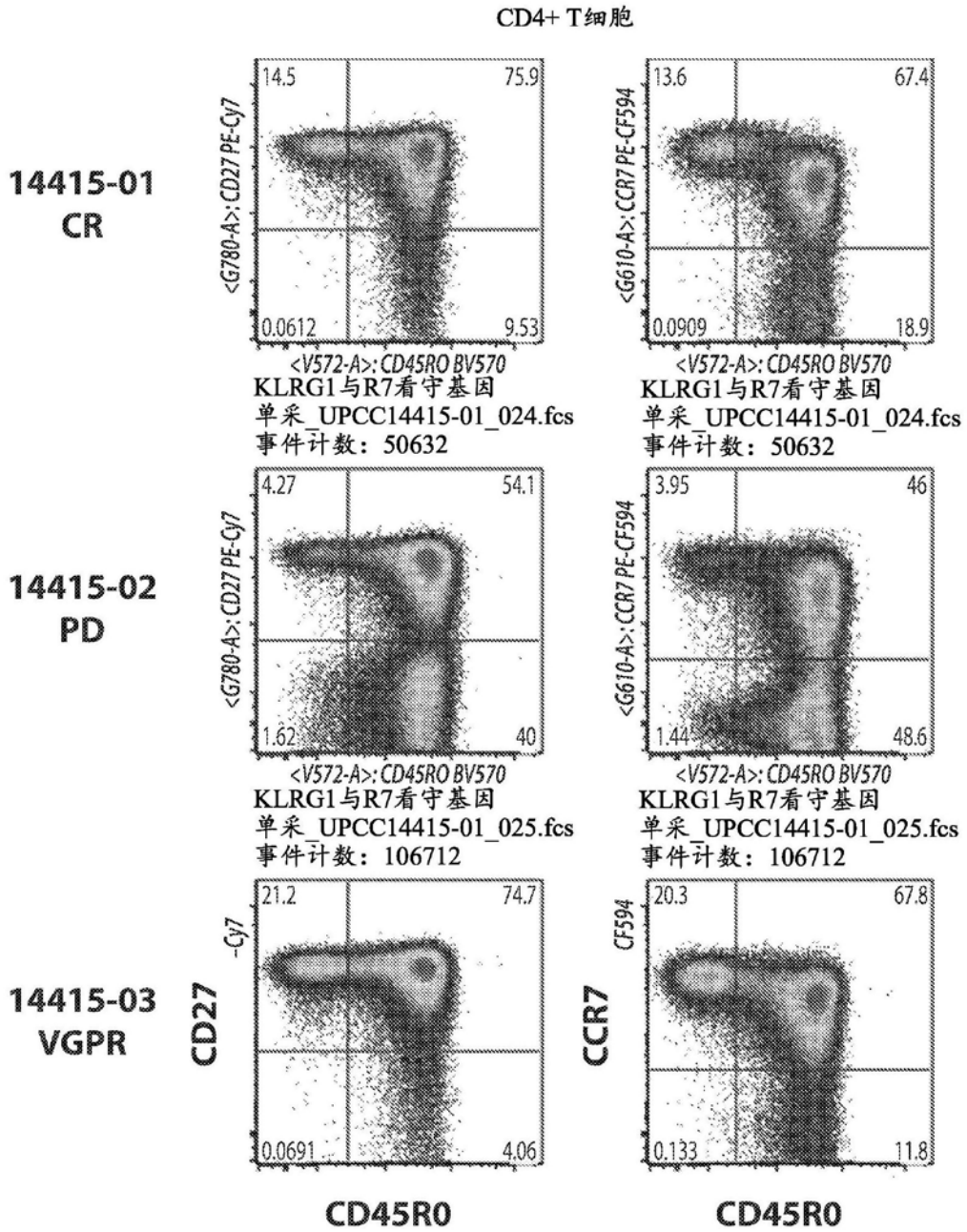


图29-1

CD8+ T细胞

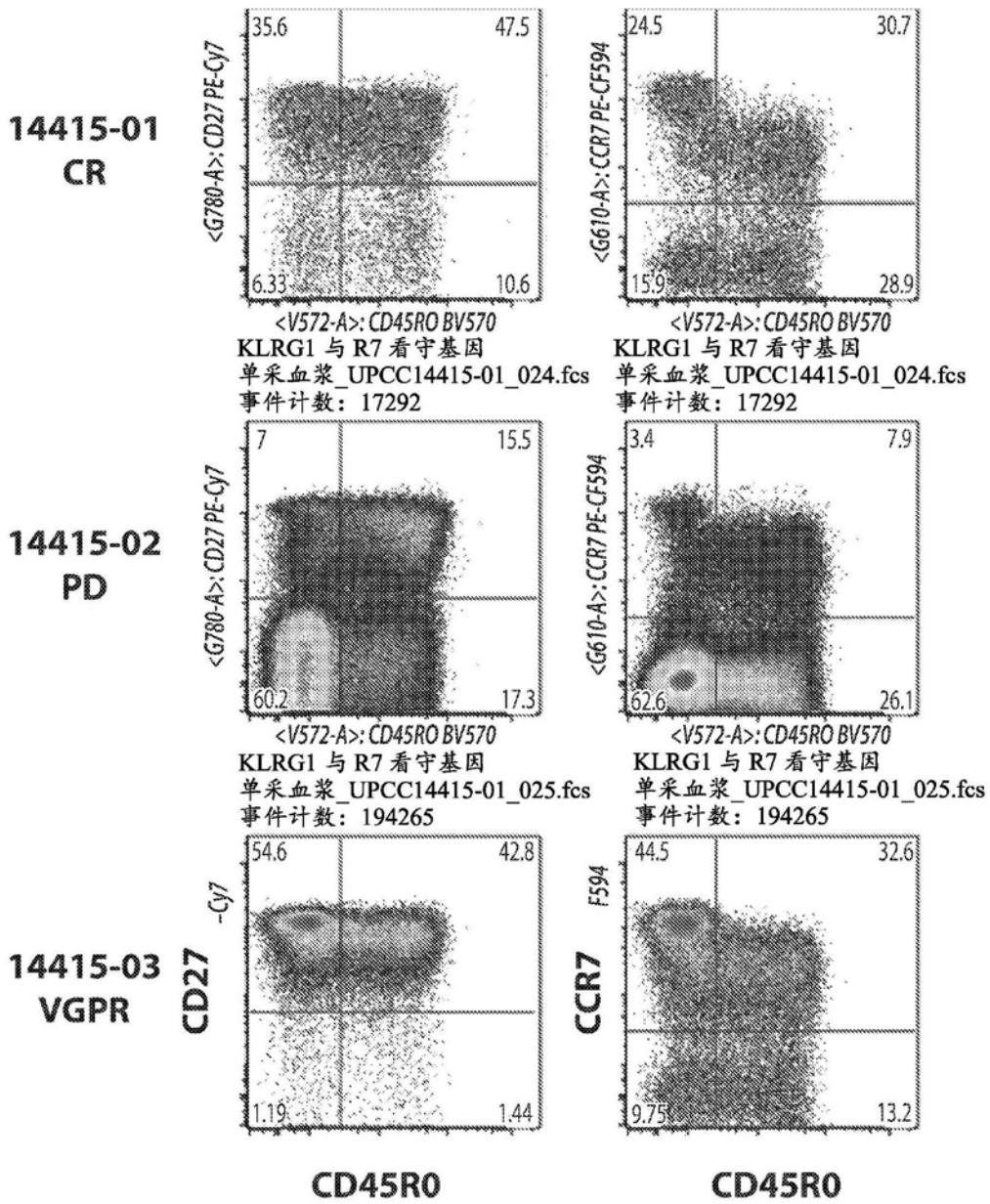


图29-2

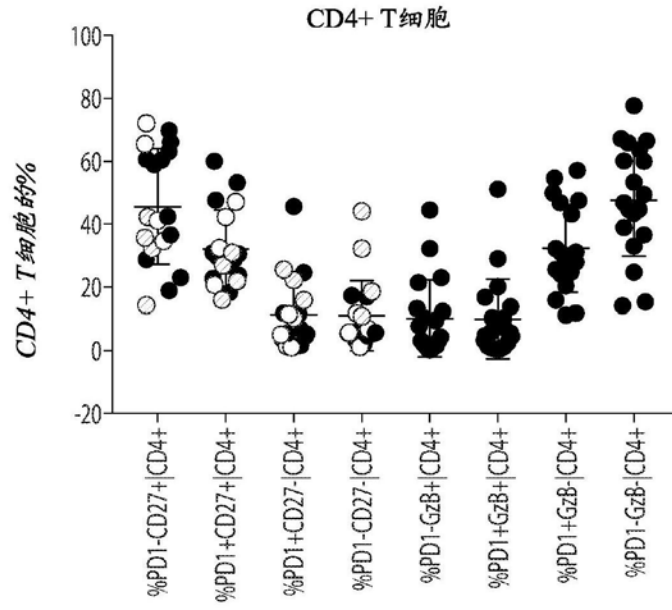


图30A

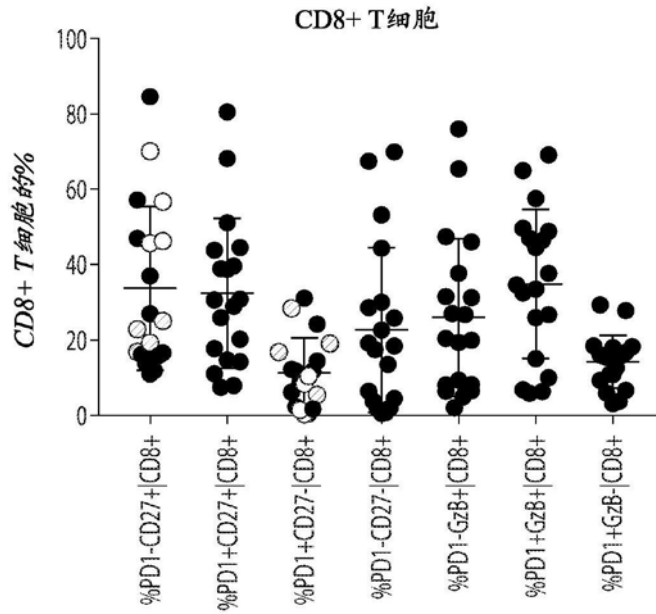
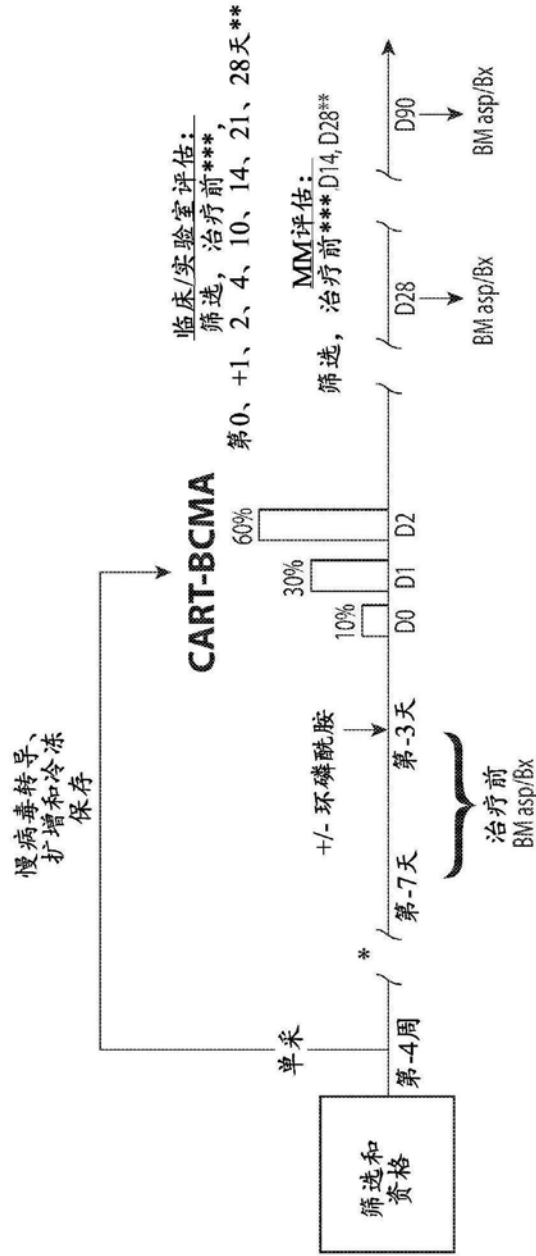


图30B



*患者在制造过程中可接受治疗以维持疾病控制
 **在前28天后, 随访每4周一次直至6个月, 然后每3个月一次直至2年
 *** Pre-tx=治疗前, CAR T细胞输注前3至7天

图31

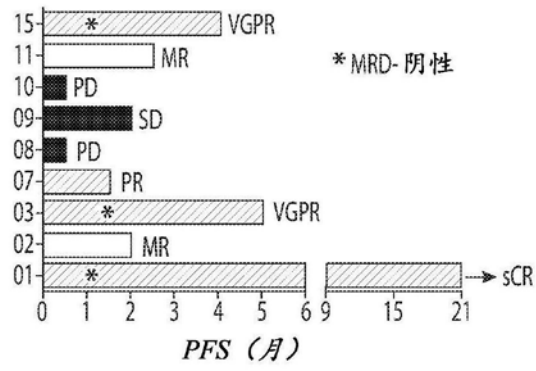


图32A

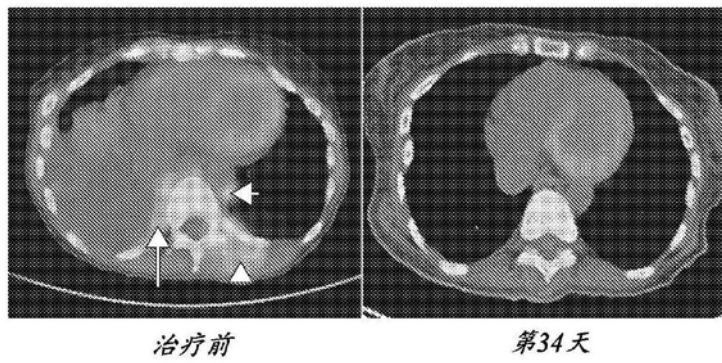


图32B

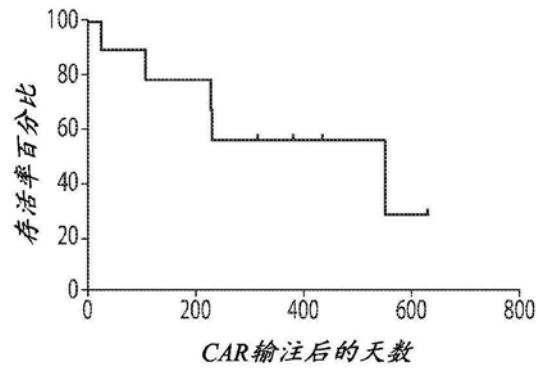


图32C

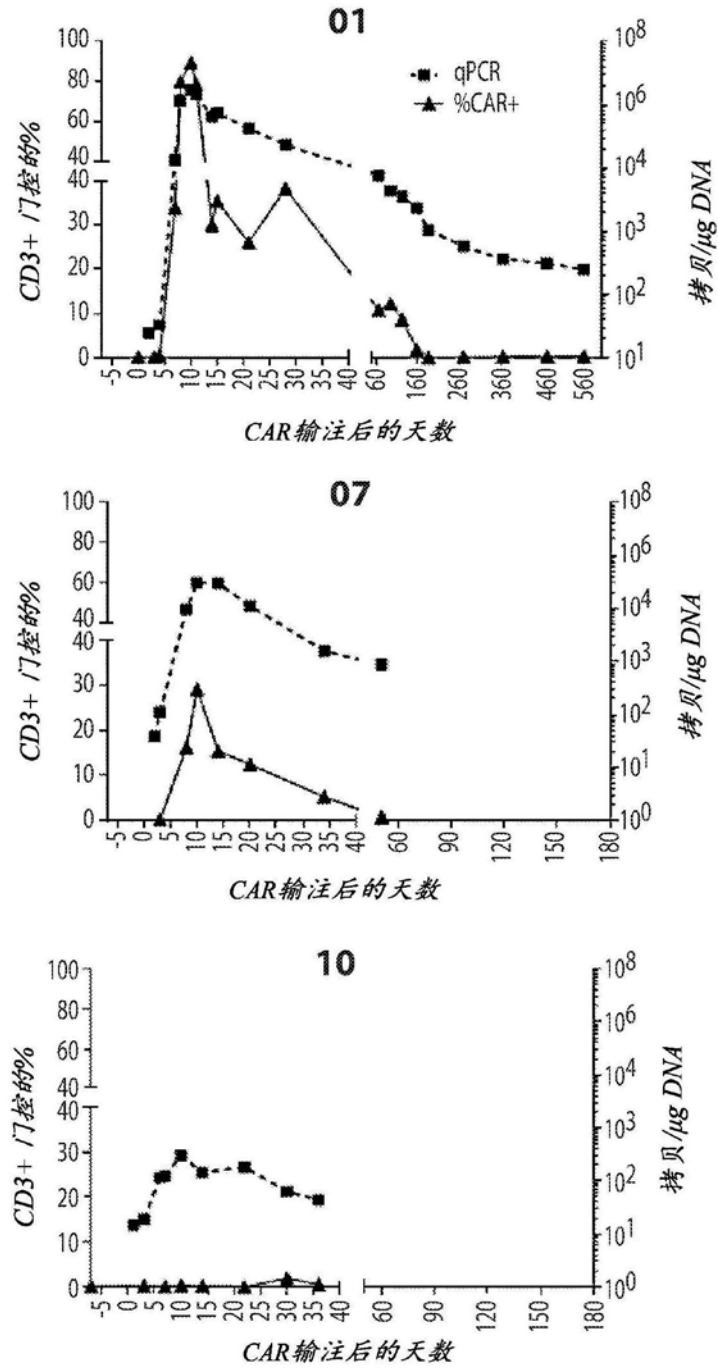


图33A-1

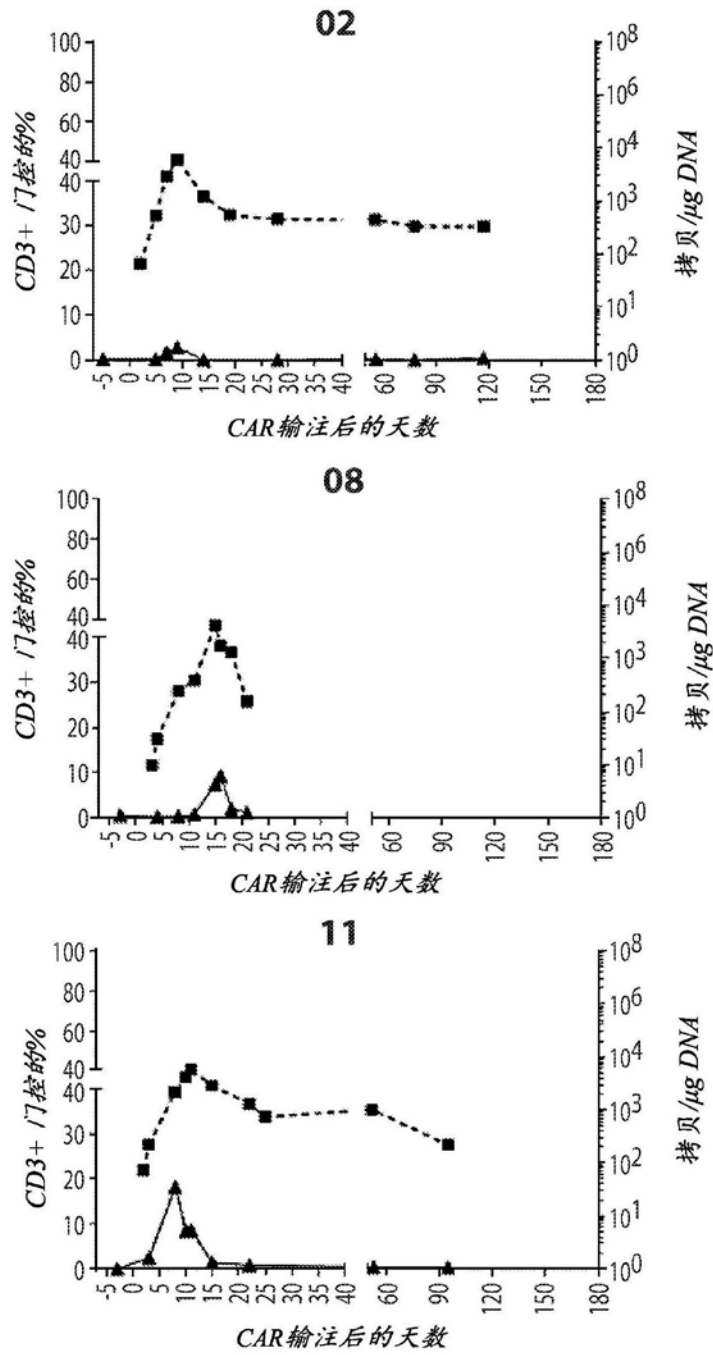


图33A-2

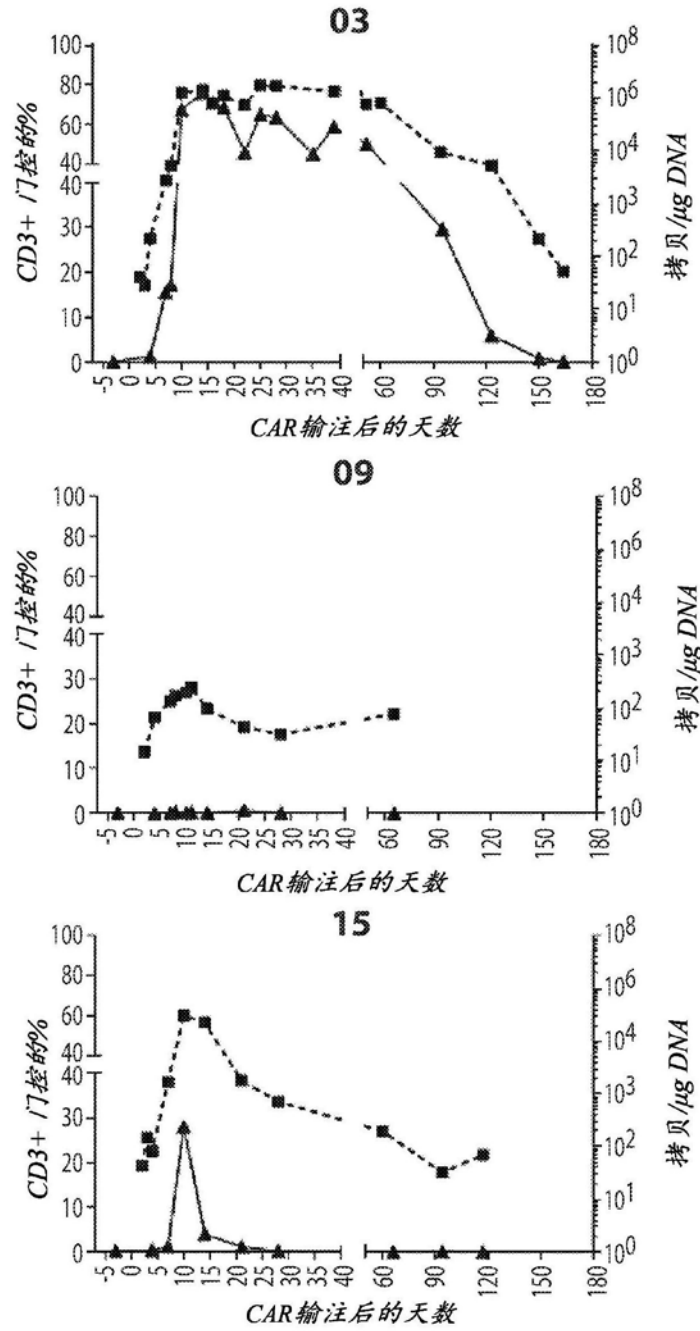


图33A-3

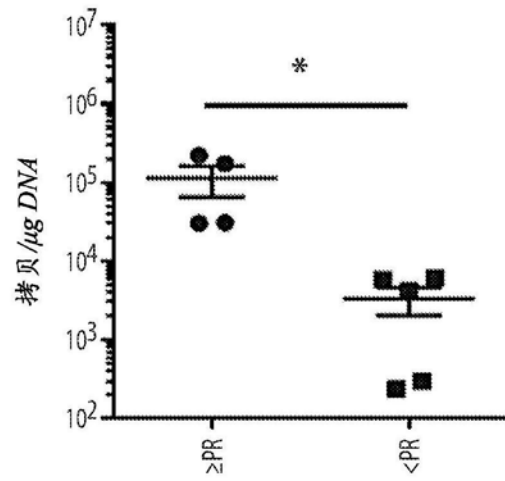


图33B

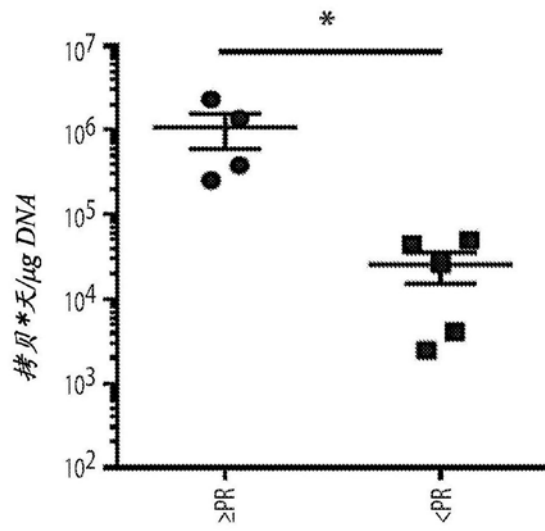


图33C

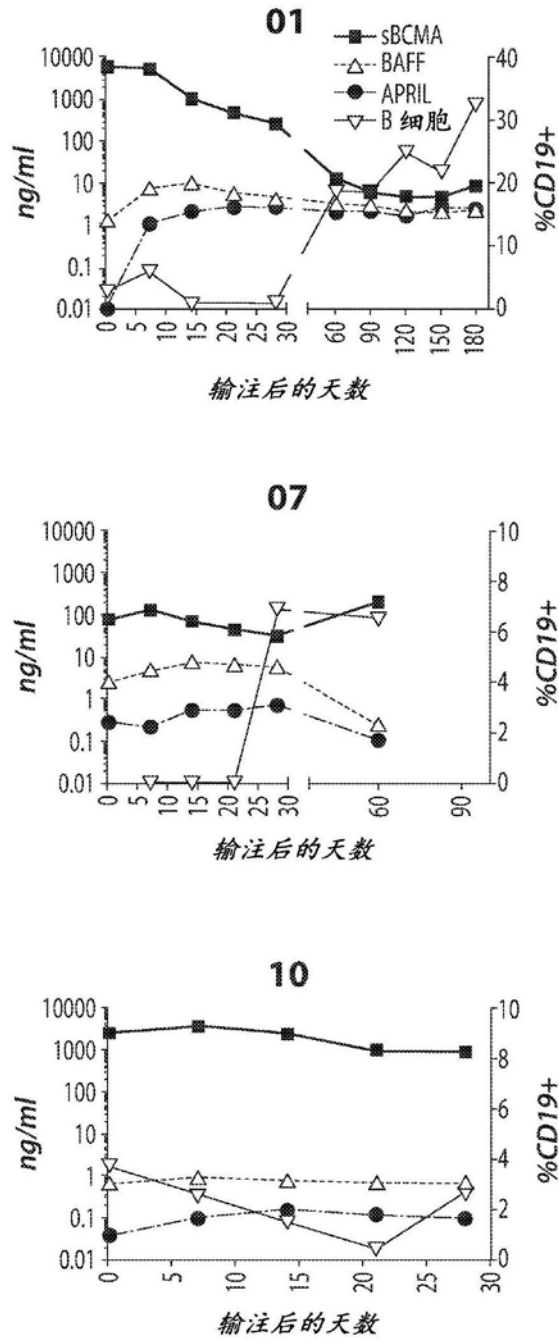


图34-1

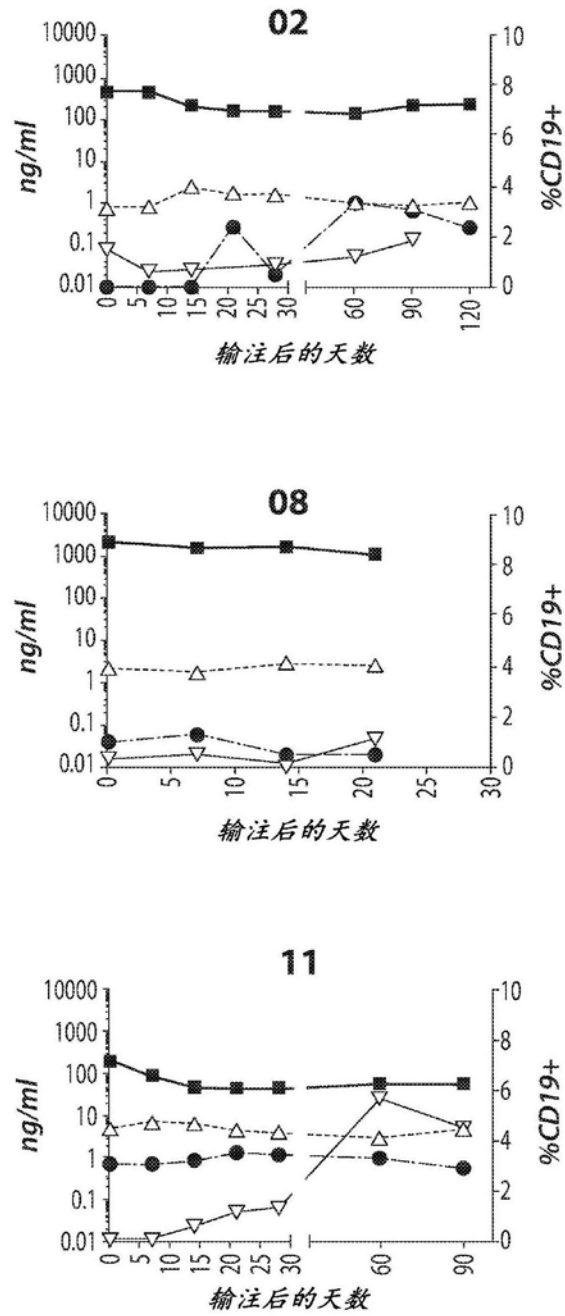


图34-2

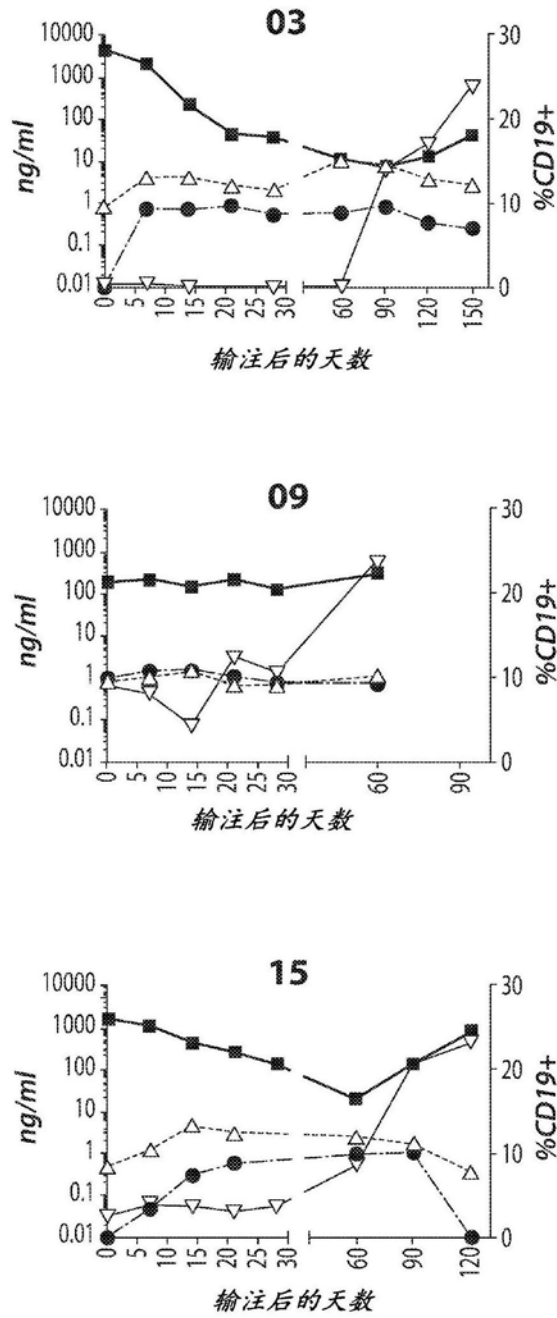


图34-3

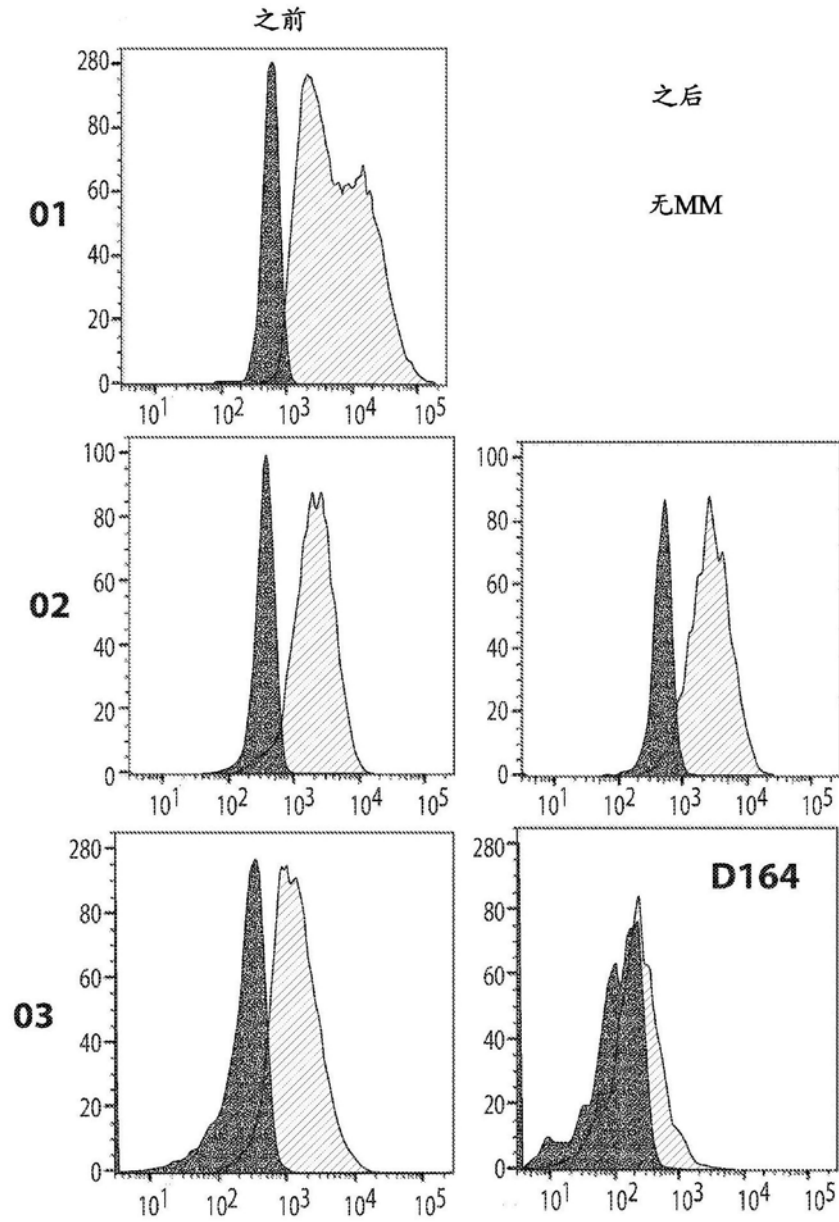


图35-1

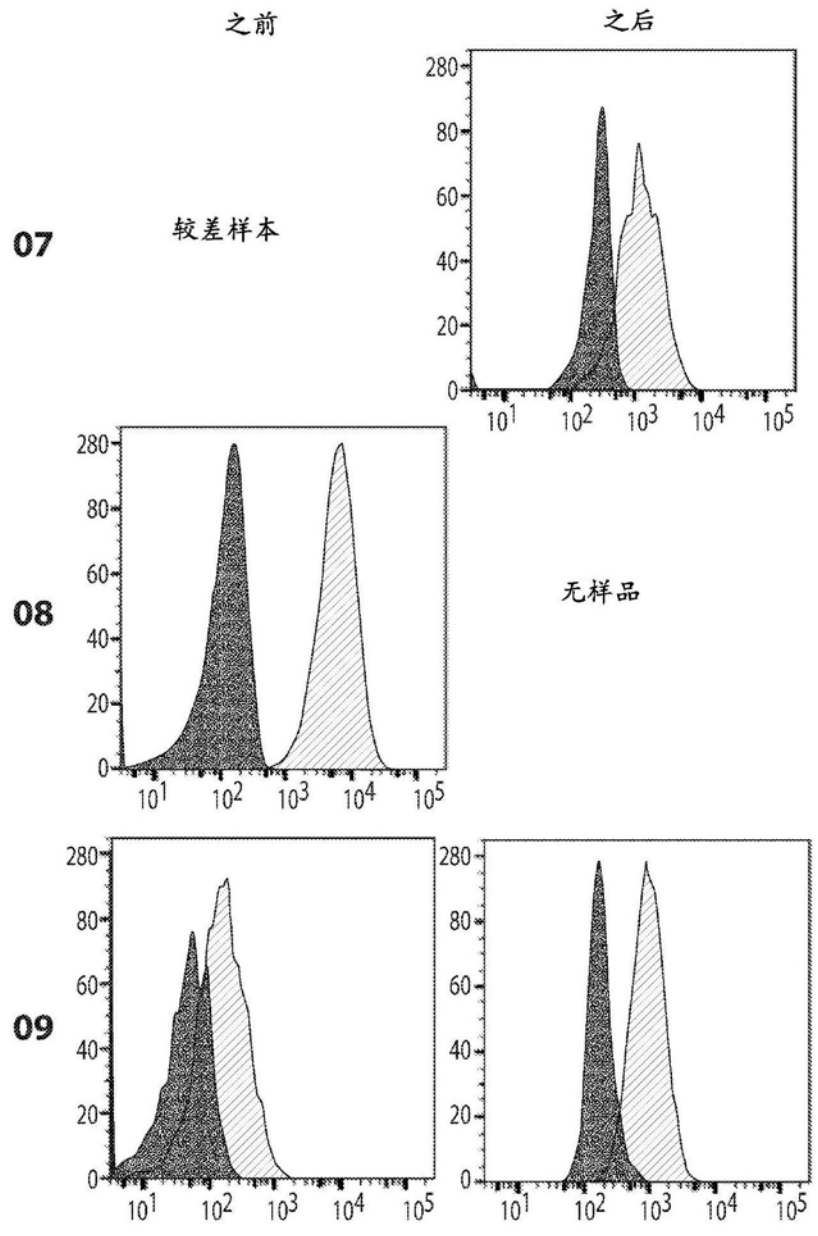


图35-2

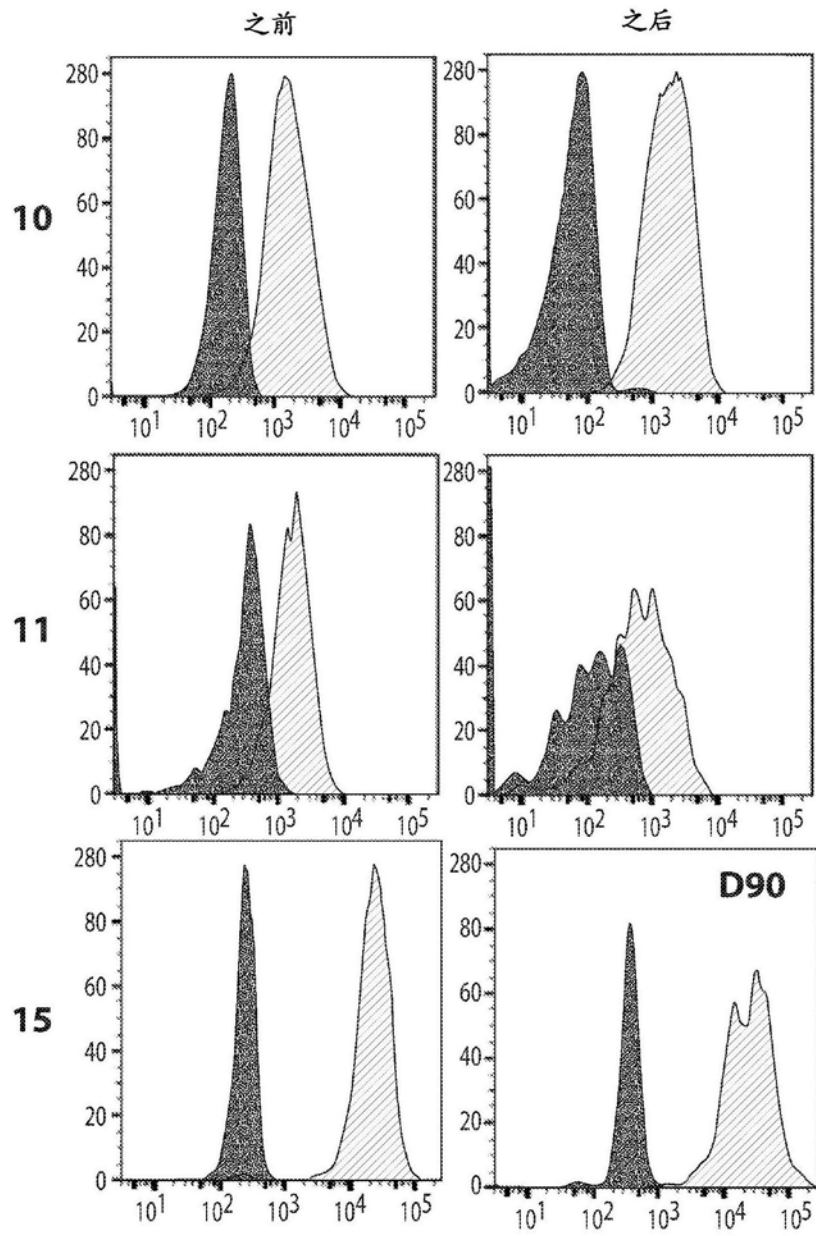


图35-3

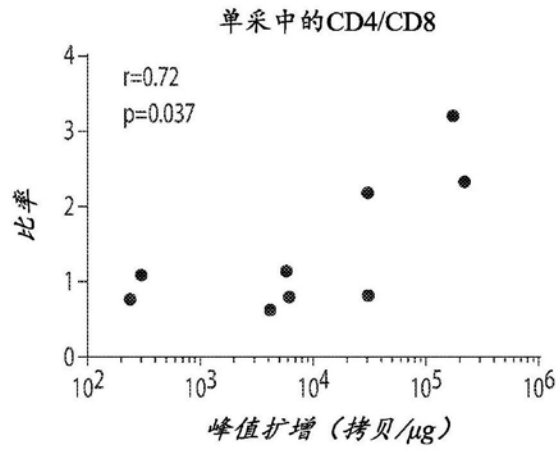


图36A

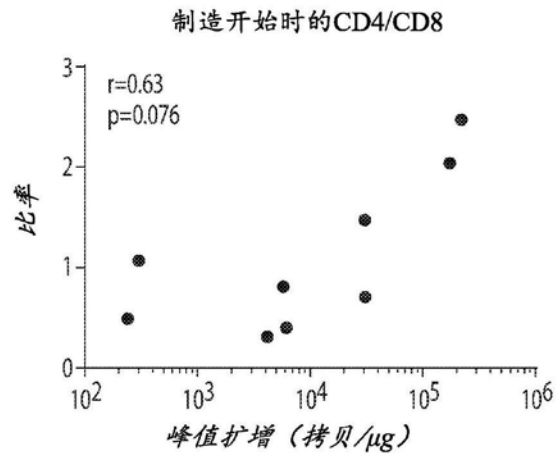


图36B

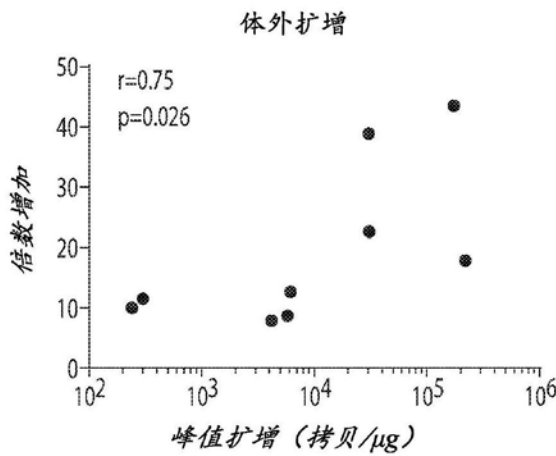


图36C

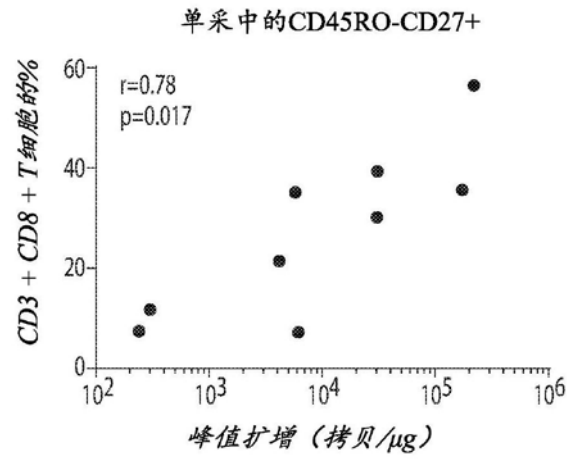


图36D

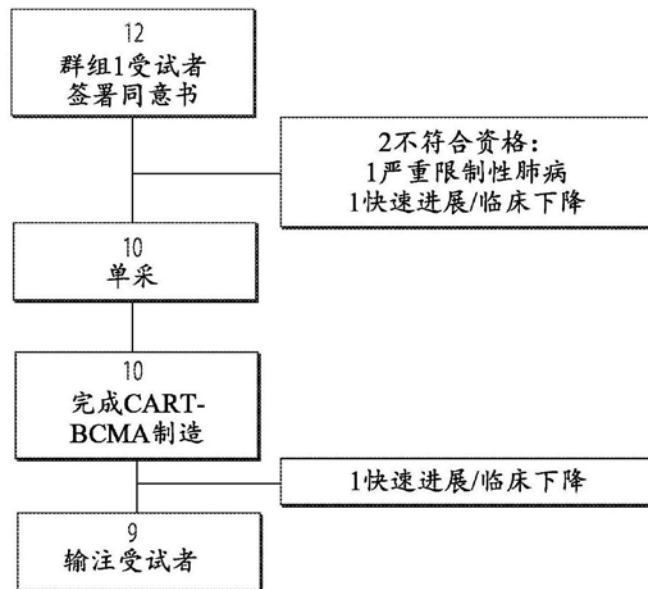


图37

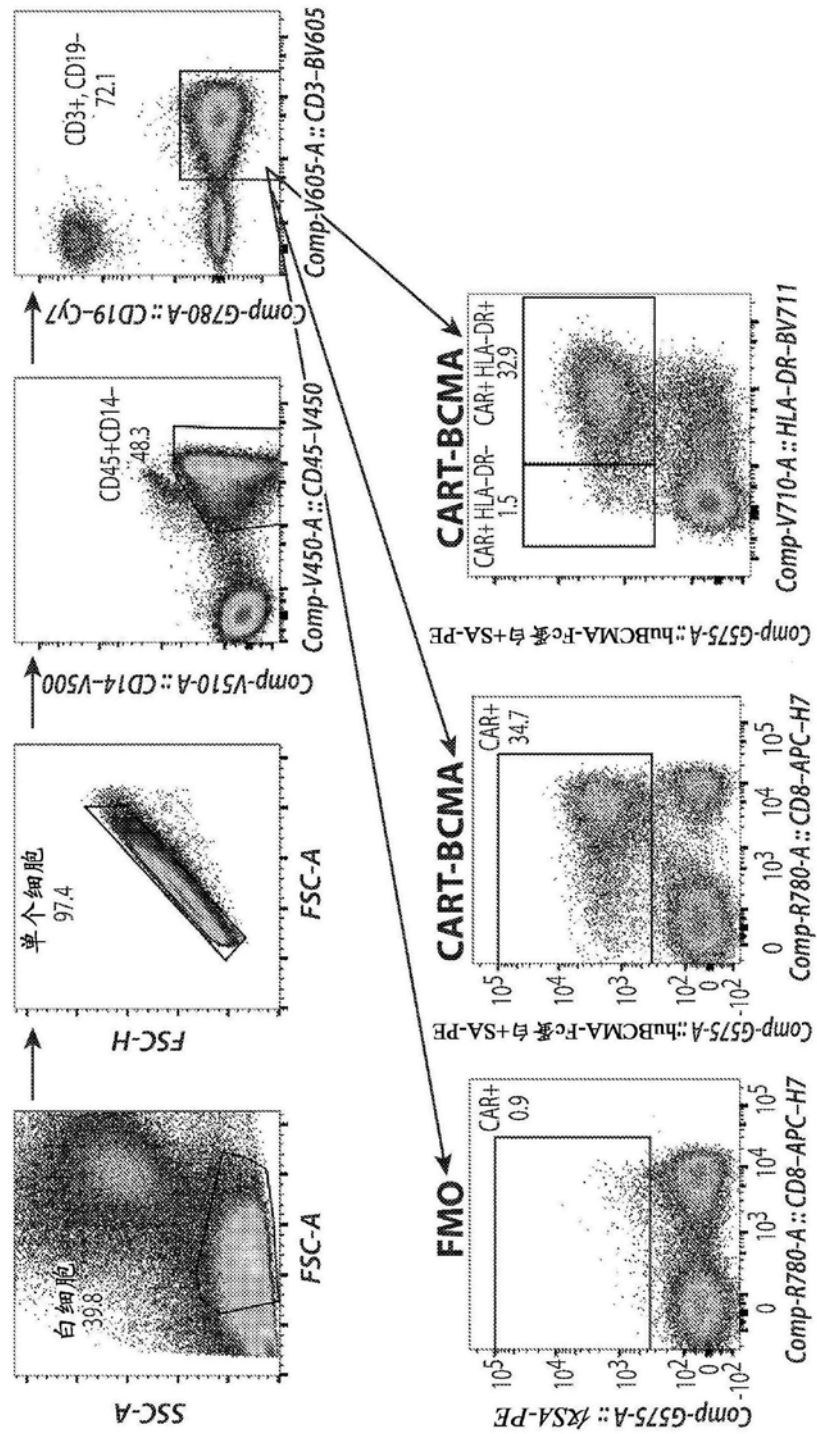


图38

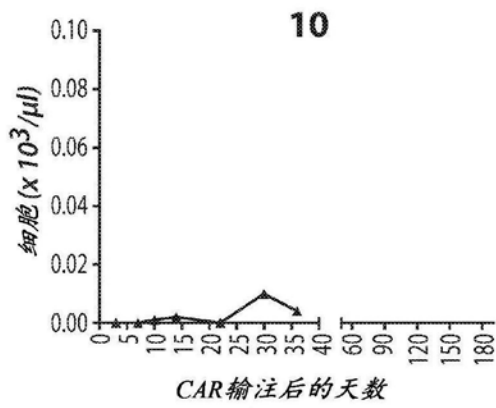
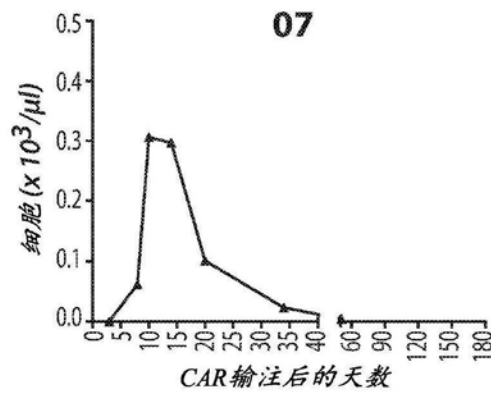
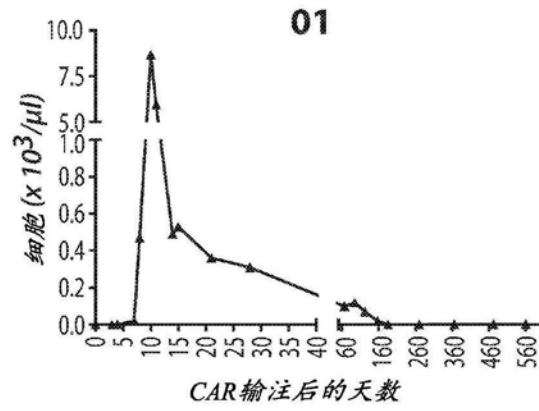


图39-1

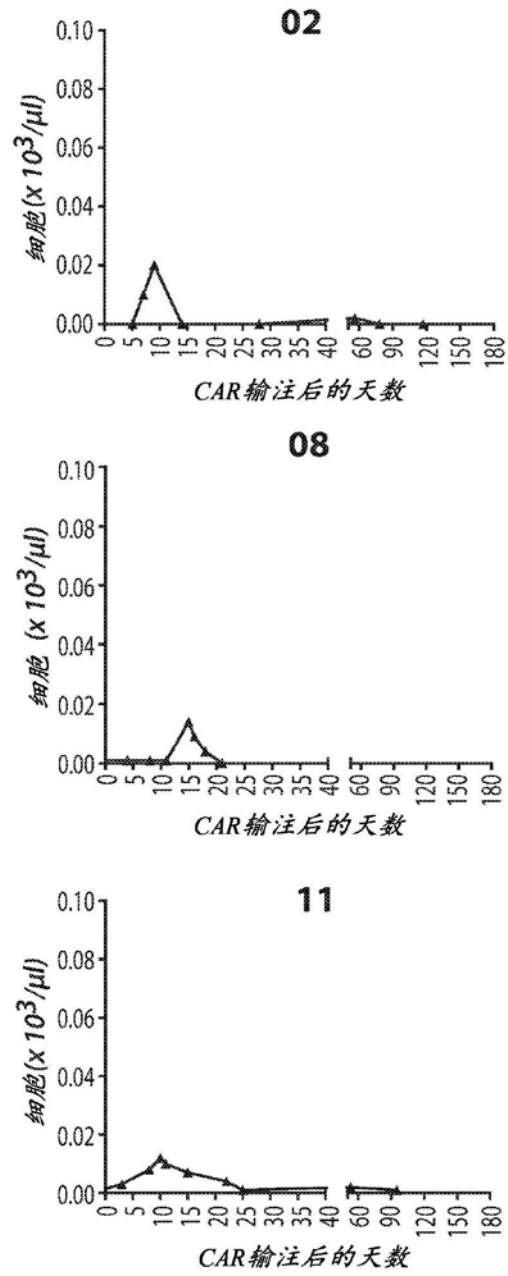


图39-2

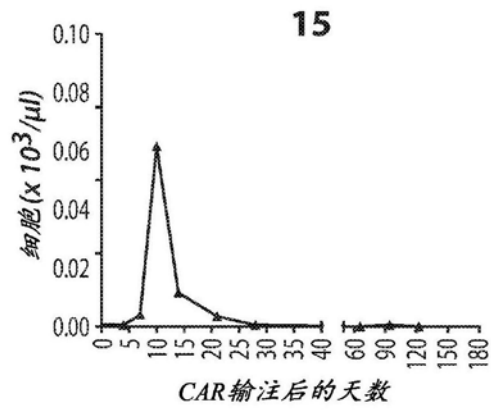
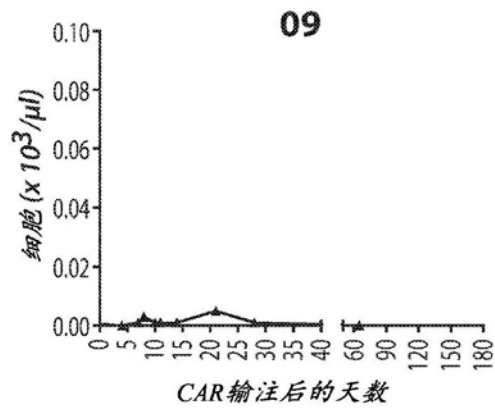
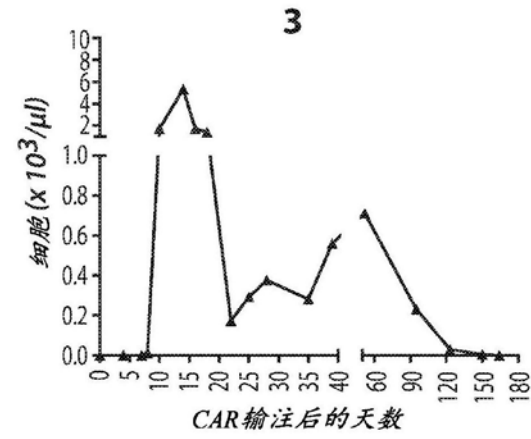


图39-3

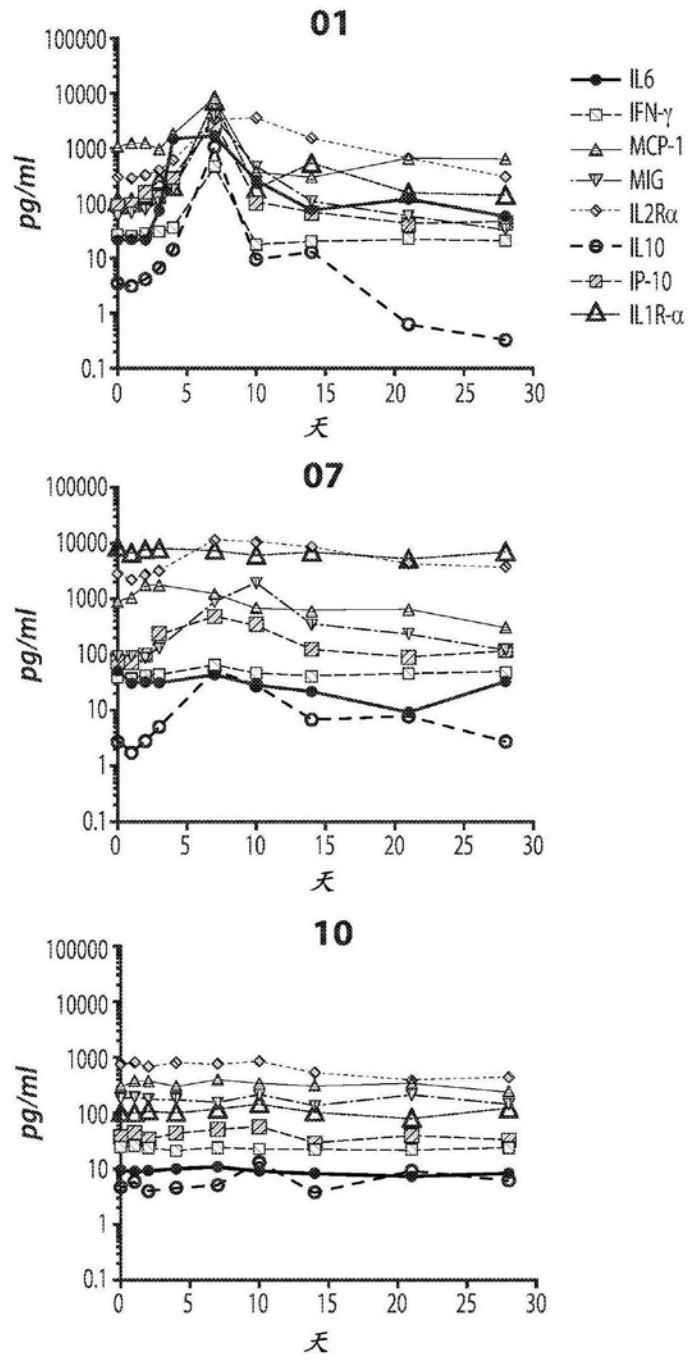


图40-1

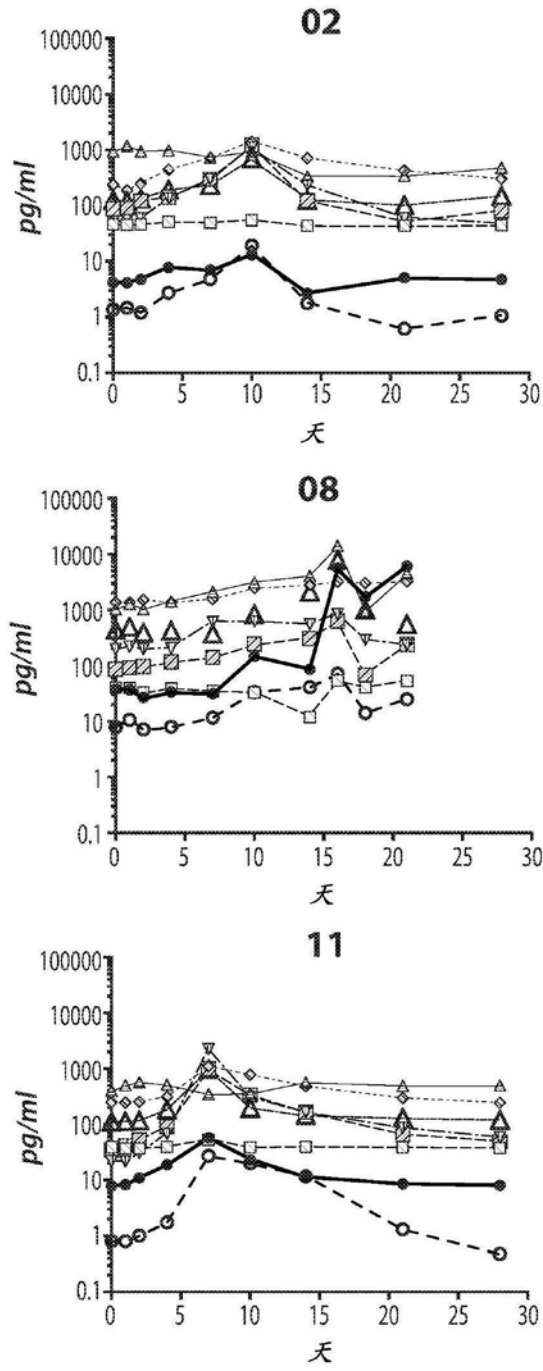


图40-2

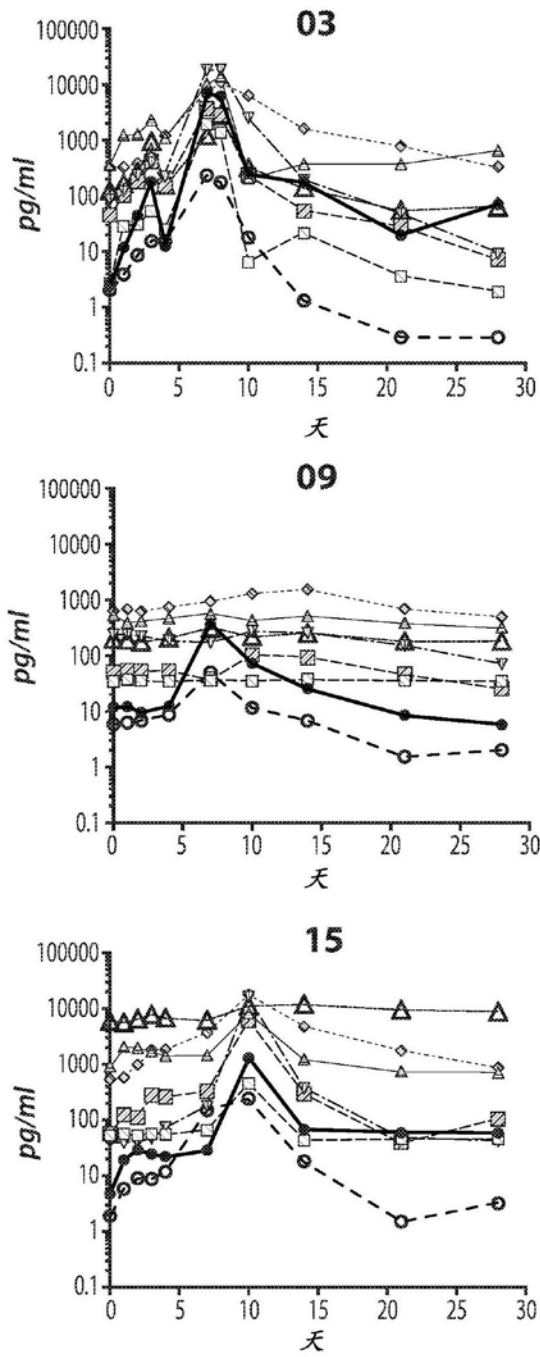


图40-3

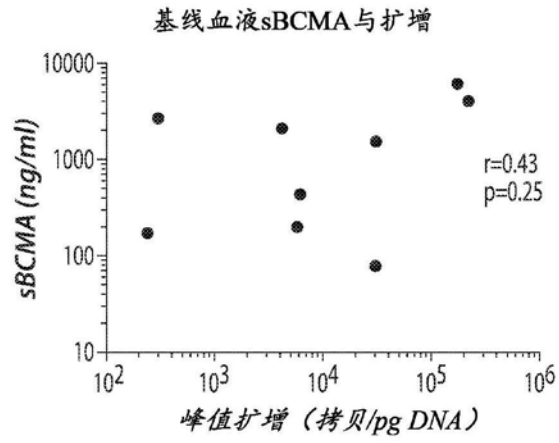


图41A

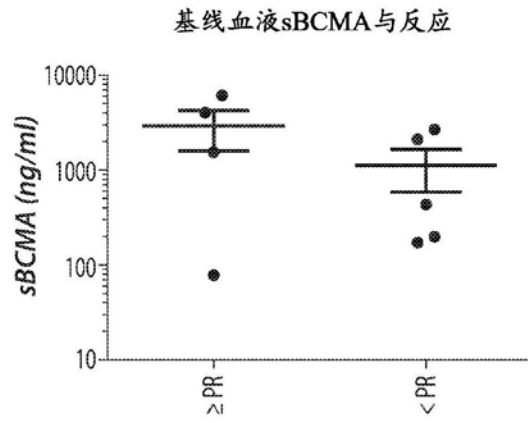


图41B

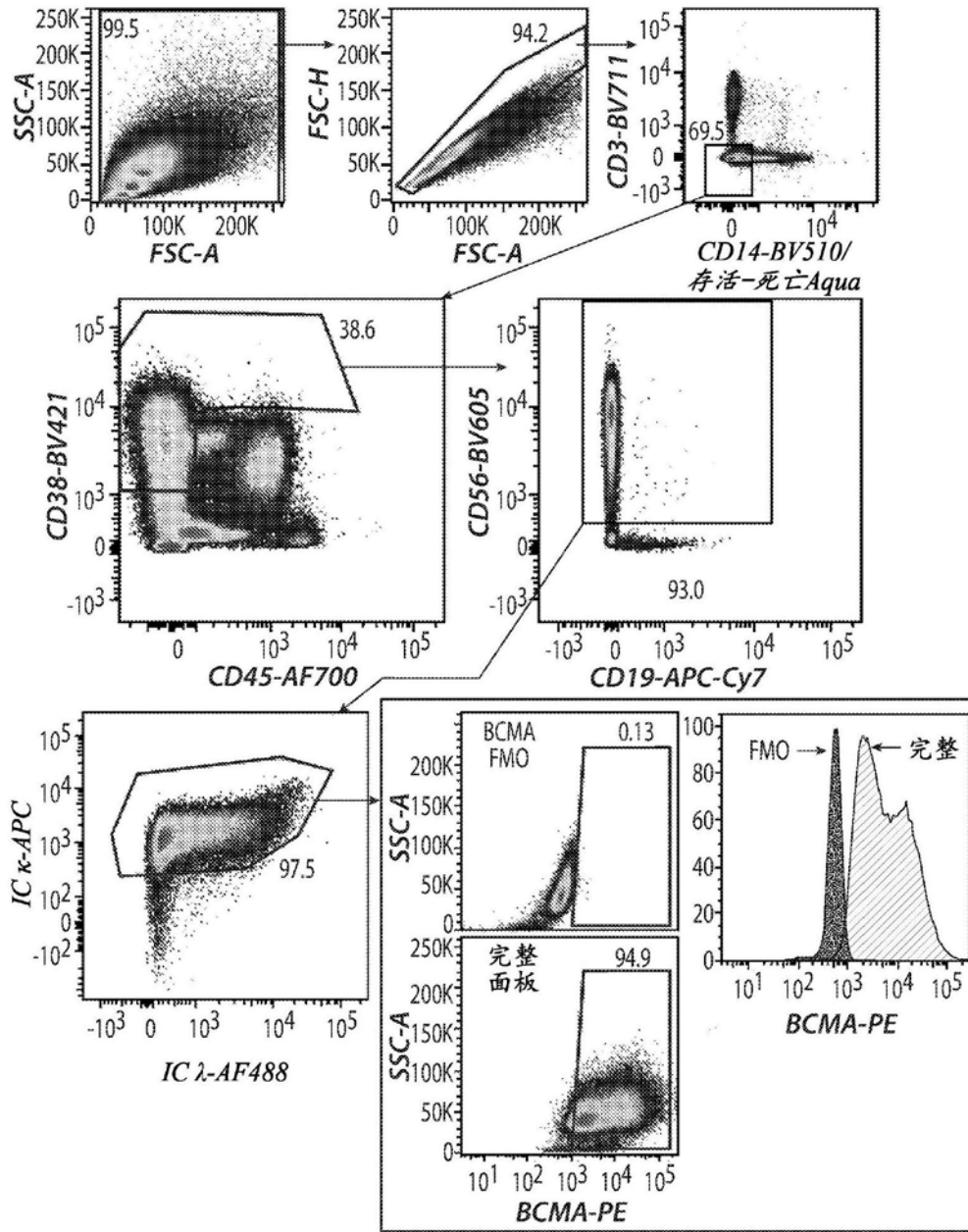


图42

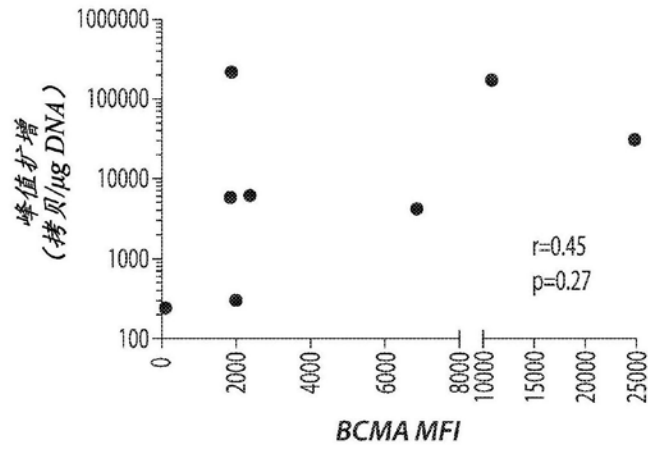


图43A

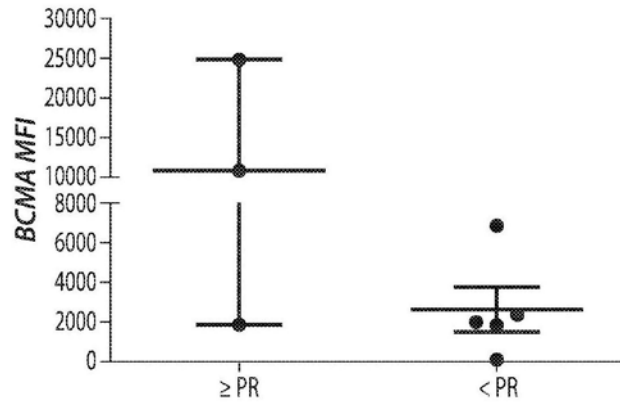


图43B

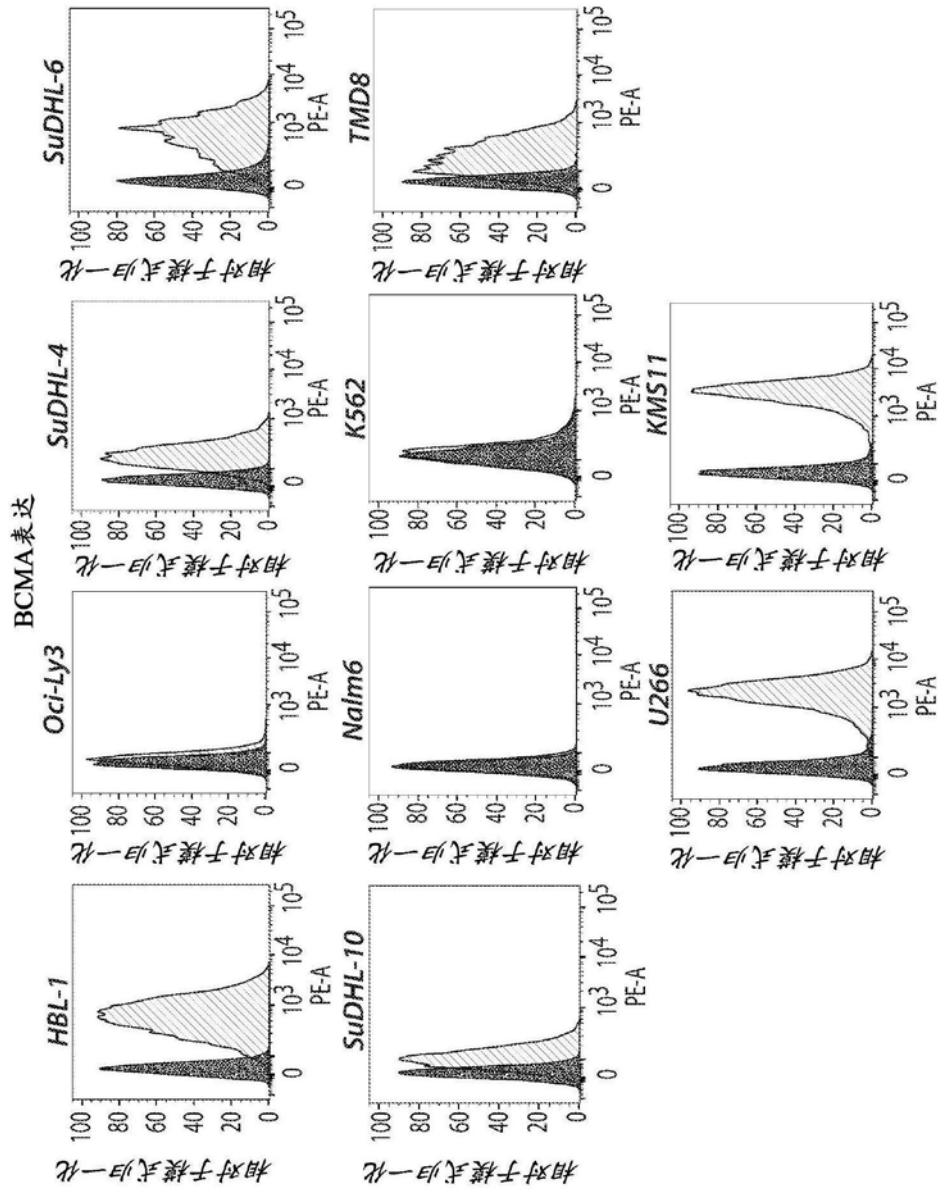


图44A

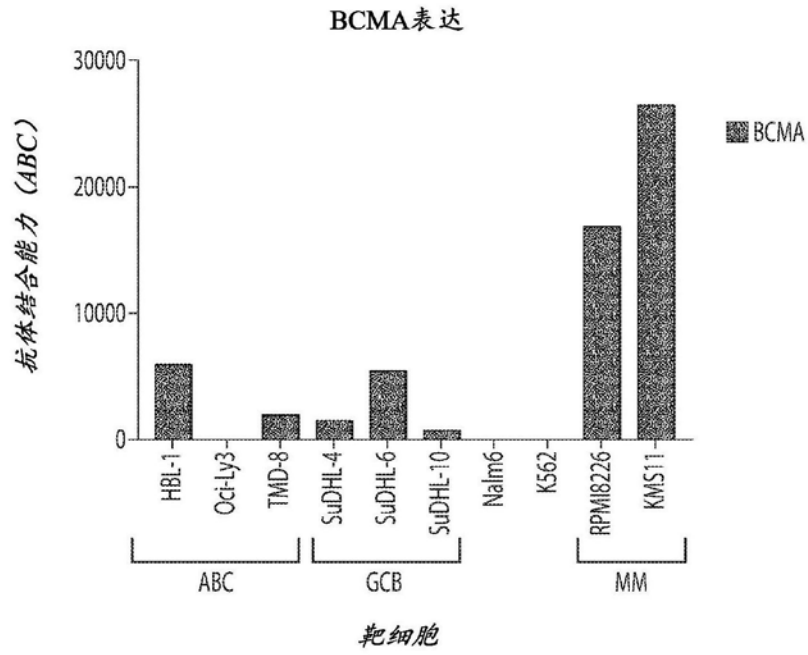


图44B

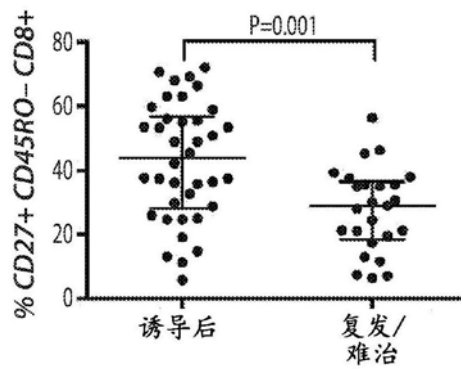


图45A

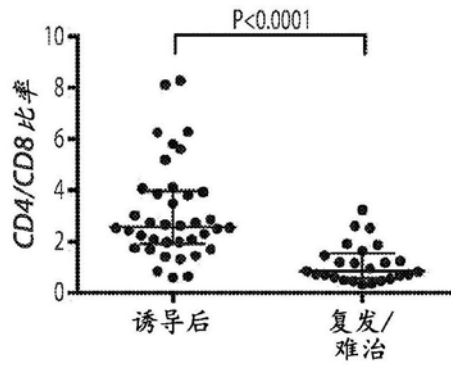


图45B

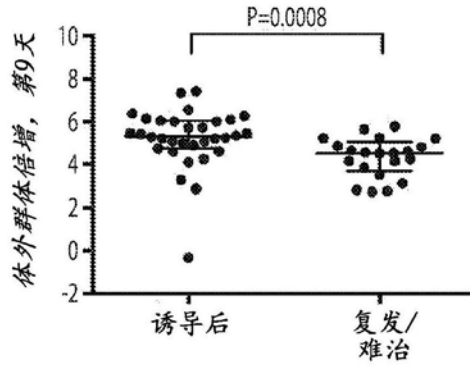
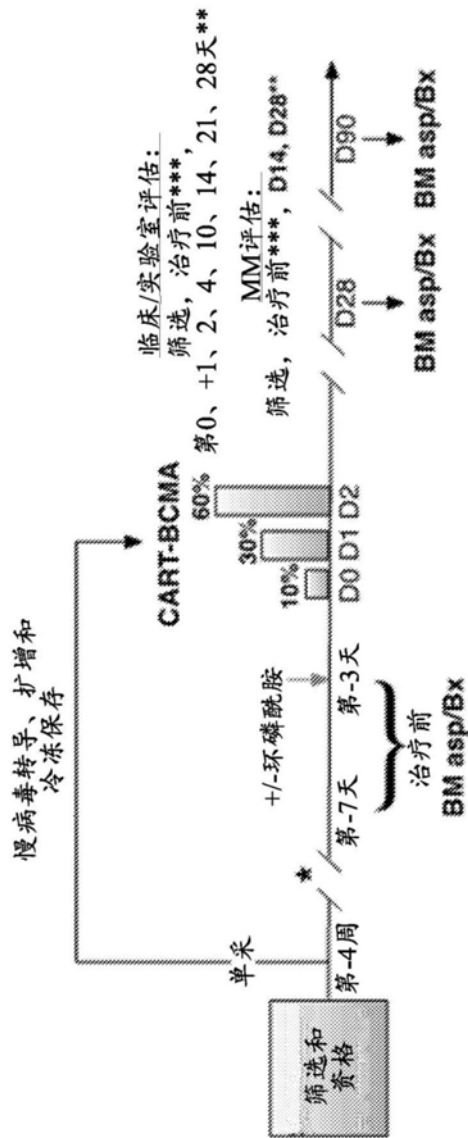


图45C



* 患者在制造过程中可接受治疗以维持疾病控制
 ** 在前28天后，随访每4周一次直至6个月，然后每3个月一次直至2年
 **** Pre-tx=治疗前，CAR T细胞输注前3至7天

图46

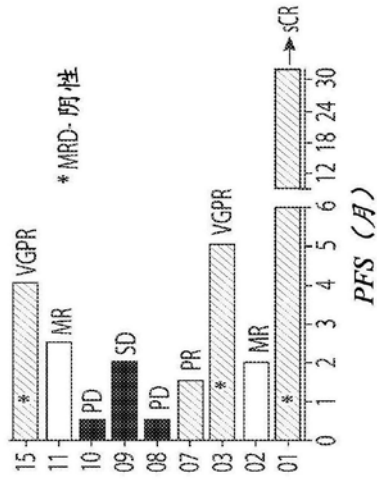


图47A

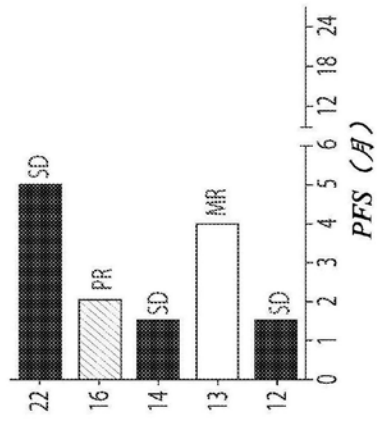


图47B

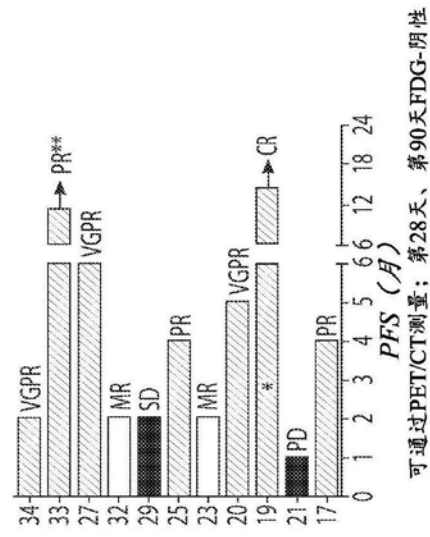


图47C

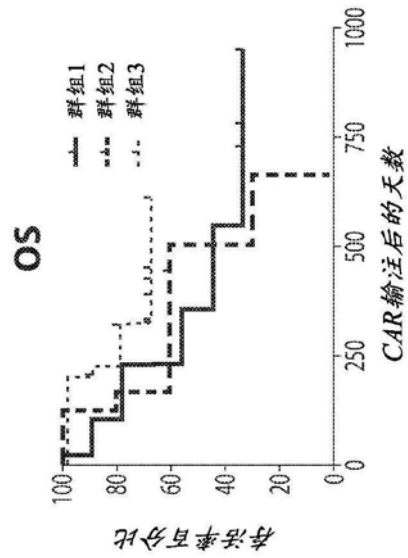


图47D

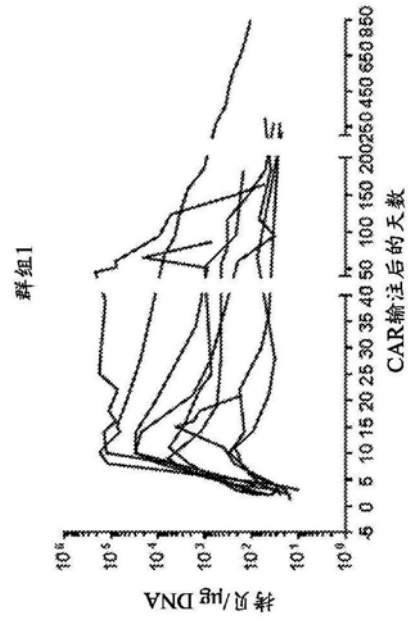


图48A

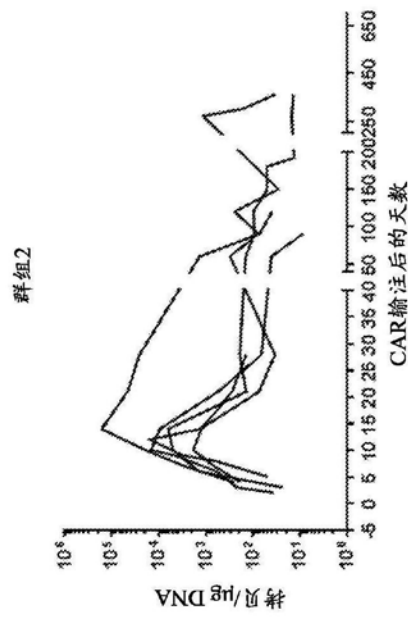


图48B

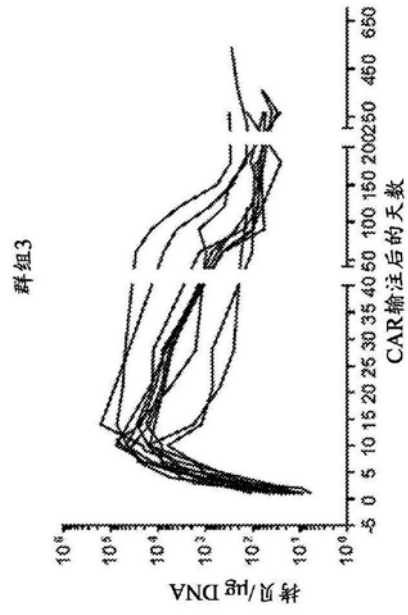


图48C

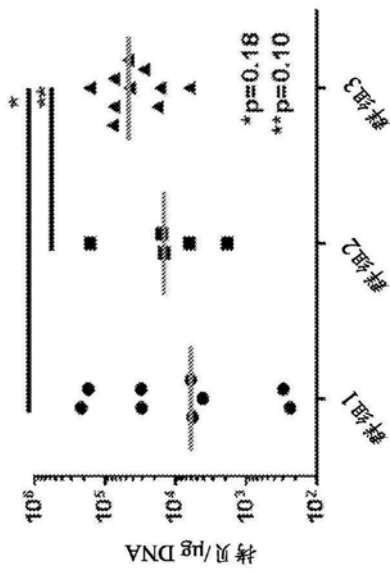


图48D

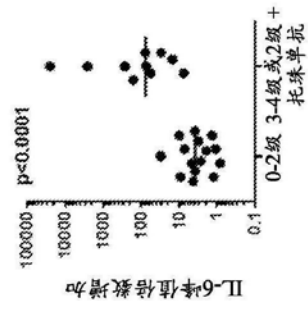


图49A

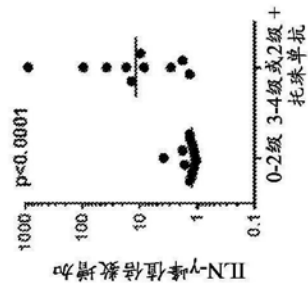


图49B

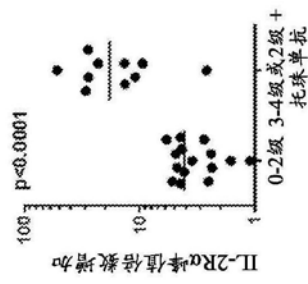


图49C

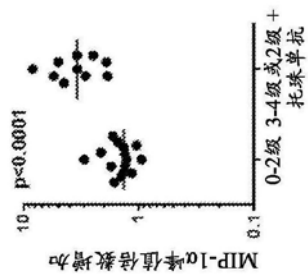


图49D

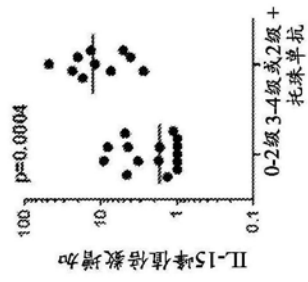


图49E

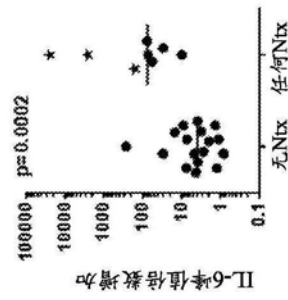


图49F

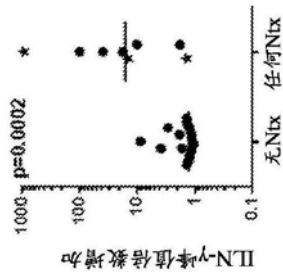


图49G

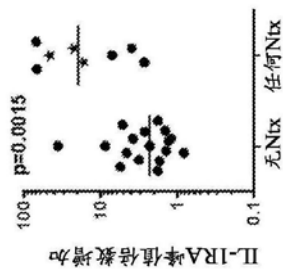


图49H

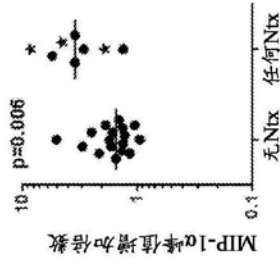


图49I

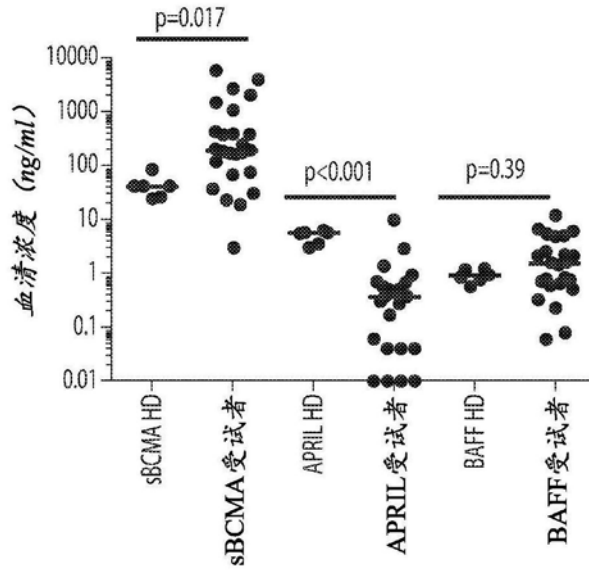


图50A

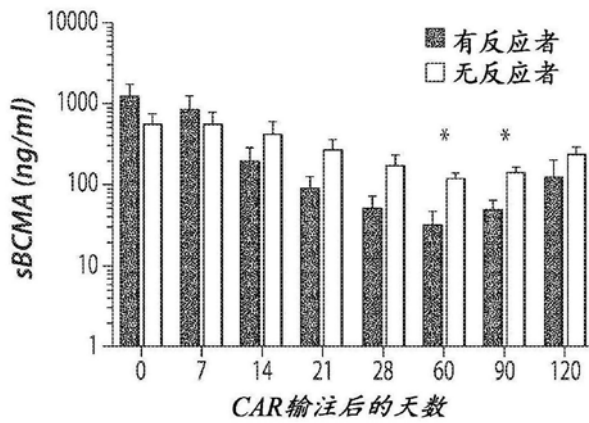


图50B

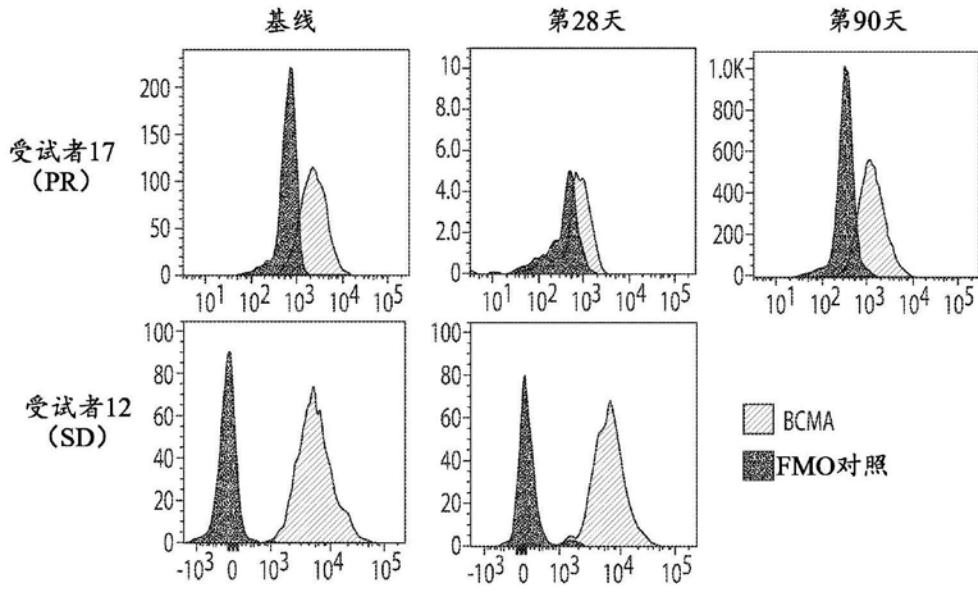


图50C

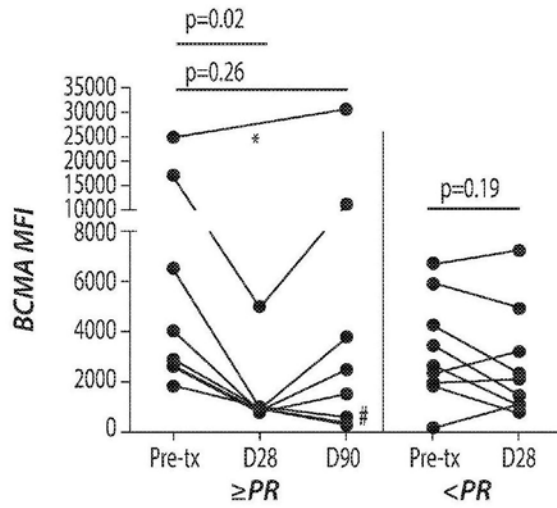


图50D

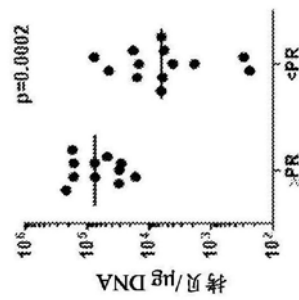


图51A

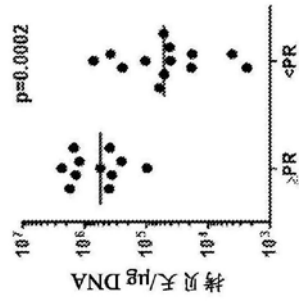


图51B

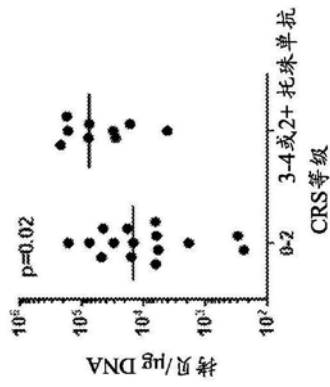


图51C

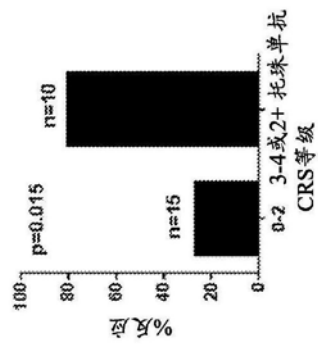


图51D

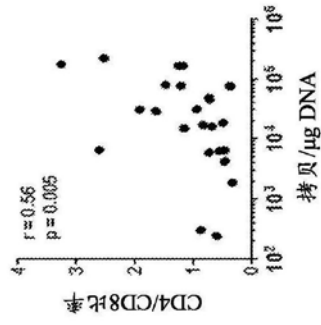


图51E

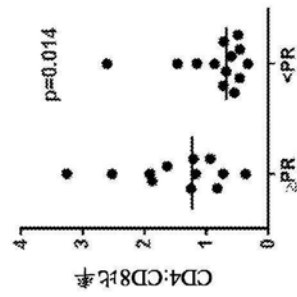


图51F

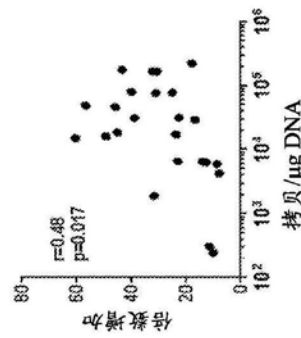


图51G

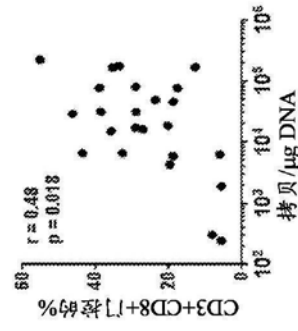


图51H

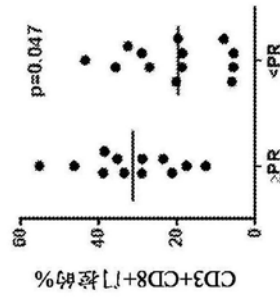


图51I

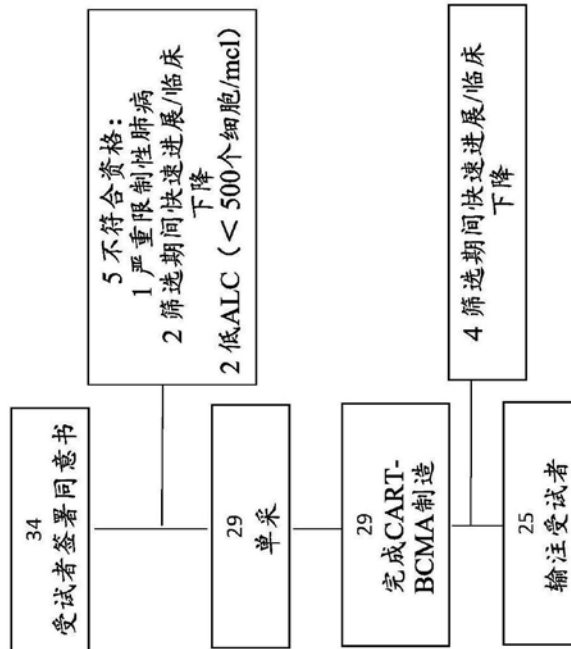


图52

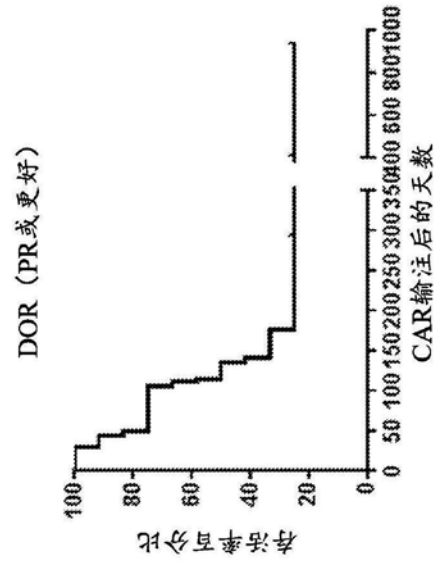


图53A

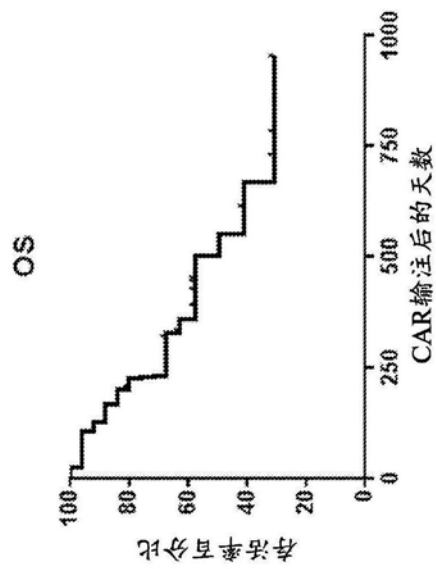


图53B

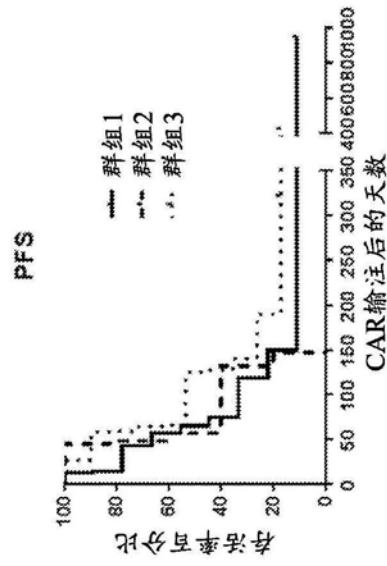


图53C

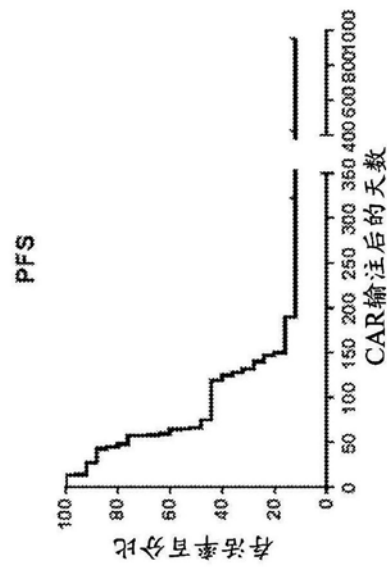


图53D

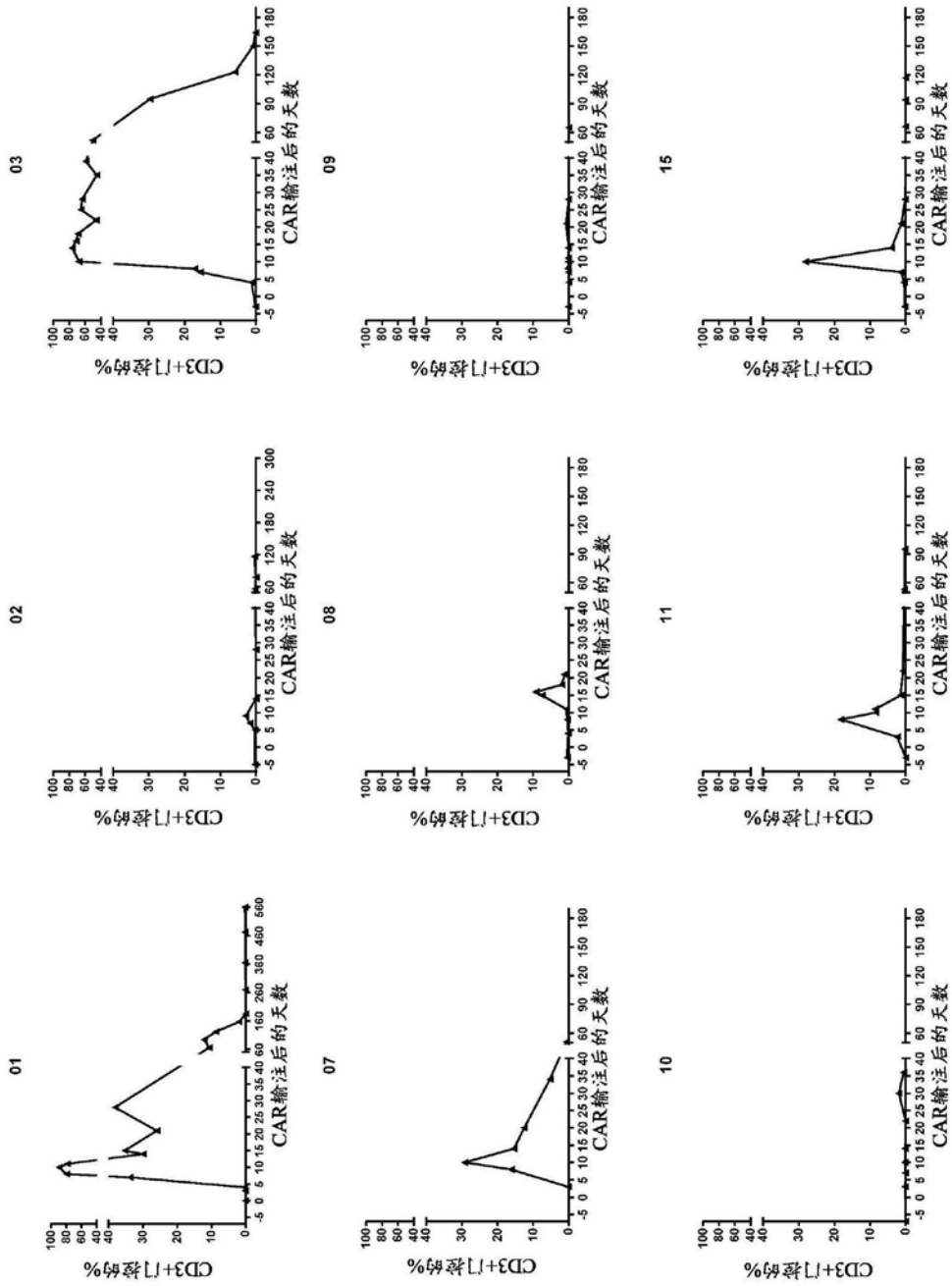


图54A

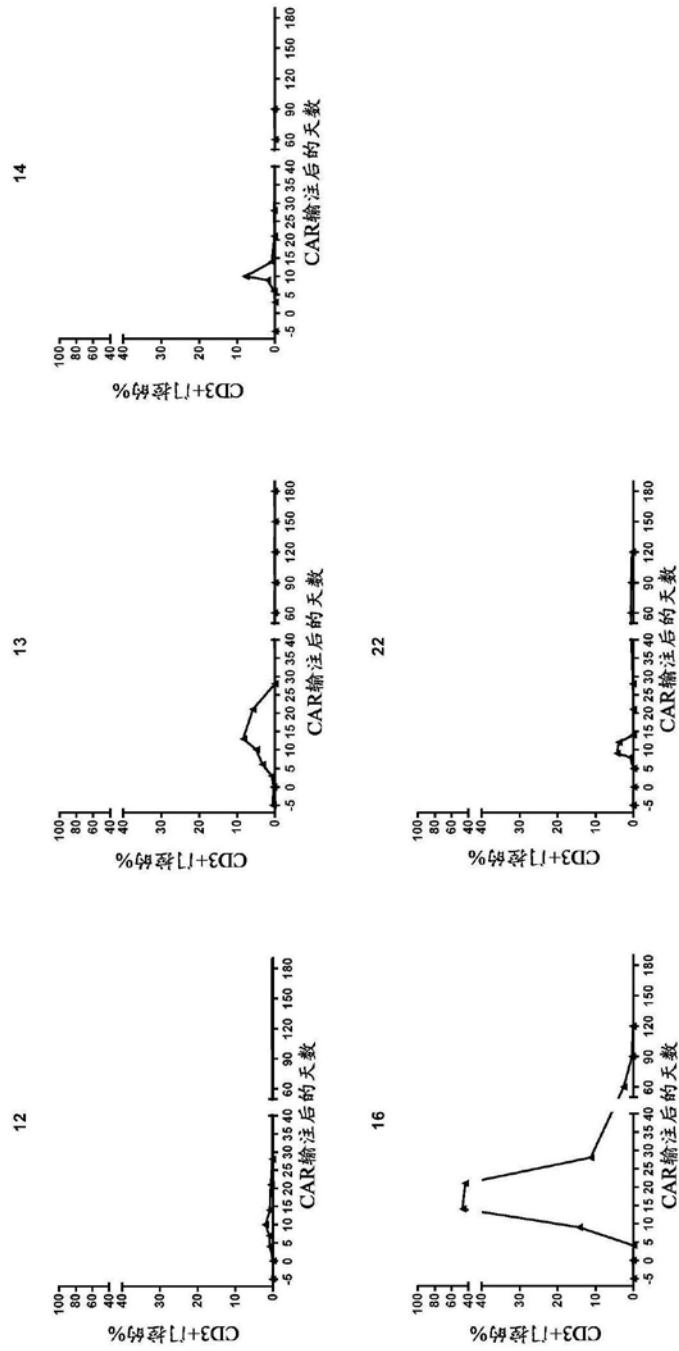


图54B

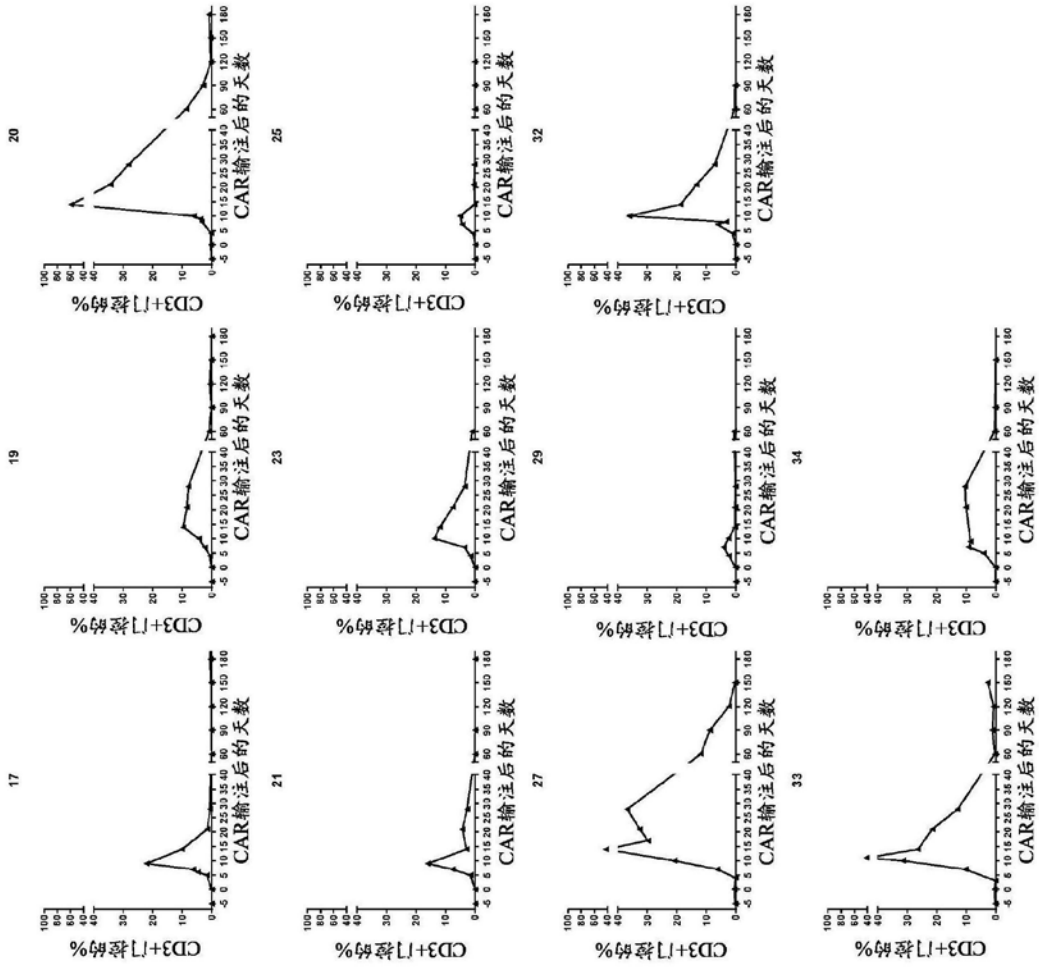


图54C

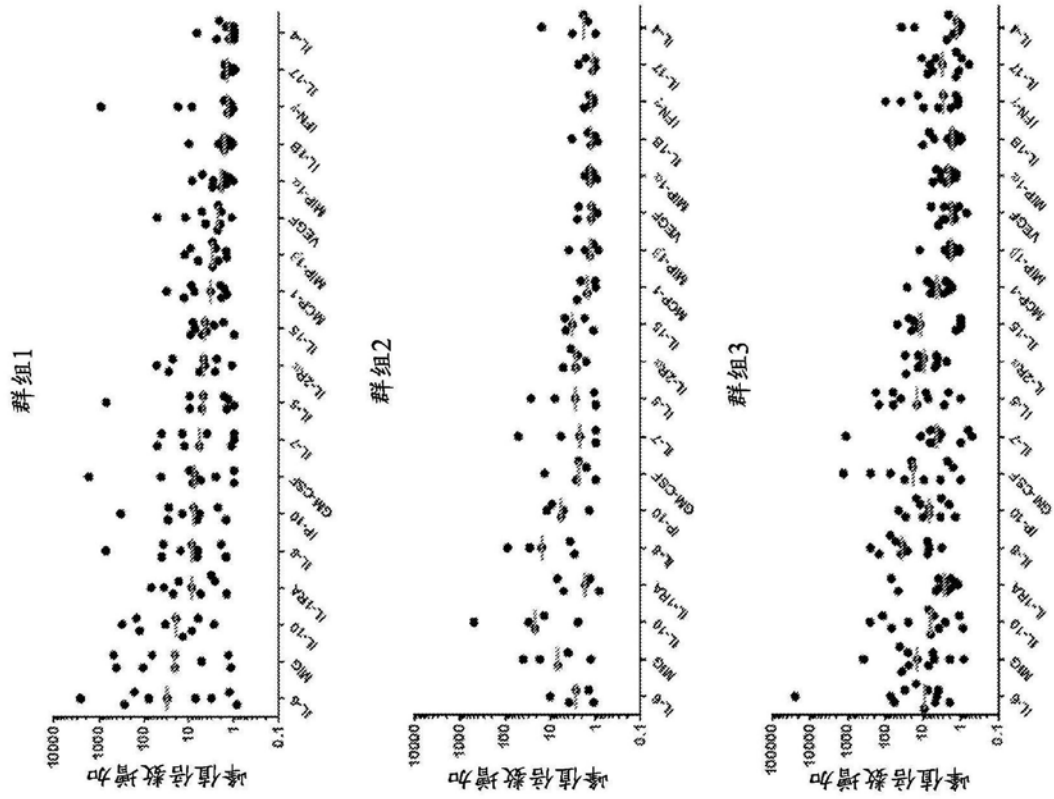


图55

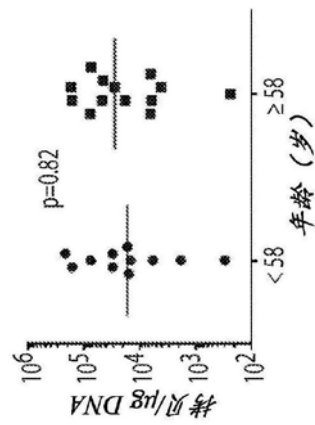


图56A

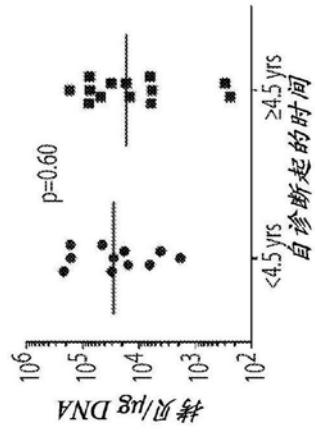


图56B

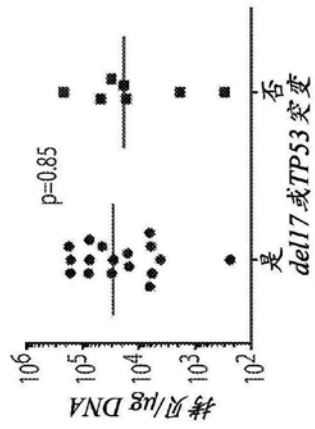


图56C

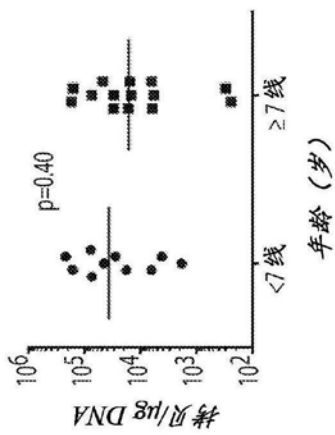


图56D

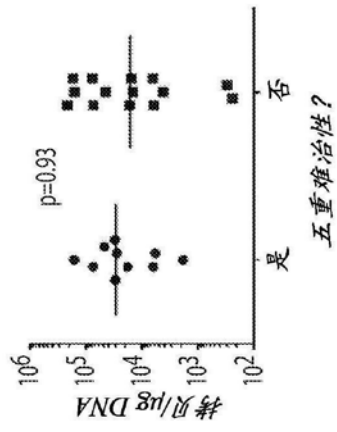


图56E

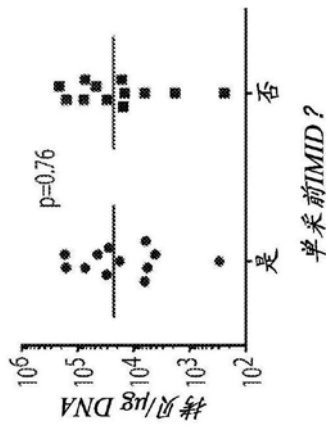


图56F

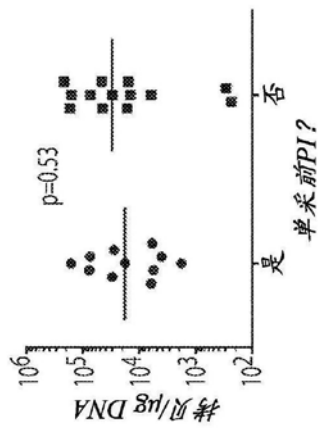


图56G

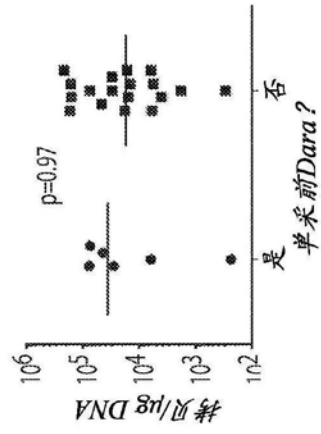


图56H

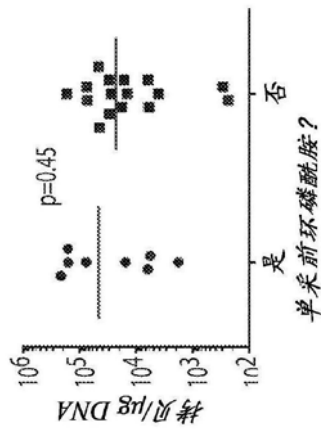


图56I

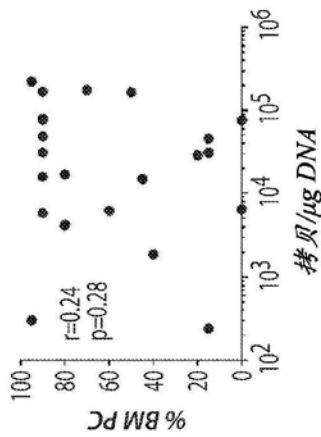


图56J

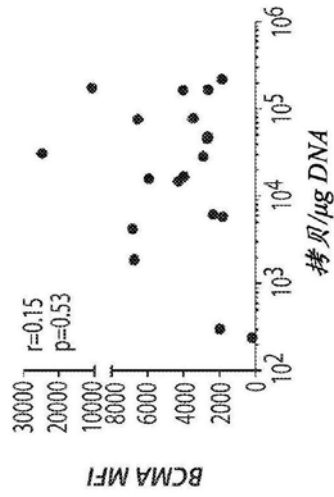


图56K

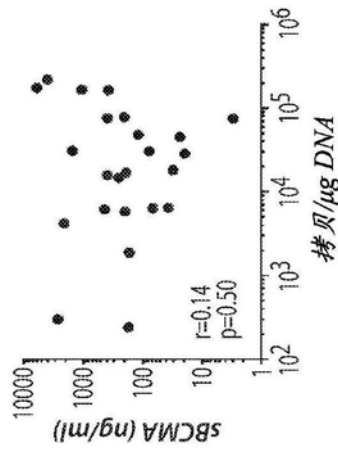


图56L

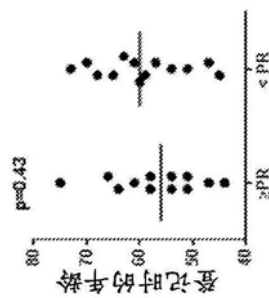


图57A

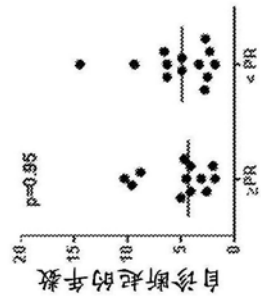


图57B

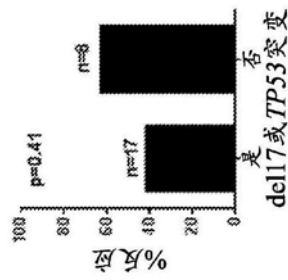


图57C

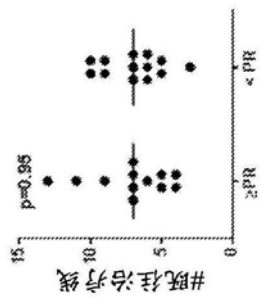


图57D

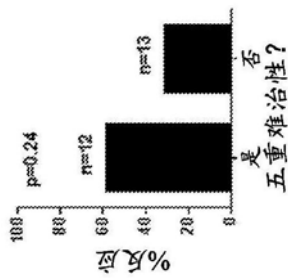


图57E

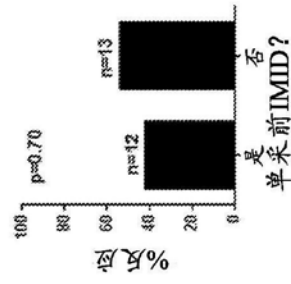


图57F

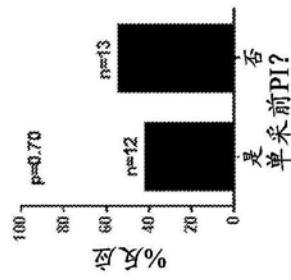


图57G

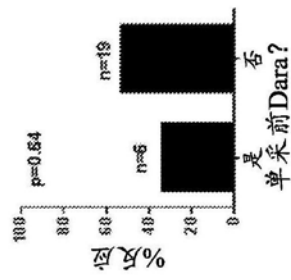


图57H

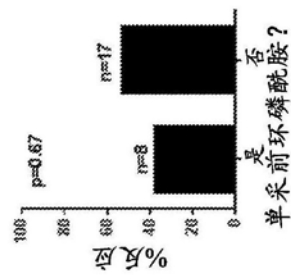


图57I

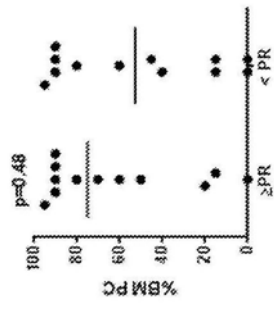


图57J

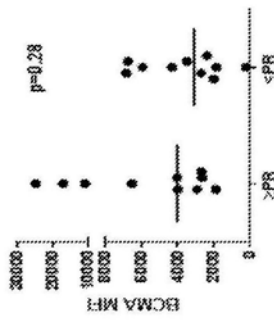


图57K

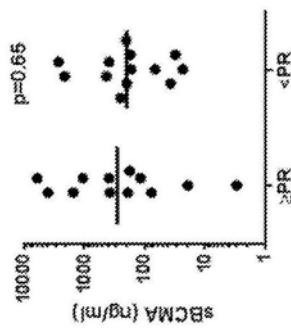


图57L