

TERAPIA DE CÉLULAS T DEL RECEPTOR DE ANTÍGENO QUIMÉRICO

CAMPO

[0001] La presente solicitud se refiere a las células CAR-T, los métodos para producirlas y los métodos para usarlas para tratar el cáncer.

ANTECEDENTES

[0002] Los cánceres humanos están compuestos por su naturaleza de células normales que han sufrido una conversión genética o epigenética para convertirse en células cancerosas anormales. Las células cancerosas expresan proteínas y otros antígenos que son distintos de los expresados por células normales. El sistema inmunológico innato del cuerpo puede usar estos antígenos tumorales aberrantes para atacar específicamente las células cancerosas y destruirlas. Sin embargo, las células cancerosas emplean varios mecanismos para evitar que las células inmunitarias, como los linfocitos T y B, se dirijan con éxito a las células cancerosas. Las terapias con células T humanas se basan en células T humanas enriquecidas ex vivo o modificadas para atacar y destruir células cancerosas en un sujeto, por ejemplo, un paciente. Se han desarrollado diversas tecnologías para preparar poblaciones de células T con concentraciones enriquecidas de células T naturales capaces de dirigirse a un antígeno tumoral, eliminar las células tumorales circulantes y/o modificar genéticamente las células T para dirigirse específicamente a un antígeno canceroso conocido, produciendo así poblaciones de células T de receptor de antígeno quimérico (CAR) para la terapia del cáncer. Algunas de estas terapias han mostrado efectos prometedores sobre el tamaño del tumor y la supervivencia del paciente.

RESUMEN

[0003] Cualquier aspecto o realización descritos en el presente documento puede combinarse con cualquier otro aspecto o realización como se describe en el presente documento. Aunque la presente invención se ha descrito junto con la descripción detallada de la misma, la descripción pretende ilustrar y no limitar el alcance de la presente invención, que está

parcialmente definida por el alcance de las reivindicaciones adjuntas. Otros aspectos, ventajas y modificaciones están dentro del alcance de las siguientes realizaciones/reivindicaciones..

[0004] Realización 1. Un método para tratar el linfoma de células del manto (MCL) o LLA de células B en un sujeto que lo necesite que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un producto de células T que comprende células T autólogas que expresan un anti-receptor de antígeno quimérico (CAR) CD19.

[0005] Realización 2. El método de la realización 1, en donde el MCL y LLA de células B son MCL recidivantes o refractarios y LLA de células B, opcionalmente en donde el MCL es MCL clásico, blastoide y pleomórfico.

[0006] Realización 3. El método de cualquiera de las realizaciones 1 y 2, en donde el MCL y LLA de células B es refractario a, o ha recaído seguido de, uno o más de quimioterapia, radioterapia, inmunoterapia (incluida una terapia de células T y/o tratamiento con un anticuerpo o un conjugado de anticuerpo-fármaco), un autotrasplante de células madre o cualquier combinación de los mismos.

[0007] Realización 4. El método de cualquiera de las realizaciones 1 hasta 3, en donde el el sujeto ha recibido de 1 a 5 tratamientos previos, en los que opcionalmente al menos uno de los tratamientos previos se selecciona de SCT autólogo, anticuerpo anti-CD20, quimioterapia que contiene antraciclina o bendamustina y/o un inhibidor de tirosina quinasa de Bruton (BTKi).

[0008] Realización 5. El método de la realización 4, en donde el BTKi es ibrutinib o acalabrutinib.

[0009] Realización 6. El método de cualquiera de las realizaciones 1 hasta 5, en donde R/R LLA de células B se define como refractaria a la terapia de primera línea (es decir, refractaria primaria), recaída ≤ 12 meses después de la primera remisión, recaída o refractaria después de ≥ 2 líneas previas de terapia sistémica, o recaída después de un alotrasplante de células madre (SCT), opcionalmente, en donde se requiere que el sujeto tenga $\geq 5\%$ de blastos

en la médula ósea, un estado funcional del Eastern Cooperative Oncology Group de 0 o 1 y/o una función renal, hepática y cardíaca adecuada.

[0010] Realización 7. El método de cualquiera de las realizaciones 1 hasta 6, en donde si el sujeto con LLA de células B ha recibido anteriormente blinatumomab, se requiere que el sujeto tenga blastos leucémicos con expresión de CD19 $\geq 90\%$.

[0011] Realización 8. El método de cualquiera de las realizaciones 1 hasta 7, en donde el sujeto recibe terapia puente después de la leucocitaféresis y antes de la quimioterapia de acondicionamiento/linfodepleción.

[0012] Realización 9. El método de cualquiera de las realizaciones 1 hasta 8, en donde el sujeto con MCL recibe un régimen de quimioterapia de agotamiento linfográfico de ciclofosfamida 500 mg/m² por vía intravenosa y fludarabina 30 mg/m² por vía intravenosa, ambos administrados en cada uno de los días quinto, cuarto y tercero antes de la infusión de células T.

[0013] Realización 10. El método de cualquiera de las realizaciones 1 hasta 9, en donde el sujeto con LLA de células B recibe un régimen de depleción linfográfica de fludarabina intravenosa (IV) 25 mg/m²/día en cada uno de los cuatro, terceros, segundos días antes de la infusión de células T, y ciclofosfamida IV 900 mg/m²/día el segundo día antes infusión.

[0014] Realización 11. El método de cualquiera de las realizaciones 8 hasta 10, en donde el la terapia puente de MCL se selecciona de dexametasona (por ejemplo, 20 - 40 mg o equivalente VO o IV diariamente durante 1 - 4 días); metilprednisolona, ibrutinib (por ejemplo, 560 mg por vía oral al día) y/o acalabrutinib (por ejemplo, 100 mg por vía oral dos veces al día); un inmunomodulador; R-CHOP, bendamustina; agentes alquilantes; y/o agentes a base de platino, en los que la terapia puente se administra después de la leucocitaféresis y se completa, por ejemplo, 5 días o menos antes de la quimioterapia de acondicionamiento.

[0015] Realización 12. El método de cualquiera de las realizaciones 8 hasta 10, en donde el sujeto con LLA de células B puede recibir uno o más de los siguientes regímenes de quimioterapia puente:

Regímenes de quimioterapia puente predefinidos	
VAD atenuado	Vincristina no liposomal (1-2 mg IV semanalmente) o liposomal (2,25 mg/m ² IV semanalmente), y dexametasona 20-40 mg IV o VO diaria x 3-4 días por semana. Doxorrubicina opcional 50 mg/m ² IV x 1 (solo la primera semana)
Mercaptopurina (6-MP)	50-75 mg/m ² /día oral (administrar antes de acostarse con el estómago vacío para mejorar la absorción)
Hidroxiurea	Dosis tituladas entre 15-50 mg/kg/día (redondeado a la cápsula de 500 mg más cercana y administrado como una dosis oral diaria única de forma continua)
DOMP	Dexametasona 6 mg/m ² /día PO (o IV) BID dividido días 1-5, vincristina 1,5 mg/m ² (máximo dosis de 2 mg) IV on día 1, metotrexato 20 mg/m ² PO semanalmente, 6-MP 50-75 mg/m ² /día VO diaria
FLAG/FLAG-IDA Atenuado	Fludarabina 30 mg/m ² IV días 1-2, citarabina 2 g/m ² IV días 1-2, G-CSF 5 µg/kg SC o IV comienza el día 3 y puede continuar hasta el día antes del inicio de la quimioterapia de acondicionamiento. Con o sin idarubicina 6 mg/m ² IV días 1-2

Mini-hyper CVAD (courses A y/o B)	Curso A: Ciclofosfamida 150 mg/m² cada 12 h x 3 días, dexametasona 20 mg/d IV o VO diaria días 1-4 y 11-14, vincristina 2 mg IV x 1 Curso B: metotrexato 250 mg/m² IV durante 24 horas en el día 1, citarabina 0,5 g/m² IV cada 12 horas x 4 dosis en los días 2 y 3
--	---

[0016] Realización 13. El método de cualquiera de las realizaciones 1 hasta 12, en donde el producto de células T comprende células T con CAR CD4⁺ y CD8⁺ que se preparan a partir de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) mediante enriquecimiento positivo y el consiguiente agotamiento parcial o completo de las células cancerosas circulantes.

[0017] Realización 14. El método de la realización 13, en donde los PBMC se enriquecen para células T mediante selección positiva para células CD4⁺ y CD8⁺, se activan con anticuerpos anti-CD3 y anti-CD28 en presencia de IL-2, y luego se transducen con un vector viral de replicación incompetente que contiene CAR FMC63-28Z, un receptor de antígeno (CAR) que comprende un fragmento variable de cadena única anti-CD19 (scFv), dominios CD28 y CD3-zeta.

[0018] Realización 15. El método de cualquiera de las realizaciones 13 y 14, en donde el producto de células T comprende menos células cancerosas que un producto de células T que comprende células T de un producto de leucocitaféresis que no se han seleccionado positivamente para células T CD4⁺ y CD8⁺.

[0019] Realización 16. El método de cualquiera de las realizaciones 13 hasta 15, en donde el producto de células T tiene otros atributos de producto superiores en relación con un producto de células T que comprende células T de un producto de leucoféresis que no se han seleccionado/enriquecido positivamente para células T CD4⁺ y CD8⁺.

[0020] Realización 17. El método de la realización 16, en donde los atributos superiores del producto se seleccionan de un mayor porcentaje de células T CDRA45+CCR7+ (de tipo ingenuo), un porcentaje reducido de células T diferenciadas, un porcentaje aumentado de células CD3 +, una producción reducida de IFN-gamma, un porcentaje reducido de células CD3-.

[0021] Realización 18. El método de cualquiera de las realizaciones 1 hasta 17, en donde al sujeto con MCL se le administra una o más dosis de $1,8 \times 10^6$, $1,9 \times 10^6$ o 2×10^6 células T viables positivas para CAR por kg de peso corporal, con un máximo de 2×10^8 células T viables positivas para CAR (para pacientes de 100 kg y arriba) y al sujeto de LLA de células B se le administran $0,5 \times 10^6$, 1×10^6 o 2×10^6 células T viables positivas para CAR por kg de peso corporal, con un máximo de 2×10^8 células T viables positivas para CAR (para pacientes de 100 kg y encima).

[0022] Realización 19. El método de cualquiera de las realizaciones 1 hasta 17, en donde si el sujeto ha logrado una respuesta completa a la primera infusión, el sujeto puede recibir una segunda infusión de células T con CAR anti-CD19, si progresa después de >3 meses de remisión, siempre que se haya retenido la expresión de CD19 y se hayan neutralizado anticuerpos contra el CAR. no sospechado, donde la respuesta se evalúa utilizando la clasificación de Lugano.

[0023] Realización 20. El método de cualquiera de las realizaciones 1 hasta 19, en donde el sujeto es monitoreado para detectar signos y síntomas del síndrome de liberación de citocinas (CRS) y toxicidad neurológica después de la administración de células T.

[0024] Realización 21. El método de la realización 20, en donde el sujeto es monitoreado diariamente durante al menos siete días, preferiblemente durante cuatro semanas, después de la infusión para detectar signos y síntomas de CRS y toxicidad neurológica.

[0025] Realización 22. El método de cualquiera de las realizaciones 20 y 21, en donde los signos o síntomas asociados con el CRS incluyen fiebre, escalofríos, fatiga, taquicardia, náuseas, hipoxia e hipotensión y los signos o síntomas asociados con eventos neurológicos

incluyen encefalopatía, convulsiones, cambios en el nivel de conciencia, trastornos del habla, temblores y confusión.

[0026] Realización 23. El método de cualquiera de las realizaciones 20 hasta 22, en el que el síndrome de liberación de citocinas en sujetos con MCL se maneja de acuerdo con el siguiente protocolo:

Grado CRS	Tocilizumab	Corticoesteroides
Grado 1 Los síntomas solo requieren tratamiento sintomático (por ejemplo, fiebre, náuseas, fatiga, dolor de cabeza, mialgia, malestar).	Si no mejora después de 24 horas, administre tocilizumab 8 mg/kg por vía intravenosa durante 1 hora (sin exceder los 800 mg).	No aplica.
Grado 2 Los síntomas requieren y responden a una intervención moderada. Requerimiento de oxígeno inferior al 40% de FiO₂ o hipotensión en respuesta a líquidos o dosis bajas de un vasopresor o toxicidad orgánica de Grado 2.	Administre tocilizumab 8 mg/kg por vía intravenosa durante 1 hora (sin exceder los 800 mg). Repita tocilizumab cada 8 horas según sea necesario si no responde a los líquidos intravenosos o al aumento de oxígeno suplementario. Límite a un máximo de 3 dosis en un período de 24 horas; máximo total de 4 dosis si no hay mejoría clínica en los signos y síntomas del CRS. Si mejora, suspenda el tocilizumab.	Manejar según el Grado 3 si no hay mejoría dentro de las 24 horas posteriores al inicio del tocilizumab. Si mejora, reduzca los corticosteroides.

Grado 3 Los síntomas requieren y responden a una intervención agresiva. Requerimiento de oxígeno mayor o igual al 40% de FiO2 o hipotensión que requiera dosis altas o vasopresores múltiples o toxicidad orgánica de grado 3 o transaminitis de grado 4.	Por Grado 2	Administre metilprednisolona 1 mg/kg intravenoso dos veces al día o dexametasona equivalente (por ejemplo, 10 mg intravenoso cada 6 horas) hasta Grado 1, luego disminuir corticoesteroides. Si mejora, gestione como Grado 2. Si no mejora, gestione como Grado 4.
Grado 4 Síntomas potencialmente mortales. Requisitos de asistencia respiratoria o hemodiálisis veno-venosa continua (CVVHD), o toxicidad orgánica de grado 4 (excluyendo transaminitis).	Por Grado 2	Administre metilprednisolona 1000 mg intravenoso por día durante 3 días. Si mejora, disminuya los corticoesteroides y maneje como Grado 3. Si no mejora, considere inmunosupresores alternativos.

[0027] Realización 24. El método de cualquiera de las realizaciones 20 hasta 23, en el que la toxicidad neurológica en sujetos con MCL se maneja de acuerdo con el siguiente protocolo:

Evaluación de Grados	CRS Concurrente	CRS No Concurrente
Grado 2	Administre tocilizumab por la realización 15 para el manejo de CRS de Grado 2. Si no mejora dentro de 24 horas luego de comenzar tocilizumab, Administre dexametasona 10 mg intravenoso cada 6 horas hasta que el evento sea Grado 1 o menos, luego disminuir corticoesteroides. Si aún no mejora, maneje como Grado 3.	Administre dexametasona 10 mg intravenoso cada 6 horas hasta que el evento sea Grado 1 o menos, luego disminuir corticoesteroides.
	Considerar medicamentos anticonvulsivos no sedantes (por ejemplo, levetiracetam) para la profilaxis de las convulsiones.	
Grado 3	Administre tocilizumab por la realización 15 para el manejo de CRS de Grado 2. Adicionalmente, administre dexametasona 10 mg intravenoso con la primera dosis de tocilizumab y repita dosis de dexametasona cada 6 horas. Continúe el uso de dexametasona hasta que el evento sea Grado 1 o menos, luego disminuir corticoesteroides. Si mejora, suspenda tocilizumab y maneje como Grado 2. Si aún no mejora, maneje como Grado 4 (abajo).	Administre dexametasona 10 mg intravenoso cada 6 horas. Continúe el uso de dexametasona hasta que el evento sea Grado 1 o menos, luego disminuir corticoesteroides. Si no mejora, gestione como Grado 4.
	Considerar medicamentos anticonvulsivos no sedantes (por ejemplo, levetiracetam) para la profilaxis de las convulsiones.	

Grado 4	Administre tocilizumab por la realización 15 para el manejo de CRS de Grado 2. Administre metilprednisolona 1000 mg intravenoso por día con la primera dosis de tocilizumab y continúe metilprednisolona 1000 mg intravenoso por día durante 2 días más. Si mejora, entonces maneje como Grado 3. Si no mejora, considere inmunosupresores alternativos.	Administre metilprednisolona 1000 mg intravenoso por día durante 3 días. Si mejora, entonces maneje como Grado 3. Si no mejora, considere inmunosupresores alternativos.
	Considerar medicamentos anticonvulsivos no sedantes (por ejemplo, levetiracetam) para la profilaxis de las convulsiones.	

[0028] Realización 25. El método de cualquiera de las realizaciones 1 hasta 24, en donde el sujeto con MCL es un paciente de alto riesgo según lo determinado por un índice de proliferación tumoral Ki-67 $\geq 50\%$ y/o la presencia de una mutación TP53.

[0029] Realización 26. El método de cualquiera de las realizaciones 20 hasta 22, donde el CRS en un sujeto con LLA de células B se maneja de acuerdo con el siguiente protocolo:

Grado CRS	Tocilizumab	Corticoesteroides
Grado 1 Los síntomas solo requieren tratamiento sintomático (por ejemplo, fiebre, náuseas, fatiga, dolor de cabeza, mialgia, malestar).	Si no mejora luego de 24 horas, Administre tocilizumab 8 mg/kg intravenoso durante 1 hora (no exceder 800 mg).	No aplica.

Grado 2 Los síntomas requieren y responden a una intervención moderada. Requerimiento de oxígeno inferior al 40% de FiO₂ o hipotensión que responde a líquidos o dosis bajas de un vasopresor o toxicidad orgánica de grado 2.	Administre tocilizumab 8 mg/kg intravenoso durante 1 hora (no exceder 800 mg). Repita tocilizumab cada 8 horas según sea necesario si no responde a los líquidos intravenosos o al aumento de oxígeno suplementario. Límite a un máximo de 3 dosis en un período de 24 horas; máximo total de 4 dosis si no hay mejoría clínica en los signos y síntomas del CRS. Si está mejorando, descontinúe tocilizumab.	Maneje por Grado 3 si no hay mejora dentro de 24 horas luego de comenzar tocilizumab. Si mejora, disminuya corticoesteroides.
Grado 3 Los síntomas requieren y responden a una intervención agresiva. Requerimiento de oxígeno mayor o igual al 40% de FiO₂ o hipotensión que requiere vasopresores múltiples o en dosis altas o toxicidad orgánica de grado 3 o transaminitis de grado 4.	Por Grado 2	Administre metilprednisolona 1 mg/kg intravenoso dos veces al día o dexametasona equivalente (por ejemplo, 10 mg intravenoso cada 6 horas) hasta Grado 1, luego disminuir corticoesteroides. Si mejora, gestione como Grado 2. Si no mejora, gestione como Grado 4.
Grado 4 Síntomas potencialmente mortales.	Por Grado 2	Administre metilprednisolona 1000 mg intravenoso por día durante 3 días.

Requisitos de asistencia respiratoria o hemodiálisis veno-venosa continua (CVVHD), o toxicidad orgánica de grado 4 (excluyendo transaminitis).		Si mejora, disminuya los corticoesteroides y maneje como Grado 3. Si no mejora, considere inmunosupresores alternativos.
--	--	--

[0030] Realización 27. El método de cualquiera de las realizaciones 20 hasta 22 y 26, en el que la toxicidad neurológica en un sujeto con LLA de células B se maneja de acuerdo con uno de los dos protocolos siguientes:

Grado EN	Directrices de Gestión Originales	Directrices de Gestión Revisadas
Grado 1	• Cuidados de apoyo • Examen neurológico y tratamiento adicional según esté clínicamente indicado	• Cuidados de apoyo • Controle de cerca el estado neurológico • Considere un antiepiléptico profiláctico
Grado 2	<u>Cuidados de apoyo y Evaluación</u> • Examen neurológico, resonancia magnética cerebral, y evaluación de CSF; considere EEG como se indica clínicamente	<u>Cuidados de apoyo y Evaluación</u> • Telemetría cardíaca continua y oximetría de pulso según se indique

	• Considere un antiepiléptico profiláctico	• Exámenes neurológicos seriales para incluir fundoscopia y Glasgow Coma Score, resonancia magnética cerebral, evaluación de CSF, EEG; considere consulta a neurología • Administre antiepilépticos para pacientes con convulsiones
	<u>Tocilizumab</u> • Considere tocilizumab 8 mg/kg IV durante 1 hora (no exceder 800 mg) para pacientes con enfermedades comórbidas (por ejemplo, grado ≥ 2 CRS)	<u>Tocilizumab</u> • Para pacientes con CRS concurrente, Administre tocilizumab 8 mg/kg IV durante 1 hora (no exceder 800 mg); repita cada 4-6 horas según sea necesario si no responde a los líquidos intravenosos o al aumento de oxígeno suplementario, por un máximo de 3 dosis en 24 horas • Suspenda tocilizumab si el paciente mejora
	<u>Corticoesteroides</u> • N/A	<u>Corticoesteroides</u> • Para pacientes sin CRS concurrente, Administre dexametasona 10 mg IV cada 6 horas

		• Para pacientes con CRS concurrente, si no hay mejora dentro de 24 horas luego de comenzar tocilizumab, Administre dexametasona 10 mg IV cada 6 horas • Disminuir corticoesteroides si el paciente mejora
Grado 3	<u>Cuidados de apoyo y Evaluación</u> • Por grado 2 • Monitor con telemetría cardíaca continua y oximetría de pulso	<u>Cuidados de apoyo y Evaluación</u> • Manejar en cuidados monitoreados o UCI
	<u>Tocilizumab</u> • Considere tocilizumab 8 mg/kg IV durante 1 hora (no exceder 800 mg); repita cada 4-6 horas si los síntomas no se han estabilizado o mejorado	<u>Tocilizumab</u> • Por grado 2 • Descontinúe tocilizumab si el paciente mejora
	<u>Corticoesteroides</u> • Considere corticoesteroides (por ejemplo, dexametasona 10 mg IV cada 6 horas o metilprednisolona 1 mg/kg BID) por empeoramiento de los síntomas a pesar de tocilizumab	<u>Corticoesteroides</u> • Administre dexametasona 10 mg IV cada 6 horas • Disminuya corticoesteroides si el paciente mejora
Grado 4	<u>Cuidados de apoyo y Evaluación</u>	<u>Cuidados de apoyo y Evaluación</u>

	• Por grado 2 • Monitor con telemetría cardíaca continua y oximetría de pulso	• Por grado 3 • Puede requerirse ventilación mecánica • Administre inmunosupresores si el paciente no mejora
	<u><i>Tocilizumab</i></u> • Administre tocilizumab por grado 3 si no se administró previamente	<u><i>Tocilizumab</i></u> • Por grado 2
	<u><i>Corticoesteroides</i></u> • Administre corticoesteroides (por ejemplo, metilprednisolona 1g/d × 3 días, seguido de 250 mg BID × 2 días, luego 125 mg BID × 2 días, luego 60 mg BID × 2 días)	<u><i>Corticoesteroides</i></u> • Administre corticoesteroides a altas dosis (por ejemplo, metilprednisolona 1g/d × 3 días) • Disminuya corticoesteroides si el paciente mejora

[0031] Realización 28. El método de cualquiera de las realizaciones 1 hasta 27, en donde el sujeto con LLA de células B puede recibir uno o más de los siguientes regímenes de quimioterapia puente:

Regímenes de Quimioterapia Puente Predefinidos	
VAD Atenuado	Vincristina no liposomal (1-2 mg IV semanalmente) o liposomal (2,25 mg/m ² IV semanalmente), y dexametasona 20-40 mg IV o

	VO diaria x 3-4 días por semana. Doxorubicina opcional 50 mg/m ² IV x 1 (solo la primera semana)
Mercaptopurina (6-MP)	50-75 mg/m ² /día oral (administrar antes de acostarse con el estómago vacío para mejorar la absorción)
Hidroxiurea	Dosis tituladas entre 15-50 mg/kg/día (redondeado a la cápsula de 500 mg más cercana y administrado como una dosis oral diaria única de forma continua)
DOMP	Dexametasona 6 mg/m ² /día PO (o IV) BID dividido días 1-5, vincristina 1,5 mg/m ² (máximo dosis de 2 mg) IV on día 1, metotrexato 20 mg/m ² PO semanalmente, 6-MP 50-75 mg/m ² /día VO diaria
FLAG/FLAG-IDA Atenuado	Fludarabina 30 mg/m ² IV días 1-2, citarabina 2 g/m ² IV días 1-2, G-CSF 5 µg/kg SC o IV comienza el día 3 y puede continuar hasta el día antes del inicio de la quimioterapia de acondicionamiento. Con o sin idarubicina 6 mg/m ² IV días 1-2
Mini-hyper CVAD (cursos A y/o B)	Curso A: Ciclofosfamida 150 mg/m ² cada 12 h x 3 días, dexametasona 20 mg/d IV o VO diaria días 1-4 y 11-14, vincristina 2 mg IV x 1 Curso B: metotrexato 250 mg/m ² IV durante 24 horas en el día 1, citarabina 0,5 g/m ² IV cada 12 horas x 4 dosis en los días 2 y 3

[0032] Realización 29. Células T autólogas que expresan un CAR anti-CD19 para su uso en un método para tratar el linfoma de células del manto (MCL) o LLA de células B de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 hasta 28.

[0033] Realización 30. Uso de las células T autólogas que expresan un CAR anti-CD19 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del linfoma de células del manto (MCL) o LLA de células B de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 hasta 28.

[0034] Realización 31. Un método de predicción:

- (i) respuesta objetiva de un sujeto a un tratamiento de células T con CAR (opcionalmente, de acuerdo con el método de cualquiera de las realizaciones 1 a 28) que comprende medir los niveles máximos de células T con CAR y compararlos con un estándar de referencia, donde la respuesta objetiva se asocia positivamente con los niveles de células CAR T, en los que la respuesta objetiva incluye tanto la respuesta completa como la respuesta parcial, y en los que todas las respuestas se evalúan utilizando la clasificación de Lugano.
- (ii) enfermedad residual mínima (por ejemplo, en la semana 4) en respuesta a un tratamiento de células T con CAR (opcionalmente, de acuerdo con el método de cualquiera de las realizaciones 1 a 28) que comprende medir los niveles máximos de células T con CAR y compararlos con una referencia estándar, en el que la enfermedad residual mínima negativa se asocia con niveles máximos de células T con CAR más altos.
- (iii) CRS de grado ≥ 3 y/o eventos neurológicos (EN) de grado ≥ 3 en un sujeto que recibe tratamiento con células T con CAR (opcionalmente, de acuerdo con un método de cualquiera de las realizaciones 1 a 28) que comprende medir la expansión máxima de células T con CAR después de tratamiento y comparar los niveles con un valor de referencia, en el que cuanto mayor sea la expansión de las células T con CAR, mayor será la posibilidad de eventos de EN de grado ≥ 3 y/o de grado ≥ 3 .

- (iv) grado ≥ 3 CRS y/o grado ≥ 3 EN que comprende medir los niveles máximos de GM-CSF e IL-6 después del tratamiento con células T con CAR (opcionalmente, de acuerdo con el método de cualquiera de las realizaciones 1 a 28) y comparándolos con un nivel de referencia, en el que cuanto mayor sea el nivel máximo de estas citocinas, mayor será la probabilidad de un CRS de grado ≥ 3 y/o de grado ≥ 3 EN.
- (v) CRS de grado ≥ 3 en un sujeto que recibe tratamiento con células T con CAR (opcionalmente, de acuerdo con un método de cualquiera de las realizaciones 1 a 28) que comprende medir el nivel máximo de ferritina sérica después del tratamiento con células T con CAR y compararlo con un nivel de referencia, en el que cuanto mayor sea el nivel máximo de ferritina, mayor será la probabilidad de CRS de grado ≥ 3 .
- (vi) CRS de grado ≥ 3 que comprende medir los niveles máximos de IL-2 e IFN-gamma en suero después del tratamiento con células T con CAR (opcionalmente, de cualquiera de las realizaciones 1 a 28) y compararlos con un nivel de referencia, en el que el mayor el nivel máximo de IL-2 e IFN-gamma, mayor es la probabilidad de EN de grado ≥ 3 .
- (vii) CRS de grado ≥ 3 que comprende medir los niveles en el líquido cefalorraquídeo de proteína C reactiva, ferritina, IL-6, IL-8 y/o molécula de adhesión de células vasculares (VCAM) después del tratamiento con células T con CAR (opcionalmente, de cualquiera de las realizaciones 1 a 28) y comparándolas con un nivel de referencia, donde el nivel más alto de proteína C reactiva, ferritina, IL-6, IL-8 y/o molécula de adhesión de células vasculares (VCAM) en el líquido cefalorraquídeo, cuanto mayor sea la probabilidad de un grado ≥ 3 EN
- (viii) CRS de grado ≥ 3 después del tratamiento con células T con CAR (opcionalmente, de acuerdo con un método de cualquiera de las realizaciones 1 a 28) que comprende medir los niveles séricos máximos de IL-15, IL-2 R α , IL-6, TNF α , GM-CSF, ferritina, IL-10, IL-8, MIP-1a, MIP-1b, granzima A, granzima B y/o perforina después del tratamiento con anti-CD19 CAR T y comparando los niveles con los niveles de referencia, en donde el niveles séricos

máximos de IL-15, IL-2 R α , IL-6, TNF α , GM-CSF, ferritina, IL-10, IL-8, MIP-1a, MIP-1b, granzima A, granzima B y/o perforina se asocia positivamente con CRS grado ≥ 3 .

- (ix) CRS de grado ≥ 3 después del tratamiento con células T con CAR de LLA de células B (opcionalmente, de acuerdo con un método de cualquiera de las realizaciones 1 a 28) que comprende medir el nivel sérico máximo de IL-15 después del tratamiento con anti-CD19 CAR T y comparar los niveles con los niveles de referencia, en los que el nivel sérico máximo de IL-15 se asocia negativamente con CRS de grado ≥ 3 .
- (x) grado ≥ 3 CRS y/o grado ≥ 3 EN post-tratamiento con células T con CAR (opcionalmente, de acuerdo con un método de cualquiera de las realizaciones 1 a 28) que comprende medir los niveles séricos máximos de IL-6, TNF α , GM-CSF, IL-10, MIP-1b y granzima B después del tratamiento con anti-CD19 CAR T y comparando los niveles con los niveles de referencia, en los que los niveles séricos máximos de IL-6, TNF α , GM-CSF, IL-10, MIP-1b y granzima B se asocian positivamente con CRS de grado ≥ 3 y EN de grado ≥ 3 .
- (xi) si un paciente va a ser ERM (sensibilidad 10^{-5}) negativo a las 4 semanas/un mes después del tratamiento con células T con CAR (opcionalmente, de cualquiera de las realizaciones 1 a 28), que comprende medir los niveles séricos máximos de IFN- γ , IL-6 y/o IL-2 después del tratamiento y comparando el nivel con un estándar de referencia, en el que los niveles séricos máximos de IFN- γ , IL-6 y/o IL-2 se asocian positivamente con ser ERM negativo en un mes.

[0035] Realización 32. El método de cualquiera de las realizaciones 20 hasta 24, 26, 27, y 30 hasta 31, donde CRS y EN se clasifican mediante el método descrito en Lee et al., Blood 2014; 124: 188-195.

[0036] Realización 33. El método de la realización 31, en donde el estándar de referencia se establece mediante cualquier método generalmente utilizado en las técnicas de biomarcadores, como el análisis de cuartiles de poblaciones de pacientes con respuestas conocidas, grados de toxicidad y niveles de ERM..

[0037] Realización 34. El método de la realización 31, donde los niveles de células T con CAR se miden mediante copias del gen CAR por microgramo de ADN en sangre.

[0038] Realización 35. El método de cualquiera de las realizaciones 1 hasta 43, que comprende además la reducción de los niveles/actividad de las citocinas que se asocian positivamente con CRS de grado ≥ 3 y/o EN de grado ≥ 3 después de la infusión de células T con CAR para reducir la CRS de grado ≥ 3 y/o EN de grado ≥ 3 .

[0039] Realización 36. Un método para mejorar la eficacia del tratamiento con células T con CAR (por ejemplo, De MCL clásico, blastoide y pleomórfico, y LLA de células B), en un sujeto que lo necesite, que comprende manipular el fenotipo de células T del producto de células T administrado al sujeto, en el que opcionalmente la manipulación comprende aumentar el número de células T CD3 +, disminuir el número de células CD3-, aumentar el número/porcentaje de células T CDRA45 + CCR7 + (tipo sin tratamiento previo) y/o disminuir el número/porcentaje de células diferenciadas en el producto de células T durante la producción, disminuir los niveles de producción de IFN-gamma por las células T, donde la mejora se observa en relación con la efectividad de un producto de células T que se prepara sin ninguna manipulación intencional del número/porcentaje de Células T CDRA45 + CCR7 + (de tipo sin tratamiento previo) y/o el número/porcentaje de células diferenciadas en el producto de células T.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0040] FIGs 1A-1F: Perfil farmacodinámico comparable en grupos de pronóstico definidos por el índice de proliferación Ki-67 y tendencia a niveles elevados de citocinas en pacientes con *TP53* mutado.

[0041] FIGs 2A-2I: Aumento de los niveles máximos de citocinas seleccionadas en suero entre los pacientes que alcanzaron un estado de ERM negativo.

[0042] FIG. 3: Diseño del estudio ZUMA-3. CAR, receptor de antígeno quimérico; DLT, toxicidad limitante de la dosis.

[0043] FIG. 4. : Diagrama CONSORT ZUMA-3. * Los EA fueron masa pulmonar de grado 3 (n = 1), hematoma subdural de grado 1 (n = 1) y neutropenia febril de grado 3 (n = 1); † Los EA fueron sepsis de grado 4 (n = 1) y sepsis de grado 5 (n = 1); ‡ Un paciente recibió KTE-X19 bajo uso compasivo debido a trombosis venosa profunda, un criterio de exclusión del estudio. EA, evento adverso.

[0044] FIG. 5: Análisis de subgrupos de la tasa de respuesta completa. BM, médula ósea; ORR, tasa de remisión global; SCT, trasplante de células madre.

[0045] FIG. 6: Duración de la respuesta, supervivencia sin recaídas y supervivencia general por nivel de dosis.

[0046] FIG. 7: Expansión máxima de células T con CAR y asociaciones con respuesta, enfermedad residual mínima y toxicidad.

[0047] FIG. 8: El área de células T con CAR bajo la curva se asocia con respuesta, enfermedad residual mínima y toxicidad. EA, evento adverso; AUC, área bajo la curva; CAR, receptor de antígeno quimérico; CRS, síndrome de liberación de citocinas; ERM, enfermedad residual mínima residual.

[0048] FIG. 9: Niveles máximos de citocinas a lo largo del tiempo.

[0049] FIG. 10: Marcadores inflamatorios en muestras de suero sanguíneo al inicio y al pico posterior a la infusión. * El valor representa el límite inferior de cuantificación en el ensayo utilizado. † El valor representa el límite superior de cuantificación en el ensayo utilizado. EA, evento adverso; CAR, receptor de antígeno quimérico; CCL, ligando del motivo C-C; CRP, proteína C reactiva; CXCL, ligando de quimiocina de motivo C-X-C; FGFbF, forma básica del factor de crecimiento de fibroblastos; FLT-1, receptor de tirosina quinasa 1 relacionado con fms; GM-CSF, factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos; ICAM-1, molécula de adhesión intercelular 1; IFN, interferón; IL, interleucina; MCP, proteína quimioatrayente de monocitos-1; MDC, quimiocina derivada de macrófago; MIP, proteína inflamatoria de macrófago; PDL1, ligando 1 de muerte programada; PLGF, factor de crecimiento de placenta; R α , receptor alfa; RA, antagonista del receptor; SAA, amiloide A de suero; SFASL, ligando Fas soluble; TARC, timo y citocina regulada por activación; TNF, factor de necrosis tumoral; VCAM, proteína de adhesión de células vasculares; VEGF, factor de crecimiento vascular endotelial; VEGFC, factor de crecimiento vascular endotelial C; VEGFD, factor de crecimiento vascular endotelial D.

[0050] FIG. 11: Asociación de biomarcadores séricos con síndrome de liberación de citocinas y eventos neurológicos. * El valor representa el límite inferior de cuantificación en el ensayo utilizado. † El valor representa el límite superior de cuantificación en el ensayo utilizado. CRP, Proteína C reactiva; CXCL, Ligando de quimiocinas con motivo C-X-C; GM-CSF, factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos; IFN γ , interferón gamma; IL, interleucina; IP, proteína inducida por interferón γ ; MCP, proteína atrayente de monocitos; R α , receptor alfa; RA, antagonista del receptor; SAA, amiloide A de suero.

[0051] FIG. 12: Perfil farmacodinámico de KTE-X19 en los subgrupos de morfología del MCL. AUC, área bajo la curva; CAR, receptor de antígeno quimérico; CXCL10, Ligando de quimiocinas con motivo C-X-C 10; IFN-g, interferón gamma; IL, interleucina; MCL, linfoma de células del manto; MCP-1, proteína quimioatrayente de monocitos-1; MIP-1 β , proteína

inflamatoria de macrófago-1 beta; PD-L1, ligando 1 de muerte programada; PRF, perforina; R α , receptor alfa; TNF- α , factor de necrosis tumoral alfa.

[0052] FIG. 13: Perfil farmacológico de KTE-X19 en los subgrupos de morfología del MCL.

[0053] FIG. 14: Perfil farmacodinámico de KTE-X19 en subgrupos de BTKi previos. AUC, área bajo la curva; CAR, receptor de antígeno quimérico; CXCL10, Ligando de quimiocinas con motivo C-X-C 10; IFN-g, interferón gamma; IL, interleucina; MCL, linfoma de células del manto; MCP-1, proteína quimioatrayente de monocitos-1; MIP-1 β , proteína inflamatoria de macrófago-1 beta; PD-L1, ligando 1 de muerte programada; PRF, perforina; R α , receptor alfa; TNF- α , factor de necrosis tumoral alfa.

[0054] FIG. 15: Perfil farmacológico de KTE-X19 en subgrupos de BTKi previos.

[0055] FIG. 16: Tasa de respuesta continua en todos los subgrupos.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0056] Salvo que se indique expresamente lo contrario en el presente documento, cada uno de los siguientes términos tendrá el significado que se indica a continuación. Se establecen definiciones adicionales a lo largo de la solicitud. A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el significado que comúnmente entiende un experto en la técnica. Por ejemplo, el Diccionario Conciso de Biomedicina y Biología Molecular, Juo, Pei-Show, 2ª ed., 2002, CRC Press; El Diccionario de Biología Celular y Molecular, 3ª ed., 1999, Academic Press; y el Diccionario Oxford de Bioquímica y Biología Molecular, Revisado, 2000, Oxford University Press, proporcionan a los expertos un diccionario general de muchos de los términos utilizados en esta aplicación.

[0057] Las unidades, prefijos y símbolos se indican en su forma aceptada por Système International de Unites (SI). Los rangos numéricos incluyen los números que definen el rango.

La divulgación proporcionada en el presente documento no son limitaciones de los diversos aspectos de la solicitud, que pueden ser por referencia a la descripción en su conjunto. A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que el comúnmente entendido por un experto en la técnica a la que se refiere esta descripción. Por ejemplo, Juo, "The Concise Dictionary de Biomedicine y Molecular Biology", 2ª ed., (2001), CRC Press; "El Diccionario de Biología Celular y Molecular", 5ª ed., (2013), Academic Press; y "El Diccionario Oxford de Bioquímica y Biología Molecular", Cammack et al. eds., 2ª ed. (2006), Oxford University Press, proporcionan a los expertos en la técnica un diccionario general para muchos de los términos usados en esta descripción.

[0058] Los artículos "un" o "una" se refieren a "uno o más" de cualquier componente recitado o enumerado.

[0059] Los términos "aproximadamente" o "que comprende esencialmente" se refieren a un valor o composición que se encuentra dentro de un rango de error aceptable para cierto valor o composición según lo determine un experto en la técnica, que dependerá en parte de cómo se mide o determina el valor o la composición, es decir, las limitaciones del sistema de medición. Por ejemplo, "aproximadamente" o "que comprende esencialmente de" puede significar dentro de 1 o más de 1 desviación estándar según la práctica en la técnica. Alternativamente, "aproximadamente" o "que comprende esencialmente de" puede significar un intervalo de hasta el 10% (es decir, $\pm 10\%$). Por ejemplo, aproximadamente 3 mg pueden incluir cualquier número entre 2,7 mg y 3,3 mg (para el 10%). Con respecto a los sistemas o procesos biológicos, los términos pueden significar hasta un orden de magnitud o hasta 5 veces un valor. Cuando se proporcionan ciertos valores o composiciones en la solicitud y las reivindicaciones, a menos que se indique lo contrario, el significado de "aproximadamente" o "que comprende esencialmente de" incluye un intervalo de error aceptable para ese valor o composición. Cualquier rango de concentración, rango de porcentaje, rango de razón o rango de números enteros incluye el valor de cualquier número entero dentro del rango mencionado y, cuando sea apropiado, fracciones del mismo (como un décimo y un centésimo de un número entero), a menos que se indique lo contrario.

[0060] A menos que se indique específicamente o sea obvio por el contexto, como se usa en el presente documento, el término "o" se entiende que es inclusivo y cubre tanto "o" como "y". El término "y/o" se refiere a cada una de las dos características o componentes especificados con o sin el otro. Por lo tanto, el término "y/o" como se usa en una frase como "A y/o B" en el presente documento pretende incluir "A y B", "A o B", "A" (solo) y "B" (solo). De manera similar, el término "y/o" como se usa en una frase como "A, B y/o C" pretende abarcar cada uno de los siguientes aspectos: A, B y C; A, B o C; A o C; A o B; B o C; A y C; A y B; B y C; A (solo); B (solo); y C (solo).

[0061] Los términos "por ejemplo" y "es decir" se utilizan simplemente a modo de ejemplo, sin limitación intencionada, y no deben interpretarse como referencias solo a los elementos enumerados explícitamente en la especificación.

[0062] Los términos "o más", "al menos", "más que" y similares, por ejemplo, "al menos uno" incluyen, pero no se limitan a, al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149 o 150, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 o más que el valor indicado. También se incluye cualquier número mayor o fracción intermedia. El término "no más de" incluye cada valor menor que el valor indicado. Por ejemplo, "no más de 100 nucleótidos" incluye 100, 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 89, 88, 87, 86, 85, 84, 83, 82, 81, 80, 79, 78, 77, 76, 75, 74, 73, 72, 71, 70, 69, 68, 67, 66, 65, 64, 63, 62, 61, 60, 59, 58, 57, 56, 55, 54, 53, 52, 51, 50, 49, 48, 47, 46, 45, 44, 43, 42, 41, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, y 0 nucleótidos. También se incluye cualquier número menor o fracción intermedia.

[0063] Los términos "pluralidad", "al menos dos", "dos o más", "al menos un segundo" y similares incluyen pero no se limitan a al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149 o 150, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 o más. También se incluye cualquier número mayor o fracción intermedia.

[0064] A lo largo de la especificación, la palabra "que comprende" o variaciones tales como "comprende" o "comprende" se entiende que implica la inclusión de un elemento, número entero o paso, o grupo de elementos, números enteros o pasos establecidos, pero no la exclusión de cualquier otro elemento, entero o paso, o grupo de elementos, números enteros o pasos. Se entiende que siempre que se describen en el presente documento aspectos con el lenguaje "que comprende", también se proporcionan aspectos análogos descritos en términos de "que consiste en" y/o "que consiste esencialmente en". El término "que consiste en" excluye cualquier elemento, paso o ingrediente no especificado en la reivindicación. En re Gray, 53 F.2d 520, 11 USPQ 255 (CCPA 1931); Ex parte Davis, 80 USPQ 448, 450 (Bd. App. 1948) ("que consiste en" definido como "cerrar la reclamación a la inclusión de materiales distintos a los enumerados excepto por las impurezas normalmente asociadas con ellos"). El término "que consiste esencialmente en" limita el alcance de una reivindicación a los materiales o pasos especificados "y aquellos que no afecten materialmente a las características básicas y nuevas" de la invención reivindicada.

[0065] A menos que se indique específicamente o sea evidente por el contexto, como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente" se refiere a un valor o composición que está dentro de un rango de error aceptable para el valor o composición particular según lo determine un experto en la técnica, lo cual dependerá en parte de cómo se mida o se determine el valor o la composición, es decir, las limitaciones del sistema de medición.

Por ejemplo, "alrededor de" o "aproximadamente" puede significar dentro de una o más de una desviación estándar según la práctica en la técnica. "Alrededor de" o "aproximadamente" puede significar un rango de hasta el 10% (es decir, $\pm 10\%$). Por tanto, "aproximadamente" puede entenderse dentro de 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5%, 0,1%, 0,05%, 0,01%, o 0,001% mayor o menor que el valor indicado. Por ejemplo, aproximadamente 5 mg pueden incluir cualquier cantidad entre 4,5 mg y 5,5 mg. Además, particularmente con respecto a los sistemas o procesos biológicos, los términos pueden significar hasta un orden de magnitud o hasta 5 veces un valor. Cuando se proporcionan valores o composiciones particulares en la presente divulgación, a menos que se indique lo contrario, se debe suponer que el significado de "alrededor de" o "aproximadamente" está dentro de un rango de error aceptable para ese valor o composición particular.

[0066] Como se describe en el presente documento, cualquier rango de concentración, rango de porcentaje, rango de relación o rango de números enteros debe entenderse que incluye el valor de cualquier número entero dentro del rango mencionado y, cuando sea apropiado, fracciones del mismo (tales como una décima y un centésimo de un número entero), a menos que se indique lo contrario.

[0067] El término "activación", "activado" o similares se refiere al estado de una célula, que incluye y no se limita a una célula inmunitaria (por ejemplo, una célula T), que ha sido suficientemente estimulada para inducir la proliferación de células detectables. La activación puede estar asociada con la producción de citocinas inducida y funciones efectoras detectables. El término "células T activadas" se refiere, entre otras cosas, a células T que están experimentando división celular. La activación de las células T puede caracterizarse por un aumento de la expresión de las células T de uno o más biomarcadores, que incluyen, entre otros, CD57, PD1, CD107a, CD25, CD137, CD69, y/o CD71. Los métodos para activar y expandir células T se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, en las Patentes de Estados Unidos Nos. 6,905,874; 6,867,041; y 6,797,514; y Publicación PCT No. WO 2012/079000, cuyos contenidos se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad. En general, tales métodos incluyen poner en contacto las células (como las células T) con un agente activador, estimulante o coestimulador (como los anticuerpos anti-CD3 y/o anti-CD28) que

pueden unirse, recubrirse o unirse a una perla o otra superficie, en una solución (como alimentación, cultivo y/o medio de crecimiento) con ciertas citocinas (tal como IL-2, IL-7, y/o IL-15). El agente de activación (como los anticuerpos anti-CD3 y/o anti-CD28) unido a la misma perla sirve como una célula presentadora de antígeno "sustituta" (APC). Un ejemplo es el sistema Dynabeads®, un sistema activador/estimulador CD3/CD28 para la activación fisiológica de las células T humanas. En una realización, las células T se activan y estimulan para que proliferen con ciertos anticuerpos y/o citocinas usando los métodos descritos en las Patentes de los Estados Unidos Nos. 6,040,177 y 5,827,642 y la Publicación PCT No. WO 2012/129514, cuyo contenido se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad.

[0068] Los términos "administración", "administrar" o similares se refieren a la introducción física de un agente a un sujeto, utilizando cualquiera de los diversos métodos y sistemas de administración conocidos por los expertos en la técnica. Vías de administración ejemplares para las células inmunes preparadas mediante los métodos descritos en el presente documento incluyen vías de administración intravenosa (i.v. o IV), intramuscular, subcutánea, intraperitoneal, espinal u otras vías de administración parenteral, por ejemplo mediante inyección o infusión. La vía de administración parenteral se refiere a modos de administración distintos de la administración enteral y tópica, generalmente por inyección, e incluye, sin limitación, intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intralinfática, intralesional, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, inyección e infusión subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal, epidural e intraesternal, así como electroporación *en vivo*. En una realización, las células inmunes (por ejemplo, células T) preparadas mediante los presentes métodos se administran mediante inyección o infusión. Las rutas no parenterales incluyen una ruta de administración tópica, epidérmica o mucosa, por ejemplo, intranasal, vaginal, rectal, sublingual o tópica. La administración también puede ser una, dos o una pluralidad de veces durante uno o más períodos prolongados. Cuando se estén administrando uno o más agentes terapéuticos (por ejemplo, células), la administración puede realizarse de forma concomitante o secuencial. Administración secuencial que comprende la administración de un agente solo después de que se haya completado la administración del otro agente o agentes.

[0069] El término "anticuerpo" (Ab) incluye, sin limitación, una inmunoglobulina que se une específicamente a un antígeno. En general, un anticuerpo puede comprender al menos dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro. Cada cadena H comprende una región variable de cadena pesada (abreviada en el presente documento como VH) y una región constante de cadena pesada. La región constante de la cadena pesada puede comprender tres o cuatro dominios constantes, CH1, CH2 CH3 y/o CH4. Cada cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (abreviada en el presente documento como VL) y una región constante de cadena ligera. La región constante de cadena ligera puede comprender un dominio constante, CL. Las regiones VH y VL pueden subdividirse en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco (FR). Cada VH y VL comprende tres CDR y cuatro FR, ordenados desde el extremo amino al extremo carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Una inmunoglobulina puede derivar de cualquiera de los isotipos comúnmente conocidos, incluidos, entre otros, IgA, IgA secretora, IgG e IgM. Las subclases de IgG también son bien conocidas por los expertos en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 humanas. "Isotipo" se refiere a la clase o subclase Ab (por ejemplo, IgM o IgG1) que está codificada por los genes de la región constante de la cadena pesada. El término "anticuerpo" incluye, a modo de ejemplo, Abs de origen natural y no natural; Abs monoclonales y policlonales; Abs quiméricos y humanizados; Abs humanos o no humanos; Abs totalmente sintéticos; y Abs monocatenario. Un Ab no humano puede humanizarse mediante métodos recombinantes para reducir su inmunogenicidad en el hombre. Cuando no se indique expresamente, y a menos que el contexto indique lo contrario, el término "anticuerpo" también incluye un fragmento de unión a antígeno o una parte de unión a antígeno de cualquiera de las inmunoglobulinas mencionadas anteriormente, un fragmento o parte monovalente y divalente, y una cadena sencilla. Ab.

[0070] Una "molécula de unión a antígeno", "fragmento de anticuerpo" o similares se refieren a cualquier porción de un anticuerpo menor que el total. Una molécula de unión a antígeno puede incluir las regiones determinantes de complementariedad (CDR) antigénica. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen, pero no se limitan a, fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂ y Fv, dAb, anticuerpos lineales, anticuerpos scFv y anticuerpos multispecíficos

formados a partir de moléculas de unión a antígeno. En un aspecto, el constructo CAR CD19 comprende un Fv monocatenario anti-CD 19. Un fragmento de unión de anticuerpo "Fv monocatenario" o "scFv" comprende los dominios variablemente pesados (V_H) y variables ligeros (V_L) de un anticuerpo, donde estos dominios están presentes en una única cadena polipeptídica. Generalmente, el polipéptido Fv comprende además un polipéptido enlazador entre los dominios V_H y V_L , que permite que scFv forme la estructura deseada para la unión al antígeno. Todos los términos relacionados con anticuerpos usados en el presente documento toman el significado habitual en la técnica y son bien entendidos por un experto en la técnica.

[0071] Un "antígeno" se refiere a cualquier molécula que provoque una respuesta inmune o que sea capaz de unirse a un anticuerpo o una molécula de unión a antígeno. La respuesta inmune puede implicar la producción de anticuerpos o la activación de células inmunológicamente competentes específicas, o ambas. Una persona experta en la técnica comprenderá fácilmente que cualquier macromolécula, incluidas prácticamente todas las proteínas o péptidos, puede servir como antígeno. Un antígeno puede expresarse de forma endógena, es decir, expresarse mediante ADN genómico, o puede expresarse de manera recombinante. Un antígeno puede ser específico para un determinado tejido, como una célula cancerosa, o puede expresarse de forma amplia. Además, los fragmentos de moléculas más grandes pueden actuar como antígenos. En algunas realizaciones, los antígenos son antígenos tumorales.

[0072] El término "neutralizante" se refiere a una molécula de unión a antígeno, scFv, anticuerpo o un fragmento del mismo, que se une a un ligando y previene o reduce el efecto biológico de ese ligando. En algunas realizaciones, la molécula de unión al antígeno, scFv, anticuerpo o un fragmento del mismo, bloquea directamente un sitio de unión en el ligando o altera de otro modo la capacidad del ligando para unirse a través de medios indirectos (tales como alteraciones estructurales o energéticas en el ligando). En algunas realizaciones, la molécula de unión al antígeno, scFv, anticuerpo o un fragmento del mismo evita que la proteína a la que está unido realice una función biológica.

[0073] El término "autólogo" se refiere a cualquier material derivado del mismo individuo al que posteriormente se volverá a introducir. Por ejemplo, el método de terapia de células autólogas de ingeniería descrito en el presente documento implica una colección de linfocitos de un individuo (como un donante o un paciente), que luego se diseñan para expresar un constructo de CAR y luego se administran de nuevo al mismo individuo.

[0074] El término "alogénico" se refiere a cualquier material derivado de un individuo que luego se introduce en otro individuo de la misma especie, por ejemplo, trasplante de células T alogénicas.

[0075] Un "cáncer" se refiere a un amplio grupo de diversas enfermedades caracterizadas por el crecimiento incontrolado de células anormales en el cuerpo. La división y el crecimiento celular no regulados dan como resultado la formación de tumores malignos que invaden los tejidos vecinos y también pueden hacer metástasis en partes distantes del cuerpo a través del sistema linfático o el torrente sanguíneo. Un "cáncer" o "tejido canceroso" puede incluir un tumor en varias etapas. En una realización, el cáncer o el tumor está en etapa 0, de manera que, por ejemplo, el cáncer o el tumor está en un desarrollo muy temprano y no ha hecho metástasis. En otra realización, el cáncer o tumor está en etapa I, de modo que, por ejemplo, el cáncer o tumor es de tamaño relativamente pequeño, no se ha diseminado al tejido cercano y no ha hecho metástasis. En otra forma de realización, el cáncer o tumor está en estadio II o estadio III, de manera que, por ejemplo, el cáncer o tumor es más grande que en el estadio 0 o estadio I, y ha crecido en los tejidos vecinos pero no ha hecho metástasis, excepto potencialmente a los ganglios linfáticos. En una realización adicional, el cáncer o tumor está en etapa IV, de manera que, por ejemplo, el cáncer o tumor ha hecho metástasis. El estadio IV también puede denominarse cáncer avanzado o metastásico.

[0076] Un "efecto antitumoral", como se usa en el presente documento, se refiere a un efecto biológico que puede presentar, y sin limitarse a, una disminución en el volumen del tumor, una inhibición del crecimiento del tumor, una disminución en el número de células tumorales, una disminución en la proliferación de células tumorales, una disminución en el número/extensión de metástasis, un aumento en la supervivencia total o libre de progresión, un

aumento en la esperanza de vida y/o una mejoría de varios síntomas fisiológicos asociados con el tumor. Un efecto antitumoral también puede referirse a la prevención de la aparición de un tumor, por ejemplo, una vacuna.

[0077] El término "supervivencia libre de progresión" (PFS) se refiere al tiempo desde la fecha del tratamiento hasta la fecha de progresión de la enfermedad (según las pautas generales, tales como Criterios de respuesta IWG revisados para linfoma maligno) o muerte por cualquier causa. El término "progresión de la enfermedad" puede evaluarse midiendo las lesiones malignas en radiografías u otros métodos no deben notificarse como eventos adversos. La muerte debida a la progresión de la enfermedad en ausencia de signos y síntomas se puede informar como el tipo de tumor primario (por ejemplo, DLBCL). El término "duración de la respuesta" (DOR) se refiere al período de tiempo entre la primera respuesta objetiva de un sujeto hasta la fecha de progresión confirmada de la enfermedad (según las pautas generales, como los Criterios de respuesta IWG revisados para linfoma maligno) o la muerte. El término "supervivencia general" (SG) se refiere al tiempo desde la fecha del tratamiento hasta la fecha de la muerte.

[0078] Una "citocina" se refiere a una proteína que no es un anticuerpo que puede ser liberada por células inmunes, incluidos macrófagos, células B, células T y mastocitos para propagar una respuesta inmunitaria. En una realización, se liberan una o más citocinas en respuesta a la terapia. En otra realización, las citocinas secretadas en respuesta a la terapia pueden indicar o sugerir una terapia eficaz. En una realización, "citocina" se refiere a una proteína que no es un anticuerpo que es liberada por una célula en respuesta al contacto con un antígeno específico, en donde la citocina interactúa con una segunda célula para mediar una respuesta en la segunda célula. "Citocina", como se usa en el presente documento, se refiere a proteínas liberadas por una población celular que actúan sobre otra célula como mediadores intercelulares. Una citocina puede ser expresada de forma endógena por una célula o administrada a un sujeto. Las citocinas pueden ser liberadas por células inmunes, incluidos macrófagos, células B, células T y mastocitos para propagar una respuesta inmunitaria. Las citocinas pueden inducir diversas respuestas en la célula receptora. Las citocinas pueden incluir citocinas homeostáticas, quimiocinas, citocinas proinflamatorias, efectores y proteínas de fase

aguda. Por ejemplo, las citocinas homeostáticas, incluidas la interleucina (IL) 7 e IL-15, promueven la supervivencia y la proliferación de las células inmunitarias, y las citocinas proinflamatorias pueden promover una respuesta inflamatoria. Los ejemplos de citocinas homeostáticas incluyen, pero no se limitan a, IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-10, IL-12p40, IL-12p70, IL-15, y interferón (IFN) gamma. Ejemplos de citocinas proinflamatorias incluyen, pero no se limitan a, IL-1a, IL-1b, IL-6, IL-13, IL-17a, factor de necrosis tumoral (TNF)-alfa, TNF-beta, factor de crecimiento de fibroblasto (FGF) 2, factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), molécula de adhesión intercelular soluble 1 (sICAM-1), molécula de adhesión vascular soluble 1 (sVCAM-1), factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), VEGF-C, VEGF-D, y factor de crecimiento de placenta (PLGF). Ejemplos de efectores incluyen, pero no se limitan a, granzima A, granzima B, ligando Fas soluble (sFasL), y perforina. Ejemplos de proteínas de fase aguda incluyen, pero no se limitan a, Proteína C reactiva (CRP) y amiloide A de suero (SAA).

[0079] Las "quimiocinas" son un tipo de citocina que media la quimiotaxis celular o el movimiento direccional. Los ejemplos de quimiocinas incluyen, pero no se limitan a, IL-8, IL-16, eotaxina, eotaxina-3, quimiocina derivada de macrófago (MDC o CCL22), proteína quimiotáctica de monocito 1 (MCP-1 o CCL2), MCP-4, proteína inflamatoria de macrófago 1 α (MIP-1 α , MIP-1a), MIP-1 β (MIP-1b), proteína 10 inducida por rayos gamma (IP-10) y quimiocina regulada por activación y timo (TARC o CCL17).

[0080] Una "cantidad terapéuticamente eficaz", "dosis terapéuticamente eficaz" o similar se refiere a una cantidad de células (como células inmunes o células T modificadas genéticamente) que se producen mediante los presentes métodos (que dan como resultado un producto de células T) y que, cuando se usa solo o en combinación con otro agente terapéutico, protege o trata a un sujeto contra la aparición de una enfermedad o promueve la regresión de la enfermedad como lo demuestra una disminución en la gravedad de los síntomas de la enfermedad, un aumento en la frecuencia y duración de los períodos sin síntomas de la enfermedad y/o prevención de deterioro o discapacidad debido a la aflicción de una enfermedad. La capacidad para promover la regresión de la enfermedad puede evaluarse utilizando una variedad de métodos conocidos por el médico experto, como en sujetos durante ensayos clínicos,

en sistemas de modelos animales que predicen la eficacia en humanos o ensayando la actividad del agente en ensayos *en vitro*. En algunas realizaciones, las células T del donante para su uso en la terapia con células T se obtienen del paciente (por ejemplo, para una terapia con células T autólogas). En otras realizaciones, las células T del donante para su uso en la terapia con células T se obtienen de un sujeto que no es el paciente. Las células T pueden administrarse en una cantidad terapéuticamente eficaz. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz de células T puede ser al menos aproximadamente 10^4 células, al menos aproximadamente 10^5 células, al menos aproximadamente 10^6 células, al menos aproximadamente 10^7 células, al menos aproximadamente 10^8 células, al menos aproximadamente 10^9 , o al menos aproximadamente 10^{10} . En otra realización, la cantidad terapéuticamente efectiva de las células T es aproximadamente 10^4 células, aproximadamente 10^5 células, aproximadamente 10^6 células, aproximadamente 10^7 células, o aproximadamente 10^8 células. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de las células T con CAR es aproximadamente 2×10^6 células/kg, aproximadamente 3×10^6 células/kg, aproximadamente 4×10^6 células/kg, aproximadamente 5×10^6 células/kg, aproximadamente 6×10^6 células/kg, aproximadamente 7×10^6 células/kg, aproximadamente 8×10^6 células/kg, aproximadamente 9×10^6 células/kg, aproximadamente 1×10^7 células/kg, aproximadamente 2×10^7 células/kg, aproximadamente 3×10^7 células/kg, aproximadamente 4×10^7 células/kg, aproximadamente 5×10^7 células/kg, aproximadamente 6×10^7 células/kg, aproximadamente 7×10^7 células/kg, aproximadamente 8×10^7 células/kg, o aproximadamente 9×10^7 células/kg. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de las células T viables CAR positivas está entre aproximadamente 1×10^6 y aproximadamente 2×10^6 células T viables CAR positivas por kg de peso corporal hasta un máximo de dosis de aproximadamente 1×10^8 células T viables CAR positivas. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de las células T viables CAR positivas está entre aproximadamente $0,4 \times 10^8$ y aproximadamente 2×10^8 células T viables CAR positivas. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de las células T viables CAR positivas es aproximadamente $0,4 \times 10^8$, aproximadamente $0,5 \times 10^8$, aproximadamente $0,6 \times 10^8$, aproximadamente $0,7 \times 10^8$, aproximadamente $0,8 \times 10^8$, aproximadamente $0,9 \times 10^8$, aproximadamente $1,0 \times 10^8$, aproximadamente $1,1 \times 10^8$, aproximadamente $1,2 \times 10^8$, aproximadamente $1,3 \times 10^8$, aproximadamente $1,4 \times 10^8$, aproximadamente $1,5 \times 10^8$,

aproximadamente $1,6 \times 10^8$, aproximadamente $1,7 \times 10^8$, aproximadamente $1,8 \times 10^8$, aproximadamente $1,9 \times 10^8$, o aproximadamente $2,0 \times 10^8$ células T viables CAR positivas

[0081] El término "linfocito", como se usa en el presente documento, puede incluir células asesinas naturales (NK), células T, células NK-T o células B. Las células NK son un tipo de linfocito citotóxico (tóxico para las células) que representan un componente principal del sistema inmunológico inherente. Las células NK rechazan los tumores y las células infectadas por virus, mediante el proceso de apoptosis o muerte celular programada. Fueron denominados "asesinos naturales" porque no requieren activación para matar células. Las células T juegan un papel importante en la inmunidad mediada por células (sin participación de anticuerpos). Los receptores de células T (TCR) se diferencian de otros tipos de linfocitos. El timo, un órgano especializado del sistema inmunológico, es el principal responsable de la maduración de las células T.

[0082] Existen varios tipos de "células inmunes", que incluyen, sin limitación, macrófagos (por ejemplo, macrófagos asociados a tumores) neutrófilos, basófilos, eosinófilos, granulocitos, células asesinas naturales (células NK), células B, células T, Células NK-T, mastocitos, linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), células supresoras derivadas de mieloides (MDSC) y células dendríticas. El término también incluye precursores de estas células inmunes. Las células madre y/o progenitoras hematopoyéticas pueden derivarse de la médula ósea, sangre del cordón umbilical, sangre periférica adulta después de la movilización de citocinas y similares, mediante métodos conocidos en la técnica. Algunas células precursoras son aquellas que pueden diferenciarse en el linaje linfoide, por ejemplo, células madre hematopoyéticas o células progenitoras del linaje linfoide. Se describen ejemplos adicionales de células inmunes que se pueden usar para terapia inmunológica en la publicación de EE. UU. Número 20180273601, incorporada en el presente documento como referencia en su totalidad.

[0083] También hay varios tipos de células T, a saber: células T colaboradoras (por ejemplo, células CD4 +, células efectoras T_{EFF}), células T citotóxicas (también conocidas como TC, linfocitos T citotóxicos, CTL, células T asesinas, células T citolíticas, células T CD8 + o células T asesinas), células T con memoria ((i) células T_{SCM} de memoria madre, como las células

vírgenes, CD45RO⁻, CCR7⁺, CD45RA⁺, CD62L⁺ (L-selectina), CD27⁺, CD28⁺ y IL-7R α ⁺, pero también expresan grandes cantidades de CD95, IL-2R β , CXCR3 y LFA-1, y muestran numerosos atributos funcionales distintivos de las células de memoria); (ii) las células T_{CM} de memoria central expresan L-selectina y son CCR7⁺ y CD45RO⁺ y secretan IL-2, pero no IFN γ o IL-4, y (iii) las células T_{EM} de memoria efectora, sin embargo, no expresan L-selectina o CCR7 pero expresan CD45RO y producen citocinas efectoras como IFN γ e IL-4), células T reguladoras (Treg, células T supresoras o células T reguladoras CD4⁺ CD25⁺), células T asesinas naturales (NKT) y células T Gamma Delta. Las células T que se encuentran dentro de los tumores se denominan "linfocitos infiltrantes de tumores" (TIL). Las células B, por otro lado, juegan un papel principal en la inmunidad humoral (con participación de anticuerpos). Produce anticuerpos y antígenos y desempeña el papel de células presentadoras de antígenos (APC) y se convierte en células B de memoria después de la activación por interacción del antígeno. En los mamíferos, las células B inmaduras se forman en la médula ósea, de donde se deriva su nombre.

[0084] Una célula T "sin tratamiento previo" se refiere a una célula T madura que permanece inmunológicamente indiferenciada. Después de la selección positiva y negativa en el timo, los linfocitos T emergen como linfocitos T no tratados con CD4⁺ o CD8⁺. En su estado sin tratamiento previo, las células T expresan L-selectina (CD62L⁺), receptor de IL-7- α (IL-7R- α) y CD132, pero no expresan CD25, CD44, CD69 o CD45RO. Como se usa en el presente documento, "inmaduro" también puede referirse a una célula T que exhibe un fenotipo característico de una célula T sin tratamiento previo o una célula T inmadura, tal como una célula T_{SCM} o una célula T_{CM}⁻. Por ejemplo, una célula T inmadura puede expresar una o más de L-selectina (CD62L⁺), IL-7R α , CD132, CCR7, CD45RA, CD45RO, CD27, CD28, CD95, IL-2R β , CXCR3 y LFA-1. Las células T vírgenes o inmaduras pueden contrastarse con las células T efectoras diferenciadas terminales, como las células T_{EM} y las células T_{EFF}.

[0085] La "función de las células T", como se denomina en el presente documento, se refiere a las características normales de las células T sanas. La función de las células T puede comprender la proliferación de las células T, la actividad de las células T y/o la actividad citolítica. En una realización, los métodos de la presente solicitud para preparar células T bajo ciertas condiciones de oxígeno y/o presión aumentarían la función de una o más células T,

haciendo así las células T más aptas y/o más potentes para fines terapéuticos. En alguna realización, las células T que se preparan de acuerdo con los presentes métodos tienen una función de células T aumentada en comparación con aquellas en condiciones que carecen de cierto oxígeno y/o presión. En otra realización, las células T que se preparan de acuerdo con los presentes métodos tendrían una mayor proliferación de células T en comparación con las células T cultivadas en condiciones que carecen de cierto oxígeno y/o presión. En una realización adicional, las células T que se preparan de acuerdo con los presentes métodos tienen una mayor actividad de las células T en comparación con las células T cultivadas en condiciones que carecen de cierto oxígeno y/o presión. En una realización adicional, las células T que se preparan de acuerdo con los presentes métodos tienen una actividad citolítica aumentada en comparación con las células T cultivadas en condiciones que carecen de cierto oxígeno y/o presión.

[0086] Los términos "proliferación" celular, "proliferando" o similares se refieren a la capacidad de las células para crecer en número a través de la división celular. La proliferación puede medirse teñiendo las células con éster succinimidílico de carboxifluoresceína (CFSE). La proliferación celular puede ocurrir *en vitro*, por ejemplo, durante el cultivo de células T, o *en vivo*, por ejemplo, después de la administración de una terapia con células inmunes (por ejemplo, terapia con células T). La proliferación celular se puede medir o determinar mediante los métodos descritos en el presente documento o conocidos en el campo. Por ejemplo, la proliferación celular se puede medir o determinar mediante la densidad de células viables (VCD) o células viables totales (TVC). VCD o TVC pueden ser teóricos (se extrae una alícuota o muestra de un cultivo en un momento determinado para determinar el número de células, luego el número de células se multiplica con el volumen de cultivo al comienzo del estudio) o real (se extrae una alícuota o muestra de un cultivo en un punto de tiempo determinado para determinar el número de células, luego el número de células se multiplica con el volumen de cultivo real en el punto de tiempo determinado). El término "actividad de las células T" se refiere a cualquier actividad común a las células T sanas. En una realización, la actividad de las células T comprende la producción de citocinas (tales como $\text{INF}\gamma$, IL-2 y/o $\text{TNF}\alpha$). En otra realización, la actividad de las células T comprende la producción de una o más citocinas seleccionadas de interferón gamma ($\text{IFN}\gamma$ o $\text{IFN-}\gamma$), factor de necrosis tisular alfa ($\text{TNF}\alpha$ o $\text{IFN}\alpha$) y ambos. Los términos "actividad citolítica", "citotoxicidad" o similares se refieren a la capacidad de una

célula T para destruir una célula diana. En una realización, la célula diana es una célula cancerosa, por ejemplo, una célula tumoral. En otra realización, la célula T expresa un receptor de antígeno quimérico (CAR) o un receptor de célula T (TCR), y la célula diana expresa un antígeno diana.

[0087] El término "diseñado genéticamente", "edición de genes" o "diseñado" se refiere a un método para modificar el genoma de una célula, que incluye, entre otros, eliminar una región codificante o no codificante o una porción del mismo o insertando una región codificante o una parte del mismo. En una realización, la célula que se modifica es un linfocito, por ejemplo, una célula T, que puede obtenerse de un paciente o de un donante. La célula puede modificarse para expresar una construcción exógena, tal como, por ejemplo, un receptor de antígeno quimérico (CAR) o un receptor de células T (TCR), que se incorpora al genoma de la célula.

[0088] Los términos "transducción" y "transducido" se refieren al proceso mediante el cual se introduce ADN extraño en una célula a través de un vector viral (ver Jones et al., "Genetics: Principles y Analysis", Boston: Jones & Bartlett Publ. (1998)). En algunas realizaciones, el vector es un vector retroviral, un vector de ADN, un vector de ARN, un vector adenoviral, un vector baculoviral, un vector viral de Epstein Barr, un vector papovaviral, un vector viral vaccinia, un vector viral herpes simplex, un adenovirus vector asociado, un vector lentiviral o cualquier combinación de los mismos

[0089] "Receptores de antígeno quiméricos" (CARs o CAR-Ts) y los receptores de células T (TCR) de la solicitud son receptores modificados genéticamente. Estos receptores manipulados pueden insertarse y expresarse fácilmente en células inmunitarias, incluidas células T, de acuerdo con técnicas conocidas en la técnica. Con un CAR, se puede programar un solo receptor para reconocer un antígeno específico y, cuando se une a ese antígeno, activar la célula inmunitaria para atacar y destruir la célula que porta o expresa ese antígeno. Cuando estos antígenos existen en las células tumorales, una célula inmunitaria que expresa el CAR puede apuntar y destruir la célula tumoral. En una realización, la célula que se prepara según la presente solicitud es una célula que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR), o un receptor de células T, que comprende una molécula de unión a antígeno, un dominio coestimulador y un

dominio activador. El dominio coestimulador puede comprender un dominio extracelular, un dominio transmembrana y un dominio intracelular. En una realización, el dominio extracelular comprende una bisagra o un dominio de bisagra truncado.

[0090] Una "respuesta inmune" se refiere a la acción de una célula del sistema inmune (por ejemplo, linfocitos T, linfocitos B, células asesinas naturales (NK), macrófagos, eosinófilos, mastocitos, células dendríticas y neutrófilos) y solubles. macromoléculas producidas por cualquiera de estas células o el hígado (incluidos Abs, citocinas y complemento) que dan como resultado la focalización selectiva, unión, daño, destrucción y/o eliminación del cuerpo de un vertebrado de patógenos invasores, células o tejidos infectados con patógenos, células cancerosas u otras células anormales o, en casos de autoinmunidad o inflamación patológica, células o tejidos humanos normales.

[0091] Los términos "inmunoterapia", "terapia inmune" o similares se refieren al tratamiento de un sujeto afligido o en riesgo de contraer o sufrir una recurrencia de una enfermedad mediante un método que comprende inducir, mejorar, suprimir o modificar de otro modo una respuesta inmune. Los ejemplos de inmunoterapia incluyen, pero no se limitan a, terapias con células T y células NK. La terapia con células T puede incluir terapia con células T adoptivas, inmunoterapia con linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), terapia con células autólogas, terapia con células autólogas modificadas y trasplante alogénico de células T. Un experto en la técnica reconocería que los métodos de preparación de células inmunes descritos en el presente documento mejorarían la eficacia de cualquier terapia de cáncer o de células T trasplantadas. Se describen ejemplos de terapias con células T en las publicaciones de patente de EE.UU. Nos. 2014/0154228 y 2002/0006409; Patentes de Estados Unidos Nos. 7,741,465; 6,319,494; y 5,728,388; y Publicación PCT No. WO 2008/081035, que se incorporan como referencia en su totalidad.

[0092] El término "terapia de células autólogas de ingeniería", que puede abreviarse como "eACT TM", también conocido como transferencia de células adoptivas, es un proceso mediante el cual las propias células T de un paciente se recolectan y posteriormente se modifican genéticamente para reconocer y apuntar a una o más antígenos expresados en la superficie

celular de una o más células tumorales específicas o malignidades. Las células T pueden diseñarse para expresar, por ejemplo, receptores de antígeno quiméricos (CAR) o receptor de células T (TCR). Las células T con CAR positivas (+) se diseñan para expresar un fragmento variable extracelular de cadena única (scFv) con especificidad por cierto antígeno tumoral unido a una parte de señalización intracelular que comprende un dominio coestimulador y un dominio activador. El dominio coestimulador puede ser una región de señalización derivada de, *por ejemplo*, CD28, CTLA4, CD16, OX-40, 4-1BB/CD137, CD2, CD7, CD27, CD30, CD40, muerte programada 1 (PD-1), ligando de muerte programada 1 (PD-L1), coestimulador inducible de células T (ICOS), ICOS-L, antígeno 1 asociado a la función de los linfocitos (LFA-1 (CD11a/CD18), CD3 gamma, CD3 delta, CD3 epsilon, CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT (miembro 14 de la superfamilia del factor de necrosis tumoral; TNFSF14), NKG2C, Ig alfa (CD79a), DAP-10, receptor Fc gamma, molécula de clase I MHC, Proteínas receptoras de TNF, proteínas similares a inmunoglobulinas, receptores de citocinas, integrinas, moléculas de activación linfocítica de señalización (proteínas SLAM), receptores de células NK activadoras, BTLA, un receptor de ligando Toll, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8, CD8alfa, CD8beta, IL2R beta, IL2R gamma, IL7R alfa, 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, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Lyl08), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, un ligando que se une específicamente a CD83, o cualquier combinación de los mismos. El dominio de activación puede derivarse de, por ejemplo, CD3, tal como CD3 zeta, epsilon, delta, gamma o similares. En una realización, el CAR está diseñado para tener dos, tres, cuatro o más dominios coestimuladores. El CAR scFv puede diseñarse para dirigirse, por ejemplo, a CD19, que es una proteína transmembrana expresada por células en el linaje de células B, incluidas todas las células B normales y neoplasias malignas de células B, incluidas, entre otras, NHL, CLL y no LLA de células T. Ejemplos de terapias y construcciones de células T con CAR + se describen

en Publicaciones de Patente de EE.UU. Nos. 2013/0287748, 2014/0227237, 2014/0099309, y 2014/0050708, que se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad.

[0093] Una "señal coestimuladora", como se usa en el presente documento, se refiere a una señal, que en combinación con una señal primaria, como la ligadura de TCR/CD3, conduce a una respuesta de células T, como, pero sin limitarse a, proliferación y/o regulación positiva o negativa de moléculas clave.

[0094] Un "ligando coestimulador", como se usa en el presente documento, incluye una molécula en una célula presentadora de antígeno que se une específicamente a una molécula coestimuladora análoga en una célula T. La unión del ligando coestimulador proporciona una señal que media una respuesta de células T, que incluye, pero no se limita a, proliferación, activación, diferenciación y similares. Un ligando coestimulador induce una señal que se suma a la señal primaria proporcionada por una molécula estimulante, por ejemplo, mediante la unión de un receptor de células T (TCR)/complejo CD3 con una molécula del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) cargada con péptido. Un ligando coestimulador puede incluir, pero no se limita a, 3/TR6, ligando 4-1BB, agonista o anticuerpo que se une al receptor del ligando Toll, B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), ligando CD30, CD40, CD7, CD70, CD83, mediador de entrada del virus del herpes (HVEM), antígeno leucocitario humano G (HLA-G), ILT4, transcrito similar a inmunoglobulina (ILT) 3, ligando coestimulador inducible (ICOS-L), molécula de adhesión intercelular (ICAM), ligando que se une específicamente con B7-H3, receptor de linfotóxina beta, proteína A relacionada con la cadena del MHC clase I (MICA), proteína B relacionada con la cadena del MHC clase I (MICB), ligando OX40, PD-L2 o muerte programada (PD) L1. Un ligando coestimulador incluye, sin limitación, un anticuerpo que se une específicamente con una molécula coestimuladora presente en una célula T, como, entre otros, 4-1BB, B7-H3, CD2, CD27, CD28, CD30, CD40, CD7, ICOS, ligando que se une específicamente con CD83, antígeno 1 asociado a la función de los linfocitos (LFA-1), receptor C de células asesinas naturales (NKG2C), OX40, PD-1 o miembro 14 de la superfamilia del factor de necrosis tumoral (TNFSF14 o LUZ).

[0095] Una "molécula coestimuladora" es una pareja de unión análoga en una célula T que se une específicamente con un ligando coestimulador, mediando así una respuesta coestimuladora por la célula T, tal como, pero sin limitarse a, la proliferación. Las moléculas coestimuladoras incluyen, pero no se limitan a, Una "molécula coestimuladora" es un socio de unión análogo en una célula T que se une específicamente con un ligando coestimulador, por lo que media una respuesta coestimuladora de la célula T, como, entre otros, proliferación. Las moléculas coestimuladoras incluyen, pero no se limitan a, 4-1BB/CD137, B7-H3, BAFFR, BLAME (SLAMF8), BTLA, CD 33, CD 45, CD100 (SEMA4D), CD103, CD134, CD137, CD154, CD16, CD160 (BY55), CD18, CD19, CD19a, CD2, CD22, CD247, CD27, CD276 (B7-H3), CD28, CD29, CD3 (alfa; beta; delta; epsilon; gamma; zeta), CD30, CD37, CD4, CD40, CD49a, CD49D, CD49f, CD5, CD64, CD69, CD7, CD80, CD83 ligand, CD84, CD86, CD8alfa, CD8beta, CD9, CD96 (Tactile), CD1-la, CD1-lb, CD1-lc, CD1-ld, CDS, CEACAM1, CRT AM, DAP-10, DNAM1 (CD226), receptor Fc gamma, GADS, GITR, HVEM (LIGHT), IA4, ICAM-1, ICAM-1, ICOS, Ig alfa (CD79a), IL2R beta, IL2R gamma, IL7R alfa, integrina, ITGA4, ITGA4, ITGA6, ITGAD, ITGAE, ITGAL, ITGAM, ITGAX, ITGB2, ITGB7, ITGB1, KIRDS2, LAT, LFA-1, LFA-1, LIGHT, LIGHT (miembro 14 de la superfamilia de factor de necrosis tumoral; TNFSF14), LTBR, Ly9 (CD229), antígeno-1 asociado a la función de los linfocitos (LFA-1 (CD1 la/CD18), molécula de MHC de clase I, NKG2C, NKG2D, NKp30, NKp44, NKp46, NKp80 (KLRF1), OX40, PAG/Cbp, PD-1, PSGL1, SELPLG (CD162), molécula de señalización de la activación linfocítica, SLAM (SLAMF1; CD150; IPO-3), SLAMF4 (CD244; 2B4), SLAMF6 (NTB-A; Lyl08), SLAMF7, SLP-76, TNF, TNFr, TNFR2, Receptor de ligando de peaje, TRANCE/RANKL, VLA1 o VLA-6, o fragmentos, truncamientos o combinaciones de los mismos

[0096] En algún aspecto, las células de la presente solicitud pueden obtenerse a través de células T obtenidas de un sujeto. En un aspecto, las células T pueden obtenerse de, por ejemplo, células mononucleares de sangre periférica (PBMC), médula ósea, tejido de los ganglios linfáticos, sangre del cordón umbilical, tejido del timo, tejido de un sitio de infección, ascitis, derrame pleural, tejido del bazo, y tumores. Además, las células T pueden derivarse de una o más líneas de células T disponibles en la técnica. Las células T también pueden obtenerse de una unidad de sangre extraída de un sujeto usando cualquier número de técnicas conocidas

por el experto en la materia, tales como separación y/o aféresis FICOLL™. En algún aspecto, las células recolectadas por aféresis se lavan para eliminar la fracción de plasma y se colocan en un tampón o medio apropiado para su posterior procesamiento. En algún aspecto, las células se lavan con cualquier solución (por ejemplo, una solución con valor de PH neutralizado o PBS) o medio de cultivo. Como se apreciará, se puede usar una etapa de lavado, tal como usando una centrífuga de flujo semiautomatizado, por ejemplo, el procesador de células Cobe™ 2991, el Baxter CytoMate™, o similares. En algún aspecto, las células lavadas se resuspenden en uno o más tampones biocompatibles u otra solución salina sin tampón. En algún aspecto, se eliminan los componentes no deseados de la muestra de aféresis. Se describen métodos adicionales de aislamiento de células T para una terapia con células T en la publicación de patente de EE.UU. No. 2013/0287748, que se incorporan a la presente mediante referencias en su totalidad.

[0097] En algunas realizaciones, las células T se aíslan de las PBMC mediante la lisis de los glóbulos rojos y el agotamiento de los monocitos, por ejemplo, mediante centrifugación a través de un gradiente PERCOLL™. En algunas realizaciones, una subpoblación específica de células T, tales como células T CD4 +, CD8 +, CD28 +, CD45RA + y CD45RO + se aísla adicionalmente mediante técnicas de selección positiva o negativa conocidas en la técnica. Por ejemplo, el enriquecimiento de una población de células T mediante selección negativa se puede lograr con una combinación de anticuerpos dirigidos a marcadores de superficie únicos para las células seleccionadas negativamente. En algunas realizaciones, se puede usar la clasificación y/o selección celular mediante inmunoadherencia magnética negativa o citometría de flujo que usa un cóctel de anticuerpos monoclonales dirigidos a marcadores de superficie celular presentes en las células seleccionadas negativamente. Por ejemplo, para enriquecer las células CD4+ mediante selección negativa, un cóctel de anticuerpos monoclonales normalmente incluye anticuerpos contra CD8, CD11b, CD14, CD16, CD20 y HLA-DR. En algunas realizaciones, la citometría de flujo y la clasificación celular se utilizan para aislar poblaciones celulares de interés para su uso en la presente divulgación.

[0098] En una realización, las células T CD3+ se aíslan de las PBMC usando Dynabeads recubiertas con anticuerpo anti-CD3. Las células T CD8+ y CD4+ se aíslan adicionalmente por

separado mediante selección positiva usando microperlas CD8 (por ejemplo, Miltenyi Biotec) o microperlas CD4 (por ejemplo, Miltenyi Biotec).

[0099] En algunas realizaciones, las PBMC se usan directamente para la modificación genética con las células inmunes (tales como las CAR) usando métodos como los descritos en el presente documento. En algunas realizaciones, después de aislar las PBMC, los linfocitos T se aíslan más, y los linfocitos T citotóxicos y auxiliares se clasifican en subpoblaciones de linfocitos T vírgenes, de memoria y efectoras antes o después de la modificación y/o expansión genética.

[0100] Las una o más células inmunes descritas en el presente documento pueden obtenerse de cualquier fuente, incluido, por ejemplo, un donante humano. El donante puede ser un sujeto que necesite un tratamiento contra el cáncer, por ejemplo, un tratamiento con una célula inmunitaria generada por los métodos descritos en el presente documento (es decir, un donante autólogo), o puede ser un individuo que dona una muestra de linfocitos que, tras la generación de la población de células generadas por los métodos descritos en el presente documento, se utilizará para tratar a un individuo o paciente con cáncer diferente (es decir, un donante alogénico). Las células inmunes se pueden diferenciar *en vitro* de una población de células madre hematopoyéticas, o se pueden obtener células inmunes de un donante. La población de células inmunes puede obtenerse del donante mediante cualquier método adecuado utilizado en la técnica. Por ejemplo, la población de linfocitos puede obtenerse mediante cualquier método extracorpóreo adecuado, venopunción u otro método de recogida de sangre mediante el cual se obtenga una muestra de linfocitos con o sin sangre. La población de linfocitos se obtiene por aféresis. La una o más células inmunes se pueden recolectar de cualquier tejido que contenga una o más células inmunes, incluyendo, pero sin limitarse a, un tumor. Se extrae un tumor o una parte del mismo de un sujeto y se aíslan una o más células inmunitarias del tejido tumoral. Se puede usar cualquier célula T en los métodos descritos en el presente documento, incluidas las células inmunitarias adecuadas para una terapia con células T. Por ejemplo, una o más células útiles para la aplicación pueden seleccionarse del grupo que consiste en linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), células T citotóxicas, células T con CAR, células T TCR modificadas genéticamente, células T asesinas naturales, células dendríticas y

periféricas linfocitos sanguíneos. Las células T pueden obtenerse, por ejemplo, de células mononucleares de sangre periférica, médula ósea, tejido de ganglios linfáticos, sangre del cordón umbilical, tejido del timo, tejido de un sitio de infección, ascitis, derrame pleural, tejido del bazo y tumores. Además, las células T pueden derivarse de una o más líneas de células T disponibles en la técnica. Las células T también pueden obtenerse de una unidad de sangre extraída de un sujeto usando cualquier número de técnicas conocidas por el experto en la materia, tales como separación y/o aféresis FICOLL™. Las células T también pueden obtenerse de un sistema de cultivo de células organoide tímico artificial (ATO), que replica el entorno tímico humano para apoyar la diferenciación ex vivo eficiente de células T de células madre pluripotentes primarias y reprogramadas. Se describen métodos adicionales para aislar células T para una terapia con células T en la Publicación de Patente de Estados Unidos No. 2013/0287748, en las Publicaciones PCT No. WO2015/120096 y WO2017/070395, todas las cuales se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad con el propósito de describir estos métodos y en su totalidad. En una realización, las células T son leucocitos que se infiltran en el tumor. En cierta realización, una o más células T expresan CD8, por ejemplo, son células T CD8⁺. En otra realización, una o más células T expresan CD4, por ejemplo, son células T CD4⁺. Métodos adicionales para aislar células T para una terapia con células T se describen en la Publicación de Patente de los Estados Unidos No. 2013/0287748, en las Publicaciones PCT No. WO2015/120096 y WO2017/070395, todas las cuales se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad para los propósitos de describir estos métodos y en su totalidad.

[0101] Las células inmunes y sus células precursoras pueden aislarse mediante métodos disponibles (véase, por ejemplo, Rowland-Jones et al., *Lymphocytes: A Practical Approach*, Oxford University Press, Nueva York (1999)). Las fuentes de las células inmunes o células precursoras de las mismas incluyen, pero no se limitan a, sangre periférica, sangre del cordón umbilical, médula ósea u otras fuentes de células hematopoyéticas. Pueden usarse métodos de selección negativa para eliminar células que no son las células inmunes deseadas. Además, los métodos de selección positiva pueden aislar o enriquecer las células inmunes deseadas o las células precursoras de las mismas, o puede emplearse una combinación de métodos de selección positiva y negativa. Los anticuerpos monoclonales (MAb) son útiles para identificar marcadores

asociados con ciertos linajes celulares y/o etapas de diferenciación para selecciones tanto positivas como negativas. Si se va a aislar cierto tipo de célula, por ejemplo, cierto tipo de célula T, varios marcadores de superficie celular o combinaciones de marcadores, incluidos, entre otros, CD3, CD4, CD8, CD34 (para células madre y progenitoras hematopoyéticas) y similares, puede usarse para separar las células, como es bien conocido en la técnica (ver Kearse, T Cell Protocols: Development y Activation, Humana Press, Totowa N.J. (2000); De Libero, T Cell Protocols, Vol. 514 de Methods in Molecular Biology, Humana Press, Totowa N.J. (2009))

[0102] Las PBMC se pueden usar directamente para la modificación genética con las células inmunes (tales como las CAR). Después de aislar las PBMC, los linfocitos T se aíslan más y los linfocitos T citotóxicos y auxiliares se clasifican en subpoblaciones de linfocitos T sin tratamiento previo, de memoria y efectoras antes o después de la modificación y/o expansión genética. En una realización, las células CD8⁺ se pueden clasificar adicionalmente en células vírgenes, de memoria central y efectoras identificando los antígenos de la superficie celular que están asociados con cada uno de estos tipos de células CD8⁺. En otra realización, la expresión de marcadores fenotípicos de las células T de memoria central incluye CCR7, CD3, CD28, CD45RO, CD62L y CD127 y son negativos para granzima B. En alguna realización, las células T de memoria central son CD8⁺, CD45RO⁺ y CD62L⁺ T células. En cierta realización, las células T efectoras son negativas para CCR7, CD28, CD62L y CD127 y positivas para granzima B y perforina. En una realización adicional, las células T CD4⁺ pueden clasificarse adicionalmente en subpoblaciones. Por ejemplo, las células auxiliares T CD4⁺ se pueden clasificar en células vírgenes, de memoria central y efectoras mediante la identificación de poblaciones de células que tienen antígenos de superficie celular.

[0103] Los métodos descritos en el presente documento comprenden además enriquecer o preparar una población de células inmunes obtenidas de un donante, entre la recolección del donante y la exposición de una o más células obtenidas de un sujeto donante. El enriquecimiento de una población de células inmunes, por ejemplo, una o más células T, puede lograrse mediante cualquier método de separación adecuado que incluye, entre otros, el uso de un medio de separación (por ejemplo, FICOLL-PAQUETM, cóctel de enriquecimiento ROSETTESEPTTM HLA Total Lymphocyte, medio de separación de linfocitos (LSA) (MP Biomedical Cat. No.

0850494X), o similar), tamaño, forma o densidad de las células, separación por filtración o elutriación, separación inmunomagnética (por ejemplo, sistema de clasificación de células activadas magnéticamente, MACS) , separación fluorescente (por ejemplo, sistema de clasificación de células activado por fluorescencia, FACS), o separación de columna basada en perlas.

[0104] En una realización, las células T se obtienen de un sujeto donante. En otra realización, el sujeto donante es un paciente humano que padece un cáncer o un tumor. En una realización adicional, el sujeto donante es un paciente humano que no padece un cáncer o un tumor. La presente solicitud también proporciona una composición o formulación que comprende un vehículo, diluyente, solubilizante, emulsionante, conservante y/o adyuvante farmacéuticamente aceptable. En cierta realización, la composición o formulación comprende un excipiente. Los términos composición y formulación se usan indistintamente en el presente documento. Los términos composición, composición terapéutica, composición terapéuticamente eficaz, composición farmacéutica, composición farmacéuticamente eficaz y composición farmacéuticamente aceptable se utilizan indistintamente en el presente documento. La composición puede seleccionarse para administración parenteral, inhalación o administración a través del tracto digestivo, tal como por vía oral. La composición puede ser preparada por métodos conocidos por un experto en la técnica. Los amortiguadores se utilizan para mantener la composición a un pH fisiológico o a un pH ligeramente más bajo, típicamente dentro de un rango de pH de aproximadamente 5 a aproximadamente 8. Cuando se contempla la administración parenteral, la composición está en forma de un pirógeno, parenteralmente aceptable. solución acuosa que comprende una composición descrita en el presente documento, que contiene agentes terapéuticos adicionales, en un vehículo farmacéuticamente aceptable. A modo de ejemplo, el vehículo para inyección parenteral es agua destilada estéril en la que la composición en el presente documento descrita, con o sin al menos un agente terapéutico adicional, se formula como una solución isotónica estéril, debidamente conservada. La preparación implica la formulación del agente deseado con compuestos poliméricos (tales como ácido poliláctico o ácido poliglicólico), perlas o liposomas, que proporcionan la liberación controlada o sostenida del producto, que luego se administran mediante una inyección de

depósito. Además, se pueden usar dispositivos de administración de fármacos implantables para introducir el agente terapéutico deseado.

[0105] En algunas realizaciones, las células T del donante para su uso en la terapia con células T se obtienen del paciente (por ejemplo, para una terapia con células T autólogas). En otras realizaciones, las células T del donante para su uso en la terapia con células T se obtienen de un sujeto que no es el paciente. Las células T pueden administrarse en una cantidad terapéuticamente eficaz. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz de células T puede ser al menos aproximadamente 10^4 células, al menos aproximadamente 10^5 células, al menos aproximadamente 10^6 células, al menos aproximadamente 10^7 células, al menos aproximadamente 10^8 células, al menos aproximadamente 10^9 , o al menos aproximadamente 10^{10} . En otra realización, la cantidad terapéuticamente efectiva de las células T es aproximadamente 10^4 células, aproximadamente 10^5 células, aproximadamente 10^6 células, aproximadamente 10^7 células, o aproximadamente 10^8 células. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de las células T con CAR es aproximadamente 2×10^6 células/kg, aproximadamente 3×10^6 células/kg, aproximadamente 4×10^6 células/kg, aproximadamente 5×10^6 células/kg, aproximadamente 6×10^6 células/kg, aproximadamente 7×10^6 células/kg, aproximadamente 8×10^6 células/kg, aproximadamente 9×10^6 células/kg, aproximadamente 1×10^7 células/kg, aproximadamente 2×10^7 células/kg, aproximadamente 3×10^7 células/kg, aproximadamente 4×10^7 células/kg, aproximadamente 5×10^7 células/kg, aproximadamente 6×10^7 células/kg, aproximadamente 7×10^7 células/kg, aproximadamente 8×10^7 células/kg, o aproximadamente 9×10^7 células/kg. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de las células T viables CAR positivas está entre aproximadamente 1×10^6 y aproximadamente 2×10^6 células T viables CAR positivas por kg de peso corporal hasta un máximo dosis de aproximadamente 1×10^8 células T viables CAR positivas

[0106] Un "paciente", como se usa en el presente documento, incluye a cualquier ser humano que padezca una enfermedad o trastorno, incluido el cáncer (por ejemplo, un linfoma o una leucemia). Los términos "sujeto" y "paciente" se usan indistintamente en el presente documento. El término "sujeto donante" se refiere en el presente documento a un sujeto cuyas células se obtienen para ingeniería adicional en vitro. El sujeto donante puede ser un paciente

con cáncer que se va a tratar con una población de células generadas por los métodos en el presente documento descritos (es decir, un donante autólogo), o puede ser un individuo que dona una muestra de linfocitos que, tras la generación de la población de las células generadas por los métodos descritos en el presente documento se utilizarán para tratar a un individuo o paciente con cáncer diferente (es decir, un donante alogénico). Los sujetos que reciben las células que se prepararon mediante los presentes métodos pueden denominarse "sujeto receptor".

[0107] Los términos "estimulación", "estimulante" o similares se refieren a una respuesta primaria inducida por la unión de una molécula estimulante con su ligando afín, en donde la unión media un evento de transducción de señales. Una "molécula estimulante" es una molécula en una célula T, por ejemplo, el complejo receptor de células T (TCR)/CD3, que se une específicamente con un ligando estimulador análogo presente en una célula con antígeno presente. Un "ligando estimulante" es un ligando que cuando está presente en una célula presentadora de antígeno (por ejemplo, una célula presentadora de antígeno artificial (aAPC), una célula dendrítica, una célula B y similares) puede unirse específicamente con una molécula estimulante en una célula T, mediando así una respuesta primaria por la célula T, que incluye, pero no se limita a, activación, iniciación de una respuesta inmune, proliferación y similares. Los ligandos estimulantes incluyen, pero no se limitan a, una molécula de MHC de clase I cargada con un péptido, un anticuerpo anti-CD3, un anticuerpo anti-CD28 superagonista y un anticuerpo anti-CD2 superagonista. Un "activado" o "activo", como se usa en el presente documento, se refiere a una célula T que ha sido estimulada. Una célula T activa puede caracterizarse por la expresión de uno o más marcadores seleccionados de forma CD137, CD25, CD71, CD26, CD27, CD28, CD30, CD154, CD40L, y CD134.

[0108] El término "materiales de activación exógenos" se refiere a cualquier sustancia de activación derivada de una fuente externa. Por ejemplo, el anticuerpo anti-CD3 exógeno, el anticuerpo anti-CD28, IL-2, IL-7 exógena o IL-15 exógena pueden obtenerse comercialmente o producirse de forma recombinante. "IL-2 exógena", "IL-7 exógena" o "IL-15 exógena" cuando se añade o se pone en contacto con una o más células T, indica que tales IL-2, IL-7 y/o IL-15 son no producidas por las células T. Las células T antes de mezclarse con IL-2, IL-7 o IL-15 "exógenas" pueden contener una cantidad traza que fueron producidas por las células T o

aisladas del sujeto con las células T (es decir, IL-2, IL-7 o IL-15 endógenas "exógenas"). Las una o más células T descritas en el presente documento pueden ponerse en contacto con anticuerpos anti-CD3 exógenos, anticuerpos anti-CD28, IL-2, IL-7 y/o IL-15 "exógenos" a través de cualquier medio conocido en la técnica, incluida la adición de IL-2, IL-7 y/o IL-15 "exógenas" aisladas al cultivo, inclusión de anticuerpo anti-CD3, anticuerpo anti-CD28, IL-2, IL-7 y/o IL-15 "exógenas" en el medio de cultivo, o la expresión de IL-2, IL-7 y/o IL-15 "exógenas" por una o más células en el cultivo distintas de una o más células T, tal como por una capa alimentadora.

[0109] Como se usa en el presente documento, el término "célula *en vitro*" se refiere a cualquier célula que se cultiva *ex vivo*. En una realización, una célula *en vitro* incluye una célula T.

[0110] El término "persistencia" se refiere a la capacidad de, por ejemplo, una o más células inmunes trasplantadas administradas a un sujeto o sus progenies (por ejemplo, células T diferenciadas o maduras) de permanecer en el sujeto a un nivel detectable durante un período de tiempo. Como se usa en el presente documento, aumentar la persistencia de una o más células inmunes trasplantadas o sus progenies (por ejemplo, células T diferenciadas o maduras) se refiere a aumentar la cantidad de tiempo que las células inmunes trasplantadas son detectables en un sujeto después de la administración. Por ejemplo, la persistencia *en vivo* de una o más células inmunes trasplantadas puede incrementarse mediante al menos aproximadamente al menos aproximadamente 1 día, al menos aproximadamente 2 días, al menos aproximadamente 3 días, al menos aproximadamente 4 días, al menos aproximadamente 5 días, al menos aproximadamente 6 días, al menos aproximadamente 7 días, al menos aproximadamente 8 días, al menos aproximadamente 9 días, al menos aproximadamente 10 días, al menos aproximadamente 11 días, al menos aproximadamente 12 días, al menos aproximadamente 13 días, al menos aproximadamente 14 días, al menos aproximadamente 3 semanas, al menos aproximadamente 4 semanas, al menos aproximadamente 1 mes, al menos aproximadamente 2 meses, al menos aproximadamente 3 meses, al menos aproximadamente 4 meses, al menos aproximadamente 5 meses, o al menos aproximadamente 6 meses. Además, la persistencia *en vivo* de una o más células inmunes trasplantadas puede incrementarse mediante al menos

aproximadamente 1,5 veces, al menos aproximadamente 2 veces, al menos aproximadamente 2,5 veces, al menos aproximadamente 3 veces, al menos aproximadamente 3,5 veces, al menos aproximadamente 4 veces, al menos aproximadamente 4,5 veces, al menos aproximadamente 5 veces, al menos aproximadamente 6 veces, al menos aproximadamente 7 veces, al menos aproximadamente 8 veces, al menos aproximadamente 9 veces, o al menos aproximadamente 10 veces en comparación con una o más células inmunes trasplantadas que no se prepararon mediante los métodos presentes en el presente documento descritos.

[0111] Los términos "reducir" y "disminuir" se utilizan indistintamente en el presente documento e indican cualquier cambio que sea menor que el original. "Reducir" y "disminuir" son términos relativos que requieren una comparación entre las mediciones previas y posteriores. "Reducir" y "disminuir" incluyen agotamientos completos. El término "modular" la maduración de las células T, como se usa en el presente documento, se refiere al uso de cualquier intervención descrita en el presente documento para controlar la maduración y/o diferenciación de una o más células tales como las células T. Por ejemplo, modular se refiere a inactivar, retrasar o inhibir la maduración de las células T. En otro ejemplo, modular se refiere a acelerar o promover la maduración de las células T. El término "retrasar o inhibir la maduración de las células T" se refiere a mantener una o más células T en un estado inmaduro o indiferenciado. Por ejemplo, "retrasar o inhibir la maduración de las células T" puede referirse a mantener las células T en un estado no previo o T_{CM} , en oposición a progresar a un estado T_{EM} o T_{EFF} . Además, "retrasar o inhibir la maduración de las células T" puede referirse a aumentar o enriquecer el porcentaje global de células T inmaduras o indiferenciadas (por ejemplo, células T vírgenes y/o células T_{CM}) dentro de una población mixta de células T. El estado de una célula T (por ejemplo, madura o inmadura) puede determinarse, por ejemplo, mediante el cribado de la expresión de varios genes y la presencia de diversas proteínas expresadas en la superficie de las células T. Por ejemplo, la presencia de uno o más marcadores seleccionados del grupo que consiste en L-selectina (CD62L+), IL-7R- α , CD132, CR7, CD45RA, CD45RO, CD27, CD28, CD95, IL-2R β , CXCR3, LFA -1, y cualquier combinación de los mismos puede ser indicativa de células T indiferenciadas menos maduras.

[0112] "Tratamiento" o "tratar" de un sujeto/paciente se refiere a cualquier tipo de intervención o proceso realizado en, o la administración de una o más células T preparadas por la presente solicitud al sujeto/paciente con el objetivo de revertir, aliviar, mejorar, inhibir, ralentizar o prevenir la aparición, progresión, desarrollo, gravedad o recurrencia de un síntoma, complicación o afección, o indicios bioquímicos asociados con una enfermedad. En un aspecto, "tratamiento" o "tratar" incluye una remisión parcial. En otro aspecto, "tratamiento" o "tratar" incluye una remisión completa.

[0113] Varios aspectos de la solicitud se describen con más detalle en las siguientes subsecciones.

[0114] Los pacientes con neoplasias malignas de células B que portan niveles elevados de células tumorales que expresan CD19 circulantes representan una población con una necesidad insatisfecha muy alta. Por ejemplo, el linfoma de células del manto (LCM) es difícil de tratar en el entorno con recaída o refractario y sigue siendo incurable. No existe un estándar de atención para la quimioterapia de segunda línea y superior. Las opciones de tratamiento incluyen quimioterapia citotóxica, inhibidores del proteasoma, fármacos inmunomoduladores, inhibidores de la tirosina cinasa y trasplante de células madre (tanto autólogas [ASCT] como alogénicas [alo-SCT]). La elección del régimen está influenciada por el tratamiento previo, las comorbilidades y la quimiosensibilidad del tumor. A pesar de las altas tasas de respuesta inicial observadas con el inhibidor de tirosina quinasa de Bruton (inhibidores de BTK), la mayoría de los pacientes eventualmente desarrollarán una enfermedad progresiva. Se necesitan nuevas estrategias terapéuticas para mejorar el pronóstico sombrío de los pacientes con MCL r/r cuya enfermedad no se ha controlado eficazmente con quimioinmunoterapia, trasplante de células madre e inhibidores de BTK.

[0115] La terapia de células T con CAR anti-CD19 o el producto utilizado en CAR-T CD19 se puede fabricar a partir de las propias células T del paciente, mediante leucoféresis adecuada para neoplasias malignas de células B con carga de células tumorales circulantes para minimizar las células tumorales que expresa CD19 en el producto final. Las células T de los leucocitos recolectados del producto de leucoféresis pueden enriquecerse mediante la selección

de células T CD4+/CD8+, activarse con anticuerpos anti-CD3 y anti-CD28 y/o transducirse con un vector viral que contiene un gen CAR anti-CD19. Se pueden encontrar más detalles del método en PCT/US2015/014520 publicado como WO2015/120096 y en PCT/US2016/057983 publicado como WO2017/070395. En una realización, las células no se tratan con inhibidores de AKT, IL-7 e IL-15. Estas células T modificadas genéticamente pueden propagarse para generar un número suficiente de células para lograr un efecto terapéutico. Dicho proceso elimina las células B normales y malignas que expresan CD19, lo que puede reducir la activación, expansión y agotamiento de las células T con CAR anti-CD19.

[0116] La activación, transducción y/o expansión de células inmunes se puede realizar en cualquier momento adecuado que permita la producción de (i) un número suficiente de células en la población de células inmunes manipuladas para al menos una dosis para administrar a un paciente, (ii) una población de células inmunes manipuladas con una proporción favorable de células juveniles en comparación con un proceso más largo típico, o (iii) tanto (i) como (ii). El tiempo adecuado puede factorizar varios parámetros, incluida la población de una o más células, el receptor de la superficie celular expresado por las células inmunes, el vector utilizado, la dosis necesaria para tener un efecto terapéutico y/u otras variables. El tiempo de activación puede ser 0 día, 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 8 días, 9 días, 10 días, 11 días, 12 días, 13 días, 14 días, 15 días, 16 días, 17 días, 18 días, 19 días, 20 días, 21 días, o más de 21 días. El tiempo de activación según el método de la presente solicitud se reduciría en comparación con los métodos de expansión conocidos en la técnica. Por ejemplo, el tiempo de activación puede ser más corto por al menos 5%, al menos 10%, al menos 15%, al menos 20%, al menos 25%, al menos 30%, al menos 35%, al menos 40%, al menos 45%, al menos 50%, al menos 55%, al menos 60%, al menos 65%, al menos 70%, al menos 75%, o puede ser más corto por más de 75%. Además, el tiempo de expansión puede ser 0 día, 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 8 días, 9 días, 10 días, 11 días, 12 días, 13 días, 14 días, 15 días, 16 días, 17 días, 18 días, 19 días, 20 días, 21 días, o más de 21 días. El tiempo de expansión según el método de la presente solicitud se reduciría en comparación con los métodos de expansión conocidos en la técnica. Por ejemplo, el tiempo de expansión puede ser más corto por al menos 5%, al menos 10%, al menos 15%, al menos 20%, al menos 25%, al menos 30%, al menos 35%, al menos 40%, al menos 45%, al menos 50%, al

menos 55%, al menos 60%, al menos 65%, al menos 70%, al menos 75%, o puede ser más corto por más de 75%. En una realización, el tiempo para la expansión celular es de aproximadamente 3 días, y el tiempo desde el enriquecimiento de la población de células hasta la producción de las células inmunes modificadas es de aproximadamente 6 días.

[0117] El retraso o inhibición de la maduración o diferenciación de una o más células T o células DC puede medirse mediante cualquier método conocido en la técnica. Por ejemplo, el retraso o inhibición de la maduración o diferenciación de una o más células T o células DC se puede medir detectando la presencia de uno o biomarcador. La presencia de uno o más biomarcadores puede detectarse mediante cualquier método conocido en la técnica, incluyendo, pero sin limitarse a, inmunohistoquímica y/o clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS). El uno o más biomarcadores se selecciona del grupo que consiste en L-selectina (CD62L +), IL-7R α , CD132, CCR7, CD45RA, CD45RO, CD27, CD28, CD95, IL-2R β , CXCR3, LFA-1 o cualquier combinación de los mismos. En ciertos aspectos, el retraso o inhibición de la maduración o diferenciación de una o más células T o células DC se puede medir detectando la presencia de una o más de L-selectina (CD62L +), IL-7R α y CD132. Un experto en la técnica reconocería que, aunque los presentes métodos pueden aumentar la proporción relativa de células T o células DC inmaduras e indiferenciadas en una población de células recolectadas, algunas células maduras y diferenciadas todavía pueden estar presentes. Como resultado, el retraso o inhibición de la maduración o diferenciación de una o más células T o células DC se puede medir calculando el porcentaje total de células inmaduras e indiferenciadas en una población celular antes y después de exponer una o más células obtenidas de un donante sujeto a condiciones de cultivo hipóxicas con o sin presiones superiores a la atmosférica. Los métodos descritos en el presente documento pueden aumentar el porcentaje de células T inmaduras e indiferenciadas en una población de células T.

[0118] Los métodos descritos en el presente documento comprenden además estimular la población de células tales como linfocitos con uno o más agentes estimulantes de células T para producir una población de células T activadas en condiciones adecuadas. Se puede usar cualquier combinación de uno o más agentes estimulantes de células T adecuados para producir una población de células T activadas que incluyen, entre otros, un anticuerpo o fragmento

funcional del mismo que se dirige a una molécula estimuladora o coestimuladora de células T (por ejemplo, anticuerpo anti-CD2, anticuerpo anti-CD3 (como OKT-3), anticuerpo anti-CD28 o un fragmento funcional del mismo) o cualquier otro mitógeno adecuado (por ejemplo, acetato de tetradecanoil forbol (TPA), fitohemaglutinina (PHA)), concanavalina A (conA), lipopolisacárido (LPS), mitógeno de hierba carmín (PWM)), o un ligando natural para una molécula estimuladora o coestimuladora de células T.

[0119] La condición adecuada para estimular o activar la población de células inmunes como se describe en el presente documento incluye además una temperatura, durante un período de tiempo y/o en presencia de un nivel de CO₂. La temperatura para la estimulación puede ser aproximadamente 34 °C, aproximadamente 35 °C, aproximadamente 36 °C, aproximadamente 37 °C, o aproximadamente 38 °C, aproximadamente 34–38 °C, aproximadamente 35–37 °C, aproximadamente 36–38 °C, aproximadamente 36-37 °C o aproximadamente 37 °C.

[0120] Otra condición para estimular o activar la población de células inmunes como se describe en el presente documento puede incluir además un tiempo para la estimulación o activación. El momento de la estimulación es aproximadamente 24–72 horas, aproximadamente 24–36 horas, aproximadamente 30–42 horas, aproximadamente 36–48 horas, aproximadamente 40–52 horas, aproximadamente 42–54 horas, aproximadamente 44–56 horas, aproximadamente 46–58 horas, aproximadamente 48–60 horas, aproximadamente 54–66 horas, o aproximadamente 60–72 horas, aproximadamente 44–52 horas, aproximadamente 40–44 horas, aproximadamente 40–48 horas, aproximadamente 40–52 horas, o aproximadamente 40–56 horas. En una realización, el momento de la estimulación es aproximadamente 48 horas o al menos aproximadamente 48 horas.

[0121] Otras condiciones para estimular o activar la población de células inmunes, como se describe en el presente documento, pueden incluir además un CO₂. Nivel. El nivel de CO₂ para la estimulación es aproximadamente 1,0–10% CO₂, aproximadamente 1,0%, aproximadamente 2,0%, aproximadamente 3,0%, aproximadamente 4,0%, aproximadamente 5,0%, aproximadamente 6,0%, aproximadamente 7,0%, aproximadamente 8,0%, aproximadamente 9,0%, o aproximadamente 10,0% CO₂, aproximadamente 3–7% CO₂,

aproximadamente 4–6% CO₂, aproximadamente 4,5–5,5% CO₂. En una realización, el nivel de CO₂ para la estimulación es aproximadamente 5% CO₂.

[0122] Las condiciones para estimular o activar la población de células inmunes pueden comprender además una temperatura, durante un período de tiempo para la estimulación y/o en presencia de un nivel de CO₂ en cualquier combinación. Por ejemplo, el paso de estimular la población de células inmunitarias puede comprender estimular la población de células inmunitarias con uno o más agentes estimulantes de las células inmunitarias a una temperatura de aproximadamente 36-38 °C, durante un período de tiempo de aproximadamente 44-52 horas. y en presencia de un nivel de CO₂ de aproximadamente un 4,5-5,5% de CO₂. La una o más células inmunes de la presente solicitud pueden administrarse a un sujeto para su uso en terapia inmunológica o celular. Por consiguiente, la una o más células inmunes se pueden recolectar de un sujeto que necesite una terapia celular o inmunitaria. Una vez recolectadas, la una o más células inmunes pueden procesarse durante cualquier período de tiempo adecuado antes de administrarse a un sujeto.

[0123] La concentración, cantidad o población de linfocitos o producto resultante elaborado mediante los métodos del presente documento es aproximadamente $1,0 - 10,0 \times 10^6$ células/mL. En ciertos aspectos, la concentración es aproximadamente $1,0 - 2,0 \times 10^6$ células/mL, aproximadamente $1,0 - 3,0 \times 10^6$ células/mL, aproximadamente $1,0 - 4,0 \times 10^6$ células/mL, aproximadamente $1,0 - 5,0 \times 10^6$ células/mL, aproximadamente $1,0 - 6,0 \times 10^6$ células/mL, aproximadamente $1,0 - 7,0 \times 10^6$ células/mL, aproximadamente $1,0 - 8,0 \times 10^6$ células/mL, $1,0 - 9,0 \times 10^6$ células/mL, aproximadamente $1,0 - 10,0 \times 10^6$ células/mL, aproximadamente $1,0 - 1,2 \times 10^6$ células/mL, aproximadamente $1,0 - 1,4 \times 10^6$ células/mL, aproximadamente $1,0 - 1,6 \times 10^6$ células/mL, aproximadamente $1,0 - 1,8 \times 10^6$ células/mL, aproximadamente $1,0 - 2,0 \times 10^6$ células/mL, al menos aproximadamente $1,0 \times 10^6$ células/mL, al menos aproximadamente $1,1 \times 10^6$ células/mL, al menos aproximadamente $1,2 \times 10^6$ células/mL, al menos aproximadamente $1,3 \times 10^6$ células/mL, al menos aproximadamente $1,4 \times 10^6$ células/mL, al menos aproximadamente $1,5 \times 10^6$ células/mL, al menos aproximadamente $1,6 \times 10^6$ células/mL, al menos aproximadamente $1,7 \times 10^6$ células/mL, al menos aproximadamente $1,8 \times 10^6$ células/mL, al menos aproximadamente $1,9 \times 10^6$ células/mL, al

menos aproximadamente $2,0 \times 10^6$ células/mL, al menos aproximadamente $4,0 \times 10^6$ células/mL, al menos aproximadamente $6,0 \times 10^6$ células/mL, al menos aproximadamente $8,0 \times 10^6$ células/mL, o al menos aproximadamente $10,0 \times 10^6$ células/mL.

[0124] Se puede usar un anticuerpo anti-CD3 (o fragmento funcional del mismo), un anticuerpo anti-CD28 (o fragmento funcional del mismo), o una combinación de anticuerpos anti-CD3 y anti-CD28 de acuerdo con la etapa de estimular la población de linfocitos, junto o independientemente de exponer una o más células obtenidas de un donante sujeto a condiciones de cultivo hipóxicas con o sin presiones por encima de la presión atmosférica. Puede usarse cualquier anticuerpo anti-CD2, anti-CD3 y/o anti-CD28 soluble o inmovilizado o fragmento funcional del mismo (por ejemplo, clon OKT3 (anti-CD3), clon 145-2C11 (anti-CD3), clon UCHT1 (anti-CD3) -CD3), clon L293 (anti-CD28), clon 15E8 (anti-CD28)). En algunos aspectos, los anticuerpos se pueden comprar comercialmente de proveedores conocidos en la técnica, incluidos, entre otros, Miltenyi Biotec, BD Biosciences (por ejemplo, MACS GMP CD3 puro 1 mg/mL, número de pieza 170-076-116) y eBioscience, Inc. Además, un experto en la técnica comprendería cómo producir un anticuerpo anti-CD3 y/o anti-CD28 mediante métodos estándar. En algún aspecto, el uno o más agentes estimulantes de células T que se usan de acuerdo con el paso de estimular la población de linfocitos incluyen un anticuerpo o fragmento funcional del mismo que se dirige a una molécula estimuladora o coestimuladora de células T en presencia de una Citocina de células T. En una realización, el uno o más agentes estimulantes de células T incluyen un anticuerpo anti-CD3 e IL-2. En cierta realización, el agente estimulante de células T incluye un anticuerpo anti-CD3 a una concentración de 50 ng/ml. La concentración de anticuerpo anti-CD3 es aproximadamente 20 ng/mL–100 ng/mL, aproximadamente 20 ng/mL, aproximadamente 30 ng/mL, aproximadamente 40 ng/mL, aproximadamente 50 ng/mL, aproximadamente 60 ng/mL, aproximadamente 70 ng/mL, aproximadamente 80 ng/mL, aproximadamente 90 ng/mL, o aproximadamente 100 ng/mL. En un aspecto alternativo, no se necesita la activación de células T.

[0125] Los métodos descritos en el presente documento comprenden además transducir la población de células inmunes activadas con un vector viral que comprende una molécula de ácido nucleico que codifica el receptor de la superficie celular, usando un ciclo único o más de

transducción viral para producir una población de células inmunes transducidas. Se han utilizado varios virus recombinantes como vectores virales para transportar material genético a una célula. Los vectores virales que se pueden usar de acuerdo con la etapa de transducción pueden ser cualquier vector viral ecotrópico o anfotrópico que incluye, pero no se limita a, vectores retrovirales recombinantes, vectores lentivirales recombinantes, vectores adenovirales recombinantes y vectores virales adenoasociados recombinantes (AAV). El método comprende además transducir la una o más células inmunes con un retrovirus. En un aspecto, el vector viral usado para transducir la población de células inmunes activadas es un vector retroviral gamma MSGV1. En una realización, el vector viral usado para transducir la población de células inmunes activadas es el vector PG13-CD19-H3 descrito por Kochenderfer, J. *Immunother.* 32 (7): 689–702 (2009). Según un aspecto de este aspecto, el vector viral se hace crecer en un cultivo en suspensión en un medio que es específico para la fabricación de vectores virales, al que se hace referencia en el presente documento como inóculo de vector viral. Cualquier medio de crecimiento adecuado y/o suplementos para el crecimiento de vectores virales se puede usar en el inóculo de vector viral de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento. Según algunos aspectos, el inóculo del vector viral se añade luego al medio de cultivo libre de suero descrito a continuación durante la etapa de transducción. En algún aspecto, una o más células inmunes pueden transducirse con un retrovirus. En una realización, el retrovirus comprende un gen heterólogo que codifica un receptor de la superficie celular. En otra realización, el receptor de la superficie celular puede unirse a un antígeno en la superficie de una célula diana, por ejemplo, en la superficie de una célula tumoral. Además de exponer opcionalmente una o más células obtenidas de un donante sujeto a condiciones de cultivo hipóxico con o sin presiones por encima de la presión atmosférica, las condiciones para transducir la población de células inmunes activadas como se describe en el presente documento pueden comprender un tiempo específico, a una temperatura específica y/o en presencia de un nivel específico de CO₂. La temperatura de transducción es aproximadamente 34 °C, aproximadamente 35 °C, aproximadamente 36 °C, aproximadamente 37 °C, o aproximadamente 38 °C, aproximadamente 34–38 °C, aproximadamente 35–37 °C, aproximadamente 36–38 °C, aproximadamente 36–37 °C. En una realización, la temperatura de transducción es aproximadamente 37 °C. La temperatura predeterminada de transducción puede ser aproximadamente 34 °C, aproximadamente 35 °C, aproximadamente 36 °C, aproximadamente

37 °C, aproximadamente 38 °C, o aproximadamente 39 °C, aproximadamente 34–39 °C, aproximadamente 35–37 °C. En una realización, la temperatura predeterminada de transducción puede ser de aproximadamente 36–38 °C, aproximadamente 36–37 °C o aproximadamente 37 °C. El tiempo para la transducción es aproximadamente 12–36 horas, aproximadamente 12–16 horas, aproximadamente 12–20 horas, aproximadamente 12–24 horas, aproximadamente 12–28 horas, aproximadamente 12–32 horas, aproximadamente 20 horas o al menos aproximadamente 20 horas, es aproximadamente 16–24 horas, aproximadamente 14 horas, al menos aproximadamente 16 horas, al menos aproximadamente 18 horas, al menos aproximadamente 20 horas, al menos aproximadamente 22 horas, al menos aproximadamente 24 horas, o al menos aproximadamente 26 horas. Los niveles de CO₂ para transducción es aproximadamente 1,0–10% CO₂, aproximadamente 1,0%, aproximadamente 2,0%, aproximadamente 3,0%, aproximadamente 4,0%, aproximadamente 5,0%, aproximadamente 6,0%, aproximadamente 7,0%, aproximadamente 8,0%, aproximadamente 9,0%, aproximadamente 10,0% CO₂, aproximadamente 3–7% CO₂, aproximadamente 4–6% CO₂, aproximadamente 4,5–5,5% CO₂, o aproximadamente 5% CO₂.

[0126] La transducción de la población de células inmunes activadas como se describe en el presente documento se puede realizar durante un período de tiempo, a cierta temperatura y/o en presencia de un nivel específico de CO₂ en cualquier combinación: una temperatura de aproximadamente 36–38 °C, durante un tiempo de aproximadamente 16–24 horas, y en presencia de un nivel de CO₂ de aproximadamente 4,5–5,5% CO₂. Las células inmunes se pueden preparar mediante la combinación de cualquiera de los métodos de la aplicación con cualquier método de fabricación de preparación de células T para inmunoterapia, incluidos, entre otros, los descritos en las publicaciones PCT números WO2015/120096 y WO2017/070395, que se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad con el propósito de describir estos métodos; todos y cada uno de los métodos utilizados en la preparación de Axicabtagene ciloleucel o Yescarta®; todos y cada uno de los métodos utilizados en la preparación de Tisagenlecleucel/Kymriah™; todos y cada uno de los métodos utilizados en la preparación de células T "disponibles en el mercado" para inmunoterapia; y cualquier otro método de preparación de linfocitos para su administración a seres humanos. El proceso de

fabricación puede adaptarse para eliminar las células tumorales circulantes de las células obtenidas del paciente.

[0127] Las células CAR-T pueden diseñarse para expresar otras moléculas y pueden ser de cualquiera de los siguientes tipos ejemplares u otros disponibles en la técnica: primera, segunda, tercera, cuarta, quinta o más células CAR-T; Células CAR-T blindadas, células CAR-T móviles, células T TRUCK, células CAR-T del receptor Switch; Células T con CAR editadas genéticamente; células T con CAR de doble receptor; células T con CAR suicidas, células CAR-T inducibles por fármacos, células T con CAR inducibles por synNotch; y células T con CAR inhibitoras. En un aspecto, las células T son células T autólogas. En un aspecto, las células T son células madre autólogas (para la terapia con células madre autólogas o ASCT). En un aspecto, las células T son células T no autólogas.

[0128] Las células (tales como células inmunes o células T) se modifican genéticamente tras el aislamiento o selección usando métodos conocidos o se activan y/o expanden (o diferencian en el caso de progenitores) *en vitro* antes de ser modificadas genéticamente. Las células inmunes, por ejemplo, células T, se modifican genéticamente con los receptores de antígenos quiméricos descritos en el presente documento (por ejemplo, se transducen con un vector viral que comprende una o más secuencias de nucleótidos que codifican un CAR) y se activan y/o expanden *en vitro*. Los métodos para activar y expandir células T se pueden encontrar en las Patentes de Estados Unidos Nos. 6,905,874; 6,867,041; y 6,797,514; y la Publicación PCT No. WO 2012/079000, que se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad. Generalmente, tales métodos pueden incluir poner en contacto PBMC o células T aisladas con un agente estimulante y un agente coestimulador, como anticuerpos anti-CD3 y/o anti-CD28, que pueden unirse a una perla u otra superficie, en un medio de cultivo con ciertas citocinas, como IL-2. Se puede utilizar el sistema Dynabeads®, un sistema activador/estimulador CD3/CD28 para la activación fisiológica de las células T humanas. Las células T pueden ser activadas y estimuladas para que proliferen con células alimentadoras adecuadas, anticuerpos y/o citocinas como se describe en las Patentes de EE.UU. Nos. 6,040,177 y 5,827,642 y la Publicación PCT. No. WO 2012/129514, que se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad.

[0129] El receptor de la superficie celular que expresan las células inmunes modificadas por ingeniería genética puede ser cualquier antígeno o molécula a la que se dirija el CAR, tal como un CAR anti-CD19, un CAR FMC63-28Z o un CAR FMC63-CD828BBZ (Kochenderfer et al. , J Immunother. 2009, 32 (7): 689; Locke et al., Blood 2010, 116 (20): 4099, el tema de ambos se incorpora en el presente documento como referencia. En ciertos aspectos, la dosis predeterminada de las células inmunes puede ser más de aproximadamente 1 millón a menos de aproximadamente 3 millones de células T transducidas modificadas genéticamente/kg. En una realización, la dosis predeterminada de células T modificadas genéticamente puede ser más de aproximadamente 1 millón a aproximadamente 2 millones de células T transducidas modificadas genéticamente por kilogramo de peso corporal (células/kg). La dosis predeterminada de células T modificadas genéticamente puede ser más de 1 millón a aproximadamente 2 millones, al menos aproximadamente 2 millones a menos de aproximadamente 3 millones de células T transducidas modificadas genéticamente por kilogramo de peso corporal (células/kg). En una realización, la dosis predeterminada de células T modificadas genéticamente puede ser aproximadamente 2 millones de células T transducidas modificadas genéticamente/kg. En otra realización, la dosis predeterminada de células T modificadas genéticamente puede ser al menos aproximadamente 2 millones de células T transducidas modificadas genéticamente/kg. Ejemplos de la dosis predeterminada de células T modificadas genéticamente puede ser aproximadamente 2,0 millones, aproximadamente 2,1 millones, aproximadamente 2,2 millones, aproximadamente 2,3 millones, aproximadamente 2,4 millones, aproximadamente 2,5 millones, aproximadamente 2,6 millones, aproximadamente 2,7 millones, aproximadamente 2,8 millones, o aproximadamente 2,9 millones de células T transducidas modificadas genéticamente/kg.

[0130] Los métodos descritos en el presente documento comprenden aumentar o enriquecer la población de una o más células inmunes transducidas durante un período de tiempo para producir una población de células inmunes modificadas por ingeniería genética. El tiempo de expansión puede ser cualquier momento adecuado que permita la producción de (i) un número suficiente de células en la población de células inmunes modificadas para al menos una dosis para administrar a un paciente, (ii) una población de células inmunitarias modificadas genéticamente con una proporción favorable de células juveniles en comparación con un

proceso típico más largo, o (iii) tanto (i) como (ii). Este tiempo dependerá del receptor de superficie celular expresado por las células inmunes, el vector utilizado, la dosis necesaria para tener un efecto terapéutico y otras variables. El tiempo predeterminado para la expansión puede ser 0 día, 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 8 días, 9 días, 10 días, 11 días, 12 días, 13 días, 14 días, 15 días, 16 días, 17 días, 18 días, 19 días, 20 días, 21 días, o más de 21 días. En una realización, el tiempo de expansión del presente método se reduce en comparación con los conocidos en la técnica. Por ejemplo, el tiempo predeterminado para la expansión puede ser más corto por al menos 5%, al menos 10%, al menos 15%, al menos 20%, al menos 25%, al menos 30%, al menos 35%, al menos 40%, al menos 45%, al menos 50%, al menos 55%, al menos 60%, al menos 65%, al menos 70%, al menos 75%, o puede ser más corto por más de 75%. En un ejemplo, el tiempo de expansión es de aproximadamente 3 días, y el tiempo desde el enriquecimiento de la población de linfocitos hasta la producción de las células inmunitarias modificadas es aproximadamente 6 días.

[0131] Las condiciones para expandir la población de células inmunes transducidas pueden incluir una temperatura y/o en presencia de un nivel de CO₂. En ciertos aspectos, la temperatura es aproximadamente 34 °C, aproximadamente 35 °C, aproximadamente 36 °C, aproximadamente 37 °C, o aproximadamente 38 °C, aproximadamente 35–37 °C, aproximadamente 36–37 °C, o aproximadamente 37 °C. El nivel de CO₂ es 1,0–10% CO₂, aproximadamente 1,0%, aproximadamente 2,0%, aproximadamente 3,0%, aproximadamente 4,0%, aproximadamente 5,0%, aproximadamente 6,0%, aproximadamente 7,0%, aproximadamente 8,0%, aproximadamente 9,0%, aproximadamente 10,0% CO₂, aproximadamente 4,5–5,5% CO₂, aproximadamente 5% CO₂, aproximadamente 3,5%, aproximadamente 4,0%, aproximadamente 4,5%, aproximadamente 5,0%, aproximadamente 5,5%, o aproximadamente 6,5% CO₂.

[0132] Cada paso de los métodos descritos en el presente documento se puede realizar en un sistema cerrado. El sistema cerrado puede ser un sistema de cultivo de bolsa cerrada, utilizando cualquier bolsa de cultivo celular adecuada (por ejemplo, bolsas de diferenciación celular Miltenyi Biotec MACS® GMP, bolsas de cultivo celular Origen Biomedical PermaLife). Las bolsas de cultivo celular utilizadas en el sistema de cultivo de bolsa cerrada pueden

recubrirse con un fragmento de fibronectina humana recombinante durante la etapa de transducción. El fragmento de fibronectina humana recombinante puede incluir tres dominios funcionales: un dominio central de unión a células, un dominio II de unión a heparina y una secuencia CS1. El fragmento de fibronectina humana recombinante se puede usar para aumentar la eficiencia genética de la transducción retroviral de células inmunes al ayudar a la co-localización de células diana y vector viral.. En una realización, el fragmento de fibronectina humana recombinante es RETRONECTIN® (Takara Bio, Japón). Las bolsas de cultivo celular están recubiertas con un fragmento de fibronectina humana recombinante a una concentración de aproximadamente 1–60 µg/mL o aproximadamente 1–40 µg/mL, aproximadamente 1–20 µg/mL, 20–40 µg/mL, 40–60 µg/mL, aproximadamente 1 µg/mL, aproximadamente 2 µg/mL, aproximadamente 3 µg/mL, aproximadamente 4 µg/mL, aproximadamente 5 µg/mL, aproximadamente 6 µg/mL, aproximadamente 7 µg/mL, aproximadamente 8 µg/mL, aproximadamente 9 µg/mL, aproximadamente 10 µg/mL, aproximadamente 11 µg/mL, aproximadamente 12 µg/mL, aproximadamente 13 µg/mL, aproximadamente 14 µg/mL, aproximadamente 15 µg/mL, aproximadamente 16 µg/mL, aproximadamente 17 µg/mL, aproximadamente 18 µg/mL, aproximadamente 19 µg/mL, aproximadamente 20 µg/mL, aproximadamente 2–5 µg/mL, aproximadamente 2–10 µg/mL, aproximadamente 2–20 µg/mL, aproximadamente 2–25 µg/mL, aproximadamente 2–30 µg/mL, aproximadamente 2–35 µg/mL, aproximadamente 2–40 µg/mL, aproximadamente 2–50 µg/mL, aproximadamente 2–60 µg/mL, al menos aproximadamente 2 µg/mL, al menos aproximadamente 5 µg/mL, al menos aproximadamente 10 µg/mL, al menos aproximadamente 15 µg/mL, al menos aproximadamente 20 µg/mL, al menos aproximadamente 25 µg/mL, al menos aproximadamente 30 µg/mL, al menos aproximadamente 40 µg/mL, al menos aproximadamente 50 µg/mL, o al menos aproximadamente 60 µg/mL de fragmento de fibronectina humana recombinante. En una realización, las bolsas de cultivo celular se recubren con al menos aproximadamente 10 µg/mL de fragmento de fibronectina humana recombinante. Las bolsas de cultivo celular utilizadas en el sistema de cultivo de bolsa cerrada pueden opcionalmente bloquearse con suero de albúmina humana (HSA) durante la etapa de transducción. En otra realización, las bolsas de cultivo celular no se bloquean con HSA durante el paso de transducción.

[0133] La población de células inmunes manipuladas producidas por los métodos descritos anteriormente se puede criopreservar opcionalmente para que las células se puedan usar más tarde. También se proporciona en el presente documento un método para la crioconservación de una población de células inmunes manipuladas. Tal método puede incluir una etapa de lavado y concentración de la población de células inmunes modificadas con una solución diluyente. Por ejemplo, la solución diluyente es solución salina normal, solución salina al 0,9%, PlasmaLyte A (PL), dextrosa al 5%/solución salina de NaCl al 0,45% (D5), albúmina de suero humano (HSA) o una combinación de los mismos. Además, puede añadirse HSA a las células lavadas y concentradas para mejorar la viabilidad celular y la recuperación celular después de la descongelación. En otro aspecto, la solución de lavado es solución salina normal y las células lavadas y concentradas se complementan con HSA (5%). El método también puede incluir una etapa de generar una mezcla de crioconservación, en la que la mezcla de crioconservación incluye la población diluida de células en la solución diluyente y una solución de crioconservación adecuada. La solución crioconservante puede ser cualquier solución crioconservante adecuada que incluye, pero no se limita a, CryoStor10 (solución BioLife), mezclada con la solución diluyente de células inmunes manipuladas en una proporción de 1: 1 o 2: 1. Se puede agregar HSA para proporcionar una concentración final de aproximadamente 1,0–10%, aproximadamente 1,0%, aproximadamente 2,0%, aproximadamente 3,0%, aproximadamente 4,0%, aproximadamente 5,0%, aproximadamente 6,0%, aproximadamente 7,0%, aproximadamente 8,0%, aproximadamente 9,0%, aproximadamente 10,0%, aproximadamente 1–3% HSA, aproximadamente 1–4% HSA, aproximadamente 1–5% HSA, aproximadamente 1–7% HSA, aproximadamente 2–4% HSA, aproximadamente 2–5% HSA, aproximadamente 2–6% HSA, aproximadamente 2–7% HAS o aproximadamente 2,5% de HSA en la mezcla crioconservada. La criopreservación de una población de células inmunes manipuladas puede comprender lavar las células con solución salina normal al 0,9%, añadir HSA a una concentración final del 5% a las células lavadas y diluir las células 1: 1 con CryoStor™ CS10 (para una concentración final del 2,5% HSA en la mezcla de crioconservación final). En algún aspecto, el método también incluye una etapa de congelación de la mezcla de crioconservación. Además, la mezcla de crioconservación se congela en un congelador de velocidad controlada usando un ciclo de congelación definido a una concentración celular de entre aproximadamente 1×10^6 a aproximadamente $1,5 \times 10^7$

células/mL de mezcla de crioconservación. El método también puede incluir una etapa de almacenamiento de la mezcla de crioconservación en nitrógeno líquido en fase de vapor.

[0134] La población de células inmunes manipuladas producidas por los métodos descritos en el presente documento puede crioconservarse a una dosis predeterminada. La dosis predeterminada puede ser una dosis terapéuticamente eficaz, que puede ser cualquier dosis terapéuticamente eficaz como se proporciona a continuación. La dosis predeterminada de células inmunitarias modificadas puede depender del receptor de la superficie celular que expresan las células inmunitarias (por ejemplo, La afinidad y densidad de los receptores de la superficie celular expresados en la célula), el tipo de célula diana, la naturaleza de la enfermedad o condición patológica que se está tratando, o una combinación de ambos.

[0135] En una realización, la población de células T modificadas genéticamente puede criopreservarse a una dosis predeterminada de aproximadamente 1 millón de células T modificadas genéticamente por kilogramo de peso corporal (cells/kg). En cierta realización, la población de células T modificadas genéticamente puede criopreservarse a una dosis predeterminada de aproximadamente 500,000 a aproximadamente 1 millón de células T modificadas genéticamente/kg. En cierta realización, la población de células T modificadas genéticamente puede criopreservarse a una dosis predeterminada de al menos aproximadamente 1 millón, al menos aproximadamente 2 millones, al menos aproximadamente 3 millones, al menos aproximadamente 4 millones, al menos aproximadamente 5 millones, al menos aproximadamente 6 millones, al menos aproximadamente 7 millones, al menos aproximadamente 8 millones, al menos aproximadamente 9 millones, al menos aproximadamente 10 millones de células T modificadas genéticamente/kg. En otros aspectos, la población de células T modificadas genéticamente puede criopreservarse a una dosis predeterminada de menos de 1 millón de células/kg, 1 millón de células/kg, 2 millones de células/kg, 3 millones de células/kg, 4 millones de células/kg, 5 millones de células/kg, 6 millones de células/kg, 7 millones de células/kg, 8 millones de células/kg, 9 millones de células/kg, 10 millones de células/kg, más de 10 millones de células/kg, más de 20 millones de células/kg, más de 30 millones de células/kg, más de 40 millones de células/kg, más de 50 millones de células/kg, más de 60 millones de células/kg, más de 70 millones de células/kg, más

de 80 millones de células/kg, más de 90 millones de células/kg, o más de 100 millones de células/kg. En ciertos aspectos, la población de células T modificadas genéticamente puede criopreservarse a una dosis predeterminada de aproximadamente 1 millón a aproximadamente 2 millones de células T modificadas genéticamente/kg. La población de células T modificadas genéticamente puede criopreservarse a una dosis predeterminada entre aproximadamente 1 millón de células a aproximadamente 2 millones de células/kg, aproximadamente 1 millón de células a aproximadamente 3 millones de células/kg, aproximadamente 1 millón de células a aproximadamente 4 millones de células/kg, aproximadamente 1 millón de células a aproximadamente 5 millones de células/kg, aproximadamente 1 millón de células a aproximadamente 6 millones de células/kg, aproximadamente 1 millón de células a aproximadamente 7 millones de células/kg, aproximadamente 1 millón de células a aproximadamente 8 millones de células/kg, aproximadamente 1 millón de células a aproximadamente 9 millones de células/kg, aproximadamente 1 millón de células a aproximadamente 10 millones de células/kg. La dosis predeterminada de la población de células T modificadas genéticamente puede calcularse en función del peso corporal de un sujeto. En un ejemplo, la población de células T modificadas genéticamente puede ser criopreservada en aproximadamente 0,5–200 mL de medios de criopreservación. Adicionalmente, la población de células T modificadas genéticamente puede ser criopreservada en aproximadamente 0,5 mL, aproximadamente 1,0 mL, aproximadamente 5,0 mL, aproximadamente 10,0 mL, aproximadamente 20 mL, aproximadamente 30 mL, aproximadamente 40 mL, aproximadamente 50 mL, aproximadamente 60 mL, aproximadamente 70 mL, aproximadamente 80 mL, aproximadamente 90 mL, o aproximadamente 100 mL, aproximadamente 10–30 mL, aproximadamente 10–50 mL, aproximadamente 10–70 mL, aproximadamente 10–90 mL, aproximadamente 50–70 mL, aproximadamente 50–90 mL, aproximadamente 50–110 mL, aproximadamente 50–150 mL, o aproximadamente 100–200 mL de medios de criopreservación. En ciertos aspectos, la población de células T modificadas genéticamente se puede crioconservar preferiblemente en aproximadamente 50-70 mL de medio de criopreservación.

[0136] En una realización, al menos uno de (a) poner en contacto la población de células inmunes con IL-2 exógena, IL-7 exógena, IL-15 exógena y/u otra(s) citocina(s), (b) estimular

la población de células inmunes (c) transducir la población de células inmunes activadas, y (d) expandir la población de células inmunes transducidas se realiza usando un medio de cultivo libre de suero que está libre de suero añadido. En algún aspecto, cada uno de (a) a (d) se realiza usando un medio de cultivo libre de suero que está libre de suero añadido. Como se menciona en el presente documento, el término "medio sin suero" o "medio de cultivo sin suero" significa que el medio de crecimiento utilizado no está suplementado con suero (por ejemplo, suero humano o suero bovino). En otras palabras, no se añade suero al medio de cultivo como un ingrediente distinto y separado individualmente con el fin de apoyar la viabilidad, activación y crecimiento de las células cultivadas. Puede usarse cualquier medio de crecimiento de células inmunes adecuado para cultivar las células en suspensión de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento. Por ejemplo, un medio de crecimiento de células inmunes puede incluir, pero no se limita a, una solución estéril baja en glucosa que incluye una cantidad adecuada de tampón, magnesio, calcio, piruvato de sodio y bicarbonato de sodio. En un aspecto, el medio de crecimiento de células T es OPTMIZER™ (Life Technologies). En contraste con los métodos típicos para producir células inmunes manipuladas, los métodos descritos en el presente documento pueden usar medio de cultivo que no esté suplementado con suero (por ejemplo, humano o bovino).

[0137] La solicitud proporciona varios métodos de tratamiento del cáncer con células T. En un aspecto, las células T son células CAR-T contra CD19, que pueden prepararse mediante la combinación de cualquiera de los métodos de aplicación con cualquier paso del método de fabricación para preparar células T para inmunoterapia, que incluyen, sin limitación, los descritos en las Publicaciones PCT Nos. WO2015/120096 y WO2017/070395, las cuales se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad con el propósito de describir estos métodos; todos y cada uno de los métodos utilizados en la preparación de Axicabtagene ciloleucel o Yescarta®; todos y cada uno de los métodos utilizados en la preparación de Tisagenlecleucel/Kymriah™; todos y cada uno de los métodos utilizados en la preparación de células T "disponibles en el mercado" para inmunoterapia; y cualquier otro método de preparación de linfocitos para su administración a seres humanos. En algún aspecto, el proceso de fabricación está adaptado para eliminar específicamente las células tumorales circulantes de las células obtenidas del paciente.

[0138] En un aspecto, las células T son las células CAR-T CD19, preparadas mediante el método descrito en PCT / US2016 / 057983. En una realización, se prepara una población de células T que está agotada de células tumorales circulantes a partir de productos de leucocitaféresis. Estas células se pueden preparar como se describe en PCT / US2016 / 057983 y se describen adicionalmente en el presente documento como células CAR-T CD19. Brevemente, CD19 CAR-T es un producto de células T con CAR autólogo en el que las células T de un sujeto se diseñan para expresar receptores que consisten en un fragmento de anticuerpo monocatenario contra CD19 unido a dominios activadores de CD28 y CD3 ζ que dan como resultado la eliminación de CD19 que expresa células. Después de la participación de CAR con las células objetivo CD19 +, el dominio CD3 ζ activa la cascada de señalización descendente que conduce a la activación, proliferación y adquisición de las funciones efectoras de las células T, como la citotoxicidad. El dominio de señalización intracelular de CD28 proporciona una señal coestimuladora que funciona con la señal de CD3 ζ primaria para aumentar la función de las células T, incluida la producción de interleucina (IL) -2. Juntas, estas señales pueden estimular la proliferación de las células CAR T y la muerte directa de las células objetivo. Además, las células T activadas pueden secretar citocinas, quimiocinas y otras moléculas que pueden reclutar y activar células inmunes antitumorales adicionales. El CAR anti-CD19 en las células CAR-T CD19 puede comprender FMC63-28Z.

[0139] Debido a la presencia de células tumorales circulantes en ciertos cánceres, la fabricación de CD19 CAR-T incluye un paso de enriquecimiento de células T CD4⁺ y CD8⁺. La etapa de enriquecimiento o aislamiento de células T puede reducir las células tumorales que expresan CD19 circulantes en el material de leucoféresis y puede relacionarse con la activación, expansión y agotamiento de las células T CAR anti-CD19 durante la fabricación.

[0140] Los métodos descritos en el presente documento pueden mejorar el resultado del tratamiento o la eficacia de una terapia inmunitaria o celular), que puede ser una terapia de células T adoptiva seleccionada del grupo que consiste en inmunoterapia con linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), terapia con células autólogas, terapia con células autólogas (eACT

TM), trasplante alogénico de células T, trasplante de células no-T y cualquier combinación de los mismos. La terapia de células T adoptivas incluye ampliamente cualquier método de selección, enriquecimiento in vitro y administración a un paciente de células T autólogas o alogénicas que reconocen y son capaces de unirse a células tumorales. La inmunoterapia TIL es un tipo de terapia adoptiva de células T, en la que los linfocitos capaces de infiltrar el tejido tumoral se aíslan, se enriquecen in vitro y se administran a un paciente. Las células TIL pueden ser autólogas o alogénicas. La terapia con células autólogas es una terapia adoptiva con células T que implica aislar células T capaces de dirigirse a las células tumorales de un paciente, enriquecer las células T in vitro y administrar las células T al mismo paciente. El trasplante de células T alogénicas puede incluir el trasplante de células T de origen natural expandidas ex vivo o células T modificadas por ingeniería genética. La terapia de células autólogas de ingeniería, como se describe con más detalle anteriormente, es una terapia de células T adoptiva en la que los linfocitos del propio paciente se aíslan, se modifican genéticamente para expresar una molécula dirigida al tumor, se expanden in vitro y se administran de nuevo al paciente. El trasplante de células que no son T puede incluir terapias autólogas o alogénicas con células que no son T tales como, pero no se limitan a, células asesinas naturales (NK).

[0141] La terapia de células inmunes de la presente solicitud está diseñada como terapia de células autólogas (eACT TM). Según este aspecto, el método puede incluir la recolección de células inmunes de un donante. A continuación, las células inmunitarias aisladas pueden ponerse en contacto con un reactivo de activación exógeno (por ejemplo, citocina), expandirse y manipularse para expresar un receptor de antígeno quimérico ("células CAR T diseñadas ") o un receptor de células T ("células T TCR diseñadas"). En algún aspecto, las células inmunitarias diseñadas tratan un tumor en el sujeto. Por ejemplo, una o más células inmunes se transducen con un retrovirus que comprende un gen heterólogo que codifica un receptor de la superficie celular. En una realización x, el receptor de superficie celular es capaz de unirse a un antígeno en la superficie de una célula objetivo, por ejemplo, en la superficie de una célula tumoral. En alguna realización, el receptor de la superficie celular es un receptor de antígeno quimérico o un receptor de células T. En otra realización, una o más células inmunes se pueden diseñar para expresar un receptor de antígeno quimérico. El receptor de antígeno quimérico puede comprender una molécula de unión a un antígeno tumoral. La molécula de unión puede ser un

anticuerpo o una molécula de unión a antígeno del mismo. Por ejemplo, la molécula de unión al antígeno puede seleccionarse de scFv, Fab, Fab', Fv, F(ab')₂ y dAb, y cualquier fragmento o combinación de los mismos. El receptor de antígeno quimérico puede comprender además a. El receptor de antígeno quimérico puede comprender además una región de bisagra. La región de bisagra puede derivarse de la región de bisagra de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgD, IgE, IgM, CD28 o CD8 alfa. En una realización, la región bisagra se deriva de la región bisagra de IgG4. El receptor de antígeno quimérico también puede comprender un dominio transmembrana. El dominio transmembrana puede ser un dominio transmembrana de cualquier molécula transmembrana que sea un correceptor en células inmunes o un dominio transmembrana de un miembro de la superfamilia de inmunoglobulinas. En cierta realización, el dominio transmembrana se deriva de un dominio transmembrana de CD28, CD28T, CD8 alfa, CD4 o CD19. En otra realización, el dominio transmembrana comprende un dominio derivado de un dominio transmembrana CD28. En otra realización, el dominio transmembrana comprende un dominio derivado de un dominio transmembrana CD28T. El receptor de antígeno quimérico puede comprender además una o más regiones de señalización coestimuladoras. Por ejemplo, la región de señalización coestimuladora puede ser una región de señalización de CD28, CD28T, OX-40, 41BB, CD27, coestimulador de células T inducible (ICOS), CD3 gamma, CD3 delta, CD3 epsilon, CD247, Ig alfa (CD79a), o receptor Fc gamma. En una realización adicional, la región de señalización coestimuladora es una región de señalización de CD28. En otra realización, la región de señalización coestimuladora es una región de señalización de CD28T. En una realización adicional, el receptor de antígeno quimérico comprende además un dominio de señalización zeta de CD3.

[0142] En algunos aspectos, el antígeno tumoral se selecciona de 707-AP (707 alanina prolina), AFP (alfa (a) -fetoproteína), ART-4 (antígeno de adenocarcinoma reconocido por células T4), BAGE (antígeno B; b -catenina / m, b-catenina / mutado), BCMA (antígeno de maduración de células B), Bcr-abl (región de clúster de punto de ruptura-Abelson), CAIX (anhidrasa carbónica IX), CD19 (grupo de diferenciación 19), CD20 (grupo de diferenciación 20), CD22 (grupo de diferenciación 22), CD30 (grupo de diferenciación 30), CD33 (grupo de diferenciación 33), CD44v7 / 8 (grupo de diferenciación 44, exones 7/8), CAMEL (antígeno reconocido por CTL en el melanoma), CAP-1 (péptido del antígeno carcinoembrionario - 1),

CASP-8 (caspasa-8), CDC27m (ciclo de división celular 27 mutado), CDK4 / m (quinasa dependiente de ciclina 4 mutada), CEA (antígeno carcinoembrionario), CT (cáncer / testículo (antígeno)), Cyp -B (ciclofilina B), DAM (antígeno de diferenciación melanoma), EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico), EGFRvIII (receptor del factor de crecimiento epidérmico, variante III), EGP-2 (glucoproteína epitelial 2), EGP-40 (glucoproteína epitelial 40), Erbb2, 3, 4 (homólogo -2, -3, 4 del oncogén viral de la leucemia eritroblástica), ELF2M (factor de elongación 2 mutado), ETV6-AML1 (gen variante Ets 6 / gen ETS de la leucemia mieloide aguda 1), FBP (proteína de unión a folato), fAChR (receptor de acetilcolina fetal), G250 (glicoproteína 250), GAGE (antígeno G), GD2 (disialogangliósido 2), GD3 (disialogangliósido 3), GnT-V (N-acetilglucosaminiltransferasa V), Gp100 glucoproteína 100 kD), HAGE (antígeno de hélicosa), HER-2 / neu (receptor epidérmico humano 2 / neurológico; también conocido como EGFR2), HLA-A (antígeno leucocitario humano A) VPH (virus del papiloma humano), HSP70-2M (proteína de choque térmico 70-2 mutada), HST-2 (tumor en anillo de sello humano - 2), hTERT o hTRT (transcriptasa inversa de telomerasa humana), iCE (carboxil esterasa intestinal), IL-13R-a2 (subunidad alfa-2 del receptor de interleucina-13), KIAA0205, KDR (receptor de dominio de inserción de quinasa), cadena ligera κ , LAGE (Antígeno L), LDLR / FUT (receptor de lípidos de baja densidad / GDP-L-fucosa: bD-galactosidasa 2-a-Lfucosiltransferasa), LeY (anticuerpo Lewis-Y), L1CAM (molécula de adhesión de células L1), MAGE (antígeno de melanoma) , MAGE-A1 (antígeno asociado al melanoma 1), MAGE-A3, MAGE-A6, mesotelina, células infectadas por CMV murino, MART-1 / Melan-A (antígeno de melanoma reconocido por las células T-1 / antígeno A del melanoma), MC1R (receptor de melanocortina 1), miosina / m (miosina mutada), MUC1 (mucina 1), MUM-1, -2, -3 (melanoma ubicuo mutado 1, 2, 3), NA88-A (clon de ADNc de NA del paciente M88) , Ligandos NKG2D (grupo asesino natural 2, miembro D), NY-BR-1 (antígeno de diferenciación de mama de Nueva York 1), NY-ESO-1 (carcinoma de células escamosas de esófago de Nueva York), antígeno oncofetal (h5T4), P15 (proteína 15), p190 minor bcr-abl (proteína de 190KD bcr-abl), Pml / RARa (leucemia promielocítica / receptor de ácido retinoico a), PRAME (antígeno de melanoma expresado preferentemente), PSA (antígeno prostático específico), PSCA (Antígeno de células madre de próstata), PSMA (antígeno de membrana específico de la próstata), RAGE (antígeno renal), RU1 o RU2 (ubicuo renal 1 o 2), SAGE (antígeno de sarcoma), SART-1 o SART-3 (antígeno escamoso que rechaza el tumor 1

o 3), SSX1, -2, -3, 4 (sarcoma sinovial X1, -2, -3, -4), TAA (antígeno asociado al tumor), TAG-72 (glucoproteína 72 asociada al tumor), TEL / AML1 (leucemia de la familia Ets por translocación / leucemia mieloide aguda 1), TPI / m (triosafosfato isomerasa mutado), TRP-1 (proteína 1 relacionada con tirosinasa o gp75), TRP-2 (proteína 2 relacionada con tirosinasa), TRP-2 / INT2 (TRP-2 / intrón 2), VEGF-R2 (receptor 2 del factor de crecimiento endotelial vascular), WT1 (gen del tumor de Wilms) y cualquier combinación de los mismos. En una realización, el antígeno tumoral es CD19.

[0143] La terapia con células T comprende la administración al paciente de células T modificadas genéticamente que expresan el receptor de células T ("células T TCR diseñadas"). El receptor de células T (TCR) puede comprender una molécula de unión a un antígeno tumoral. En algunos aspectos, el antígeno tumoral se selecciona del grupo formado por 707-AP, AFP, ART-4, BAGE, BCMA, Bcr-abl, CAIX, CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, CD44v7 / 8, CAMEL, CAP-1, CASP-8, CDC27m, CDK4 / m, CEA, CT, Cyp-B, DAM, EGFR, EGFRvIII, EGP-2, EGP-40, Erbb2, 3, 4, ELF2M, ETV6-AML1, FBP, fAchR, G250, GAGE, GD2, GD3, GnT-V, Gp100, HAGE, HER-2 / neu, HLA-A, HPV, HSP70-2M, HST-2, hTERT o hTRT, iCE, IL-13R-a2, KIAA0205, KDR, cadena ligera κ , LAGE, LDLR / FUT, LeY, L1CAM, MAGE, MAGE-A1, mesotelina, células infectadas con CMV murino, MART-1 / Melan-A, MC1R, miosina / m, MUC1, MUM-1, -2, -3, NA88-A, ligandos NKG2D, NY-BR-1, NY-ESO-1, antígeno oncofetal, P15, p190 menor bcr-abl, Pml / RARa, PRAME, PSA, PSCA, PSMA, RAGE, RU1 o RU2, SAGE, SART-1 o SART-3, SSX1, -2, -3, 4, TAA, TAG-72, TEL / AML1, TPI / m, TRP-1, TRP-2, TRP-2 / INT2, VEGF-R2, WT1 y cualquier combinación de los mismos.

[0144] “Inmunoterapia de células T autólogas modificadas genéticamente dirigida a CD19” se refiere a una suspensión de células inmunitarias positivas al receptor de antígeno quimérico (CAR). Un ejemplo de dicha inmunoterapia es la terapia Clear CAR-T, que utiliza células CAR-T que están libres de células tumorales circulantes y están enriquecidas en células T CD4+/CD8+. Otro ejemplo es axicabtagene ciloleucel (también conocido como Axi-cel TM, YESCARTA®). Véase Kochenderfer, et al., (J Immunother 2009; 32: 689 702). Otros ejemplos no limitantes incluyen JCAR017, JCAR015, JCAR014, Kymriah (tisagenlecleucel), Uppsala U.

anti-CD19 CAR (NCT02132624) y UCART19 (Cellestis). Ver Sadelain et al. *Nature Rev. Cancer* Vol. 3 (2003), Ruella et al., *Curr Hematol Malig Rep.*, Springer, NY (2016) y Sadelain et al. *Cancer Discovery* (abril de 2013) Para preparar inmunoterapia de células T autólogas modificadas genéticamente dirigida a CD19, las propias células T de un paciente pueden recolectarse y modificarse genéticamente ex vivo mediante transducción retroviral para expresar un receptor de antígeno quimérico (CAR) que comprende un fragmento variable de cadena única anti-CD19 murino (scFv) unido a dominios coestimuladores de CD28 y CD3-zeta. En algunas realizaciones, el CAR comprende un fragmento variable de cadena única anti-CD19 murino (scFv) unido al dominio coestimulador 4-1BB y CD3-zeta. Las células CAR T anti-CD19 se pueden expandir y volver a infundir al paciente, donde pueden reconocer y eliminar las células objetivo que expresan CD19.

[0145] En un aspecto, el TCR comprende una molécula de unión a un oncogén viral. En una realización, el oncogén viral se selecciona de virus del papiloma humano (HPV), virus de Epstein-Barr (EBV) y virus linfotrópico T humano (HTLV). En otra realización, el TCR comprende una molécula de unión a un antígeno tumoral testicular, placentario o fetal. En una realización, el antígeno tumoral testicular, placentario o fetal se selecciona del grupo que consiste en NY-ESO-1, punto de corte 2 del sarcoma sinovial X (SSX2), antígeno de melanoma (MAGE) y cualquier combinación de los mismos. En otra realización, el TCR comprende una molécula de unión a un antígeno específico de linaje. En una realización adicional, el antígeno específico de linaje se selecciona del grupo que consiste en antígeno de melanoma reconocido por células T 1 (MART-1), gp100, antígeno específico de próstata (PSA), antígeno de membrana específico de próstata (PSMA), antígeno de células madre de próstata (PSCA) y cualquier combinación de los mismos. En cierta realización, la terapia con células T comprende administrar al paciente células CAR T diseñadas que expresan un receptor de antígeno quimérico que se une a CD19 y comprende además un dominio coestimulador de CD28 y una región de señalización de CD3-zeta. En una realización adicional, la terapia con células T comprende administrar a un paciente KTE-C19. En un aspecto, los restos antigénicos también incluyen, pero no se limitan a, un antígeno del virus de Epstein-Barr (EBV) (p. Ej., EBNA-1, EBNA-2, EBNA-3, LMP-1, LMP-2), un antígeno del virus de la hepatitis A (p. ej., VP1, VP2, VP3), un antígeno del virus de la hepatitis B (p. ej., HBsAg, HBcAg, HBeAg), un antígeno viral

de la hepatitis C (p. ej., glicoproteínas de la envoltura E1 y E2), un virus del herpes simple tipo 1, tipo 2 o tipo 8 (HSV1, HSV2 o HSV8) antígeno viral (p. ej., glicoproteínas gB, gC, gC, gE, gG, gH, gI, gJ, gK, gL, gM, UL20, UL32, US43, UL45, UL49A), un antígeno viral de citomegalovirus (CMV) (p. ej., glicoproteínas gB, gC, gC, gE, gG, gH, gI, gJ, gK, gL, gM u otras proteínas de la envoltura), un antígeno viral del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (glicoproteínas gp120, gp41 o p24), un antígeno viral de la influenza (p. ej., hemaglutinina (HA) o neuraminidasa (NA)), un antígeno viral del sarampión o las paperas, un antígeno viral del papilomavirus humano (VPH) (p. ej., L1, L2), una parainfluenza antígeno viral del virus, un antígeno viral del virus de la rubéola, un antígeno viral del virus respiratorio sincitial (VSR), o un antígeno viral del virus varicela-zoster. En tales aspectos, el receptor de la superficie celular puede ser cualquier TCR, o cualquier CAR que reconozca cualquiera de los antígenos virales antes mencionados en una célula objetivo infectada por virus. En otros aspectos, el resto antigénico está asociado con células que tienen una disfunción inmunitaria o inflamatoria. Dichos restos antigénicos pueden incluir, entre otros, proteína básica de mielina (MBP), proteína proteolípida de mielina (PLP), glicoproteína de oligodendrocitos de mielina (MOG), antígeno carcinoembrionario (CEA), proinsulina, glutamina descarboxilasa (GAD65, GAD67), proteínas de choque térmico (HSP) o cualquier otro antígeno específico de tejido que esté involucrado o asociado con un proceso autoinmune patógeno.

[0146] Los métodos descritos en este documento pueden implicar una terapia con células T que comprende la transferencia de una o más células T a un paciente. Las células T pueden administrarse en una cantidad terapéuticamente eficaz. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz de células T, p. Ej., Células CAR T + diseñadas o células TCR + T diseñadas, puede ser al menos aproximadamente 10^4 células, al menos aproximadamente 10^5 células, al menos aproximadamente 10^6 células, al menos aproximadamente 10^7 células, como mínimo al menos alrededor de 10^8 células, al menos alrededor de 10^9 , o al menos alrededor de 10^{10} . En otro aspecto, la cantidad terapéuticamente eficaz de células T, por ejemplo, células T CAR+ diseñadas o células T TCR+ diseñadas, es de aproximadamente 10^4 células, aproximadamente 10^5 células, aproximadamente 10^6 células, aproximadamente 10^7 células o aproximadamente 10^8 células. En una realización, la cantidad terapéuticamente eficaz de las células T, por ejemplo, células CAR T+ diseñadas o células T TCR+ diseñadas, es de

aproximadamente 2×10^6 células / kg, aproximadamente 3×10^6 células / kg, aproximadamente 4×10^6 células / kg, alrededor de 5×10^6 células / kg, alrededor de 6×10^6 células / kg, aproximadamente 7×10^6 células / kg, aproximadamente 8×10^6 células / kg, aproximadamente 9×10^6 células / kg, aproximadamente 1×10^7 células / kg, aproximadamente 2×10^7 células / kg, aproximadamente 3×10^7 células / kg, aproximadamente 4×10^7 células / kg, aproximadamente 5×10^7 células / kg, aproximadamente 6×10^7 células / kg, aproximadamente 7×10^7 células / kg, aproximadamente 8×10^7 células / kg, o aproximadamente 9×10^7 células / kg. En una realización, la cantidad de células CAR-T CD19 es 2×10^6 células / kg, con una dosis máxima de 2×10^8 células para sujetos ≥ 100 kg. En otra realización, la cantidad de células CAR-T CD19 es $0,5 \times 10^6$ células / kg, con una dosis máxima de $0,5 \times 10^8$ células para sujetos ≥ 100 kg.

[0147] Los pacientes pueden estar preacondicionados o linfodepletados antes de la administración de la terapia con células T. El paciente puede acondicionarse previamente de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica, que incluye, pero no se limita a, el tratamiento con uno o más fármacos de quimioterapia y / o radioterapia. En algunos aspectos, el preacondicionamiento puede incluir cualquier tratamiento que reduzca el número de linfocitos endógenos, elimine un sumidero de citocinas, aumente el nivel sérico de una o más citocinas homeostáticas o factores proinflamatorios, mejore una función efectora de las células T administradas después del acondicionamiento, mejora la activación y / o disponibilidad de las células presentadoras de antígeno, o cualquier combinación de las mismas antes de una terapia con células T. El preacondicionamiento puede comprender incrementar el nivel sérico de una o más citocinas en el sujeto. Los métodos comprenden además la administración de un quimioterapéutico. El quimioterapéutico puede ser un quimioterapéutico que agota los linfoides (preacondicionamiento). Los regímenes de tratamiento de preacondicionamiento beneficiosos, junto con los biomarcadores beneficiosos correlativos, se describen en la patente de EE.UU. n° 9.855.298, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad. Estos describen, por ejemplo, métodos para acondicionar a un paciente que necesita una terapia con células T que comprenden administrar al paciente dosis beneficiosas específicas de ciclofosfamida (entre 200 mg / m² / día y 2000 mg / m² / día) y dosis específicas de fludarabina (entre 20 mg / m² / día y 900 mg / m² / día). Uno de dichos regímenes de dosis implica tratar a un paciente que comprende

administrar diariamente al paciente aproximadamente 500 mg / m² / día de ciclofosfamida y aproximadamente 60 mg / m² / día de fludarabina durante tres días antes de la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de células T diseñadas al paciente. En un aspecto, el régimen de acondicionamiento comprende ciclofosfamida 500 mg / m² + fludarabina 30 mg / m² durante 3 días. Pueden administrarse en los días -4, -3 y -2 o en los días -5, -4 y -3 (el día 0 es el día de administración de las células). En una realización, el régimen de acondicionamiento comprende ciclofosfamida 200 mg / m², 250 mg / m², 300 mg / m², 400v, 500 mg / m² al día durante 2, 3 o 4 días y fludarabina 20 mg / m², 25 mg / m² o 30 mg / m² durante 2, 3 o 4 días. En una realización, y después de la leucaféresis, la quimioterapia de acondicionamiento (fludarabina 30 mg / m² / día y ciclofosfamida 500 mg / m² / día) se administra los días -5, -4 y -3 antes de una infusión intravenosa de una suspensión células CAR-T CD19. En algunas realizaciones, el tiempo de infusión intravenosa es de entre 15 y 120 minutos. En una realización, el tiempo de infusión intravenosa está entre 1 y 240 minutos. En algunas realizaciones, el tiempo de infusión intravenosa es de hasta 30 minutos. En algunas realizaciones, el tiempo de infusión intravenosa es de hasta 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o hasta 100 minutos. En algunas realizaciones, el volumen de infusión está entre 50 y 100 ml. En algunas realizaciones, el volumen de infusión está entre 20 y 100 ml. En algunas realizaciones, el volumen de infusión es de aproximadamente 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 o aproximadamente 65 ml. En algunas realizaciones, el volumen de infusión es de aproximadamente 68 ml. En algunas realizaciones, la suspensión se ha congelado y se usa dentro de las 6, 5, 4, 3, 2, 1 hora después de la descongelación. En algunas realizaciones, la suspensión no se ha congelado. En algunas realizaciones, la inmunoterapia se infunde desde una bolsa de infusión. En algunas realizaciones, la bolsa de infusión se agita durante la infusión. En algunas realizaciones, la inmunoterapia se administra dentro de las 3 horas posteriores a la descongelación. En algunas realizaciones, la suspensión comprende además albúmina. En algunas realizaciones, la albúmina está presente en una cantidad de aproximadamente 2-3% (v / v). En algunas realizaciones, la albúmina está presente en una cantidad de aproximadamente un 2,5% (v / v). En algunas realizaciones, la albúmina está presente en una cantidad de aproximadamente 1%, 2%, 3%, 4% o 5% (v / v). En algunas realizaciones, la albúmina es albúmina humana. En algunas realizaciones, la suspensión comprende además DMSO. En algunas realizaciones, el DMSO está presente en una cantidad de aproximadamente 4-6% (v /

v). En algunas realizaciones, el DMSO está presente en una cantidad de aproximadamente el 5% (v / v). En algunas realizaciones, el DMSO está presente en una cantidad del 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9% o 10% (v / v).

[0148] Los métodos descritos en este documento pueden usarse para tratar un cáncer en un sujeto, reducir el tamaño de un tumor, matar las células tumorales, prevenir la proliferación de células tumorales, prevenir el crecimiento de un tumor, eliminar un tumor de un paciente, prevenir la recaída de un tumor, prevenir la metástasis tumoral, inducir la remisión en un paciente o cualquier combinación de los mismos. En ciertos aspectos, los métodos pueden inducir una respuesta completa. En otros aspectos, los métodos pueden inducir una respuesta parcial.

[0149] Los cánceres que pueden tratarse incluyen tumores que no están vascularizados, que aún no están sustancialmente vascularizados o vascularizados. El cáncer también puede incluir tumores sólidos o no sólidos.

[0150] En una realización, el método puede usarse para tratar una neoplasia maligna de células B que presente niveles altos de células tumorales que expresan CD19 circulantes y estará indicado para una población de pacientes distinta con una gran necesidad insatisfecha.

[0151] Tratamiento ejemplar de MCL

[0152] En algunas realizaciones, la neoplasia puede ser linfoma de células del manto (MCL). El MCL es un subtipo agresivo de linfoma no Hodgkin (NHL). El MCL representa aproximadamente el 6% de todos los casos nuevos de LNH en los Estados Unidos (EE. UU.) y del 5% al 7% de los linfomas malignos en Europa occidental. La incidencia anual estimada de MCL es de aproximadamente 1 a 2 por cada 100.000 personas en los EE. UU. y Europa. Es más probable que el MCL afecte a los hombres que a las mujeres y la mediana de edad en el momento del diagnóstico es de 68 años. En algunas realizaciones, el MCL r / r es r / r para el tratamiento con trasplante alogénico de células madre (alo-SCT), que en sí mismo puede resultar en una remisión duradera para aproximadamente el 25% de los pacientes con MCL recidivante o

refractario (r / r) si se demostró que su enfermedad era quimiosensible antes del trasplante, pero el alo-SCT también se asocia con tasas de mortalidad relacionadas con el tratamiento de hasta el 40%.

[0153] En algunas realizaciones, el MCL r / r es r / r para el tratamiento con bortezomib, lenalidomida y temsirolimus, lo que a su vez da como resultado ORR que oscilan entre el 22% y el 32%. Los inhibidores de la tirosina quinasa de Bruton (BTK), como ibrutinib y acalabrutinib, producen una ORR del 68% y el 81%, respectivamente, en pacientes con MCL r / r. Sin embargo, la mayoría de los pacientes progresan después del tratamiento con inhibidores de BTK y tienen malos resultados en respuesta a las terapias de rescate, con ORR que varían del 20% al 42%, duraciones medias de respuesta (DOR) que van de 3 a 5,4 meses y una mediana de OS que varía de 2,5 a 9 meses. En algunas realizaciones, la divulgación proporciona que la intervención de células CAR T puede usarse para tratar cánceres con factores de mal pronóstico tales como expresión de índice de proliferación tumoral Ki67 alta ($\geq 30\%$ o $\geq 50\%$) y TP53 mutado. En algunas realizaciones, el cáncer es MCL. In some embodiments, the MCL morphology is classical, pleomorphic, or blastoid. En algunas realizaciones, el índice Ki-67 puede estar entre el 5% y el 80%. En algunas realizaciones, el índice Ki-67 es de aproximadamente el 38%. En algunas realizaciones, los pacientes de alto riesgo tienen una mutación de Ki-67 $\geq 50\%$ y / o TP53 mediante secuenciación de generaciones siguientes. En algunas realizaciones, el paciente tiene una edad ≥ 18 años. En algunas realizaciones, el MCL se confirma patológicamente con documentación de sobreexpresión de ciclina D1 y / o presencia de t (11:14).

[0154] En algunas realizaciones, la intervención de células CAR T comprende células T que se expanden a partir de una población de células T agotada de células de linfoma circulantes y enriquecidas para células T CD4 + / CD8 + mediante la selección positiva de células mononucleares de una muestra de leucoféresis que se activa con anticuerpos anti-CD3 y anti-CD28 en presencia de IL-2, y luego transducidos con un vector viral de replicación incompetente que contiene una construcción CAR anti-CD19. En algunas realizaciones, la construcción CAR es FMC63-28Z CAR. La célula CAR T generada mediante este método puede denominarse KTE-X19. En algunas realizaciones, las células son autólogas. En algunas

realizaciones, las células son heterólogas. En algunas realizaciones, la dosis de células CAR T positivas es 2×10^6 células CAR T anti-CD19 / kg. En algunas realizaciones, la dosis de células CAR T positivas es 1×10^6 células CAR T anti-CD19 / kg. En algunas realizaciones, la dosis de células CAR T positivas es $1,6 \times 10^6$ células CAR T anti-CD19 / kg, $1,8 \times 10^6$ células CAR T anti-CD19 / kg o $1,9 \times 10^6$ células CAR T anti-CD19 / kg. En algunas realizaciones, la construcción CAR de CD19 contiene un dominio de activación de células T CD3 ζ y un dominio de señalización de CD28.

[0155] En algunas realizaciones, las células CAR T se administran como una única infusión el día 0 después de la terapia de acondicionamiento con 25 mg / m² / día de fludarabina los días -5, -4 y -3 y 900 mg / m² / día. de ciclofosfamida el día -2, después de la leucaféresis. En algunas realizaciones, la terapia de acondicionamiento comprende 300 mg / m² / día de ciclofosfamida y 30 mg / m² / día de fludarabina durante 3 días. En algunas realizaciones, la quimioterapia de acondicionamiento comprende 30 mg / m² / día de fludarabina y 500 mg / m² / día de ciclofosfamida los días -5, -4 y -3. En algunas realizaciones, el paciente también puede haber recibido acetaminofén y difenhidramina u otro antihistamínico H1 aproximadamente 30 a 60 minutos antes de la infusión de células CAR T anti-CD19. En algunas realizaciones, los pacientes reciben una o más dosis adicionales de células CAR T anti-CD19.

[0156] En algunas realizaciones, el cáncer de MCL es MCL recidivante / refractario (MCL r / r). En algunas realizaciones, el paciente ha recibido uno o más tratamientos previos. En algunas realizaciones, el paciente ha recibido 1-5 tratamientos previos. En algunas realizaciones, los tratamientos previos pueden haber incluido SCT autólogo, anticuerpo anti-CD20, quimioterapia que contiene antraciclina o bendamustina y / o un inhibidor de tirosina quinasa de Bruton (BTKi). En algunas realizaciones, el BTKi es ibrutinib (Ibr). En algunas realizaciones, el BTKi es acalabrutinib (Acala). En algunas realizaciones, la divulgación proporciona que los pacientes con MCL que fueron tratados previamente con ibrutinib tuvieron una respuesta más pronunciada a la terapia de células CAR T anti-CD19 en comparación con los pacientes tratados previamente con acalabrutinib. Por consiguiente, la divulgación proporciona un método de tratamiento de MCL r / r con terapia de células CAR T anti-CD19 en el que el paciente ha sido tratado previamente con ibrutinib o acalabrutinib y cuyo cáncer es,

preferiblemente, recidivante / refractario al mismo. En algunas realizaciones, el BTKi es tirabrutinib (ONO-4059), zanubrutinib (BGB-3111), CGI-1746 o espebrutinib (AVL-292, CC-292).

[0157] En algunas realizaciones, la divulgación establece que para los pacientes con Ibr, Acala o ambos previos, la mediana (rango) de los niveles máximos de células T con CAR fueron 95,9 (0,4 - 2589,5), 13,7 (0,2 - 182,4) o 115,9 (17,2 - 1753,6), respectivamente. En algunas realizaciones, las tasas de ORR / CR para la terapia con células CAR T anti-CD19 en pacientes con MCL fueron 94% / 65% en pacientes con Ibr previa, 80% / 40% en pacientes con Acala previa y 100% / 100% en pacientes con ambos BTKis. En algunas realizaciones, las tasas de supervivencia a 12 meses en pacientes con Ibr anterior, Acala o ambos fueron del 81%, 80% o 100%, respectivamente. En algunas realizaciones, la expansión de células CAR T está asociada con la tasa de ORR / CR en pacientes tratados previamente con Ibr y / o Acala. Por consiguiente, en una realización, el paciente se trata tanto con Ibr como con Acala. En una realización, la divulgación proporciona un método para predecir ORR / CR en un paciente con MCL tratado previamente con Ibr y / o Acala midiendo los niveles máximos de células CAR T y comparándolos con un estándar de referencia. En una realización, la divulgación proporciona un método para predecir la respuesta en curso basándose en la medición de los niveles máximos de células CAR T / carga tumoral inicial (CEN e INV). En una realización, cuanto mayor sea la proporción, mayor será la probabilidad de una respuesta continua a los 12 meses. En una realización, una relación entre 0,00001 y 0,005 predice la falta de respuesta a los 12 meses. En una realización, una proporción entre 0,006 y 0,3 predice la recaída en/a los 12 meses. En una realización, una relación entre 0,4 y 1 es predictiva de la respuesta en curso en/por 12 meses. En una realización, un experto en la materia puede determinar las proporciones a partir de las poblaciones medias.

[0158] En algunas realizaciones, los criterios de inclusión adicionales incluyen los enumerados en el EJEMPLO 2. En algunas realizaciones, los criterios de exclusión adicionales incluyen los enumerados en el EJEMPLO 2.

[0159] En algunas realizaciones, el paciente puede haber recibido terapia puente (después de la leucaféresis y antes de la quimioterapia) con dexametasona (p. Ej., 20-40 mg o equivalente PO o IV al día durante 1-4 días), metilprednisolona, ibrutinib (p. Ej., 560 mg diarios PO) y / o acalabrutinib (por ejemplo, 100 mg por vía oral dos veces al día) después de la leucaféresis y completados, por ejemplo, en 5 días o menos antes de la quimioterapia de acondicionamiento. En algunas realizaciones, tal paciente puede haber tenido una alta carga de enfermedad. En algunas realizaciones, la terapia puente se selecciona de un inmunomodulador, R-CHOP, bendamustina, agentes alquilantes y / o agentes basados en platino.

[0160] En algunas realizaciones, la divulgación proporciona que todos los pacientes con MCL que respondieron a la infusión de células CAR T lograron la expansión de las células T, mientras que no se observó expansión en los pacientes que no respondieron. En algunas realizaciones, la respuesta es una respuesta objetiva (respuesta completa + respuesta parcial). La divulgación establece que los niveles de células CAR T se correlacionaron con la ORR en los primeros 28 días, donde el área bajo la curva en los días 0 a 28 (AUC0-28) y los niveles máximos fueron > 200 veces más altos en los respondedores que en los no-respondedores, lo que sugiere que una mayor expansión condujo a una respuesta mejor y quizás más profunda, como también lo indican los niveles máximos / AUC de células CAR T > 80 veces más altos en la enfermedad residual mínima (ERM, sensibilidad 10⁻⁵) negativos en comparación con los pacientes ERM positivos (en la semana 4). En consecuencia, la divulgación proporciona un método para predecir la respuesta del paciente y la MRD al tratamiento de MCL con células CAR T que comprende medir el pico / Niveles de células T AUC CAR y comparación con un estándar de referencia. En algunas realizaciones, la expansión máxima de las células CAR T se observa entre los días 8 y 15 después de la administración de las células CAR T. En algunas realizaciones, los niveles de células CAR T se miden mediante qPCR. En algunas realizaciones, los niveles máximos de células CAR T, AUC0-28 y / o MRD se controlan mediante secuenciación de próxima generación. En algunos ejemplos, el número de células CAR T se mide en células / microlitro de sangre. En algunos ejemplos, el número de células CAR T se mide por el número de copias del gen CAR / µg de ADN del huésped. En algunos ejemplos, los números de células CAR T se miden como se describe en Kochenderfer J.N et al. J. Clin. Oncol.

2015; 33: 540–549. En una realización, los niveles de células CAR T se miden como se describe en Locke FL et al. Mol Ther. 2017; 25 (1): 285-295.

[0161] En algunas realizaciones, la divulgación establece que existe una diferencia entre la expansión de células T de respondedores y no respondedores. En algunas encarnaciones, la divulgación proporciona que el pico medio del nivel de células T CAR anti-CD19 en los respondedores (aquellos con remisión completa y remisión parcial) fue de 102,4 células/ μ L (rango: 0,2 a 2589,5 células/ μ L; n=51), y en los no respondedores fue de 12,0 células/ μ L (rango: 0,2 a 1364,0 células/ μ L, n=8). En algunas realizaciones, la divulgación establece que la mediana del AUC Día 0-28 (AUC0-28) en pacientes con una respuesta objetiva fue 1487,0 células / μ L • días (rango: 3,8 a $2,77 \times 10^4$ células / μ L • días; n = 51) y 169,5 células / μ L • días en no-respondedores (rango: 1,8 a $1,17 \times 10^4$ células / μ L • días; n = 8). La mediana del pico (24,7 células / μ L) de células CAR T anti-CD19 (pico: y niveles de AUC0-28 (360,4 células / μ L • días) en pacientes (n = 18) que no recibieron ni corticosteroides ni tocilizumab fue similar a los de los pacientes (n = 2) que recibieron solo corticosteroides (pico: 24,2 células / μ L; AUC0-28: 367,8 células / μ L • días). En los pacientes que recibieron sólo tocilizumab (n = 10), el pico medio de células CAR T anti-CD19 fue de 86,5 células / μ L y el AUC0-28 fue de 1188,9 células / μ L • días. En los pacientes que recibieron tanto corticosteroides como tocilizumab (n = 37), el pico medio fue de 167,2 células / μ L y el AUC0-28 fue de 1996,0 células / μ L • días. El pico medio de los valores de células CAR T anti-CD19 fueron 74,1 células / μ L en pacientes ≥ 65 años (n = 39) y 112,5 células / μ L en pacientes <65 años (n = 28). La mediana de los valores de AUC0-28 de células CAR T anti-CD19 fueron 876,5 células / μ L • día en pacientes ≥ 65 años y 1640,2 células / μ L • día en pacientes <65 años. El género no tuvo un impacto significativo en el AUC 0-28 y la Cmax de las células CAR T anti-CD19. Por consiguiente, la divulgación proporciona un método para predecir la respuesta en MCL que comprende medir la expansión de las células T después del tratamiento con anti-CD19 CAR T y comparar el nivel con un estándar de referencia.

[0162] En algunas realizaciones, la divulgación proporciona que la expansión de células CAR T fue mayor en pacientes con MCL con grado ≥ 3 que en aquellos con eventos de CRS y NE de grado ≤ 3 . En consecuencia, la divulgación proporciona un método para predecir eventos

de CRS y NE de grado ≥ 3 que comprende medir la expansión de células CAR T después del tratamiento con células CAR T y comparar los niveles con un valor de referencia, en el que cuanto mayor sea la expansión de las células CAR T, mayor será la probabilidad de eventos de CRS y NE grado ≥ 3 .

[0163] En algunas realizaciones, los niveles de citocinas se miden por y son niveles de proteína o ARNm (cuáles). En algunas realizaciones, los niveles de citocinas se miden como se describe en Locke FL et al. Mol Ther. 2017; 25 (1): 285-295.

[0164] En algunas realizaciones, la divulgación proporciona que los niveles máximos de GM-CSF e IL-6 en suero (alcanzados aproximadamente 8 días después de la administración de células CAR T) se asociaron positivamente con CRS de grado ≥ 3 y NE de grado ≥ 3 en pacientes con MCL. En consecuencia, la divulgación proporciona un método para predecir CRS de grado ≥ 3 y NE de grado ≥ 3 que comprende medir los niveles máximos de GM-CSF e IL-6 después de la administración de células CAR T y compararlos con un nivel de referencia, en el que cuanto mayor sea el pico nivel de estas citocinas, mayor es la probabilidad de CRS y NE de grado ≥ 3 .

[0165] En algunas realizaciones, la divulgación proporciona que la ferritina sérica se asoció positivamente con CRS de grado ≥ 3 en pacientes con MCL. En consecuencia, la divulgación proporciona un método para predecir CRS de grado ≥ 3 que comprende medir los niveles máximos de ferritina sérica después de la administración de células CAR T y compararlos con un nivel de referencia, en el que cuanto mayor sea el nivel máximo de ferritina, mayor será la probabilidad de CRS ≥ 3 .

[0166] En algunas realizaciones, la divulgación proporciona que la IL-2 e IFN-gamma en suero se asociaron positivamente con NE de grado ≥ 3 en pacientes con MCL. En consecuencia, la divulgación proporciona un método para predecir CRS de grado ≥ 3 que comprende medir los niveles máximos de IL-2 e IFN-gamma en suero después de la administración de células CAR T y compararlos con un nivel de referencia, en el que cuanto

mayor sea el nivel máximo de IL- 2 e IFN-gamma, mayor es la probabilidad de NE de grado ≥ 3 .

[0167] En algunas realizaciones, la divulgación proporciona que los niveles en el líquido cefalorraquídeo de proteína C reactiva, ferritina, IL-6, IL-8 y molécula de adhesión de células vasculares (VCAM) se asociaron positivamente con NE de grado ≥ 3 en pacientes con MCL. En consecuencia, la divulgación proporciona un método para predecir CRS de grado ≥ 3 que comprende medir los niveles en el líquido cefalorraquídeo de proteína C reactiva, ferritina, IL-6, IL-8 y / o molécula de adhesión de células vasculares (VCAM) después de la administración de célula CAR T y compararlos con un nivel de referencia, en el que cuanto más altos sean los niveles en el líquido cefalorraquídeo de proteína C reactiva, ferritina, IL-6, IL-8 y / o molécula de adhesión de células vasculares (VCAM), mayor será la probabilidad de NE grado ≥ 3 . En algunas realizaciones, uno o más eventos adversos se manejaron de acuerdo con la **Tabla 13** y / o la **Tabla 14**.

[0168] En algunas realizaciones, la divulgación proporciona que los niveles séricos máximos de citocinas asociadas positivamente con CRS de grado ≥ 3 incluyen IL-15, IL-2 R α , IL-6, TNF α , GM-CSF, ferritina, IL-10, IL -8, MIP-1a, MIP-1b, granzima A, granzima B y perforina. En algunas realizaciones, la divulgación proporciona que los niveles séricos máximos de citocinas asociadas con NE de grado ≥ 3 incluyen IL-2, IL-1 R α , IL-6, TNF α , GM-CSF, IL-12p40, IFN- γ , IL-10, MCP-4, MIP-1b y granzima B. En algunas realizaciones, la divulgación proporciona que las citocinas asociadas con CRS de grado ≥ 3 y NE incluyen IL-6, TNF α , GM-CSF, IL-10, MIP-1b y granzima B. En algunas realizaciones, los niveles séricos de citocinas alcanzan su punto máximo dentro de los 7 días de la administración de células CAR T. Por consiguiente, la divulgación proporciona un método para predecir CRS de grado ≥ 3 después de la administración de células CAR T que comprende medir los niveles séricos máximos de IL-15, IL-2 R α , IL-6, TNF α , GM-CSF, ferritina, IL-10, IL-8, MIP-1a, MIP-1b, granzima A, granzima B y / o perforina después del tratamiento con anti-CD19 CAR T y comparando los niveles con un estándar de referencia. En consecuencia, la divulgación también proporciona un método para predecir CRS de grado ≥ 3 y NE de grado ≥ 3 en MCL que comprende medir los

niveles séricos máximos de IL-6, TNF α , GM-CSF, IL-10, MIP-1b y granzima B después de tratamiento anti - CD19 CAR T y comparación de niveles con un estándar de referencia.

[0169] En algunas realizaciones, la divulgación establece que hubo una tendencia a un aumento de los niveles máximos de citocinas proliferativas (IL-15, IL-2) e inflamatorias (IL-6, IL-2R α , sPD-L1 y VCAM-1) en pacientes con MCL con TP53 mutado frente a TP53 de tipo salvaje. Por consiguiente, en algunas realizaciones, la divulgación proporciona un método para mejorar la respuesta al tratamiento con células CAR T en MCL que comprende manipular los niveles de citocinas proliferativas y / o inflamatorias después de la administración de células CAR T.

[0170] En algunas realizaciones, la divulgación establece que para los pacientes que fueron MRD negativos un mes después de la administración de células CAR T, hubo un aumento en los niveles máximos de IFN-gamma e IL-6, y una tendencia hacia un aumento de IL-2, en relación con los pacientes que dieron positivo en MRD en un mes. En consecuencia, la divulgación proporciona un método para predecir si un paciente es MRD negativo en MCL que comprende medir los niveles séricos máximos de IFN-gamma, IL-6 y / o IL-2 después del tratamiento con anti-CD19 CAR T y comparar el nivel con un estándar de referencia.

[0171] En algunas realizaciones, la divulgación proporciona que el fenotipo del producto de células T varió entre los tipos de MCL. En algunas realizaciones, la divulgación establece que, en el producto CAR T anti-CD19 fabricado, la mediana (rango) de las proporciones de células T CD4 + / CD8 + para pacientes con MCL clásico, blastoide o pleomórfico fue 0,7 (0,04 - 2,8), 0,6 (0,2 - 1,1) o 0,7 (0,5 - 2,0), respectivamente. El producto de los fenotipos de células T (mediana [rango]) incluían células T CCR7 + menos diferenciadas (40,0% [2,6 - 88,8] clásicas; 35,3% blastoides [14,3 - 73,4]; 80,8% pleomórficas [57,3 - 88,8]) y CCR7 de memoria efectora y efectora - Células T (clásicas 59,9% [11,1 - 97,4]; blastoides 64,8% [26,6 - 85,7]; pleomórficas 19,2% [11,1 - 42,7]). En algunas realizaciones, la divulgación proporciona que las tasas de supervivencia a 12 meses en pacientes con MCL clásico, blastoide o pleomórfico fueron 86,7%, 67,9% o 100%, respectivamente. Por consiguiente, la divulgación

proporciona un método para mejorar el tratamiento del MCL clásico, blastoide o pleomórfico manipulando el fenotipo del producto de células T administrado al paciente.

[0172] Tratamiento ejemplar de la ALL de células B

[0173] Las células B-ALL normalmente expresan CD19, y las terapias con células CAR T que se dirigen a CD19 son un enfoque de tratamiento en R / R B-ALL. Pehlivan K.C .. et al. *Curr Hematol Malig Rep.* 2018; 13 (5): 396-406 Una terapia de células CAR T anti-CD19 que contiene un dominio coestimulador CD3 ζ y CD28 desarrollada en el Instituto Nacional del Cáncer (Kochenderfer JN et al. *J Immunother.* 2009; 32 (7): 689-702; Kochenderfer JN y col. *Sangre.* 2010; 116 (19): 3875-3886) mostraron una tasa de remisión general del 70% después de una mediana de seguimiento de 10 meses en un ensayo de fase 1 en niños y adultos ≤ 30 años de edad con R / R B-ALL. Lee DW y col. *Lanceta.* 2015; 385 (9967): 517-528. Un constructo CAR similar evaluado en un ensayo de fase 1 en adultos con R / R B-ALL proporcionó una tasa de remisión completa (RC) del 83% y una mediana de OS de 12,9 meses con una mediana de seguimiento de 29 meses. Park JH y col. *N Engl J Med.* 2018; 378 (5): 449-459. En estos estudios, las células CAR T se prepararon a partir de muestras de leucaféresis que no estaban enriquecidas con células T CD4 + / CD8 +.

[0174] En algunas realizaciones, la divulgación está dirigida a un producto de células T mediante el cual las células T se expanden a partir de una población de células T agotada de células de linfoma circulantes y enriquecidas en células T CD4 + / CD8 + mediante la selección positiva de células mononucleares de una muestra de leucoféresis. que se activa con anticuerpos anti-CD3 y anti-CD28 en presencia de IL-2, y luego se transduce con un vector viral de replicación incompetente que contiene una construcción CAR anti-CD19. En algunas realizaciones, tal producto de células T puede usarse para tratar ALL, CLL, AML. En algunas realizaciones, la construcción CAR es FMC63-28Z CAR. En algunas realizaciones, las células son autólogas. En algunas realizaciones, las células son heterólogas. En algunas realizaciones, la dosis de células CAR T positivas es 2×10^6 células CAR T anti-CD19 / kg. En algunas realizaciones, la dosis de células CAR T positivas es 1×10^6 células CAR T anti-CD19 / kg. En algunas realizaciones, la dosis de células CAR T

positivas es $1,6 \times 10^6$ células CAR T anti-CD19 / kg, $1,8 \times 10^6$ células CAR T anti-CD19 / kg o $1,9 \times 10^6$ células CAR T anti-CD19 / kg. En algunas realizaciones, la construcción CAR CD19 contiene un dominio de activación de células T CD3 ζ y un dominio de señalización de CD28. En algunas realizaciones, el producto de células T es KTE-X19. En algunas realizaciones, la divulgación proporciona que el producto de células T anti-CAR preparado como se describe en el párrafo anterior puede usarse en ALL de células B y LNH de células B. En una realización, el producto de células T tiene las características de los productos de la **Tabla 23**. En algunas realizaciones, las características del producto pueden seleccionarse del porcentaje de células T de subconjuntos específicos (sin tratamiento previo, memoria central, efector y memoria efectora), porcentaje de células CD4 +, porcentaje de células CD8 + y relación CD4 / CD8. En algunas realizaciones, la característica del producto es el nivel de producción de IFN γ en co-cultivo (pg / mL) con células cancerosas que expresan CD19 objetivo (p. Ej., Toledo) mezcladas en una proporción 1: 1 con las células del producto CAR T anti-CD19 . En una realización, el IFN γ se puede medir en medio de cultivo celular 24 h después de la incubación usando un ELISA calificado. En algunas realizaciones, una o más de estas características del producto es superior a las de las células anti-CAR T preparadas a partir de leucaféresis sin enriquecimiento de células positivas para CD4 + / CD8 +. En algunas realizaciones, la característica superior del producto puede seleccionarse de un mayor porcentaje de células con fenotipo sin tratamiento previo (CD45RA + CCR7 +), un porcentaje reducido de células con fenotipo diferenciado (CCR7-), un nivel reducido de células productoras de IFN γ y un nivel aumentado de células CD8 +. En algunas realizaciones, el producto de células T anti-CD19 comprende TCM, células T de memoria central (CD45RA-CCR7 +); TEFF, células T efectoras (CD45RA + CCR7-); T_{EM}, células T de memoria efectora (CD45RA-CCR7-); y / o TN, células T sin tratamiento previo (CD45RA + CCR7 +). En algunas encarnaciones, el producto está compuesto por células TN sin tratamiento previo, es decir, células T que son CD45RA+CCR7+ y que están compuestas por células de memoria similares a las células madre. En algunas realizaciones, el producto de células T es KTE-X19. En algunas realizaciones, KTE-X19 tiene una producción de IFN- $\gamma \geq 190$ pg / ml. En cierta realización, KTE-X19 tiene $\geq 90\%$ de células CD3 +. En algunas otras realizaciones, el porcentaje de células NK en KTE-X19 es del 0,1% (intervalo del 0,0% al 2,8%). En algunas realizaciones

adicionales, el porcentaje de impurezas celulares CD3 en KTE-X19 es del 0,5% (intervalo de 0,3% a 3,9%).

[0175] En algunas realizaciones, el cáncer es ALL de células B en recaída / refractaria. En algunas realizaciones, el paciente es ≤ 21 años. En algunas realizaciones, el paciente es ≤ 21 años, pesa ≥ 10 kg y tiene ALL de células B que es refractaria primaria, recaída dentro de los 18 meses del primer diagnóstico, R / R después de ≥ 2 líneas de terapia sistémica, o R / R después de un trasplante alogénico de células madre al menos 100 días antes de la inscripción. En una realización, el cáncer es linfoma o leucemia indolente. En una realización, el cáncer es un linfoma de células B agresivo, que incluye muchos tipos, subtipos y variantes de linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma de Burkitt (BL), linfoma de células del manto y su variante blastoide, y linfoblástico linfoma B. DLBCL puede ser DLBCL NOS, Linfoma de células T e histiocitos de células B grandes, DLBCL primario del SNC, DLBCL cutáneo primario, tipo de pierna, DLBCL EBV-positivo de los ancianos. Otros linfomas de grandes células B son el LBCL primario mediastínico (tímico), el DLBCL asociado a la inflamación crónica, la granulomatosis linfomatoide, el LBCL positivo para ALK, el linfoma plasmablastico, el linfoma de grandes células B que surge en la enfermedad de Castleman multicéntrica asociada al HHV8 y el linfoma de efusión primaria. Otros tipos de linfomas incluyen el linfoma de células B, inclasificable, con características intermedias entre el DLBCL, y el linfoma de Burkitt y el linfoma de células B, no clasificable, con características intermedias entre DLBCL y linfoma de Hodgkin clásico, linfoma esplénico de células B de la zona marginal, linfoma extraganglionar de células B de la zona marginal de MALT, linfoma nodal de células B de la zona marginal, Leucemia de células pilosas, linfoma linfoplasmocítico (macroglobulinemia de Waldenstrom) y linfoma de efusion primario. El cáncer puede estar en cualquier etapa, desde la etapa 1 hasta la etapa 4.

[0176] [39] La ALL es una neoplasia maligna infantil común, que constituye aproximadamente el 80% de las leucemias infantiles y aproximadamente el 25% de todos los cánceres infantiles. Aproximadamente el 20% de los pacientes pediátricos no logran una remisión a largo plazo después de la terapia inicial, con una tasa de OS a 5 años de aproximadamente el 55%. Hunger SP, et al. N Engl J Med. 2015; 373: 1541-1552; Sun W y col.

Leucemia. 2018; 32: 2316-2325; Rheingold SR y col. J Clin Oncol. 2019; 37 (supl, abstr): 10008 y Oskarsson T, et al. Haematologica. 2016; 101: 68-76. Los resultados son deficientes para los pacientes que recaen temprano o tienen enfermedad refractaria primaria después del tratamiento inicial; pacientes con enfermedad R / R después de un trasplante de células madre; Y se multiplican los pacientes recidivantes. Sun W y col. Leucemia. 2018; 32: 2316-2325; Rheingold SR y col. J Clin Oncol. 2019; 37 (supl, abstr): 10008; Oskarsson T y col. Haematologica. 2016; 101: 68-76; Nguyen K y col. Leucemia. 2008; 22: 2142-2150; Crotta A y col. Curr Med Res Opin. 2018; 34: 435-440; Schrappe M y col. N Engl J Med. 2012; 366: 1371-1381. Los pacientes que recaen dentro de los 18 meses posteriores al diagnóstico inicial generalmente tienen una tasa de OS a 5 años de 21 a 28%. Rheingold SR y col. J Clin Oncol. 2019; 37 (supl, abstr): 10008; Nguyen K y col. *Leucemia*. 2008;22:2142-2150. La probabilidad de lograr la remisión y la duración de la EFS disminuyen con cada línea posterior de terapia de rescate. Sun W y col. Leucemia. 2018; 32: 2316-2325. Los resultados siguen siendo deficientes en pacientes pediátricos y adolescentes con ALL R / R después del tratamiento con las nuevas terapias blinatumomab e inotuzumab ozogamicina, con una tasa de OS a 1 año de aproximadamente el 36%, lo que destaca la necesidad de opciones terapéuticas más eficaces. von Stackelberg A, et al. J Clin Oncol. 2016; 34: 4381-4389. 10; Bhojwani D y col. *Leucemia*. 2019; 33: 884-892.

[0177] En algunas realizaciones, el cáncer es LNH de células B y los criterios clave de inscripción incluyen edad <18 años, peso ≥ 10 kg, linfoma difuso de células B grandes confirmado histológicamente no especificado de otra manera (DLBCL NOS), linfoma mediastínico primario de células B grandes, linfoma de Burkitt (BL), linfoma tipo Burkitt o linfomas de células B no clasificados intermedios entre DLBCL y BL, con ≥ 1 lesión medible. En una realización, para el tratamiento de NHL, la enfermedad puede haber sido refractaria primaria, R / R después de ≥ 2 líneas de terapia sistémica o R / R después de un trasplante autólogo o alogénico de células madre ≥ 100 días antes de la inscripción. Los pacientes con enfermedad de injerto contra huésped aguda o enfermedad de injerto contra huésped crónica que requieran tratamiento dentro de las 4 semanas posteriores a la inscripción pueden no ser elegibles.

[0178] En algunas realizaciones, estos pacientes con ALL de células B y / o LNH de células B reciben quimioterapia de acondicionamiento con fludarabina 25 mg / m² / día los días -4, -3 y -2 y ciclofosfamida 900 mg / m² / día Día -2 seguido de una única infusión de linfocitos CAR T anti-CD19 enriquecidos con CD4 + / CD8 + (preparados como se describe inmediatamente anteriormente) a una dosis objetivo de 1×10^6 linfocitos T CAR anti-CD19 / kg el Día 0.

[0179] En algunas realizaciones, la divulgación proporciona el uso de células CAR T anti-CD19 enriquecidas en CD4 + / CD8 + / empobrecidas en células cancerosas para tratar con éxito la ALL de células B, donde el paciente tiene ≥ 18 años de edad con ALL de células R / RB, definido como refractario a la terapia de primera línea (es decir, refractario primario), recaída ≤ 12 meses después de la primera remisión, recaída o refractaria después de ≥ 2 líneas previas de terapia sistémica, o recaída después del trasplante alogénico de células madre (SCT). En algunas realizaciones, se requería que los pacientes tuvieran $\geq 5\%$ de blastos de médula ósea, un estado funcional del Eastern Cooperative Oncology Group de 0 o 1 y una función renal, hepática y cardíaca adecuada. Para los pacientes que recibieron blinatumomab previamente, se requirieron blastos leucémicos con expresión de CD19 $\geq 90\%$. Pacientes con enfermedad con cromosoma Filadelfia positivo (Ph +), enfermedad extramedular concomitante, enfermedad del sistema nervioso central (SNC) -2 (células blásticas del líquido cefalorraquídeo [LCR] con < 5 glóbulos blancos / mm³) sin cambios neurológicos y pacientes con síndrome de Down elegible. La enfermedad del SNC-3 (células blásticas del LCR con ≥ 5 leucocitos / mm³) independientemente de los cambios neurológicos y un historial de trastornos del SNC fueron exclusiones. En algunas realizaciones, se describen criterios de inclusión y exclusión adicionales en el EJEMPLO 9.

[0180] En algunas realizaciones, el paciente puede tener un cáncer que sea refractario primario. En algunas realizaciones, el paciente puede tener un cáncer que ha recaído después de un SCT. En algunas realizaciones, el paciente puede haber recibido anteriormente blinatumomab, que puede haber sido la última terapia utilizada antes de la terapia con células CAR T anti-CD19. En algunas realizaciones, las características basales del paciente son las de cualquiera de los pacientes descritos en la **Tabla 18**.

[0181] En algunas realizaciones, a estos pacientes con ALL de células B se les administran 2×10^6 , 1×10^6 o $0,5 \times 10^6$ células CAR T / kg. En algunas realizaciones, las $0,5 \times 10^6$ células CAR T / kg se administran en una formulación con un volumen total de 40 ml. En otra realización, las $0,5 \times 10^6$ células CAR T / kg se administran en una formulación con un volumen total de 68 ml. En algunas realizaciones, el producto de células CAR T se formula en un volumen total de 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 300, 400, 500, 500, 700, 800, 900 o 1000 ml. En algunas realizaciones, la formulación de 40 ml está destinada a mantener la densidad celular y la viabilidad celular durante el proceso de congelación / descongelación.

En algunas realizaciones, el tratamiento está asociado con eventos adversos. En algunas realizaciones, uno o más eventos adversos se manejan de acuerdo con cualquiera de las **Tablas 13, 14, 16 o combinaciones de las mismas**. En algunas realizaciones, uno o más eventos adversos se manejan de acuerdo con las Pautas de Manejo Originales de la **Tabla 16**. En algunas realizaciones, uno o más eventos adversos se manejan de acuerdo con las Pautas de Manejo Revisadas de la **Tabla 16**. En algunas realizaciones, se pueden administrar vasopresores para tratar el CRS. En algunas realizaciones, los signos o síntomas asociados con CRS incluyen fiebre, escalofríos, fatiga, taquicardia, náuseas, hipoxia e hipotensión. En algunas realizaciones, los signos o síntomas asociados con eventos neurológicos, que incluyen encefalopatía, convulsiones, cambios en el nivel de conciencia, trastornos del habla, temblores y confusión.

[0182] En algunas realizaciones, el paciente puede tener una alta carga de enfermedad al inicio del estudio, que se define como tener ($> 25\%$ de blastos leucémicos en la médula ósea o ≥ 1000 blastos / mm³ en la circulación periférica según revisión local. En algunas realizaciones, los pacientes pueden recibir quimioterapia puente después de la leucocitaféresis y antes de acondicionar la quimioterapia. En algunas realizaciones, la quimioterapia puente sigue uno de los regímenes de quimioterapia puente predefinidos de la **Tabla 17**.

[0183] En algunas realizaciones, la quimioterapia de acondicionamiento / régimen de linfodepleción se administra después de ≥ 7 días o 5 semividas (si son más cortas) de lavado de la quimioterapia puente. En algunas realizaciones, el régimen de acondicionamiento de

quimioterapia / linfodepleción consiste en fludarabina intravenosa (IV) 25 mg / m² / día los días -4, -3 y -2 y ciclofosfamida IV 900 mg / m² / día el día -2. El día 0, se puede administrar una única infusión de células CAR T anti-CD19. En algunas realizaciones, se pueden administrar infusiones adicionales de células CAR T anti-CD19 en un momento posterior. En algunas realizaciones, los pacientes que logran una respuesta completa a la primera infusión pueden recibir una segunda infusión de células CAR T anti-CD19, si progresa después de > 3 meses de remisión, siempre que se haya retenido la expresión de CD19 y no se sospeche de anticuerpos neutralizantes contra la CAR.

[0184] En algunas realizaciones, la reacción en cadena de la polimerasa digital de gotitas puede usarse para medir la presencia, expansión y persistencia de células CAR + T anti-CD19 transducidas en la sangre. En algunas realizaciones, el procedimiento es como se describe en Locke F.L. et al. *Mol Ther.* 2017; 25 (1): 285-295. En algunas realizaciones, la divulgación proporciona un método de tratamiento mediante el cual los niveles de células CAR T son como se describen en la **Tabla 22**. En algunas realizaciones, la divulgación proporciona que las células CAR T pueden ser indetectables en la recaída. La mediana de los niveles máximos de células CAR T puede ser más alta con 1×10^6 células CAR T/ kg y puede ser similar entre los pacientes que recibieron tratamiento AE original o revisado. En algunas realizaciones, los pacientes que lograron CR / CRi tuvieron una expansión del pico medio mayor que los que no respondieron, al igual que los pacientes con MRD indetectable frente a detectable. También se observó una expansión de la mediana del pico más alta en pacientes con NE de grado ≥ 3 frente a aquellos con NE de grado ≤ 2 . Algunos pacientes que recaen pueden tener células positivas para CD19 detectables en la recaída o pueden no tener células positivas para CD19 detectables. En algunas realizaciones, la MRD indetectable, definida como <1 célula de leucemia por 10.000 células viables, puede evaluarse usando citometría de flujo (NeoGenomics, Fort Myers, FL) según los métodos descritos en Borowitz MJ, Wood BL, Devidas M, et al. *Sangre.* 2015; 126 (8): 964-971; Bruggemann M. y col. *Blood Adv.* 2017; 1 (25): 2456-2466; o Gupta S. et al. *Leucemia.* 2018; 32 (6): 1370-1379.

[0185] En algunas realizaciones, la divulgación proporciona que los niveles máximos de algunas citocinas, quimiocinas y marcadores proinflamatorios ocurrieron el día 7. En algunas

realizaciones, algunos de estos mostraron una tendencia más alta en pacientes a los que se les administró 2×10^6 en comparación con 1×10^6 células CAR T/ kg (IL-15, CRP, SAA, CXCL10, IFN γ), o menor en aquellos con tratamiento revisado de AE frente a aquellos con manejo original de AE (IL-6, Ferritina, IL-1RA, IFN γ , IL-8, CXCL10, MCP-1). En algunas realizaciones, los niveles de estas proteínas / biomarcadores cambian como se describe en la FIG. 9; HIGO. 10; y FIG. 11). Por consiguiente, en algunas realizaciones, la divulgación proporciona métodos para usar estos niveles de proteínas como biomarcadores para CRS de Grado ≥ 3 y / o Grado 0-2. En algunas realizaciones, la divulgación proporciona métodos para usar estos niveles de proteína como biomarcadores para CRS de Grado ≥ 3 y / o Grado 0-2, según sus valores en la FIG. 11.

[0186] En algunas realizaciones, la divulgación proporciona que los niveles séricos máximos de IL-15 son más bajos en pacientes con CRS de grado ≥ 3 . En algunas realizaciones, la divulgación proporciona que los niveles de pico medio de varios marcadores proinflamatorios tendieron a ser más altos en pacientes con CRS de grado ≥ 3 y aquellos con NE de grado ≥ 3 (IFN γ , IL-8, GM-CSF, IL-1RA, CXCL10, MCP-1, Granzima B, como se describe en la Figura 11. Por consiguiente, en algunas realizaciones, la divulgación proporciona un método para predecir si un paciente va a tener CRS de grado ≥ 3 midiendo los niveles máximos de IL-15 en suero y comparándolo con un patrón de referencia. En algunas realizaciones, la divulgación proporciona un método para predecir si un paciente va a tener CRS de grado ≥ 3 y / o NE de grado ≥ 3 midiendo los niveles máximos de IFN γ , IL-8, GM-CSF, IL-1RA, CXCL10, MCP-1 y / o Granzima B y comparando con un estándar de referencia. En algunas realizaciones, la divulgación proporciona un método para mejorar la terapia de células CAR T anti-CD19 mediante la administración de agentes que disminuyen los niveles de uno o más de estos biomarcadores.

[0187] Los niveles / estándares de referencia pueden establecerse mediante cualquier método conocido por un experto en la técnica. Sirven para identificar umbrales o grupos de valores (p. Ej., Cuartiles) a partir de los cuales se puede hacer una comparación para determinar en qué grupo, o por encima o por debajo de qué umbral el valor medido (nivel de citocinas, número de células CAR T, etc.) para cada tema cae. Estos grupos se establecen a partir de

comparaciones de diferentes poblaciones elegidas como es típico en la técnica. Dependiendo de dónde caiga el valor medido, se pueden predecir varias características del tratamiento, como la respuesta objetiva, el grado de CRS, el grado de NE y similares.

[0188] En determinadas realizaciones, el cáncer puede seleccionarse de un tumor derivado de leucemia linfoblástica aguda (LLA), leucemia mielóide aguda (LMA), carcinoma adenoide quístico, adrenocortical, carcinoma, cánceres relacionados con el SIDA, cáncer anal, cáncer de apéndice, astrocitomas, tumor teratoide / rabdoide atípico, sistema nervioso central, leucemia de células B, linfoma u otras neoplasias malignas de células B, carcinoma de células basales, cáncer de vías biliares, cáncer de vejiga, cáncer de huesos, osteosarcoma e histiocitoma fibroso maligno, glioma de tronco encefálico, tumores cerebrales, cáncer de mama, tumores bronquiales, linfoma de Burkitt, tumores carcinoides, cánceres del sistema nervioso central, cáncer de cuello uterino, cordoma, leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mielógena crónica (LMC), trastornos mieloproliferativos crónicos, cáncer de colon, cáncer colorrectal, craneofaringioma, linfoma cutáneo de células T, tumores embrionarios, sistema nervioso central, cáncer de endometrio, ependimoblastoma, ependimoma, cáncer de esófago, estesioneuroblastoma, sarcoma de ewing familia de tumores tumor extracraneal de células germinales, tumor extragonadal de células germinales cáncer de conducto biliar extrahepático, cáncer de ojo histiocitoma fibroso de hueso, maligno y osteosarcoma, cáncer de vesícula biliar, cáncer gástrico (de estómago), tumor carcinoide gastrointestinal, tumores del estroma gastrointestinal (GIST), sarcoma de tejidos blandos, tumor de células germinales, tumor trofoblástico gestacional, glioma, leucemia de células pilosas, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de corazón, cáncer hepatocelular (hígado), histiocitosis, linfoma de Hodgkin, cáncer de hipofaringe, melanoma intraocular, tumores de células de los islotes (páncreas endocrino), sarcoma de Kaposi, cáncer de riñón, histiocitosis de células de Langerhans, cáncer de laringe, leucemia, cáncer de labio y cavidad oral, cáncer de hígado (primario), carcinoma lobulillar in situ (CLIS), cáncer de pulmón, linfoma, macroglobulinemia, cáncer de mama masculino, histiocitoma fibroso maligno de hueso y osteosarcoma, meduloblastoma, meduloepitelioma, melanoma, carcinoma de células de merkel, mesotelioma, cáncer de cuello escamoso metastásico con carcinoma del tracto medio primario oculto que involucra el gen NUT, cáncer de boca, neoplasia endocrina múltiple mieloma / neoplasia de células plasmáticas, micosis

fungoide, síndromes mielodisplásicos, neoplasias mielodisplásicas / mieloproliferativas, leucemia mielogena, crónica (LMC), leucemia mieloide, aguda (LMA), mieloma, múltiples, trastornos mieloproliferativos, cáncer de cavidad nasal y de senos paranasales, cáncer de nasofaringe, cáncer de riñón linfático no faríngeo, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer oral, cáncer de cavidad oral, cáncer de orofaringe, osteosarcoma e histiocitoma fibroso maligno de hueso, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, papilomatosis, paraganglioma, cáncer de seno paranasal y de cavidad nasal, cáncer de paratiroides, cáncer de pene, cáncer de faringe, feocromocitoma, tumores de diferenciación intermedia del parénquima pineal, pineoblastoma y tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales, tumor pituitario, neoplasia de células plasmáticas / mieloma múltiple, blastoma pleuropulmonar, embarazo y cáncer de mama, linfoma primario del sistema nervioso central (SNC), cáncer de próstata, cáncer de recto, cáncer de células renales (riñón), pelvis renal y uréter, cáncer de células de transición, retinoblastoma, rabdomiosarcoma, cáncer de glándulas salivales, sarcoma, síndrome de Sézary, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de intestino delgado, sarcoma de tejidos blandos, carcinoma de células escamosas, cáncer de cuello escamoso, cáncer de estómago (gástrico), tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales, linfoma de células T, cáncer cutáneo, testicular, cáncer de garganta, timoma y carcinoma tímico, cáncer de tiroides, cáncer de células de transición de pelvis renal y uréter, tumor trofoblástico, cáncer de uréter y pelvis renal, cáncer de uretra, cáncer de útero, sarcoma de útero, cáncer de vagina, cáncer de vulva, macroglobulinemia de Waldenström, tumor de Wilms. En determinadas realizaciones, el cáncer se trata con KTE-X19.

[0189] En una realización, el método se puede usar para tratar un tumor, en el que el tumor es un linfoma o una leucemia. El linfoma y la leucemia son cánceres de la sangre que afectan específicamente a los linfocitos. Todos los leucocitos en la sangre se originan a partir de un solo tipo de célula madre hematopoyética multipotente que se encuentra en la médula ósea. Esta célula madre produce tanto células progenitoras mieloides como células progenitoras linfoides, que luego dan lugar a los diversos tipos de leucocitos que se encuentran en el cuerpo. Los leucocitos que surgen de las células progenitoras mieloides incluyen linfocitos T (células T), linfocitos B (células B), células asesinas naturales y células plasmáticas. Los leucocitos que surgen de las células progenitoras linfoides incluyen megacariocitos, mastocitos, basófilos,

neutrófilos, eosinófilos, monocitos y macrófagos. Los linfomas y las leucemias pueden afectar a uno o más de estos tipos de células en un paciente. En determinadas realizaciones, el tumor se trata con KTE-X19.

[0190] En general, los linfomas se pueden dividir en al menos dos subgrupos: linfoma de Hodgkin y linfoma no Hodgkin. El linfoma no Hodgkin (LNH) es un grupo heterogéneo de cánceres que se originan en los linfocitos B, los linfocitos T o las células asesinas naturales. En los Estados Unidos, los linfomas de células B representan del 80 al 85% de los casos notificados. En 2013, se estimó que ocurrieron aproximadamente 69,740 nuevos casos de LNH y más de 19,000 muertes relacionadas con la enfermedad. El linfoma no Hodgkin es la neoplasia maligna hematológica más prevalente y es el séptimo sitio principal de nuevos cánceres entre hombres y mujeres y representa el 4% de todos los casos nuevos de cáncer y el 3% de las muertes relacionadas con el cáncer. En determinadas realizaciones, el linfoma se trata con KTE-X19.

[0191] El linfoma difuso de células B grandes (LDCBG) es el subtipo más común de LNH y representa aproximadamente 30% de los casos de LNH. Hay aproximadamente 22,000 nuevos diagnósticos de DLBCL en los Estados Unidos cada año. Se clasifica como un linfoma agresivo y la mayoría de los pacientes se cura con quimioterapia convencional (directrices de la NCCN NHL 2014). La terapia de primera línea para DLBCL generalmente incluye un régimen que contiene antraciclina con rituximab, como R-CHOP (rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona), que tiene una tasa de respuesta objetiva de aproximadamente el 80% y una tasa de respuesta completa de aproximadamente el 50%, con aproximadamente un tercio de los pacientes tienen enfermedad refractaria a la terapia inicial o recaída después de R-CHOP. Para aquellos pacientes que recaen después de la respuesta a la terapia de primera línea, aproximadamente el 40-60% de los pacientes pueden lograr una segunda respuesta con quimioterapia adicional. El estándar de atención para la terapia de segunda línea para pacientes elegibles para el trasplante autólogo de células madre (ASCT) incluye rituximab y quimioterapia combinada como R-ICE (rituximab, ifosfamida, carboplatino, y etopósido) y R-DHAP (rituximab, dexametasona, citarabina y cisplatino), cada uno de los cuales tiene una tasa de respuesta objetiva de aproximadamente el 63% y una tasa de respuesta completa de aproximadamente el 26%. Los pacientes que responden a la terapia de

segunda línea y que se consideran lo suficientemente aptos para el trasplante reciben consolidación con quimioterapia de dosis alta y ASCT, que es curativo en aproximadamente la mitad de los pacientes trasplantados. Los pacientes que fracasaron en el ASCT tienen un pronóstico muy precario y no tienen opciones curativas. El linfoma mediastínico primario de células B grandes (PMBCL) tiene características clínicas, patológicas y moleculares distintas en comparación con el DLBCL. Se cree que el PMBCL surge de las células B tímicas (medulares) y representa aproximadamente el 3% de los pacientes diagnosticados con DLBCL. El PMBCL se identifica típicamente en la población adulta más joven en la cuarta década de la vida con un ligero predominio femenino. El perfil de expresión genética sugiere que las vías desreguladas en el PMBCL se superponen con el linfoma de Hodgkin. La terapia inicial de PMBCL generalmente incluye regímenes que contienen antraciclina con rituximab, como etopósido, doxorubicina y ciclofosfamida con dosis ajustada en infusión con vincristina, prednisona y rituximab (DA-EPOCH-R), con o sin radioterapia de campo involucrada. El linfoma folicular (LF), un linfoma de células B, es la forma indolente (de crecimiento lento) más común de LNH, y representa aproximadamente del 20% al 30% de todos los LNH. Algunos pacientes con FL se transformarán histológicamente (TFL) en DLBCL, que es más agresivo y se asocia con un resultado desfavorable. La transformación histológica a DLBCL se produce a una tasa anual de aproximadamente el 3% durante 15 años y el riesgo de transformación continúa disminuyendo en los años siguientes. Se desconoce el mecanismo biológico de la transformación histológica. El tratamiento inicial de TFL está influenciado por terapias anteriores para el linfoma folicular, pero generalmente incluye regímenes que contienen antraciclina con rituximab para eliminar el componente agresivo de la enfermedad. Las opciones de tratamiento para el PMBCL y el TFL en recaída / refractaria son similares a las del DLBCL. Dada la baja prevalencia de estas enfermedades, no se han realizado grandes estudios prospectivos aleatorizados en estas poblaciones de pacientes. Los pacientes con enfermedad resistente a la quimioterapia tienen un pronóstico similar o peor al de aquellos con DLBCL resistente al tratamiento. Por ejemplo, los sujetos que tienen LNH agresivo y refractario (p. Ej., DLBCL, PMBCL y TFL) tienen una necesidad médica insatisfecha importante y se justifica más investigación con tratamientos novedosos en estas poblaciones. En determinadas realizaciones, el DLBCL se trata con KTE-X19.

[0192] El tratamiento de células CAR T de la divulgación puede administrarse como una primera línea de tratamiento o una segunda o última línea de tratamiento. En algunas realizaciones, el tratamiento con células CAR T se administra como una tercera línea, cuarta línea, quinta línea, etc., y así sucesivamente. Las líneas de terapia previa pueden ser cualquier terapia previa contra el cáncer, que incluye, entre otros, inhibidor de la tirosina quinasa de Bruton (BTKi), inhibidores del punto de control (por ejemplo, anticuerpos anti-PD1, pembrolizumab (Keytruda), Cemiplimab (Libtayo), nivolumab (Opdivo); anticuerpos anti-PD-L1, atezolizumab (Tecentriq), Avelumab (Bavencio), Durvalumab (Imfinzi); anticuerpos anti-CTLA-4, ipilimumab (Yervoy)), anticuerpos anti-CD19 (por ejemplo, blinatumomab), anticuerpos anti-CD52 (por ejemplo, alentuzumab); trasplante alogénico de células madre, anticuerpos anti-CD20 (por ejemplo, rituximab), quimioterapia sistémica, rituximab, antraciclina, ofatumumab y una combinación de los mismos. Las terapias anteriores también se pueden usar en combinación con las terapias CD19 CAR T de la aplicación. En un aspecto, los pacientes elegibles pueden tener una enfermedad resistente al tratamiento más reciente o una recaída dentro de 1 año después del trasplante autólogo de células madre hematopoyéticas (HSCT / ASCT). El tratamiento con células CAR T se puede administrar a pacientes que tienen o sospechan que tienen cánceres que son refractarios y / o que recaen en una o más líneas de terapia previa. El cáncer puede ser refractario a la terapia de primera línea (es decir, refractario primario) o refractario a una o más líneas de terapia. El cáncer puede haber recaído doce meses después de la primera remisión, recaído o refractario después de dos o más líneas de terapia previa, o recaído después de un HSCT/ASCT. En algunas realizaciones, el cáncer es refractario a ibrutinib o acalabrutinib. En algunas realizaciones, el cáncer es refractario a ibrutinib o acalabrutinib. En algunas realizaciones, el cáncer es LNH y la enfermedad debe haber sido refractaria primaria, R / R después de dos o más líneas de terapia sistémica, o R / R después de un trasplante autólogo o alogénico de células madre ≥ 100 días antes de la inscripción en terapia celular CAR T y sin medicamentos inmunosupresores durante ≥ 4 semanas. En determinadas realizaciones, la terapia con células CAR T es KTE-X19.

[0193] Por consiguiente, el método puede usarse para tratar un linfoma o una leucemia, en los que el linfoma o la leucemia es una neoplasia maligna de células B. Los ejemplos de neoplasias malignas de células B incluyen, entre otros, linfomas no Hodgkin (LNH), linfoma

linfocítico pequeño (SLL / CLL), linfoma de células del manto (MCL), FL, linfoma de la zona marginal (MZL), linfoma extraganglionar (linfoma MALT)), Nodal (linfoma monocitoide de células B), linfoma esplénico, difuso de células grandes, leucemia / linfoma linfocítico crónico de células B, linfoma de Burkitt y linfoma linfoblástico. En algunos aspectos, el linfoma o la leucemia se selecciona de leucemia linfocítica crónica de células B / linfoma de células pequeñas, Leucemia prolinfocítica de células B, linfoma linfoplasmocítico (p. Ej., Macroglobulinemia de Waldenström), linfoma de zona marginal esplénica, leucemia de células pilosas, neoplasias de células plasmáticas (p. Ej., Mieloma de células plasmáticas (es decir, mieloma múltiple) o plasmocitoma), linfoma de células B de zona marginal extraganglionar (p. ej., linfoma MALT), linfoma nodal de células B de la zona marginal, linfoma folicular (FL), linfoma folicular transformado (TFL), linfoma cutáneo primario del centro del folículo, linfoma de células del manto, linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), DLBCL positivo al virus de Epstein-Barr, granulomatosis linfomatoide, linfoma de células B grandes mediastínico primario (tímico) , Linfoma intravascular de células B grandes, linfoma de células B grandes ALK +, linfoma plasmablástico, linfoma de derrame primario, linfoma de células B grandes que surge en la enfermedad de Castleman multicéntrica asociada a HHV8, Linfoma / leucemia de Burkitt, leucemia prolinfocítica de células T, leucemia de linfocitos granulares grandes de células T, leucemia agresiva de células NK, leucemia / linfoma de células T adultas, linfoma extraganglionar de células NK / T, linfoma de células T asociado a enteropatía, Linfoma hepatoesplénico de células T, linfoma blástico de células NK, micosis fungoide / síndrome de Sézary, linfoma anaplásico cutáneo primario de células grandes, papulosis linfomatoide, Linfoma periférico de células T, linfoma angioinmunoblástico de células T, linfoma anaplásico de células grandes, leucemia / linfoma linfoblástico B, leucemia / linfoma linfoblástico B con anomalías genéticas recurrentes, leucemia / linfoma linfoblástico T y linfoma de Hodgkin. En algún aspecto, el cáncer es refractario a uno o más tratamientos previos y / o el cáncer ha recaído después de uno o más tratamientos previos. En determinadas realizaciones, la leucemia o el linfoma se tratan con KTE-X19.

[0194] En una realización, el cáncer se selecciona de linfoma folicular, linfoma folicular transformado, linfoma difuso de células B grandes y linfoma de células B grandes mediastínico primario (tímico). En otra realización, el cáncer es linfoma difuso de células B

grandes. En alguna realización, el cáncer es refractario o el cáncer ha recaído después de una o más quimioterapia, radioterapia, inmunoterapia (incluida una terapia de células T y / o tratamiento con un anticuerpo o conjugado de anticuerpo-fármaco), un trasplante autólogo de células madre, o cualquier combinación de los mismos. En una realización, el cáncer es un linfoma difuso de células B grandes refractario. En determinadas realizaciones, el cáncer se trata con KTE-X19.

[0195] En algunas realizaciones, el tratamiento de células CAR T es KTE-X19 y el cáncer se selecciona entre MCL, ALL, CLL y SLL. En algunas realizaciones, el tratamiento con células CAR T es KTE-X19 y el cáncer es NHL. En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona de linfoma difuso de células B grandes no especificado de otra manera (DLBCL NOS), linfoma mediastínico primario de células B grandes, linfoma de Burkitt (BL), linfoma similar a Burkitt o linfomas de células B no clasificados intermedios entre DLBCL y BL. En algunas realizaciones, el cáncer recae / es refractario. En algunas realizaciones, el tratamiento con KTE-X19 se administra como primera línea, segunda línea o después de 1 o más líneas de terapia anteriores. En algunas realizaciones, el paciente es un paciente pediátrico, un paciente adolescente, un paciente adulto, menor de 65 años, mayor de 65 años o cualquier otro grupo de edad.

[0196] En alguna realización, las composiciones que comprenden células inmunes descritas en el presente documento pueden administrarse junto con cualquier número de agentes terapéuticos adicionales. En una realización, el agente terapéutico adicional se administra simultáneamente con la terapia de células T. En una realización, el agente terapéutico adicional se administra antes, durante y / o después de la terapia con células T. En una realización, uno o más agentes terapéuticos adicionales se administran de forma profiláctica. En un aspecto, las composiciones que comprenden las células inmunes se administran junto con agentes para el manejo de eventos adversos (muchos de los cuales se describen en otra parte de esta solicitud, incluida la sección de Ejemplos). Estos agentes pueden controlar uno o más de los signos y síntomas de reacciones adversas, como fiebre, hipotensión, taquicardia, hipoxia y escalofríos, que incluyen arritmias cardíacas (que incluyen fibrilación auricular y taquicardia ventricular), paro cardíaco, insuficiencia cardíaca, insuficiencia renal, síndrome de extravasación capilar,

hipotensión, hipoxia, toxicidad orgánica, linfocitosis hemofagocítica / síndrome de activación de macrófagos (HLH / MAS), convulsiones, encefalopatía, dolor de cabeza, temblor, mareos, afasia, delirio, insomnio, ansiedad, anafilaxia , neutropenia febril, trombocitopenia, neutropenia y anemia.

[0197] Los ejemplos de tales agentes incluyen, sin limitación, tocilizumab, esteroides (por ejemplo, metilprednisolona), globulina anti-timocitos de conejo. En algún aspecto, se pueden administrar vancomicina y aztreonam (cada 1 g IV dos veces al día) para la fiebre no neutropénica. En algunos aspectos, el método comprende además administrar un medicamento anticonvulsivo no sedante para la profilaxis de las convulsiones; administrar al menos uno de entre eritropoyetina, darbepoetina alfa, transfusión de plaquetas, filgrastim o pegfilgrastim; y / o administrar tocilizumab, siltuximab. En un aspecto, el agente es un miembro de la familia de CSF tal como GM-CSF (factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos, también conocido como CSF2). El GM-CSF puede ser producido por varios tipos de células hematopoyéticas y no hematopoyéticas tras la estimulación, y puede activar / "cebar" poblaciones mieloides para producir mediadores inflamatorios, como TNF e interleucina 1 β (IL1 β). En algunas realizaciones, el inhibidor de GM-CSF es un anticuerpo que se une a GM-CSF circulante y lo neutraliza. En algunas realizaciones, el anticuerpo se selecciona de Lenzilumab; namilumab (AMG203); GSK3196165 / MOR103 / Otilimab (GSK / MorphoSys), KB002 y KB003 (KaloBios), MT203 (Micromet y Nycomed), y MORAb-022 / gimsilumab (Morphotek). En algunas realizaciones, el anticuerpo es un biosimilar del mismo. En algunas realizaciones, el antagonista es E21R, una forma modificada de GM-CSF que antagoniza la función de GM-CSF. En algunas realizaciones, el inhibidor / antagonista es una molécula pequeña. En una realización, el miembro de la familia de CSF es M-CSF (también conocido como factor estimulante de colonias de macrófagos o CSF1). Los ejemplos no limitantes de agentes que inhiben o antagonizan CSF1 incluyen moléculas pequeñas, anticuerpos, receptores de antígenos quiméricos, proteínas de fusión y otros agentes. En una realización, el inhibidor o antagonista de CSF1 es un anticuerpo anti-CSF1. En una realización, el anticuerpo anti-CSF1 se selecciona de los elaborados por Roche (por ejemplo, RG7155), Pfizer (PD-0360324), Novartis (MCS110 / lacnotuzumab) o una versión biosimilar de cualquiera de los mismos. En algunas realizaciones, el inhibidor o antagonista inactiva la actividad de los receptores GM-

CSF-R-alfa (también conocido como CSF2R) o CSF1R. En algunas realizaciones, el inhibidor se selecciona de Mavrilimumab (anteriormente CAM-3001), un anticuerpo monoclonal del Receptor α de GM-CSF completamente humano que actualmente está desarrollando MedImmune, Inc .; cabiralizumab (Five Prime Therapeutics); LY3022855 (IMC-CS4) (Eli Lilly), Emactuzumab, también conocido como RG7155 o RO5509554; FPA008, un mAb humanizado (Five Prime / BMS); AMG820 (Amgen); ARRY-382 (Array Biopharma); MCS110 (Novartis); PLX3397 (Plexxikon); ELB041 / AFS98 / TG3003 (ElsaLys Bio, Transgene), SNDX-6352 (Syndax). En algunas realizaciones, el inhibidor o antagonista se expresa en células CAR-T. En algunas realizaciones, el inhibidor es una molécula pequeña (por ejemplo, heteroarilamidas, serie quinolinona, serie pirido-pirimida); BLZ945 (Novartis), PLX7486, ARRY-382, Pexidrtinib (también conocido como PLX3397) o 5 - ((5-cloro-1H-pirrol [2,3-b] piridin-3-il) metil) -N-06- (trifluorometil) piridin-3-il) metil) piridin-2-amina; GW 2580 (CAS 870483-87-7), Kİ20227 (CAS 623142-96-1), AC708 de Ambit Siosciences, o cualquier inhibidor de CSF1R listado en Cannarile et al. Journal for ImmunoTherapy of Cancer 2017, 5:53 y US20180371093, incorporados aquí como referencia para los inhibidores que describen. Se han descrito en la técnica anticuerpos neutralizantes adicionales para GM-CSF o su receptor, incluyendo, por ejemplo, "GM-CSF como objetivo en enfermedades inflamatorias / autoinmunes: evidencia actual y potencial terapéutico futuro" Hamilton, J. A. Experto Rev. Clin. Immunol., 2015; y "Dirigirse a GM-CSF en enfermedades inflamatorias" Wicks, I. P., Roberts, A. W. Nat. Rev. Rheumatol., 2016. En otras realizaciones, el agente es un agente bloqueante del receptor anti-IL6 o anti-IL-6, que incluye tocilizumab y siltuximab.

[0198] En un aspecto, el agente terapéutico es un agente quimioterapéutico. Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen agentes alquilantes tales como tiotepa y ciclofosfamida (CYTOXANTM); alquil sulfonatos tales como busulfán, improsulfán y piposulfán; aziridinas tales como benzodopa, carbocuaona, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilamelaminas que incluyen altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida y trimetilolomelamina resume; mostazas de nitrógeno tales como clorambucilo, clornafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembichina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza uracilo; nitrosureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina,

lomustina, nimustina, ranimustina; antibióticos como aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, caliqueamicina, carabicina, carminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorrubicina, detorubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina, epirubicina, esorubicina, idarrubicina, marcelomicina, mitomicinas, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiomicina, puromicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorrubicina; antimetabolitos como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos del ácido fólico como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxilfluridina, enocitabina, floxuridina, 5-FU; andrógenos tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitioestanol, mepitioestano, testolactona; anti-adrenales tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; reforzador de ácido fólico tal como ácido froínico; aceglatona; glucósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; amsacrina; bestrabucil; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diaziquona; elformitina; acetato de eliptinio; etoglucid; nitrato de galio; hidroxiaurea; lentinan; lonidamina; mitoguazona; mitoxantrona; mopidamol; nitracrina; pentostatina; phenamet; pirarubicina; ácido podofilínico; 2-etilhidrazida; procarbazona; PSK®; razoxano; sizofiran; espirogermanio; ácido tenuazónico; triaziquona; 2, 2', 2''- triclortrietilamina; uretano; vindesina; dacarbazina; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobroman; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiotepa; taxoides, p. ej. paclitaxel (TAXOLTM, Bristol-Myers Squibb) y doxetaxel (TAXOTERE®, Rhone-Poulenc Rorer); clorambucilo; gemcitabina; 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino tales como cisplatino y carboplatino; vinblastina; platino; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitomicina C; mitoxantrona; vincristina; vinorelbina; navelbina; novantrone; tenipósido; daunomicina; aminopterina; xeloda; ibandronato; CPT-11; inhibidor de topoisomerasa RFS2000; difluorometilomitina (DMFO); derivados del ácido retinoico como TargretinTM (bexaroteno), PanretinTM, (alitretinoína); ONTAKTM (denileucina difitox); esperamicinas; capecitabina; y sales farmacéuticamente aceptables, ácidos o derivados de cualquiera de los anteriores. En algunos aspectos, las composiciones que comprenden células efectoras inmunitarias que expresan CAR y / o TCR descritas en el presente documento pueden administrarse junto con un agente antihormonal que

actúa para regular o inhibir la acción hormonal en tumores tales como antiestrógenos, incluido por ejemplo tamoxifeno, raloxifeno, 4 (5) -imidazoles que inhiben la aromatasas, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristona y toremifeno (Fareston); y antiandrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida y goserelina; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores. También se administran combinaciones de agentes quimioterapéuticos cuando sea apropiado, que incluyen, entre otros, CHOP, es decir, ciclofosfamida (Cytoxan®), doxorubicina (hidroxidoxorrubicina), vincristina (Oncovin®) y prednisona.

[0199] El agente (quimio) terapéutico se puede administrar al mismo tiempo o dentro de una semana después de la administración de la célula o el ácido nucleico diseñado. En otros aspectos, el agente (quimio) terapéutico se administra de 1 a 4 semanas o de 1 semana a 1 mes, de 1 semana a 2 meses, de 1 semana a 3 meses, de 1 semana a 6 meses, de 1 semana a 9 meses, o 1 semana a 12 meses después de la administración de la célula manipulada o el ácido nucleico. En algunos aspectos, el agente (quimio) terapéutico se administra al menos 1 mes antes de administrar la célula o el ácido nucleico. En algunos aspectos, los métodos comprenden además la administración de dos o más agentes quimioterapéuticos.

[0200] Puede usarse una variedad de agentes terapéuticos adicionales junto / combinación con las composiciones o agentes / tratamientos descritos en este documento. Por ejemplo, los agentes terapéuticos adicionales potencialmente útiles incluyen inhibidores de PD-1 como nivolumab (OPDIVO®), pembrolizumab (KEYTRUDA®), pembrolizumab, pidilizumab (CureTech) y atezolizumab (Roche), tocilizumab (con y sin corticosteroides), inhibidores de GM-CSF, CSF1, GM-CSFR o CSF1R GM-CSF, CSF1, GM-CSFR o CSF1R (el anticuerpo anti-CSF1 se selecciona de los fabricados por Roche (p. ej., RG7155), Pfizer (PD-0360324), Novartis (MCS110 / lacnotuzumab), Mavrilimumab (anteriormente CAM-3001), un anticuerpo monoclonal receptor α de GM-CSF completamente humano que está desarrollando actualmente MedImmune, Inc.; cabiralizumab (Five Prime Therapeutics); LY3022855 (IMC-CS4) (Eli Lilly), Emactuzumab, también conocido como RG7155 o RO5509554; FPA008, un mAb humanizado (Five Prime / BMS); AMG820 (Amgen); ARRY-382 (Array Biopharma); MCS110 (Novartis); PLX3397 (Plexxikon); ELB041 / AFS98 / TG3003 (ElsaLys Bio,

Transgene), SNDX-6352 (Syndax). En algunos aspectos, el inhibidor o antagonista se expresa en células CAR-T. En algunos aspectos, el inhibidor es una molécula pequeña (por ejemplo, heteroarilamidas, serie quinolinona, serie pirido-pirimida); BLZ945 (Novartis), PLX7486, ARRY-382, Pexidrtinib (también conocido como PLX3397) o 5 - ((5-cloro-1H-pirroló [2,3-b] piridin-3-il) metil) -N-06- (trifluorometil) piridin-3- il) metil) piridin-2-amina; GW 2580 (CAS 870483-87-7), Kİ20227 (CAS 623142-96-1), AC708 de Ambit Siosciences, o cualquier inhibidor de CSF1R listado en Cannarile et al. Journal for ImmunoTherapy of Cancer 2017, 5:53 y US20180371093, incorporados aquí como referencia para los inhibidores que describen. En la técnica se han descrito anticuerpos neutralizantes adicionales para GM-CSF o su receptor). Los agentes terapéuticos adicionales adecuados para su uso en combinación con las composiciones o agentes / tratamientos y métodos descritos en este documento incluyen, pero no se limitan a, ibrutinib (IMBRUVICA®), ofatumumab (ARZERRA®), rituximab (RITUXAN®), bevacizumab (AVASTIN®), trastuzumab (HERCEPTIN®), trastuzumab emtansina (KADCYLA®), imatximab (GLEEtuinEC) (ERBITUX®), panitumumab (VECTIBIX®), catumaxomab, ibritumomab, ofatumumab, tositumomab, brentuximab, alemtuzumab, gemtuzumab, erlotinib, gefitinib, vandetanib, afatinib, lapatinib, neratinib, lenalidomida, axitinib, masitinib, pazopanib, sunitinib, sorafenib, tocilizumab, toceranib, lestaurtinib, axitinib, cediranib, lenvatinib, nintedanib, pazopanib, regorafenib, semaxanib, sorafenib, sunitinib, tivozanib, toceranib, vandetanib, entrectinib, cabozantinib, imatinib, dasatinib, nilotinib, ponatinib, radotinib, bosutinib, lestaurtinib, ruxolitinib, pacritinib, cobimetinib, selumetinib, trametinib, binimetinib, alectinib, ceritinib, crizotinib, aflibercept, adipotide, denileukin diftitox, inhibidores de mTOR como Everolimus y Temsirolimus, inhibidores de hedgehog como sonidegib y vismodegib, inhibidores de CDK como inhibidor de CDK (palbociclib).

[0201] La composición o los agentes / tratamientos que comprenden células inmunitarias se administran, o pueden administrarse, con un agente antiinflamatorio. Los agentes o fármacos antiinflamatorios pueden incluir, pero no se limitan a, esteroides y glucocorticoides (incluyendo betametasona, budesonida, dexametasona, acetato de hidrocortisona, corticosteroide, hidrocortisona, hidrocortisona, metilprednisolona, prednisolona, prednisona, triamcinolona), medicamentos antiinflamatorios no esteroideos

(AINE) que incluyen aspirina, ibuprofeno, naproxeno, metotrexato, sulfasalazina, leflunomida, medicamentos anti-TNF, ciclofosfamida y micofenolato. Los AINE ejemplares incluyen ibuprofeno, naproxeno, naproxeno sódico, inhibidores de Cox-2 y sialilatos. Los analgésicos ejemplares incluyen acetaminofeno, oxicodona, tramadol o hidrocloruro de propoxifeno. Los ejemplos de glucocorticoides incluyen cortisona, dexametasona, hidrocortisona, metilprednisolona, prednisolona o prednisona. Los modificadores de la respuesta biológica ejemplares incluyen moléculas dirigidas contra marcadores de la superficie celular (por ejemplo, CD4, CD5, etc.), inhibidores de citocinas, como los antagonistas del TNF (por ejemplo, etanercept (ENBREL®), adalimumab (HUMIRA®) e infliximab (REMICADE®), inhibidores de quimiocinas e inhibidores de moléculas de adhesión. Los modificadores de la respuesta biológica incluyen anticuerpos monoclonales así como formas recombinantes de moléculas. Los DMARD ejemplares incluyen azatioprina, ciclofosfamida, ciclosporina, metotrexato, penicilamina, leflunomida, sulfasalazina, hidroxicloroquina, oro (oral (auranofina) e intramuscular) y minociclina.

[0202] Las composiciones o agentes / tratamientos descritos en el presente documento se pueden administrar junto con una citocina y / o un modulador de citocina como agente terapéutico adicional. Ejemplos de citocinas son linfocinas, monoquinas y hormonas polipeptídicas tradicionales. Entre las citocinas se incluyen hormonas de crecimiento tales como hormona de crecimiento humana, N-metionil hormona de crecimiento humana y hormona de crecimiento bovina; hormona paratiroidea; tiroxina; insulina; proinsulina; relaxina prorelaxina; hormonas glicoproteicas tales como hormona estimulante del folículo (FSH), hormona estimulante de la tiroides (TSH) y hormona luteinizante (LH); factor de crecimiento hepático (HGF); factor de crecimiento de fibroblastos (FGF); prolactina; lactógeno placentario; sustancia inhibidora de mulleriana; péptido asociado a gonadotropina de ratón; inhibina; activina; factor de crecimiento vascular endotelial; integrina; trombopoyetina (TPO); factores de crecimiento nervioso (NGF) tales como NGF-beta; factor de crecimiento plaquetario; factores de crecimiento transformadores (TGF) tales como TGF-alfa y TGF-beta; factor de crecimiento similar a la insulina I y II; eritropoyetina (EPO, Epogen®, Procrit®); factores osteoinductivos; interferones tales como interferón-alfa, beta y -gamma; factores estimulantes de colonias (CSF) tales como macrófagos-CSF (M-CSF); granulocitos-macrófagos-CSF (GM-CSF); y

granulocitos-CSF (G-CSF); interleucinas (IL) tales como IL-1, IL-1 alfa, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12; IL-15, un factor de necrosis tumoral como TNF-alfa o TNF-beta; y otros factores polipeptídicos que incluyen LIF y ligando kit (KL). Como se usa en este documento, el término citocina incluye proteínas de fuentes naturales o de cultivo de células recombinantes, y equivalentes biológicamente activos de las citocinas de secuencia nativa. En una realización, las composiciones descritas en este documento se administran junto con un esteroide o corticosteroide.

[0203] El tratamiento con corticosteroides se puede utilizar para el tratamiento de eventos adversos. Los corticosteroides (o cualquier otro esteroide, así como cualquier otro tratamiento para los eventos adversos) se pueden usar de manera profiláctica, antes de que se detecten los síntomas de los eventos adversos y / o después de la detección de los eventos adversos. Pueden administrarse uno o más días antes de la administración de células T, el día de la administración de células T (antes, después y / o durante la administración de células T) y / o después de la administración de células T. Pueden administrarse antes, durante o después de la terapia de acondicionamiento. Cualquier corticosteroide puede ser apropiado para este uso. En una realización, el corticosteroide es dexametasona. En algunas realizaciones, el corticosteroide es metilprednisolona. En algunas realizaciones, los dos se administran en combinación. En algunas realizaciones, los glucocorticoides incluyen glucocorticoides sintéticos y no sintéticos. Ejemplos de glucocorticoides incluyen, pero no se limitan a: alclometasonas, algestonas, beclometasonas (por ejemplo, dipropionato de beclometasona), betametasonas (por ejemplo, valerato de betametasona 17, acetato de sodio de betametasona, fosfato de sodio de betametasona, valerato de betametasona), budesonidas, clobetasoles (p. ej., propionato de clobetasol), clobetasonas, clocortolonas (p. ej. pivalato de clocortolona), cloprednol, corticosteronas, cortisonas e hidrocortisonas (p. ej., acetato de hidrocortisona), cortivazoles, deflazacort, desonidas, desoximetasonas, dexametasonas, desoximetasonas, (por ejemplo, 21-fosfato de dexametasona, acetato de dexametasona, fosfato sódico de dexametasona), diflorasonas (por ejemplo, diacetato de diflorasona), diflucortolonas, difluprednatos, enoxolonas, fluazacort, fluclosonidas, fludrocortisonas (por ejemplo, acetato de fludrocortisona), flumetasonas (por ejemplo, pivalato de flumetasona), flunisólidos, fluocinolonas (por ejemplo, acetónido de fluocinolona), fluocinonidas, fluocortinas,

fluocortolonas, fluorometolonas (por ejemplo, acetato de fluorometolona), fluperolonas (por ejemplo, acetato de fluperolona), fluprednidenos, flupredni solones, flurandrenólidos, fluticasones (por ejemplo, propionato de fluticasona), formocortales, halcinonidas, halobetasonas, halometasonas, halopredonas, hidrocortamatos, hidrocortisonas (por ejemplo, 21-butilato de hidrocortisona, aceponato de hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, buteprato de hidrocortisona, butirato de hidrocortisona, cipionato de hidrocortisona, hemisuccinato de hidrocortisona, probutato de hidrocortisona, fosfato sódico de hidrocortisona, succinato sódico de hidrocortisona, valerato de hidrocortisona), etabonato de loteprednol, mazipredonas, medrisonas, meprednisonas, metilpredni solonas (aceponato de metilprednisolona, acetato de metilprednisolona, hemisuccinato de metilprednisolona, succinato sódico de metilprednisolona), mometasonas (p. ej., furoato de mometasona), parametasonas (p. ej., acetato de parametasona), prednicarbatos, prednisolonas (p. ej., prednisolona 25-dietilaminoacetato, fosfato sódico de prednisolona, prednisolona 21-hemisuccinato, acetato de prednisolona, farnesilato de prednisolona, hemisuccinato de prednisolona, prednisolona-21 (beta-D-glucurónido), metasulfobenzoato de prednisolona, esteaglatato de prednisolona, tebutato de prednisolona, tetrahidroftalato de prednisolona), prednisonas, prednivaes, prednilidenos, rimexolonas, tixocortol, triamcinolonas (p.ej. acetónido de triamcinolona, benetónido de triamcinolona, hexacetónido de triamcinolona, palmitato de acetónido 21 de triamcinolona, diacetato de triamcinolona). Estos glucocorticoides y las sales de los mismos se tratan en detalle, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, A. Osol, ed., Mack Pub. Co., Easton, Pa. (16ª ed. 1980) y Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 22ª edición, Lippincott Williams & Wilkins, Filadelfia, Pa. (2013) y cualquier otras ediciones, que se incorporan aquí como referencia. En algunas realizaciones, el glucocorticoide se selecciona entre cortisonas, dexametasonas, hidrocortisonas, metilprednisolonas, prednisolonas y prednisonas. En una realización, el glucocorticoide es dexametasona. En otras realizaciones, el esteroide es un mineralocorticoide. Puede usarse cualquier otro esteroide en los métodos proporcionados en este documento.

[0204] Uno o más corticosteroides pueden administrarse a cualquier dosis y frecuencia de administración, que puede ajustarse a la severidad / grado del evento adverso (p. Ej., CRS y NE). Las Tablas 13, 14 y 16 proporcionan ejemplos de regímenes de dosificación para el manejo

de CRS y NE. En otra realización, la administración de corticosteroides comprende dexametasona oral o intravenosa 10 mg, 1 - 4 veces al día. Otra realización, a veces denominada corticosteroides de "dosis alta", comprende la administración de 1 g de metilprednisona por vía intravenosa por día sola o en combinación con dexametasona. En algunas realizaciones, uno o más corticosteroides se administran a dosis de 1-2 mg / kg por día.

[0205] El corticosteroide se puede administrar en cualquier cantidad que sea eficaz para mejorar uno o más síntomas asociados con los eventos adversos, como el CRS o la neurotoxicidad. El corticosteroide, por ejemplo, glucocorticoide, se puede administrar, por ejemplo, en una cantidad de entre 0,1 y 100 mg, por dosis, o aproximadamente. 0,1 a 80 mg, 0,1 a 60 mg, 0,1 a 40 mg, 0,1 a 30 mg, 0,1 a 20 mg, 0,1 a 15 mg, 0,1 a 10 mg, 0,1 a 5 mg, 0,2 a 40 mg, 0,2 a 30 mg, 0,2 a 20 mg, 0,2 a 15 mg, 0,2 a 10 mg, 0,2 a 5 mg, 0,4 a 40 mg, 0,4 a 30 mg, 0,4 a 20 mg, 0,4 a 15 mg, 0,4 a 10 mg, 0,4 a 5 mg, 0,4 a 4 mg, 1 a 20 mg, 1 a 15 mg o 1 a 10 mg, a un sujeto humano adulto de 70 kg. Normalmente, el corticosteroide, como un glucocorticoide, se administra en una cantidad entre 0,4 y 20 mg aproximadamente, por ejemplo, en o alrededor de 0,4 mg, 0,5 mg, 0,6 mg, 0,7 mg, 0,75 mg, 0,8 mg, 0,9 mg, 1 mg, 2 mg, 3 mg, 4 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, 9 mg, 10 mg, 11 mg, 12 mg, 13 mg, 14 mg, 15 mg, 16 mg, 17 mg, 18 mg, 19 mg o 20 mg por dosis, a un sujeto humano adulto promedio.

[0206] En algunas realizaciones, el corticosteroide se puede administrar, por ejemplo, a una dosis de aproximadamente 0,001 mg / kg (del sujeto), 0,002 mg / kg, 0,003 mg / kg, 0,004 mg / kg, 0,005 mg / kg, 0,006 mg / kg, 0,007 mg / kg, 0,008 mg / kg, 0,009 mg / kg, 0,01 mg / kg, 0,015 mg / kg, 0,02 mg / kg, 0,025 mg / kg, 0,03 mg / kg, 0,035 mg / kg, 0,04 mg / kg, 0,045 mg / kg, 0,05 mg / kg, 0,055 mg / kg, 0,06 mg / kg, 0,065 mg / kg, 0,07 mg / kg, 0,075 mg / kg, 0,08 mg / kg, 0,085 mg / kg, 0,09 mg / kg, 0,095 mg / kg, 0,1 mg / kg, 0,15 mg / kg, 0,2 mg / kg, 0,25 mg / kg, 0,30 mg / kg, 0,35 mg / kg, 0,40 mg / kg, 0,45 mg / kg, 0,50 mg / kg, 0,55 mg / kg, 0,60 mg / kg, 0,65 mg / kg, 0,70 mg / kg, 0,75 mg / kg, 0,80 mg / kg, 0,85 mg / kg, 0,90 mg / kg, 0,95 mg / kg, 1 mg / kg, 1,05 mg / kg, 1,1 mg / kg, 1,15 mg / kg, 1,20 mg / kg, 1,25 mg / kg, 1,3 mg / kg, 1,35 mg / kg o 1,4 mg / kg, para un sujeto humano adulto promedio, que pesa típicamente alrededor de 70 kg a 75 kg.

[0207] Generalmente, la dosis de corticosteroide administrada depende del corticosteroide específico, ya que existe una diferencia en la potencia entre diferentes corticosteroides. Por lo general, se entiende que los fármacos varían en potencia y que, por lo tanto, las dosis pueden variar para obtener efectos equivalentes. Equivalencia en términos de potencia para varios glucocorticoides y vías de administración. es bien conocido. La información relacionada con la dosificación de esteroides equivalentes (de una manera no cronoterapéutica) se puede encontrar en el Formulario Nacional Británico (BNF) 37, marzo de 1999.

[0208] En algunas realizaciones, los eventos / reacciones adversas se pueden elegir entre uno o más de los siguientes:

Evento / reacción adversa	<i>Trastornos del sistema inmunológico</i>
<i>Trastornos de la sangre y del sistema linfático</i>	Síndrome de liberación de citocinas
Coagulopatía ^a	Hipogammaglobulinemia ^k
<i>Trastornos cardiacos</i>	<i>Infecciones e infestaciones</i>
Taquicardias ^b	Infección - patógeno no especificado
Bradicardias ^c	Infecciones virales
Arritmias no ventriculares ^d	Infecciones bacterianas
<i>Desórdenes gastrointestinales</i>	<i>Trastornos del metabolismo y nutrición</i>
Náusea	Disminucion del apetito
Constipación	Dolor musculoesquelético ^l
Diarrea	Disfunción motora ^m
Dolor abdominal ^e	<i>Desórdenes psiquiátricos</i>

Dolor oral ^f	<i>Trastornos del sistema nervioso</i>
Vómitos ^g	Encefalopatía ⁿ
Disfagia	Temblor
Pirexia	Dolor de cabeza ^o
Fatiga ^h	Afasia ^p
Resfriado	Mareo ^q
Edema ⁱ	Neuropatía ^r
Boca seca	Insomnio
Dolor ^j	Delirio ^s
<i>Trastornos del sistema inmunológico</i>	Ansiedad
Síndrome de liberación de citocinas	<i>Trastornos renales y urinarios</i>
Hipogammaglobulinemia ^k	Insuficiencia renal ^t
<i>Infecciones e infestaciones</i>	Disminución de la producción de orina ^u
Infección - patógeno no especificado	Hipoxia
Infecciones virales	Tos ^v
Infecciones bacterianas	Disnea ^w
<i>Trastornos del metabolismo y nutrición</i>	Derrame pleural
Disminucion del apetito	<i>Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo</i>

Dolor musculoesquelético ^l	Erupción ^x
Disfunción motora ^m	<i>Trastornos vasculares</i>
<i>Desórdenes psiquiátricos</i>	Hipotensión ^y
<i>Trastornos del sistema nervioso</i>	Hipertensión
Encefalopatía ⁿ	Trombosis ^z
Temblor	Hemorragia
Dolor de cabeza ^o	
Afasia ^p	
Mareo ^q	
Neuropatía ^r	
Insomnio	
Delirio ^s	
Ansiedad	

[0209] Otras reacciones adversas incluyen; Trastornos gastrointestinales: sequedad de boca; Trastornos de infecciones e infestaciones: infección por hongos; Trastornos del metabolismo y de la nutrición: deshidratación; Trastornos del sistema nervioso: ataxia, convulsiones, aumento de la presión intracraneal; Trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos: insuficiencia respiratoria, edema pulmonar; Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo: erupción; Trastornos vasculares: hemorragia.

[0210] En una realización, los síntomas del síndrome de liberación de citocinas incluyen, entre otros, fiebre, escalofríos, fatiga, anorexia, mialgias, arthalgias, náuseas, vómitos, dolor de cabeza, erupción cutánea, diarrea, taquipnea, hipoxemia, taquicardia, hipotensión, aumento de la presión del pulso, aumento temprano del gasto cardíaco, disminución tardía del gasto cardíaco, alucinaciones, temblor, alteración de la marcha, convulsiones y muerte. En una realización, se describe un método para clasificar CRS en Neelapu et al., Nat Rev Clin Oncol. 15 (1): 47-62 (2018) y Lee, et al., Blood 2014; 124: 188-195. En una realización, los eventos de neurotoxicidad / neurología pueden clasificarse mediante el método descrito en Lee, et al, Blood 2014; 124: 188-195.

[0211] En algunas realizaciones, los eventos adversos se tratan con tocilizumab (u otro agente / antagonista anti-IL6 / IL6R), una terapia con corticosteroides o un medicamento anticonvulsivo para la profilaxis de la toxicidad. En algunas realizaciones, los eventos adversos son manejados por uno o más agentes seleccionados de inhibidores de GM-CSF, CSF1, GM-CSFR o CSF1R, globulina anti-timocitos, lenzilumab, mavrilimumab, citocinas y agentes antiinflamatorios. .

[0212] En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona métodos para prevenir el desarrollo o reducir la gravedad de reacciones adversas a los tratamientos con células T de la divulgación. En algunas realizaciones, la terapia celular se administra con uno o más agentes que previenen, retrasan el inicio, reducen los síntomas y tratan los eventos adversos, que incluyen síndromes de liberación de citocinas y toxicidad neurológica. En una realización, el agente se ha descrito anteriormente. En otras realizaciones, el agente se describe a continuación. En algunas realizaciones, el agente se administra mediante uno de los métodos y dosis descritos en otra parte de la especificación, antes, después o al mismo tiempo que la administración de las células. En una realización, el agente o agentes se administran a un sujeto que puede estar predispuesto a la enfermedad pero que aún no ha sido diagnosticado con la enfermedad.

[0213] A este respecto, el método divulgado puede comprender administrar una "cantidad profilácticamente eficaz" de tocilizumab, de una terapia con corticosteroides y / o de un medicamento anticonvulsivo para la profilaxis de la toxicidad. En algunas realizaciones, el método comprende la administración de inhibidores de GM-CSF, CSF1, GM-CSFR o CSF1R, lenzilumab, mavrilimumab, citocinas y / o agentes antiinflamatorios. El efecto farmacológico y / o fisiológico puede ser profiláctico, es decir, el efecto previene total o parcialmente una enfermedad o síntoma de la misma. Una "cantidad profilácticamente eficaz" puede referirse a una cantidad eficaz, en las dosis y durante los períodos de tiempo necesarios, para lograr un resultado profiláctico deseado (por ejemplo, prevención de la aparición de reacciones adversas).

[0214] En algunas realizaciones, el método comprende el manejo de reacciones adversas en cualquier sujeto. En algunas realizaciones, la reacción adversa se selecciona del grupo que consiste en síndrome de liberación de citocinas (CRS), una toxicidad neurológica, una reacción de hipersensibilidad, una infección grave, una citopenia e hipogammaglobulinemia. En algunas realizaciones, los signos y síntomas de reacciones adversas se seleccionan del grupo que consiste en fiebre, hipotensión, taquicardia, hipoxia y escalofríos, que incluyen arritmias cardíacas (que incluyen fibrilación auricular y taquicardia ventricular), paro cardíaco, insuficiencia cardíaca, insuficiencia renal, síndrome de fuga capilar, hipotensión, hipoxia, toxicidad orgánica, linfohistiocitosis hemofagocítica / síndrome de activación de macrófagos (HLH / MAS), convulsiones, encefalopatía, dolor de cabeza, temblor, mareos, afasia, delirio, insomnio, ansiedad, anafilaxia, neutropenia febril, trombocitopenia y neutropenia, anemia. En algunas realizaciones, el paciente ha sido identificado y seleccionado basándose en uno o más de los biomarcadores de eventos adversos. En algunas realizaciones, el paciente ha sido identificado y seleccionado simplemente por la presentación clínica (por ejemplo, presencia y grado de síntoma de toxicidad). En algunas realizaciones, los eventos adversos se manejan mediante cualquiera de los protocolos de las Tablas 13, 14, 16 y 17.

[0215] En algunas realizaciones, el método comprende prevenir o reducir la gravedad de CRS en un tratamiento con receptor quimérico. En algunas realizaciones, las células CAR T diseñadas se desactivan después de la administración al paciente. En algunas realizaciones, el método comprende identificar CRS en base a la presentación clínica. En algunas realizaciones,

el método comprende evaluar y tratar otras causas de fiebre, hipoxia e hipotensión. Los pacientes que experimentan CRS de grado ≥ 2 (p. Ej., Hipotensión, que no responden a los líquidos o hipoxia que requiere oxigenación suplementaria) deben ser monitoreados con telemetría cardíaca continua y oximetría de pulso. En algunas realizaciones, para los pacientes que experimentan CRS grave, considere realizar un ecocardiograma para evaluar la función cardíaca. Para el CRS grave o potencialmente mortal, se puede considerar la terapia de apoyo de cuidados intensivos. En algunas realizaciones, el método comprende monitorizar a los pacientes al menos diariamente durante 7 días en el centro sanitario certificado después de la infusión para detectar signos y síntomas de CRS. En algunas realizaciones, el método comprende monitorear a los pacientes para detectar signos o síntomas de CRS durante 4 semanas después de la infusión. En algunas realizaciones, el método comprende aconsejar a los pacientes para que busquen atención médica inmediata si aparecen signos o síntomas de CRS en cualquier momento. En algunas realizaciones, el método comprende instituir un tratamiento con cuidados de apoyo, tocilizumab o tocilizumab y corticosteroides como se indica al primer signo de CRS.

[0216] En algunas realizaciones, el método comprende monitorizar a los pacientes para detectar signos y síntomas de toxicidad neurológica. En algunas realizaciones, el método comprende descartar otras causas de síntomas neurológicos. Los pacientes que experimentan toxicidades neurológicas de grado ≥ 2 deben ser monitoreados con telemetría cardíaca continua y oximetría de pulso. Proporcionar terapia de apoyo de cuidados intensivos para toxicidades neurológicas graves o potencialmente mortales. En algunas realizaciones, el síntoma de toxicidad neurológica se selecciona de encefalopatía, dolor de cabeza, temblor, mareo, afasia, delirio, insomnio y ansiedad.

[0217] En algunas realizaciones, el tratamiento celular se administra antes, durante / simultáneamente y / o después de la administración de uno o más agentes (p. Ej., Esteroides) o tratamientos (p. Ej., Reduciendo) que tratan o previenen (son profilácticos) uno o más síntomas de eventos adversos. Una "cantidad profilácticamente eficaz" se refiere a una cantidad eficaz, en las dosis y durante los períodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado profiláctico deseado. En una realización, se usa una cantidad profilácticamente eficaz en sujetos antes o en una etapa más temprana de la enfermedad. En una realización, la cantidad profilácticamente

eficaz será menor que la cantidad terapéuticamente eficaz. En una realización, el tratamiento o profilaxis de eventos adversos se administra a cualquier paciente que reciba, esté recibiendo o haya recibido terapia celular. En algunas realizaciones, el método de manejo de eventos adversos comprende monitorear a los pacientes al menos diariamente durante 7 días en el centro de atención médica certificado después de la infusión para detectar signos y síntomas de toxicidades neurológicas. En algunas realizaciones, el método comprende monitorizar a los pacientes para detectar signos o síntomas de toxicidad neurológica y / o CRS durante 4 semanas después de la infusión.

[0218] En algunas realizaciones, la divulgación proporciona dos métodos para controlar los eventos adversos en sujetos que reciben tratamiento con células CAR T con esteroides y anticuerpo / s anti-IL6 / anti-IL-6R. En una realización, la divulgación proporciona un método de gestión de eventos adversos mediante el cual se inicia la terapia con corticosteroides para la gestión de todos los casos de CRS de grado 1 si no hubo mejoría después de 3 días y para todos los eventos neurológicos de grado ≥ 1 . En una realización, el tocilizumab se inicia para todos los casos de CRS de grado 1 si no hay mejoría después de 3 días y para todos los eventos neurológicos de grado ≥ 2 . En una realización, la divulgación proporciona un método para reducir la exposición general a esteroides en pacientes que reciben manejo de eventos adversos después de la administración de células CAR T, el método comprende el inicio de la terapia con corticosteroides para el manejo de todos los casos de CRS de grado 1 si no hubo mejoría después de 3 días y para todos los eventos neurológicos de grado ≥ 1 y / o inicio de tocilizumab para todos los casos de CRS de grado 1 si no hay mejoría después de 3 días y para todos los eventos neurológicos de grado ≥ 2 . En una realización, el corticosteroide y tocilizumab se administran en un régimen seleccionado de los ejemplificados en la sección de Ejemplos. En una realización, la divulgación proporciona que el uso temprano de esteroides no está asociado con un mayor riesgo de infección grave, disminución de la expansión de células CAR T o disminución de la respuesta tumoral.

[0219] En una realización, la divulgación respalda la seguridad de la profilaxis con levetiracetam en el tratamiento del cáncer de células T CAR T. En una realización, el cáncer es NHL. En una realización, el cáncer es R / R LBCL y los pacientes reciben KTE-X19. Por

consiguiente, en una realización, la divulgación proporciona un método de gestión de eventos adversos en pacientes tratados con células CAR T que comprende administrar al paciente una dosis profiláctica de un medicamento anticonvulsivo. En algunas realizaciones, los pacientes reciben levetiracetam (por ejemplo, 750 mg por vía oral o intravenosa dos veces al día) comenzando el día 0 del tratamiento con células CAR T (después del acondicionamiento) y también al inicio de toxicidades neurológicas de grado ≥ 2 , si ocurren eventos neurológicos después de la interrupción del levetiracetam profiláctico. En una realización, si un paciente no experimenta ninguna toxicidad neurológica de grado ≥ 2 , el levetiracetam se reduce gradualmente y se interrumpe según se indique clínicamente. En una realización, la profilaxis con levetiracetam se combina con cualquier otro protocolo de gestión de eventos adversos.

[0220] En una realización, los pacientes pueden recibir levetiracetam (750 mg por vía oral o intravenosa dos veces al día) a partir del día 0. Al inicio de los eventos neurológicos de grado ≥ 2 , la dosis de levetiracetam se incrementa a 1000 mg dos veces al día. Si un paciente no experimentó ningún evento neurológico de grado ≥ 2 , levetiracetam se reduce gradualmente y se suspende según esté clínicamente indicado. Los pacientes también reciben tocilizumab (8 mg / kg IV durante 1 hora [sin exceder los 800 mg]) el día 2. Se puede recomendar más tocilizumab ($\pm$ corticosteroides) al inicio de CRS de grado 2 en pacientes con comorbilidades o edad avanzada, o de lo contrario, en caso de CRS de grado ≥ 3 . Para los pacientes que experimentan eventos neurológicos de grado ≥ 2 , se inicia el tratamiento con tocilizumab y se agregan corticosteroides para pacientes con comorbilidades o edad avanzada, o si se presenta un evento neurológico de grado ≥ 3 con empeoramiento de los síntomas a pesar del uso de tocilizumab.

[0221] En una realización, la divulgación proporciona que el uso profiláctico de esteroides parece reducir la tasa de CRS y NE graves en un grado similar a la administración del uso temprano de esteroides. Por consiguiente, la divulgación proporciona un método para el manejo de eventos adversos en la terapia de células CAR T en el que los pacientes reciben dexametasona 10 mg PO los días 0 (antes de la infusión), 1 y 2. Los esteroides también se pueden administrar a partir de NE de Grado 1 y para CRS de Grado 1 cuando no se observa ninguna mejora después de 3 días de cuidados de apoyo. Tocilizumab también puede administrarse para CRS de Grado ≥ 1 si no se observa mejoría después de 24 horas de cuidados

de apoyo. En una realización, la divulgación proporciona que el manejo de eventos adversos de la terapia de células CAR T con un anticuerpo que neutraliza y / o agota GM-CSF previene o reduce CRS y / o NE relacionados con el tratamiento en pacientes tratados. En una realización, el anticuerpo es lenzilumab.

[0222] En algunas realizaciones, los eventos adversos se controlan mediante la administración de un agente o agentes que es/son un antagonista o inhibidor de IL-6 o del receptor de IL-6 (IL-6R). En algunas realizaciones, el agente es un anticuerpo que neutraliza la actividad de IL-6, tal como un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que se une a IL-6 o IL-6R. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el agente es o comprende tocilizumab (atlizumab) o sarilumab, anticuerpos anti-IL-6R. En algunas realizaciones, el agente es un anticuerpo anti-IL-6R descrito en la patente de EE.UU. n° 8.562.991. En algunos casos, el agente que ataca a IL-6 es un anticuerpo anti-TL-6, como siltuximab, elsilimomab, ALD518 / BMS-945429, sirukumab (CNTO 136), CPSI-2634, ARGX 109, FE301, FM101 o olokizumab (CDP6038) y combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el agente puede neutralizar la actividad de IL-6 inhibiendo las interacciones ligando-receptor. En algunas realizaciones, el antagonista o inhibidor de IL-6 / IL-6R es una muteína de IL-6, como la descrita en la Patente de Estados Unidos No. 5591827. En algunas realizaciones, el agente que es un antagonista o inhibidor de IL-6 / IL-6R es una molécula pequeña, una proteína o péptido, o un ácido nucleico.

[0223] En algunas realizaciones, otros agentes que pueden usarse para manejar reacciones adversas y sus síntomas incluyen un antagonista o inhibidor de un receptor de citocina o citocina. En algunas realizaciones, la citocina o el receptor es el receptor de IL-10, TL-6, TL-6, IFN γ , IFNGR, IL-2, IL-2R / CD25, MCP-1, CCR2, CCR4, MIP13, CCR5, TNF α , TNFR1, como el receptor TL-6 (IL-6R), el receptor IL-2 (IL-2R / CD25), receptor MCP-1 (CCL2) (CCR2 o CCR4), receptor TGF-beta (TGF-beta I, II o III), receptor IFN-gamma (IFNGR), receptor MIP1P (p. Ej., CCR5), Receptor de TNF alfa (p. Ej., TNFR1), receptor de IL-1 (IL1-Ra / IL-1RP) o receptor de IL-10 (IL-10R), IL-1 e IL-1Ralfa / IL-1beta. En algunas realizaciones, el agente comprende situximab, sarilumab, olokizumab (CDP6038), elsilimomab, ALD518 / BMS-945429, sirukumab (CNTO 136), CPSI-2634, ARGX 109, FE301 o FM101. En algunas realizaciones, el agente es un antagonista o inhibidor de una citocina, como el factor

de crecimiento transformante beta (TGF-beta), interleucina 6 (IL-6), interleucina 10 (IL-10), IL-2, MIP13 (CCL4), TNF alfa, IL-1, interferón gamma (IFN-gamma) o proteína I quimioatrayente de monocitos (MCP-1). En algunas realizaciones, es uno que se dirige (por ejemplo, 1 inhibe o es un antagonista de) un receptor de citocina, como el receptor IL-6 (IL-6R), el receptor IL-2 (IL-2R / CD25), MCP-1 (CCL2) receptor (CCR2 o CCR4), un receptor TGF-beta (TGF-beta I, II o III), receptor IFN-gamma (IFNGR), receptor MIP1P (p. Ej., CCR5), receptor TNF alfa (p. Ej., TNFR1) , Receptor de IL-1 (IL1-Ra / IL-1RP) o receptor de IL-10 (IL-10R) y combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el agente se administra mediante uno de los métodos y dosis descritos en otra parte de la especificación, antes, después o al mismo tiempo que la administración de las células.

[0224] En algunas realizaciones, el agente se administra en una dosis de aproximadamente 1 mg / kg a 10 mg / kg, 2 mg / kg a 8 mg / kg, 2 mg / kg a 6 mg / kg, 2 mg / kg a 4 mg / kg o 6 mg / kg a 8 mg / kg, cada uno inclusive, o el agente se administra en una cantidad de dosificación de al menos o al menos aproximadamente o aproximadamente 2 mg / kg, 4 mg / kg , 6 mg / kg u 8 mg / kg. En algunas realizaciones, se administra en una cantidad de dosificación de aproximadamente 1 mg / kg a 12 mg / kg, tal como aproximadamente 10 mg / kg. En algunas realizaciones, el agente se administra mediante infusión intravenosa. En una realización, el agente es tocilizumab. En algunas realizaciones, el (agente (s), por ejemplo, g, específicamente tocilizumab) es/son administrados mediante uno de los métodos y dosis descritos en otra parte de la especificación, antes, después o simultáneamente con la administración de las células.

[0225] En algunas realizaciones, el método comprende identificar CRS basándose en la presentación clínica. En algunas realizaciones, el método comprende evaluar y tratar otras causas de fiebre, hipoxia e hipotensión. Si se observa o sospecha CRS, se puede manejar de acuerdo con las recomendaciones del protocolo A, que también se puede usar en combinación con los otros tratamientos de esta divulgación, incluida la Neutralización o Reducción del Eje CSF / CSFR1. Los pacientes que experimentan CRS de grado ≥ 2 (p. Ej., Hipotensión, que no responden a los líquidos o hipoxia que requiere oxigenación suplementaria) deben ser monitoreados con telemetría cardíaca continua y oximetría de pulso. En algunas realizaciones,

para los pacientes que experimentan CRS grave, considere realizar un ecocardiograma para evaluar la función cardíaca. Para el CRS grave o potencialmente mortal, se puede considerar la terapia de apoyo de cuidados intensivos. En algunas realizaciones, se puede usar un biosimilar o equivalente de tocilizumab en lugar de tocilizumab en los métodos descritos en este documento. En otras realizaciones, se puede usar otro anti-IL6R en lugar de tocilizumab.

[0226] En algunas realizaciones, los eventos adversos se manejan de acuerdo con el siguiente protocolo (protocolo A):

Grado CRS (a)	Tocilizumab	Corticosteroides
Grado 1 Los síntomas solo requieren tratamiento sintomático (por ejemplo, fiebre, náuseas, fatiga, dolor de cabeza, mialgia, malestar).	N/A	N/A
Grado 2 Los síntomas requieren y responden a una intervención moderada. Requerimiento de oxígeno inferior al 40% de FiO₂ o hipotensión que responde a líquidos o dosis bajas de un vasopresor o toxicidad orgánica de grado 2 (b).	Administre tocilizumab (c) 8 mg / kg IV durante 1 hora (sin exceder los 800 mg). Repita tocilizumab cada 8 horas según sea necesario si no responde a los líquidos intravenosos o al aumento de oxígeno suplementario. Límite a un máximo de 3 dosis en un período de 24 horas; máximo total de 4 dosis si no hay mejoría clínica en los signos y síntomas del CRS.	Manejar según el Grado 3 si no hay mejoría dentro de las 24 horas posteriores al inicio del tocilizumab.

Grado 3 Los síntomas requieren y responden a una intervención agresiva. Requerimiento de oxígeno mayor o igual al 40% de FiO2 o hipotensión que requiera dosis altas o vasopresores múltiples o toxicidad orgánica de grado 3 o transaminitis de grado 4.	Por grado 2	Administrar metilprednisolona 1 mg / kg IV dos veces al día o dexametasona equivalente (p. Ej., 10 mg IV cada 6 horas). Continúe usando corticosteroides hasta que el evento sea de Grado 1 o menos, luego disminuya gradualmente durante 3 días. Si no está mejorando, gestione como Grado 4.
Grado 4 Síntomas potencialmente mortales. Requisitos de asistencia respiratoria, hemodiálisis venovenosa continua (CVVHD) o Toxicidad orgánica de grado 4 (excluyendo transaminitis).	Por Grado 2	Administrar 1000 mg de metilprednisolona IV al día durante 3 días; si mejora, gestione como se indicó anteriormente. Considere inmunosupresores alternativos si no mejora o si la condición empeora.

(a) Lee DW y col., (2014). *Conceptos actuales en el diagnóstico y manejo del síndrome de liberación de citocinas*. *Sangre*. 2014 10 de julio; 124 (2): 188-195.

(b) Consulte la Tabla 2 para el manejo de la toxicidad neurológica.

(c) Consulte la Información de prescripción de ACEMTRA® (tocilizumab) para obtener más detalles, https://www.gene.com/download/pdf/actemra_prescribing.pdf (consultado por última vez el 18 de octubre de 2017). Se indica que la aprobación inicial de EE. UU. Será en 2010.

Toxicidad neurológica

[0227] En algunas realizaciones, el método comprende monitorizar a los pacientes para detectar signos y síntomas de toxicidades neurológicas. En algunas realizaciones, el método comprende descartar otras causas de síntomas neurológicos. Los pacientes que experimentan toxicidades neurológicas de grado ≥ 2 deben ser monitoreados con telemetría cardíaca continua y oximetría de pulso. Proporcionar terapia de apoyo de cuidados intensivos para toxicidades neurológicas graves o potencialmente mortales. Considere medicamentos anticonvulsivos no sedantes (p. Ej., Levetiracetam) para la profilaxis de las convulsiones para cualquier toxicidad neurológica $\geq$ Grado 2. Los siguientes tratamientos pueden usarse en combinación con los otros tratamientos de esta divulgación, incluida la Neutralización o Reducción del Eje CSF / CSFR1.

[0228] En algunas realizaciones, los eventos adversos se manejan de acuerdo con el siguiente protocolo (protocolo B):

Evaluación de calificaciones	CRS concurrente	Sin CRS concurrente
Grado 2	Administre tocilizumab según la tabla anterior (protocolo A) para el manejo de CRS de Grado 2. Si no mejora dentro de las 24 horas posteriores al inicio de tocilizumab, administre dexametasona 10 mg IV cada 6 horas si aún no está tomando otros esteroides. Continúe usando dexametasona hasta que el evento sea de Grado 1 o menos, luego disminuya gradualmente durante 3 días.	Administre dexametasona 10 mg IV cada 6 horas. Continúe usando dexametasona hasta que el evento sea de Grado 1 o menos, luego disminuya gradualmente durante 3 días.
	Considere medicamentos anticonvulsivos no sedantes (por ejemplo, levetiracetam) para la profilaxis de las convulsiones.	
Grado 3	Administre tocilizumab según (protocolo A) para el tratamiento del CRS de grado 2. Además, administrar dexametasona 10 mg IV con la primera dosis de tocilizumab y repetir la dosis cada 6 horas. Continúe usando dexametasona hasta que el evento sea de Grado 1 o menos, luego disminuya gradualmente durante 3 días.	Administre dexametasona 10 mg IV cada 6 horas. Continúe usando dexametasona hasta que el evento sea de Grado 1 o menos, luego disminuya gradualmente durante 3 días.

Evaluación de calificaciones	CRS concurrente	Sin CRS concurrente
	Considere medicamentos anticonvulsivos no sedantes (por ejemplo, levetiracetam) para la profilaxis de las convulsiones.	
Grado 4	Administre tocilizumab según (protocolo A) para el tratamiento del CRS de grado 2. Administre metilprednisolona 1000 mg IV por día con la primera dosis de tocilizumab y continúe con metilprednisolona 1000 mg IV por día durante 2 días más; si mejora, gestione como se indicó anteriormente.	Administrar 1000 mg de metilprednisolona IV al día durante 3 días; si mejora, gestione como se indicó anteriormente.
	Considere medicamentos anticonvulsivos no sedantes (por ejemplo, levetiracetam) para la profilaxis de las convulsiones.	

[0229] Estrategias adicionales para el manejo de la seguridad con corticosteroids

[0230] La administración de corticosteroides y / o tocilizumab de Grado 1 puede considerarse profiláctica. La atención de apoyo se puede proporcionar en todos los protocolos en todos los grados de gravedad de CRS y NE. En una realización de un protocolo para el manejo de eventos adversos relacionados con CRS, tocilizumab y / o corticosteroides se administran de la siguiente manera: CRS de grado 1: sin tocilizumab; sin corticosteroides; CRS de grado 2: tocilizumab (solo en caso de comorbilidades o edad avanzada); y / o corticosteroides (solo en caso de comorbilidades o edad avanzada); CRS de grado 3: tocilizumab; y / o corticosteroides; CRS de grado 4: tocilizumab; y / o corticosteroides. En otra realización de un protocolo para el manejo de eventos adversos relacionados con CRS, tocilizumab y / o corticosteroides se

administran como sigue: CRS de Grado 1: tocilizumab (si no hay mejoría después de 3 días); y / o corticosteroides (si no mejora después de 3 días); CRS de grado 2: tocilizumab; y / o corticosteroides; CRS de grado 3: tocilizumab; y / o corticosteroides; CRS de grado 4: tocilizumab; y / o corticosteroides, dosis altas.

[0231] En una realización de un protocolo para el tratamiento de eventos adversos relacionados con la NE, se administran tocilizumab y / o corticosteroides de la siguiente manera: NE de grado 1: sin tocilizumab; sin corticosteroides; NE de grado 2: sin tocilizumab; sin corticosteroides; NE de grado 3: tocilizumab; y / o corticosteroides (solo si no hay mejoría con tocilizumab, dosis estándar); Grado 4 NE: tocilizumab; y / o corticosteroides. En otra realización de un protocolo para el manejo de eventos adversos relacionados con la NE, se administran tocilizumab y / o corticosteroides de la siguiente manera: NE de grado 1: sin tocilizumab; y / o corticosteroides; NE de grado 2: tocilizumab; y / o corticosteroides; NE de grado 3: tocilizumab; y / o corticosteroides, dosis altas; Grado 4 NE: tocilizumab; y / o corticosteroides, dosis altas. En una realización, el tratamiento con corticosteroides se inicia en el grado CRS ≥ 2 y el tocilizumab se inicia en el grado CRS ≥ 2 . En una realización, el tratamiento con corticosteroides se inicia en CRS grado ≥ 1 y tocilizumab se inicia en CRS grado ≥ 1 . En una realización, el tratamiento con corticosteroides se inicia en NE grado ≥ 3 y tocilizumab se inicia en CRS grado ≥ 3 . En una realización, el tratamiento con corticosteroides se inicia en CRS grado ≥ 1 y tocilizumab se inicia en CRS grado ≥ 2 . En algunas realizaciones, el uso profiláctico de tocilizumab administrado el día 2 puede disminuir las tasas de CRS de grado ≥ 3 . Uno o más corticosteroides se pueden administrar a cualquier dosis y frecuencia de administración, que se puede ajustar a la gravedad / grado del evento adverso (por ejemplo, CRS y NE). Las Tablas 1 y 2 proporcionan ejemplos de regímenes de dosificación para el manejo de CRS y NE, respectivamente. En otra realización, la administración de corticosteroides comprende dexametasona oral o intravenosa 10 mg, 1 - 4 veces al día. Otra realización, a veces denominada corticosteroides de "dosis alta", comprende la administración de 1 g de metilprednisona por vía intravenosa por día sola o en combinación con dexametasona. En algunas realizaciones, el uno o más corticosteroides se administran en dosis de 1-2 mg / kg por día. Generalmente, la dosis de corticosteroide administrada depende del corticosteroide específico, ya que existe una diferencia de potencia entre diferentes corticosteroides. Por lo general, se entiende que los

fármacos varían en potencia y que, por lo tanto, las dosis pueden variar para obtener efectos equivalentes. Equivalencia en términos de potencia para varios glucocorticoides y vías de administración. es bien sabido. La información relativa a la dosificación equivalente de esteroides (de forma no cronoterapéutica) se puede encontrar en el British National Formulary (BNF) 37, marzo de 1999. La solicitud también proporciona dosis y administraciones de células preparadas mediante los métodos de la solicitud, por ejemplo, una bolsa de infusión de inmunoterapia de células T autólogas modificadas genéticamente dirigida a CD19, que comprende una suspensión de células T positivas al receptor de antígeno quimérico (CAR) en aproximadamente 68 ml para infusión. En algunas realizaciones, las células CAR T se formulan en aproximadamente 40 ml para infusión. En algunas realizaciones, el producto de células CAR T se formula en un volumen total de 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 200, 300, 400, 500, 500, 700, 800, 900, 1000 mL. En un aspecto, la dosificación y administración de células preparadas mediante los métodos de la aplicación, por ejemplo, una bolsa de infusión de inmunoterapia de células T autólogas modificadas genéticamente dirigidas a CD19, comprende una suspensión de 1×10^6 células CAR-T positivas en aproximadamente 40 ml. La dosis objetivo puede estar entre aproximadamente 1×10^6 y aproximadamente 2×10^6 células T viables positivas para CAR por kg de peso corporal, con un máximo de 2×10^8 células T viables para CAR positivas.

[0232] En algunas realizaciones, la forma de dosificación comprende una suspensión celular para infusión en una bolsa de infusión específica para el paciente de un solo uso; la vía de administración es intravenosa; todo el contenido de cada bolsa de un solo uso y específica para el paciente se infunde por gravedad o una bomba peristáltica durante 30 minutos. En una realización, el régimen de dosificación es una sola infusión que consta de $2,0 \times 10^6$ células CAR T anti-CD19 / kg de peso corporal ($\pm 20\%$), con una dosis máxima de 2×10^8 células CAR T anti-CD19 (para sujetos ≥ 100 kg). En algunas realizaciones, las células T que componen la dosis son células CAR-T CD19.

[0233] En algunas realizaciones, la inmunoterapia de células T dirigida por CD19 es KTE-X19, que se prepara como se describe en otra parte de esta solicitud. En una realización, KTE-X19 puede usarse para el tratamiento de MCL, ALL, CLL, SLL y cualquier otra neoplasia

maligna de células B. En alguna realización, la inmunoterapia de células T autólogas modificadas genéticamente dirigida por CD19 es Axi-cel TM (YESCARTA®, axicabtagene ciloleucel) preparada mediante uno de los métodos de la solicitud. Las cantidades de células CAR T, regímenes de dosificación, métodos de administración, sujetos, cánceres, que caen dentro del alcance de estos métodos se describen en otra parte de esta solicitud, solos o en combinación con otro agente quimioterapéutico, con o sin preacondicionamiento, y para cualquiera de los los pacientes descritos en otra parte de la solicitud

[0234] Los siguientes ejemplos están destinados a ilustrar varios aspectos de la aplicación. Como tal, los aspectos específicos discutidos no deben interpretarse como limitaciones en el alcance de la solicitud. Por ejemplo, aunque los ejemplos siguientes están dirigidos a células T transducidas con un receptor de antígeno quimérico (CAR) anti-CD19, un experto en la técnica entendería que los métodos descritos en este documento pueden aplicarse a células inmunes transducidas con cualquier CAR. Será evidente para un experto en la técnica que se pueden realizar varios equivalentes, cambios y modificaciones sin apartarse del ámbito de aplicación, y se entiende que tales aspectos equivalentes deben incluirse en este documento. Además, todas las referencias citadas en la solicitud se incorporan aquí como referencia en su totalidad, como si se expusieran completamente en el presente documento.

[0235] La patente y la literatura científica a la que se hace referencia en este documento establece el conocimiento que está disponible para los expertos en la técnica. Todas las patentes de los Estados Unidos y las solicitudes de patentes de los Estados Unidos publicadas o no publicadas citadas en este documento se incorporan como referencia. Todas las patentes extranjeras publicadas y las solicitudes de patente citadas aquí se incorporan aquí como referencia. Todas las demás referencias publicadas, diccionarios, documentos, manuscritos, secuencias de bases de datos genómicas y literatura científica citadas aquí se incorporan aquí como referencia.

[0236] Otras características y ventajas de la divulgación serán evidentes a partir de los dibujos y la siguiente descripción detallada, incluidos los ejemplos.

EJEMPLOS

EJEMPLO 1

[0237] En este estudio, los pacientes con MCL R / R que recibieron de 1 a 5 terapias previas, incluido un inhibidor de tirosina quinasa de Bruton (BTKi), se trataron con células CAR-T anti-CD19 autólogas.

[0238] Los pacientes elegibles (≥ 18 años) con MCL R / R tenían una puntuación ECOG de 0 - 1 y ≤ 5 terapias previas, incluida la quimioterapia, un anticuerpo anti-CD20 y un inhibidor de BTK (BTKi). Los pacientes se sometieron a leucocitaféresis y quimioterapia (ciclofosfamida 300 mg / m² / dy fludarabina 30 mg / m² / d durante 3 días) seguido de una infusión de CD19 CAR-T a una dosis objetivo de 2×10^6 células CAR T / kg. Es posible que los pacientes hayan recibido terapia puente con dexametasona, ibrutinib o acalabrutinib después de la leucocitaféresis y antes de la quimioterapia. El criterio de valoración principal fue la tasa de respuesta objetiva (ORR [respuesta completa (CR) + respuesta parcial (PR)]) de acuerdo con la Clasificación de Lugano. Los criterios de valoración de eficacia provisionales fueron evaluados por el investigador utilizando los Criterios de Respuesta de IWG revisados para Linfoma Maligno. Los criterios de valoración secundarios clave fueron la duración de la respuesta (DOR), la supervivencia libre de progresión (PFS), la OS, la frecuencia de los eventos adversos (AE), los niveles de células CAR T en sangre y los niveles de citocinas en suero.

[0239] 28 pacientes recibieron células CAR-T CD19 con ≥ 1 año de seguimiento (mediana 13,2 meses [rango, 11,5 - 18,5]). El 43% de los pacientes tenía una puntuación ECOG de 1, el 21% tenía morfología blastoide, el 82% tenía enfermedad en estadio IV, el 50% tenía MIPI de riesgo intermedio / alto, el 86% recibió una mediana de 4 (rango, 1 - 5) antes terapias, y el 57% fueron refractarios a la última terapia previa. En 20/28 pacientes, la mediana del índice Ki-67 fue del 38% (rango, 5% - 80%). Ocho pacientes recibieron terapia puente; todos tenían enfermedad presente después del puenteo. La ORR fue del 86% (CI del 95%, 67% - 96%) con una tasa de RC del 57% (CI del 95%, 37% - 76%). El 75% de los que respondieron

permanecieron en respuesta y el 64% de los pacientes tratados tuvieron respuestas continuas. Las estimaciones a 12 meses de DOR, PFS y OS fueron 83% (CI del 95%, 60% - 93%), 71% (CI del 95%, 50% - 84%), 86% (CI del 95%, 66% - 94%), respectivamente y no se alcanzaron las medianas. Los AE de grado ≥ 3 ($\geq 20\%$ de los pacientes) fueron anemia (54%), disminución del recuento de plaquetas (39%), neutropenia (36%), disminución del recuento de neutrófilos (32%), disminución del recuento de glóbulos blancos (29%), encefalopatía (25%) e hipertensión (21%). Síndrome de liberación de citocinas (CRS) de grado 3/4 evaluado por Lee DW, et al. Blood 2014; 124: 188 se informó en el 18% de los pacientes, manifestándose como hipotensión (14%), hipoxia (14%) y pirexia (11%). Se notificaron eventos neurológicos (NE) de grado 3/4 en el 46% de los pacientes e incluyeron encefalopatía (25%), estado de confusión (14%) y afasia (11%). No ocurrió CRS o NE de Grado 5. Todos los eventos de CRS y la mayoría de la NE (15/17 pacientes) fueron reversibles. La mediana de tiempo hasta la aparición y resolución de la CRS fue de 2 días (rango, 1 - 7) y 13 días (rango, 4 - 60), respectivamente. La mediana del tiempo hasta el inicio de la NE fue de 6 días (rango, 1 - 15) y la mediana del tiempo hasta la resolución fue de 20 días (rango, 9 - 99). La mediana de los niveles de células CAR T medidos por el pico y el área bajo la curva fueron 99 células / μL (rango, 0,4 - 2589) y 1542 células / μL (rango, 5,5 - 27239), respectivamente. La expansión máxima de las células CAR T se observó entre los días 8 y 15 y disminuyó con el tiempo.

EJEMPLO 2

[0240] Este ejemplo proporcionó un análisis adicional a los estudios descritos anteriormente. Los pacientes elegibles tenían 18 años o más con MCL patológicamente confirmado con documentación de sobreexpresión de ciclina D1 o presencia de t (11; 14), y tenían recaídas / refractarios a 1-5 regímenes previos para MCL. El tratamiento previo debe haber incluido quimioterapia que contenga antraciclina o bendamustina, un anticuerpo monoclonal anti-CD20 e ibrutinib o acalabrutinib. Todos los pacientes recibieron BTKi previamente. Aunque los pacientes deben haber recibido terapia con BTKi previa, no se requirió como última línea de terapia antes de ingresar al estudio, y no se requirió que los pacientes fueran refractarios a la terapia con BTKi. Los pacientes elegibles tenían un recuento absoluto de linfocitos ≥ 100 / μL . Se excluyeron los pacientes que se sometieron a SCT autólogo dentro

de las 6 semanas posteriores a la infusión de CAR-T CD19 o que habían recibido terapia dirigida a CD19 o SCT alogénico.

[0241] Los criterios de inclusión adicionales incluyeron: al menos 1 lesión medible. Las lesiones que habían sido irradiadas previamente se consideraron medibles solo si se había documentado la progresión después de completar la radioterapia; Si la única enfermedad medible fue la enfermedad de los ganglios linfáticos, al menos 1 ganglio linfático debería haber sido ≥ 2 cm; Imágenes por resonancia magnética (MRI) del cerebro que no muestran evidencia de linfoma del sistema nervioso central (CNS); Deben haber transcurrido al menos 2 semanas o 5 semividas, la que sea más corta, desde cualquier tratamiento sistémico previo o BTKi (ibrutinib o acalabrutinib) en el momento en que se planificó al paciente para la leucocitaféresis, excepto para la terapia sistémica inhibitoria / estimulante de puntos de control inmunológico; Deben haber transcurrido al menos 3 semividas de cualquier tratamiento previo con moléculas de punto de control inmunitario inhibitor / estimulante sistémico en el momento en que se planificó la leucaféresis en el paciente (p. Ej., Ipilimumab, nivolumab, pembrolizumab, atezolizumab, agonistas OX40, agonistas 4-1BB); Las toxicidades debidas a la terapia previa deben haber sido estables y recuperadas a $\leq$ Grado 1 (excepto las toxicidades clínicamente no relevantes como la alopecia); Estado funcional del Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) de 0 o 1; Recuento absoluto de neutrófilos (ANC) ≥ 1000 / uL; Recuento de plaquetas $\geq 75\ 000$ / uL; Recuento absoluto de linfocitos ≥ 100 / ul; Función renal, hepática, pulmonar y cardíaca adecuada definida como: aclaramiento de creatinina (estimado por Cockcroft Gault) ≥ 60 cc / min; Suero alanina aminotransferasa / aspartato aminotransferasa $\leq 2,5$ límite superior de normalidad (ULN); Bilirrubina total $\leq 1,5$ mg / dl, excepto en pacientes con síndrome de Gilbert; Fracción de eyección cardíaca $\geq 50\%$, sin evidencia de derrame pericárdico según lo determinado por un ecocardiograma (ECHO) y sin hallazgos de electrocardiograma (ECG) clínicamente relevantes; Sin derrame pleural clínicamente relevante; Saturación de oxígeno basal $> 92\%$ con aire ambiente; y Las mujeres en edad fértil deben haber tenido una prueba de embarazo en suero u orina negativa. Las mujeres que se habían sometido a esterilización quirúrgica o que habían sido posmenopáusicas durante al menos 2 años no se consideraron en edad fértil.

[0242] Los criterios de exclusión adicionales incluyeron: antecedentes de neoplasia maligna que no sea cáncer de piel no melanomatoso o carcinoma in situ (p. Ej., Cuello uterino, vejiga, mama) a menos que haya estado libre de enfermedad durante al menos 3 años; Historia de trasplante alogénico de células madre; Terapia previa con CAR u otra terapia con células T modificadas genéticamente; Historia de una reacción de hipersensibilidad inmediata grave atribuida a los aminoglucósidos; Presencia de infecciones fúngicas, bacterianas, virales o de otro tipo que no estaban controladas o que requerían antimicrobianos intravenosos (IV) para su manejo. Se permitió la infección simple del tracto urinario (UTI) y la faringitis bacteriana sin complicaciones si respondían al tratamiento activo y después de consultar con el monitor médico; Antecedentes de infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) o infección por hepatitis B o C activa aguda o crónica. Los pacientes con antecedentes de infección por hepatitis deben haber eliminado su infección según lo determinado por las pruebas serológicas y genéticas estándar; Presencia de cualquier línea o drenaje interno (p. Ej., Sonda de nefrostomía percutánea, catéter Foley interno, drenaje biliar o catéter pleural / peritoneal / pericárdico). Se permitieron los reservorios Ommaya y los catéteres de acceso venoso central dedicados, como un catéter Port-a-Cath o Hickman; Pacientes con células malignas detectables en el líquido cefalorraquídeo o metástasis cerebrales o con antecedentes de linfoma del CNS, células malignas del líquido cefalorraquídeo o metástasis cerebrales; Historia o presencia de trastorno del CNS, tal como trastorno convulsivo, isquemia / hemorragia cerebrovascular, demencia, enfermedad cerebelosa, edema cerebral, síndrome de encefalopatía posterior reversible o cualquier enfermedad autoinmune con afectación del CNS; Antecedentes de infarto de miocardio, angioplastia cardíaca o colocación de stent, angina inestable, arritmias activas u otra enfermedad cardíaca clínicamente relevante dentro de los 12 meses posteriores a la inscripción; Pacientes con compromiso de linfoma cardíaco auricular o ventricular cardíaco; Antecedentes de trombosis venosa profunda sintomática o embolia pulmonar en los últimos 6 meses de la inscripción; Posible requerimiento de terapia urgente debido a una emergencia oncológica en curso o inminente (p. Ej., Efecto de masa tumoral, síndrome de lisis tumoral); Inmunodeficiencia primaria; Cualquier condición médica que pueda interferir con la evaluación de la seguridad o eficacia del tratamiento del estudio; Historial de reacción de hipersensibilidad inmediata grave a cualquiera de los agentes utilizados en este estudio; Vacuna viva ≤ 6 semanas antes del inicio planificado del régimen de acondicionamiento; Mujeres en edad fértil que

estaban embarazadas o amamantando debido a los efectos potencialmente peligrosos de la quimioterapia preparativa en el feto o el lactante; Pacientes de ambos sexos que no estaban dispuestos a practicar el control de la natalidad desde el momento del consentimiento hasta 6 meses después de la finalización del tratamiento con células CAR-T CD19; A juicio del investigador, era poco probable que el paciente completara todas las visitas o procedimientos del estudio requeridos por el protocolo, incluyendo visitas de seguimiento, o cumplir con los requisitos del estudio para participar; e Historial de enfermedad autoinmune (por ejemplo, enfermedad de Crohn, artritis reumatoide, lupus sistémico) que resulte en una lesión del órgano terminal o requiera inmunosupresión sistémica / agentes modificadores de la enfermedad sistémica en los últimos 2 años.

[0243] Todos los pacientes se sometieron a leucocitaféresis para obtener células para la fabricación del tratamiento con células CAR-T CD19. El proceso de fabricación se modificó en relación con el de axicabtagene ciloleucel para eliminar las células de linfoma circulante mediante el enriquecimiento positivo de células CD4⁺/CD8⁺. Se administró quimioterapia de acondicionamiento con fludarabina (30 mg/m²/día) y ciclofosfamida (500 mg/ m²/día) los días -5, -4 y -3 antes de una única infusión intravenosa de 2×10^6 células T CAR/kg de células CD19 CAR-T en el día 0. La dosis se informó a partir de estudios de *axicabtagene ciloleucel* en linfoma de células B grandes y células CD19 CAR-T en leucemia linfoblástica aguda. Neelapu SS et al. *The New England journal of medicine* 2017;377:2531; Locke FL et al. *Mol Ther* 2017;25:285; Shah BD et al. *Journal of Clinical Oncology* 2019;37:(suppl; abstr 7006); and Lee DW et al. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 2017;28:1008PD, todos los cuales se incorporan aquí como referencia en su totalidad. Después de la leucocitaféresis y antes de la terapia de acondicionamiento, los pacientes con alta carga de enfermedad pudieron recibir terapia puente con dexametasona o corticosteroide equivalente, ibrutinib o acalabrutinib a discreción del investigador, después de lo cual se repitió la tomografía por emisión de positrones con tomografía computarizada (PET-CT) de referencia. se realizó. El objetivo de la terapia puente no era curar, sino mantener a los pacientes estables durante el período de fabricación. Se requirió hospitalización después de la infusión de células CAR-T CD19 hasta el día 7.

[0244] El punto final primario fue la tasa de respuesta objetiva (ORR [respuesta completa (CR) + respuesta parcial] (PR)) según lo evaluado por el Comité de Revisión de Radiología Independiente (IRRC) usando la clasificación de Lugano. Cheson et al., *J Clin Oncol* 2014;32:3059-68. Para confirmar una RC, se requirió una evaluación de la médula ósea además de PET-CT. Los puntos finales secundarios incluyeron la duración de la respuesta (DOR), la supervivencia libre de progresión (PFS), la SG, la ORR evaluada por el investigador según Cheson, et al, *J Clin Oncol* 2007;25:579-86, la incidencia de eventos adversos (EA) , niveles de células CAR T en sangre y citocinas en suero, y cambio en las puntuaciones a lo largo del tiempo en las 5 dimensiones europeas de Calidad de vida con 5 niveles por dimensión (EQ-5D-5L). La presencia, expansión y persistencia de células T con CAR y las citocinas séricas, así como sus asociaciones con los resultados clínicos, se evaluaron como se informó anteriormente. Kochenderfer JN et al. *J Clin Oncol* 2017;35:1803-13; Locke FL et al. *Mol Ther* 2017;25:285-95, ambos incorporados aquí como referencia en su totalidad.

[0245] Se evaluaron los cambios en las puntuaciones de EQ-5D-5L desde el inicio hasta el mes 6. El síndrome de liberación de citocinas (SRC) se calificó de acuerdo con Lee et al. *Blood* 2014; 124: 188, incorporado aquí como referencia en su totalidad. La gravedad de los EA, incluidos los eventos neurológicos y los síntomas del SRC, se calificó utilizando los Criterios de terminología común para eventos adversos del Instituto Nacional del Cáncer, versión 4.03. La enfermedad residual mínima (ERM; sensibilidad 10⁻⁵) fue un análisis exploratorio evaluado en células mononucleares de sangre periférica criopreservadas al inicio del estudio y en los meses 1, 3 y 6, y se analizó mediante secuenciación de próxima generación utilizando el ensayo clonoSEQ (Adaptive Biotechnologies, Seattle , WA).

[0246] Para todos los pacientes, se requirieron exploraciones por tomografía por emisión de positrones-tomografía computarizada (PET-CT) de sitios específicos de la enfermedad al inicio del estudio, 4 semanas después de la infusión y a intervalos regulares durante el período posterior al tratamiento. Se requirió una biopsia / aspiración de médula ósea para confirmar una respuesta completa en pacientes con afectación de la médula ósea al inicio del estudio y en pacientes con afectación indeterminada de la médula ósea al inicio del estudio, o si no se realizó una biopsia de médula ósea al inicio del estudio o los resultados no estaban

disponibles. A los pacientes con síntomas de malignidad del SNC se les realizó una punción lumbar en la selección para el examen del líquido cefalorraquídeo (LCR). La punción lumbar también se realizó, según corresponda, para pacientes con nueva aparición de toxicidades neurológicas de Grado ≥ 2 después de la infusión de células T con CAR anti-CD19. Además, para los pacientes que firman una parte opcional del formulario de consentimiento, la punción lumbar para la recolección de LCR se realizó al inicio del estudio antes de la infusión de células T con CAR anti-CD19 y después de la infusión de células T con CAR anti-CD19 (día 5 ± 3 días); las muestras se enviaron al laboratorio central y se analizaron para detectar cambios en los niveles de citocinas.

[0247] El análisis principal para determinar la eficacia se realizó después de que se inscribieran, trataran y evaluaran la respuesta de 60 pacientes 6 meses después de la evaluación de la enfermedad de la semana 4, según lo requerido por el protocolo. Este análisis tuvo un poder de $\geq 96\%$ para distinguir entre una terapia activa con una tasa de respuesta real del 50% y una terapia con una tasa de respuesta de $\leq 25\%$ con un nivel alfa unilateral de 0.025. Se utilizó una prueba binomial exacta para analizar la TRO. Todos los criterios de valoración de la eficacia, incluidos los criterios de valoración del tiempo transcurrido hasta el evento, evaluados mediante estimaciones de Kaplan-Meier, se analizaron en los 60 pacientes evaluables de eficacia descritos anteriormente. Se realizaron análisis de seguridad en todos los pacientes tratados ($n = 68$). Las asociaciones entre los resultados y los niveles de células T y citocinas con CAR se midieron mediante la prueba de suma de rangos de Wilcoxon; Los valores de p se ajustaron mediante el procedimiento de Holm. Conjunto de análisis completo ($N = 74$): constaba de todos los pacientes inscritos/leucocitaféresis y se utilizó para el resumen de la disposición del paciente. Conjunto de análisis de seguridad ($n = 68$): definido como todos los pacientes tratados con cualquier dosis de linfocitos T CAR anti-CD19. Este conjunto de análisis se utilizó para el resumen de las características demográficas y basales y todos los análisis de seguridad. Conjunto de análisis inferencial (eficacia evaluable) ($n = 60$): consistió en los primeros 60 pacientes tratados con células CAR-T CD19. Este conjunto de análisis se utilizó para la prueba de hipótesis del criterio de valoración principal de la tasa de respuesta objetiva en el momento del análisis principal, así como todos los demás análisis de eficacia. La hipótesis para el criterio de valoración principal fue que la ORR para las células CAR-T CD19 utilizando la evaluación

central sería mayor que la tasa de control histórica preespecificada del 25% al nivel de significancia unilateral de 0,025 utilizando una prueba binomial exacta. Esta hipótesis debía probarse en el conjunto de análisis inferencial. La tasa de control histórica de la TRO se determinó a priori sobre la base de 2 estudios retrospectivos que se publicaron en el momento del desarrollo del protocolo del estudio. En estos 2 estudios, se evaluaron los resultados después de la terapia de rescate en pacientes con MCL recidivante/refractario que habían progresado después del tratamiento con un BTKi (una terapia previa requerida para la elegibilidad del estudio). Estos estudios mostraron que los pacientes con MCL recidivante / refractario que tenían ≥ 3 líneas previas antes de recibir el BTKi tenían ORR para la terapia de rescate de aproximadamente el 25%. Wang M et al. *Lancet* 2018;391:659; Martin P et al. *Blood* 2016;127:1559, ambos incorporados aquí como referencia en su totalidad.

[0248] Se inscribieron setenta y cuatro pacientes; Se fabricaron células CD19 CAR-T para 71 y se administraron a 68. El análisis de eficacia primario realizado después de que se trataron a 60 pacientes mostró una ORR del 93% (67% de respuestas completas). Con una mediana de seguimiento de 12,3 meses (rango, 7,0-32,3), el 57% de los pacientes permanecieron en remisión y no se alcanzó la duración media de la respuesta. Las tasas estimadas de supervivencia libre de progresión a 12 meses y de supervivencia general fueron del 61% y el 83%, respectivamente. Los eventos adversos comunes de grado ≥ 3 fueron citopenias (94%) e infecciones (32%). El síndrome de liberación de citocinas de grado ≥ 3 y los eventos neurológicos ocurrieron en el 15% y el 31% de los pacientes, respectivamente; ninguno fue fatal. Ocurrieron dos eventos adversos infecciosos de grado 5.

[0249] Se fabricaron células CAR-T CD19 para 71 pacientes (96%) y se administraron a 68 (92%). El tiempo medio desde la leucocitaféresis hasta la entrega de las células CAR-T CD19 al sitio de estudio fue de 16 días (rango, 11-128). Un paciente que tenía células CAR-T CD19 fabricadas fue tratado con bendamustina-rituximab debido a la EP rápida después de la leucocitaféresis, lo que hizo que el paciente no fuera elegible para el estudio. Después de desarrollar posteriormente la EP, el producto original del paciente se envió desde las instalaciones de fabricación 127 días después de la fecha de leucocitaféresis inicial, y llegó al sitio de tratamiento 1 día después. Tres pacientes con problemas de fabricación no procedieron

a una aféresis adicional debido a EA (n = 1; trombosis venosa profunda), muerte por enfermedad progresiva (EP; n = 1) o retiro del consentimiento (n = 1). Dos pacientes adicionales interrumpieron antes de acondicionar la quimioterapia debido a la muerte por EP. Después de recibir quimioterapia de acondicionamiento, 1 paciente con fibrilación auricular en curso, un criterio de exclusión, no se consideró elegible para la infusión de células CAR-T CD19. La mediana de seguimiento de los pacientes con evaluación de eficacia fue de 12,3 meses (rango, 7,0-32,3); 28 pacientes tuvieron ≥ 24 meses de seguimiento.

[0250] La edad media fue de 65 años (rango, 38 - 79) y 57 (84%) de los pacientes eran varones. (Tabla 1) El 65% tenía una puntuación del estado funcional ECOG de 0 y el 35% de 1. Los pacientes tenían características de alto riesgo al inicio del estudio, incluida la enfermedad en estadio IV (85%), morfología blastoide o pleomórfica (31%), Ki-67 índice de proliferación $\geq 30\%$ (40/49 [82%]) (Wang ML et al. *The Lancet Oncology* 2016; 17: 48) y mutación TP53 (6/36 [17%]). El 81% de los pacientes había recibido ≥ 3 líneas de tratamiento previas (mediana, 3 [rango 1-5]).

[0251] Tabla 1. Características basales del paciente

Característica	N=68
Edad, mediana (rango), años	65 (38-79)
≥ 65 años, n (%)	39 (57)
Hombre, n (%)	57 (84)
Puntuación del estado funcional ECOG, n (%)	
0	44 (65)
1	24 (35)
Enfermedad en estadio IV, n (%)	58 (85)

Afectación de la médula ósea, n (%)	37 (54)
Afectación esplénica, n (%)	23 (34)
Enfermedad extraganglionar, n (%) *	38 (56)
Enfermedad voluminosa (≥ 10 cm), n (%)	7 (10)
MIPI simplificado, n (%) [†]	
Riesgo bajo	28 (41)
Riesgo intermedio	29 (43)
Alto riesgo	9 (13)
Ausente	2 (3)
Morfología del MCL, n (%)	
Clásica	40 (59)
Pleomórfico	17 (25)
Blastoide	4 (6)
Otro / Desconocido ^{††}	11 (16)
Índice de proliferación Ki-67, mediana (rango), % [§]	65 (1-95)
$\geq 30\%$, n/n (%)	40/49 (82)
$\geq 50\%$, n/n (%)	34/49 (69)
Mutación <i>TP53</i>, n (%)	6/36 (17%)
CD19 estado, n/n (%)	
Positivo	47/51 (92)
Negativo	4/51 (8)

Número de terapias previas, mediana (rango)	3 (1-5)
≥3 líneas de terapia previas, n (%)	55 (81)
Terapia previa,[†] n (%)	
Anti-CD20	68 (100)
BTKi	68 (100)
Ibrutinib	58 (85)
Acalabrutinib	16 (24)
Ambos	6 (9)
Antraciclina o bendamustina	67 (99)
Antraciclina	49 (72)
Bendamustina	37 (54)
SCT autólogo	29 (43)
Bortezomib	24 (35)
Lenalidomida	19 (28)
Otra agente de investigación	11 (16)
Venetoclax	6 (9)
Subgrupo en recaída / refractario, n (%)	
Recaída después de SCT autólogo	29 (43)
Refractario a la última terapia previa	27 (40)
Recaída después de la última terapia previa	12 (18)
Refractario al ibrutinib, n (%)	38 (56)
Refractario al acalabrutinib, n (%)	8 (12)

* Excluye afectación de médula ósea y esplénica. † Al diagnóstico. †† El investigador informó que un paciente tenía MCL restringido por cadenas ligeras kappa en el momento del diagnóstico. La morfología se informó como desconocida para 10 pacientes. § Los datos de Ki-67 estaban disponibles para 49 pacientes en el momento del diagnóstico. ¶ La inducción más consolidación / mantenimiento y / o todos los tratamientos que ocurrieron entre respuestas completas secuenciales se contaron como 1 régimen. BTKi, inhibidor de la tirosina quinasa de Bruton; ECOG, Grupo de Oncología Cooperativa del Este; MCL, linfoma de células del manto; MIPI, Índice de pronóstico internacional del linfoma de células del manto; SCT, trasplante de células madre.

[0252] Todos los pacientes habían progresado con un BTKi (ibrutinib n = 58; acalabrutinib n = 16; ambos n = 6), y el 43% tenía un SCT autólogo previo (**Tabla 2**). La mediana del tiempo transcurrido desde el final de la última terapia con BTKi excluyendo el puente a la infusión de células CAR-T CD19 fue de 88 días (rango, 25-1047). El cuarenta por ciento de los pacientes fueron refractarios a la última terapia, incluidos 3 pacientes intolerantes a ibrutinib con progresión confirmada después de la última terapia. Veinticinco pacientes (37%) recibieron terapia puente con ibrutinib (n = 14), acalabrutinib (n = 5), dexametasona (n = 12) y / o metilprednisolona (n = 2). Las exploraciones posteriores al puente mostraron que la mayoría de los pacientes tenían una carga tumoral superior a la mediana en el momento de la detección

[0253] Tabla 2. Terapias puente

Característica	N = 68
Cualquier terapia puente, n (%)	25 (37)
Ibrutinib	14 (21)
Acalabrutinib	5 (7)
Dexametasona	12 (18)
Metilprednisolona	2 (3)
Tanto BTKi como esteroides, n (%)	6 (9)
Ibrutinib + esteroide	4 (6)

Acalabrutinib + esteroide	2 (3)
---------------------------	-------

BTKi, Inhibidor de la tirosina quinasa de Bruton.

[0254] La ORR evaluada por el IRRC entre los 60 pacientes especificados por el protocolo tratados con CD19 CAR-T con un seguimiento mínimo de 7 meses fue del 93% (IC del 95%, 84-98), con una tasa de RC del 67% y Tasa de relaciones públicas del 27%. Se observó una alta concordancia (95%) entre la TRO evaluada por el IRRC y la evaluada por el investigador (Tabla 3).

[0255] Tabla 3. Respuesta en pacientes evaluables por eficacia basada en la evaluación del investigador según Cheson BD et al. *J Clin Oncol* 2007;25:57 y en pacientes con intención de tratar según la revisión del IRRC según la Clasificación de Lugano (2014).

n (%)	<i>Evaluado por el investigador</i> Eficacia evaluable N = 60	<i>Evaluado por IRRC</i> Intención de tratar N = 74
Tasa de respuesta objetiva	53 (88)	63 (85)
Respuesta completa	42 (70)	44 (59)
Respuesta parcial	11 (18)	19 (26)
Enfermedad estable	5 (8)	3 (4)
Enfermedad progresiva	2 (3)	2 (3)
No evaluado*	0 (0)	6 (8)

Concordancia con la ORR evaluada por el IRRC, %[†]	95	N/A
Coeficiente kappa (95% CI)	0.7 (0.4-1.0)	N/A
Concordancia con la tasa de RC evaluada por el IRRC, %[†]	90	N/A
Coeficiente kappa (95% CI)	0.8 (0.6-0.9)	N/A

* Sin evaluación en el momento del análisis. † La concordancia es el porcentaje de sujetos cuya lectura evaluada por el IRRC coincide con la lectura evaluada por el investigador. CR, respuesta completa; IRRC, Comité Independiente de Revisión de Radiología; N / A, no aplica; ORR, tasa de respuesta objetiva.

[0256] La ORR evaluada por el IRRC para todos los pacientes inscritos (n = 74) fue del 85% (IC del 95%, 75-92), con una tasa de RC del 59%. La TRO fue constante en todos los subgrupos clave, incluida la edad, el subgrupo en recaída / refractario, el número de tratamientos previos, la morfología del MCL, el estadio de la enfermedad, la enfermedad extraganglionar, la afectación de la médula ósea, el MIPI simplificado, el CD19 positivo, la carga tumoral, los niveles séricos de lactato deshidrogenasa, el estado mutacional de TP53 , Índice Ki-67, uso de tocilizumab o esteroides para el manejo de EA y uso de terapia puente. La mediana del tiempo hasta la respuesta inicial fue de 1,0 mes (rango, 0,8-3,1) y la mediana del tiempo hasta la RC fue de 3,0 meses (rango, 0,9-9,3). De los 42 pacientes que inicialmente alcanzaron RP o SD, 24 pacientes (57%), incluidos 21 con respuesta inicial de RP y 3 con respuesta inicial de SD, se convirtieron posteriormente en RC después de una mediana de 2,2 meses (rango, 1,8 - 8,3) siguiendo la respuesta inicial; 18 de estos 24 pacientes permanecen en remisión. El análisis de la ERM se realizó en 29/60 pacientes (48%); 24/29 pacientes (83% [19 RC; 5 PR]) fueron ERM negativos en la semana 4, y 15/19 pacientes (79%) con datos disponibles permanecieron ERM negativos en el mes 6. La ERM no pudo evaluarse en todos los pacientes debido a la falta de disponibilidad de una muestra de biopsia tumoral incluida en parafina fijada con formalina para

la calibración, que fue requerida por la metodología y utilizada para establecer secuencias de genes del receptor de IgH, IgK o IgL reordenado dominante (VDJ o DJ), rastreadas a lo largo del tiempo en sangre. Dos pacientes que progresaron después de responder a las células CAR-T CD19 recibieron una segunda infusión aproximadamente 1 año y 2,6 años después de la infusión inicial; el análisis de estos pacientes está en curso.

[0257] La mediana de DOR no se alcanzó después de una mediana de seguimiento de 12,3 meses (mediana (IC del 95%); no alcanzada (8,6, NE). No se alcanzó la mediana de supervivencia libre de progresión (IC del 95%) (9,2, NE). Tampoco se alcanzó la mediana de supervivencia global (IC del 95%) (24,0, NE). El 57% de todos los pacientes y el 78% de los pacientes con RC permanecen en remisión. Sin embargo, los primeros 28 pacientes tratados tuvieron una mediana de seguimiento - hasta 27,0 meses (rango; 25,3-32,3), con un 43% en remisión continua sin tratamiento adicional. Las tasas de respuesta continua fueron consistentes en las covariables claves, incluida la edad, la morfología del MCL, el subgrupo en recaída / refractario, el índice Ki-67, el estadio de la enfermedad, enfermedad extraganglionar, afectación de la médula ósea, MIPI simplificado, mutación TP53, CD19 positivo, terapia puente, carga tumoral y uso de tocilizumab o esteroides. Los 3 pacientes con tumores CD19- al inicio del estudio lograron RC y permanecen en respuestas en curso al corte de datos. La mediana de SLP y SG no se alcanzó, con tasas estimadas a 12 meses de 61% (95% CI, 45-74) y 83% (95% CI, 71-91), respectivamente. Aunque el tamaño de la muestra fue limitado, el análisis de subgrupos de la SSP mostró que la tasa de SSP a los 6 meses fue consistente entre los pacientes con morfología blastoidea o pleomórfica, mutación TP53 o índice Ki-67 $\geq 50\%$. En el momento de este análisis, el 76% de todos los pacientes siguen vivos. De los pacientes que tuvieron una respuesta, 14 tenían EP. Un paciente que tenía una RP se sometió a un TCM alogénico.

[0258] Este estudio mostró una ORR del 93% en los 60 pacientes especificados en el protocolo con MCL en recaída / refractario, todos los cuales habían recaído después o eran refractarios a la terapia con BTKi. Este ORR incluyó una tasa de RC del 67%, después de una sola infusión. Después de una mediana de seguimiento de 12,3 meses, no se había alcanzado la mediana de DOR; el 57% de todos los pacientes y el 78% de los pacientes con RC permanecieron en respuesta. Veintiocho (28) pacientes tratados con células CAR-T CD19 han

tenido una mediana de seguimiento más prolongada de 27 meses (rango, 25,3-32,3), y el 43% continuó en remisión sin tratamiento adicional. Las tasas de respuesta, incluidas las respuestas en curso, fueron generalmente similares entre los subgrupos clave, incluidos los pacientes con características de alto riesgo. Los pacientes con Ki-67 $\geq 50\%$, así como los pacientes con morfología blastoide/pleomórfica o mutación TP53 tenían tasas altas de TRO y SLP a 6 meses similares a la población general, lo que sugiere que el tratamiento con linfocitos CAR-T CD19 benefició a los pacientes con un pronóstico típicamente peor.

[0259] Todos los pacientes que respondieron después de la infusión de células T con CAR lograron la expansión de las células T. Esta expansión no se observó en pacientes que no respondieron, lo que sugiere que la respuesta puede haber estado relacionada con una expansión suficiente de las células T CAR. Al igual que en estudios anteriores, los niveles de células T con CAR se correlacionaron con la ORR en los primeros 28 días, lo que sugiere que una mayor expansión condujo a respuestas mejores y quizás más profundas, según lo indicado por los niveles de células T con Pico > 80 veces más altos / AUC de CAR en la ERM negativa en comparación con pacientes positivos. Las tasas de respuesta también fueron similares independientemente de si se administró o no la terapia puente, y la mayoría de los pacientes con escaneos posteriores al puente (87%) tuvieron un aumento en la SPD en comparación con los escaneos previos al puente.

[0260] Todos los pacientes tratados experimentaron ≥ 1 EA de cualquier grado, con grado ≥ 3 EA en el 99% (Tabla 2). Los EA más comunes de cualquier grado fueron pirexia (94%), neutropenia (87%), trombocitopenia (74%) y anemia (68%). Los EA de grado ≥ 3 más comunes fueron neutropenia (85%), trombocitopenia (51%), anemia (50%) e infecciones (32%). El 26% de los pacientes tenían citopenias de grado ≥ 3 presentes > 90 días después de la aparición de células CAR-T CD19, incluidas neutropenia (16%), trombocitopenia (16%) y anemia (12%). El CRS ocurrió en el 91% de los pacientes (Tabla 4). Ningún paciente falleció por RSC. La mayoría de los casos fueron de grado 1/2 (76%), con RSC de grado ≥ 3 en el 15% de los pacientes. Los síntomas de RSC de grado ≥ 3 más comunes fueron hipotensión (22%), hipoxia (18%) y pirexia (11%). Para el manejo del SRC, el 59% de los pacientes recibió tocilizumab, el 22% recibió esteroides y el 16% requirió vasopresores. La mediana de tiempo desde la infusión

hasta el inicio de cualquier grado y grado ≥ 3 CRS fue de 2 días (rango, 1-13) y 4 días (rango, 1-9), respectivamente; todos los eventos se resolvieron en una mediana de 11 días.

[0261] Tabla 4. Eventos adversos, síndrome de liberación de citocinas y eventos neurológicos

	N=68					
n (%)*	Cualquier grado	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 4	Grado 5
Cualquier evento adverso	68 (100)	0 (0)	1 (1)	11 (16)	52 (76)	2 (3)
Pirexia	64 (94)	14 (21)	41 (60)	9 (13)	0	0
Neutropenia	59 (87)	0 (0)	1 (1)	11 (16)	47 (69)	0 (0)
Trombocitopenia	50 (74)	9 (13)	6 (9)	11 (16)	24 (35)	0 (0)
Anemia	46 (68)	0	12 (18)	34 (50)	0	0
Hipotensión	35 (51)	4 (6)	16 (24)	13 (19)	2 (3)	0
Resfriado	28 (41)	17 (25)	11 (16)	0	0	0
Hipoxia	26 (38)	2 (3)	10 (15)	8 (12)	6 (9)	0
Tos	25 (37)	14 (21)	11 (16)	0	0	0

Hipofosfatemia	25 (37)	2 (3)	8 (12)	15 (22)	0	0
Fatiga	24 (35)	10 (15)	13 (19)	1 (1)	0	0
Dolor de cabeza	24 (35)	15 (22)	8 (12)	1 (1)	0	0
Temblor	24 (35)	19 (28)	5 (7)	0	0	0
Hipoalbuminemia	23 (34)	5 (7)	17 (25)	1 (1)	0	0
Hiponatremia	22 (32)	15 (22)	0	7 (10)	0	0
Náusea	22 (32)	11 (16)	10 (15)	1 (1)	0	0
Aumento de la alanina aminotransferasa	21 (31)	13 (19)	2 (3)	5 (7)	1 (1)	0
Encefalopatía	21 (31)	5 (7)	3 (4)	7 (10)	6 (9)	0
Hipopotasemia	21 (31)	12 (18)	4 (6)	3 (4)	2 (3)	0
Taquicardia	21 (31)	14 (21)	7 (10)	0	0	0
CRS[†]	62 (91)	20 (29)	32 (47)	8 (12)	2 (3)	0
Síntomas						

Pirexia	62 (100)	15 (24)	40 (65)	7 (11)	0	0
Hipotensión	35 (56)	4 (6)	16 (26)	14 (23)	1 (2)	0
Hipoxia	23 (37)	1 (2)	10 (16)	8 (13)	4 (6)	0
Resfriado	21 (34)	12 (19)	9 (15)	0	0	0
Taquicardia	16 (26)	11 (18)	5 (8)	0	0	0
Dolor de cabeza	15 (24)	7 (11)	8 (13)	0	0	0
Aumento de la alanina aminotransferasa	10 (16)	5 (8)	1 (2)	3 (5)	1 (2)	0
Aumento de la aspartato aminotransferasa	9 (15)	4 (6)	0 (0)	5 (8)	0	0
Fatiga	9 (15)	6 (10)	2 (3)	1 (2)	0	0
Náusea	9 (15)	5 (8)	4 (6)	0	0	0
Cualquier evento neurológico	43 (63)	13 (19)	9 (13)	15 (22)	6 (9)	0

Temblor	24 (35)	19 (28)	5 (7)	0	0	0
Encefalopatía	21 (31)	5 (7)	3 (4)	7 (10)	6 (9)	0
Estado de confusión	14 (21)	3 (4)	3 (4)	8 (12)	0	0
Afasia	10 (15)	3 (4)	4 (6)	3 (4)	0	0

* Se incluyen los eventos adversos que ocurren en $\geq 30\%$ de los pacientes y los síntomas de CRS y eventos neurológicos que ocurren en $\geq 15\%$ de los pacientes. † Los porcentajes en las filas de CRS se calcularon a partir de los 62 pacientes que experimentaron CRS.

[0262] El sesenta y tres por ciento de los pacientes experimentaron NE (Tabla 4). Ningún paciente falleció por NE. Se produjo NE de grado 1/2 en el 32% de los pacientes y NE de grado ≥ 3 en el 31%. NE de grado ≥ 3 frecuentes fueron encefalopatía (19%), estado de confusión (12%) y afasia (4%). Un paciente desarrolló edema cerebral de grado 4 y se recuperó por completo con una terapia multimodal agresiva que incluía ventriculostomía. Se utilizaron tocilizumab y esteroides para tratar la NE en el 26% y el 38% de los pacientes, respectivamente. La mediana de tiempo hasta el inicio de cualquier grado y grado ≥ 3 NE fue de 7 días (rango, 1-32) y 8 días (rango, 5-24), respectivamente. La duración media de la NE fue de 12 días y los eventos se resolvieron por completo en 37/43 pacientes (86%). A partir de este análisis, 4 pacientes tuvieron eventos en curso, incluido temblor de grado 1 ($n = 3$), deterioro de la concentración de grado 2 ($n = 1$) y disestesia de grado 1 ($n = 1$). Se produjeron acontecimientos adversos graves en el 68% de los pacientes (tabla 5).

[0263] Tabla 5. Eventos adversos graves que ocurren en al menos 3 pacientes

	N = 68					
Evento adverso grave, n (%)	Cualquier Grado	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 4	Grado 5
Cualquier	46 (68)	2 (3)	7 (10)	20 (29)	13 (19)	2 (3)
Encefalopatía	15 (22)	2 (3)	1 (1)	6 (9)	6 (9)	0
Pirexia	15 (22)	7 (10)	5 (7)	3 (4)	0	0
Hipotensión	11 (16)	0	3 (4)	6 (9)	2 (3)	0
Hipoxia	8 (12)	0	0	4 (6)	4 (6)	0
Lesión renal aguda	5 (7)	0	0	1 (1)	4 (6)	0
Estado de confusión	5 (7)	0	0	5 (7)	0	0
Neumonía	5 (7)	0	0	5 (7)	0	0
Anemia	4 (6)	0	0	4 (6)	0	0
Insuficiencia respiratoria	4 (6)	0	0	0	4 (6)	0
Septicemia	4 (6)	0	0	1 (1)	3 (4)	0
Afasia	3 (4)	0	0	3 (4)	0	0

Derrame pleural	3 (4)	0	1 (1)	1 (1)	1 (1)	0
Taquicardia	3 (4)	0	3 (4)	0	0	0

[0264] El treinta y dos por ciento de los pacientes experimentaron infecciones de grado ≥ 3 . La más común fue la neumonía (9%) (**tabla 6**).

[0265] Tabla 6. Infecciones que ocurren en al menos 2 pacientes

	N = 68					
Infección, n (%)	Cualquier Grado	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 4	Grado 5
Cualquier	38 (56)	1 (1)	15 (22)	17 (25)	4 (6)	2 (2)*
Infección del tracto respiratorio superior	9 (13)	0 (0)	8 (12)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
Neumonía	7 (10)	0 (0)	1 (1)	6 (9)	0 (0)	0 (0)
Sinusitis	5 (7)	0 (0)	5 (7)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Septicemia	4 (6)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	3 (4)	0 (0)
Candidiasis oral	4 (6)	0 (0)	4 (6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Infección de herpes	3 (4)	0 (0)	3 (4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Influenza	3 (4)	0 (0)	3 (4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

Bacteriemia estafilocócica	3 (4)	0 (0)	0 (0)	2 (3)	0 (0)	1 (1)
Infección por citomegalovirus	2 (3)	0 (0)	2 (3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Infección micótica de la piel	2 (3)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Celulitis	2 (3)	0 (0)	2 (3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Bronquitis	2 (3)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
Nasofaringitis	2 (3)	2 (3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Infección dental	2 (3)	0 (0)	0 (0)	2 (3)	0 (0)	0 (0)

* Un paciente falleció por bacteriemia por estafilococos. Un paciente murió por neumonía organizada (desarrolló una lesión renal aguda en el contexto de la infección y durante la autopsia se encontró que tenía una embolia pulmonar no diagnosticada previamente además de una neumonía organizada).

[0266] Se produjeron dos casos de infección por citomegalovirus de grado 2 (3%). En 1 paciente cada uno (1%) se produjo hipogammaglobulinemia de grado 3 y síndrome de lisis tumoral de grado 3. Veintidós pacientes (32%) recibieron terapia con inmunoglobulina intravenosa. No se informaron casos de retrovirus con capacidad de replicación, linfoproliferación asociada al VEB, linfocitosis hemofagocítica o cánceres secundarios relacionados con las células CAR-T CD19. Los puntajes EQ-5D revelaron disminuciones desde el inicio en la calidad de vida relacionada con la salud informada por el paciente en la semana 4, sin embargo, se observaron mejoras en la movilidad, el autocuidado, las actividades habituales y la salud en general (escala analógica visual EQ-5D) en el mes 3, con la salud general regresando a la línea de base o mejor en la mayoría de los pacientes al mes 6 (**Tabla 7**).

[0267] Tabla 7. Resumen de EQ-5D por visita

EQ-5D	Cribado	Semana 4	Mes 3	Mes 6
Movilidad, n/n (%)				
Pacientes que no informan problemas	53/62 (85)	25/51 (49)	37/54 (69)	30/40 (75)
Pacientes con deterioro por cribado	N/A	21/51 (41)	13/54 (24)	8/40 (20)
Cuidados personales, n/n (%)				
Pacientes que no informan problemas	59/62 (95)	35/52 (67)	45/54 (83)	37/40 (93)
Pacientes con deterioro por cribado	N/A	16/52 (31)	9/54 (17)	3/40 (8)
Actividad habitual, n/n (%)				
Pacientes que no informan problemas	53/65 (82)	22/51 (43)	38/55 (69)	30/41 (73)
Pacientes con deterioro por cribado	N/A	25/51 (49)	13/55 (24)	8/41 (20)
Dolor / malestar, n/n (%)				
Pacientes que no informan problemas	43/65 (66)	34/54 (63)	33/55 (60)	28/42 (67)

Pacientes con deterioro por cribado	N/A	9/54 (17)	13/55 (24)	5/42 (12)
Ansiedad / depresión, n/n (%)				
Pacientes que no informan problemas	49/65 (75)	36/54 (67)	38/55 (69)	26/42 (62)
Pacientes con deterioro por cribado	N/A	11/54 (20)	12/55 (22)	10/42 (24)
EQ-5D VAS*				
n	65	52	55	42
Media (SD)	82.0 (15.4)	74.5 (15.6)	80.1 (15.6)	84.8 (17.5)
Mediana (rango)	85 (75 – 95)	78 (60 – 89)	83 (70 – 92)	90 (80 – 95)
VAS reducido en ≥ 10 desde el cribado, n/n (%)	N/A	26/52 (50)	16/55 (29)	5/42 (12)

* La escala analógica visual (VAS) EQ-5D evalúa la salud general en una escala de 0 a 100, y las puntuaciones más altas indican un mejor estado de salud. EQ-5D, calidad de vida europea-5 dimensiones; N / A, no aplica; SD, desviación estándar

[0268] Dieciséis pacientes (24%) que recibieron células CAR-T CD19 murieron, principalmente de EP (n = 14 [21%]). Dos pacientes tenían EA de grado 5 (3%), incluido 1 paciente con neumonía organizada relacionada con la quimioterapia de acondicionamiento y 1

paciente con bacteriemia por estafilococo que estaba relacionada con la quimioterapia de acondicionamiento y el tratamiento con linfocitos CAR-T CD19.

[0269] La mediana del tiempo hasta los niveles máximos de células T con CAR anti-CD19 fue de 15 días (rango, 8-31) después de la infusión de células T con CAR-CD19 y las células aún eran detectables a los 24 meses en algunos pacientes con muestras evaluables en ese momento. de corte de datos (6/10 [60%]) en presencia de niveles normales de células B medianas. La persistencia de las células T con CAR en sangre a lo largo del tiempo, medida por qPCR, mostró una disminución con el tiempo en pacientes con respuesta continua y en aquellos que recayeron.

[0270] La rápida expansión, resolución a la línea base y aclaramiento a lo largo del tiempo son consistentes con el mecanismo de acción conocido de las células T CAR anti-CD19 que albergan dominios coestimuladores CD28 y CD3 ζ . Los 4 pacientes que no respondieron al tratamiento con células CAR-T CD19 tenían células B detectables al inicio del estudio; ninguno experimentó aplasia de células B en ningún momento del estudio. Si bien no hubo asociación con la carga tumoral inicial, la expansión se asoció con la respuesta ($P = 0,0036$), con un área bajo la curva (AUC) y un pico que fueron > 200 veces más altos entre los respondedores que entre los no respondedores, con una tendencia similar entre los pacientes con ERM negativos frente a los positivos en la semana 4. Tanto para CRS como para NE, la expansión fue mayor en pacientes con eventos de grado ≥ 3 frente a aquellos con eventos de grado ≤ 2 y el pico y el AUC más altos se observaron en pacientes que recibieron tocilizumab $\pm$ esteroides después de la infusión de células T-CAR-CD19. La mediana del tiempo hasta el pico de las citocinas evaluadas fue de 8 días; la mayoría se resolvió a los niveles iniciales a los 28 días. El factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos en suero y la interleucina (IL) -6 se asociaron con CRS y NE de grado ≥ 3 . La ferritina sérica se asoció solo con CRS de grado ≥ 3 , mientras que la IL-2 y el interferón- γ séricos se asociaron solo con NE de grado ≥ 3 . Además, el análisis de citocinas en el líquido cefalorraquídeo reveló niveles más altos de proteína C reactiva, ferritina, IL-6, IL-8 y molécula de adhesión de células vasculares 1 en pacientes con NE de grado ≥ 3 . En ningún paciente se observó inducción de anticuerpos anti-CAR.

[0271] Las tasas de CRS y NE de grado ≥ 3 fueron similares a las notificadas previamente con terapias de células T con CAR anti-CD19 en el LNH agresivo. Neelapu SS et al. *The New England journal of medicine* 2017;377:2531; Schuster SJ et al. *The New England journal of medicine* 2019;380:45. No hubo muertes por RSC o NE, y la mayoría de los síntomas ocurrieron al principio del tratamiento y fueron generalmente reversibles, sin secuelas clínicas a largo plazo que afectaran las actividades de la vida diaria. Las asociaciones observadas entre las citocinas séricas máximas y los eventos neurológicos de CRS de grado ≥ 3 y / o de grado ≥ 3 sugieren un papel de las células CAR-T CD19 en estas toxicidades, dado que se observaron en proporción con el aumento y los niveles máximos de células CAR T en sangre. Las asociaciones de niveles máximos de CAR y citocinas séricas, quimiocinas y moléculas efectoras relacionadas con las células mieloides con toxicidad son consistentes con datos publicados anteriormente que utilizan una construcción CAR similar en el contexto del LNH^{10,13}. Ocurrió un caso de edema cerebral de grado 4, pero el paciente se recuperó por completo y permanece en RC a los 24 meses de seguimiento sin secuelas neurológicas sin resolver. De manera similar, los resultados informados por los pacientes sugieren que no hay déficits de calidad de vida a largo plazo después de la terapia con células T - CD19 CAR.

EJEMPLO 3

[0272] Este ejemplo proporcionó un análisis adicional a los estudios descritos anteriormente. Los pacientes elegibles (≥ 18 años) con MCL R/R tenían una puntuación ECOG de 0-1 y ≤ 5 tratamientos previos, incluida la quimioterapia, un anticuerpo anti-CD20 y un BTKi. Los pacientes se sometieron a leucoféresis y quimioterapia de acondicionamiento (ciclofosfamida 300 mg/m²/d y fludarabina 30 mg/m²/d durante 3 días, los días -5, -4, -3) seguida de una única infusión de células CD19 CAR-T a dosis diana de 2×10^6 células T CAR/kg, por infusión IV única el día 0. La construcción CAR CD19 contiene un dominio de activación de células T CD3 ζ y un dominio de señalización CD28. El proceso de fabricación eliminó las células de leucemia circulantes que expresan CD19 del producto de leucoféresis. Sabatino M, et al. *Blood* 2016; 128: 1227.

[0273] Algunos pacientes recibieron terapia puente con dexametasona (20-40 mg o equivalente por vía oral o intravenosa al día durante 1-4 días), ibrutinib (560 mg por vía oral al día) o acalabrutinib (100 mg por vía oral dos veces al día), administrado después de la leucaféresis completado ≤ 5 días antes de iniciar la quimioterapia de acondicionamiento; Se requirió PET-CT después del puenteo. El criterio de valoración principal fue la tasa de respuesta objetiva (ORR [respuesta completa (RC) + respuesta parcial]). Los criterios de valoración secundarios clave fueron la duración de la respuesta (DOR), la supervivencia libre de progresión (PFS), la SG, la frecuencia de los eventos adversos (EA), los niveles de células CAR T en sangre y los niveles de citocinas en suero. Los análisis de eficacia y seguridad incluyeron a todos los pacientes que recibieron terapia con células CAR-T CD19.

[0274] Los criterios de inclusión clave incluyeron R/R MCL definido como progresión de la enfermedad después del último régimen o fracaso para exhibir una RC o PR hasta el último régimen; de una a cinco terapias previas que deben haber incluido una quimioterapia que contenga antraciclina o bendamustina y terapia con anticuerpos monoclonales anti-CD20 e Ibrutinib o acalabrutinib; ≥ 1 lesión medible; edad ≥ 18 años; ECOG de 0 o 1; y función adecuada de la médula ósea, renal, hepática, pulmonar y cardíaca. Los criterios de exclusión clave incluyeron trasplante de células madre autólogas previo (alloSCT); terapia previa dirigida a CD19; terapia previa con células T con CAR; infección clínicamente relevante; e historia o afectación actual del SNC por MCL u otros trastornos del SNC.

[0275] Un total de 68 pacientes recibieron terapia con células CD19 CAR-T. Aquí se presentan los resultados actualizados de seguridad (68 pacientes) y eficacia (60 pacientes), con una mediana de seguimiento de 12,3 meses [rango 7,0-32,3]). Un total de 28 pacientes (47%) tuvieron un seguimiento ≥ 24 meses. La mediana del tiempo hasta la respuesta inicial fue de 1,0 meses [rango 0,8-3,1] y hasta la respuesta completa fue de 3,0 meses [rango 0,9-9,3]. Un total de 24 pacientes (40%) se convirtieron de PR/SD a CR, con 21 (35%) de PR a CR y 3 pacientes (5%) de SD a CR.

[0276] La edad media fue de 65 años (rango, 38 - 79) y 39 (57%) de los pacientes eran varones. El cien por ciento (100%) de los pacientes tenía una puntuación ECOG de 0/1, el 25%

tenía morfología blastoide, el 85% tenía enfermedad en estadio IV, el 56% tenía MIPI de riesgo intermedio/alto, el 81% recibió 3 o más terapias previas, con una mediana de 3 (rango, 1 - 5) terapias previas, el 99% recibió antraciclina o bendamustina antes, el 100% recibió anticuerpo monoclonal anti-CD20 antes y el 100% recibió BTKi (85% ibrutinib, 24% acalabrutinib y 9% ambos). Cuarenta y tres (43%) de los pacientes habían recaído después de autoSCT, el 56% eran refractarios a ibrutinib y el 12% eran refractarios a acalabrutinib. En 34/49 de los pacientes con datos disponibles, el índice Ki-67 fue $\geq 50\%$. Veinticinco (37%) de los pacientes recibieron terapia puente (21% ibrutinib, 7% acalabrutinib, 18% dexametasona, 3% metilprednisolona, 9% BTKi y esteroides, 6% ibrutinib y esteroides, 3% acalabrutinib y esteroides); 23/25 pacientes se sometieron a una PET-TC post-puente para documentar la enfermedad medible antes de la infusión de células CD19 CAR-T (20/23 tuvieron un aumento en SPD mm² desde el cribado; 3/23 tuvieron una ligera disminución en SPD mm² desde el cribado).

[0277] Se observó una ORR alta tanto en pacientes con evaluación de eficacia como en pacientes ITT. 95% de concordancia para ORR; Concordancia del 90% para CR. La ORR evaluada por el investigador en 60 pacientes evaluables en eficacia fue del 88% (IC del 95%, 77% -95%) con una tasa de RC del 70% (IC del 95%, 57% -81%) y una tasa de RP del 18% (IC del 95%, 10% -30%). La TRO en 60 pacientes evaluables para la eficacia mediante la evaluación del IRRC fue del 93% (IC del 95%, 84% - 98%) con una tasa de RC del 67% (IC del 95%, 53% - 78%) y una tasa de RP del 27% (IC del 95%, 16% -40%). La ORR fue consistente en todos los subgrupos clave (edad, morfología del MCL, índice Ki-67, estadio de la enfermedad, MIPI simplificado, uso de esteroides para el manejo de EA, uso de tocilizumab y uso de terapia puente). La ORR evaluada por el investigador en pacientes con ITT fue del 80% (IC del 95%, 69% -88%) con una tasa de RC del 59% (IC del 95%, 47% -71%) y una tasa de RP del 20% (95% IC, 12% -31%). La TRO en pacientes con ITT según la evaluación del IRRC fue del 85% (IC del 95%, 75% - 92%) con una tasa de RC del 59% (IC del 95%, 47% - 71%) y una tasa de RP del 26% (95% IC, 16% -37%).

[0278] La mediana de DOR no se había alcanzado después de una mediana de seguimiento de 12,3 meses. El cincuenta y siete por ciento (57%) de todos los pacientes y el 78% de los pacientes con RC permanecieron en remisión. Los primeros 28 pacientes tratados

tuvieron una mediana de seguimiento de 27,0 meses (rango, 25,3-32,3), el 43% de los cuales permanecieron en remisión continua sin tratamiento adicional. La mediana de SLP y la mediana de SG no se alcanzaron después de una mediana de seguimiento de 12,3 meses. La tasa de SLP a los 12 meses (IC del 95%) fue del 61% (45% -74%). La tasa de SG a 12 meses (IC del 95%) fue del 83% (71% -91%).

[0279] Más del 35% de los pacientes tuvieron acontecimientos adversos emergentes del tratamiento (0% de grado 1; 1% de grado 2; 16% de grado 3; 76% de grado 4 y 3% de grado 5). Los EA de grado ≥ 3 más frecuentes ($\geq 20\%$ de los pacientes) fueron neutropenia (69%, grado 4), trombocitopenia (35%, grado 4), anemia (50%, grado 3), hipofosfatemia (22%, grado 3). Ningún paciente falleció por síndrome de liberación de citocinas (SRC). CRS de grado ≥ 3 , evaluado por Lee DW, et al. *Blood*. 2014, 124: 188, se informó en el 15% de los pacientes. Los síntomas más comunes de cualquier grado de RSC fueron hipotensión (51%), hipoxia (34%) y pirexia (91%). El manejo de eventos adversos incluyó tocilizumab (59%) y corticosteroides (22%). La mediana de tiempo hasta el inicio fue de 2 días (rango 1-13), la mediana de duración fue de 11 días y 62/62 (100%) de los pacientes con RSC de cualquier grado habían resuelto los eventos.

[0280] Se informaron eventos neurológicos (NE) de cualquier grado en el 63% de los pacientes (31% tenían NE de Grado ≥ 3) e incluyeron encefalopatía (31%), estado de confusión (21%) y temblor (35%). Ningún paciente murió por eventos neurológicos. Un paciente tenía edema cerebral de grado 4 que se resolvió por completo con una terapia multimodal agresiva que incluía ventriculostomía y globulina antitimocitos de conejo intravenosa (ATG). Todos los eventos de RSC y la mayoría de la EN (37/43 pacientes) fueron reversibles. La mediana del tiempo hasta el inicio y la duración del NE fue de 7 días (rango, 1 - 32) y 12 días, respectivamente.

[0281] Se asoció un nivel pico más alto de células CAR T con respondedores que con no respondedores (respuesta objetiva). Un nivel pico más alto de células CAR T se asoció con ERM negativo que con positivo en la semana 4. La mediana del tiempo hasta los niveles máximos de células T con CAR anti-CD19 después de la infusión de células con CAR-T CD19

fue de 15 días (rango, 8 - 31). Las células T con CAR anti-CD19 fueron detectables a los 24 meses en la mayoría de los pacientes con muestras evaluables (6/10 [60%]). La expansión se asoció con la respuesta y el estado de MRD. La expansión fue mayor en pacientes con SRC de grado ≥ 3 frente a ≤ 2 y eventos neurológicos.

[0282] Se observaron varias asociaciones entre los niveles máximos de biomarcadores en suero y la toxicidad. Los analitos asociados con CRS de grado ≥ 3 incluyeron IL-15, IL-2 $R\alpha$, IL-6, $TNF\alpha$, GM-CSF, ferritina, IL-10, IL-8, MIP-1a, MIP-1b, granzima A, granzima B y perforin. Los analitos asociados con eventos neurológicos de grado ≥ 3 incluyeron IL-2, IL-1 $R\alpha$, IL-6, $TNF\alpha$, GM-CSF, IL-12p40, $IFN-\gamma$, IL-10, MCP-4, MIP-1b y granzima. B. Y los analitos asociados con CRS de grado ≥ 3 y eventos neurológicos incluyeron IL-6, $TNF\alpha$, GM-CSF, IL-10, MIP-1b y granzima B.

[0283] El tratamiento de células CD19 CAR-T descrito en este documento, administrado en una única infusión, mostró altas tasas de respuestas duraderas en R/R MCL. La ORR del 93%, que incluyó una tasa de RC del 67%, es la tasa de control de la enfermedad más alta informada en pacientes con falla previa de BTKi. De los 28 pacientes tratados inicialmente, el 43% permaneció en remisión después de ≥ 24 meses de seguimiento. El perfil de seguridad concuerda con el informado en estudios previos de terapias con células T con CAR anti-CD19 en LNH agresivo. No hay muertes por SRC o eventos neurológicos; la mayoría de los síntomas se presentaron al principio del tratamiento y, en general, fueron reversibles. La eficacia, la fabricación fiable y rápida y las toxicidades manejables identifican un papel para el tratamiento de células CD19 CAR-T descrito en el presente documento en el tratamiento de pacientes con MCL R/R que tienen una necesidad médica no satisfecha.

EJEMPLO 4

[0284] Este ejemplo proporciona un análisis adicional de los estudios clínicos descritos anteriormente. Los pacientes elegibles tenían 18 años o más con MCL patológicamente confirmado con documentación de sobreexpresión de ciclina D1 o presencia de t (11; 14), y tenían recaídas/refractarios a 1-5 regímenes previos para MCL. El tratamiento previo debe haber

incluido quimioterapia que contenga antraciclina o bendamustina, un anticuerpo monoclonal anti-CD20 e ibrutinib o acalabrutinib. Todos los pacientes recibieron BTKi previamente. Aunque los pacientes deben haber recibido terapia con BTKi previa, no se requirió como última línea de terapia antes de ingresar al estudio, y no se requirió que los pacientes fueran refractarios a la terapia con BTKi. Los pacientes elegibles tenían un recuento absoluto de linfocitos $\geq 100 / \mu\text{L}$. Se excluyeron los pacientes que se sometieron a un SCT autólogo dentro de las 6 semanas posteriores a la infusión de CAR-T CD19 o que habían recibido tratamiento previo dirigido a CD19 o SCT alogénico. Todos los pacientes se sometieron a leucocitaféresis para obtener células para la fabricación del tratamiento con células CAR-T CD19. Los pacientes recibieron terapia puente opcional, que incluía dexametasona (20-40 mg o equivalente VO o IV al día durante 1-4 días), ibrutinib (560 mg por vía oral (VO) al día) o acalabrutinib (100 mg VO dos veces al día). El proceso de fabricación se modificó en relación con el de axicabtagene ciloleucel para eliminar las células de linfoma circulante mediante el enriquecimiento positivo de células $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$. Este producto se denomina en el presente documento "las células CAR T". Este producto también puede identificarse como KTE-X19. Se administró quimioterapia de acondicionamiento con fludarabina ($30 \text{ mg/m}^2/\text{día}$) y ciclofosfamida ($500 \text{ mg/m}^2/\text{día}$) los días -5, -4 y -3 antes de una única infusión intravenosa de 2×10^6 células T CAR / kg de células CD19 CAR-T el día 0. En el Ejemplo 2 se pueden encontrar más detalles sobre el tratamiento del paciente.

[0285] Los objetivos de este estudio fueron dobles. Primero, comparar el perfil farmacológico del producto CAR T en pacientes de menor y mayor riesgo en el ensayo clínico ZUMA-2, definido por TP53, estado de mutación del gen (proteína tumoral p53) e índice de proliferación tumoral Ki-67. Los pacientes con características de MCL de alto riesgo, incluida la mutación del gen p53 de la proteína tumoral (TP53) y el índice de proliferación Ki-67 alto, generalmente tienen un pronóstico desfavorable con las terapias estándar actuales. Cheah CY, et al. *J Clin Oncol*. 2016;34:1256-1269. Los pacientes de bajo riesgo en este análisis tenían un índice de proliferación Ki-67 $< 50\%$ (por evaluación central) o TP53 de tipo salvaje; los pacientes de mayor riesgo tenían $\text{Ki-67} \geq 50\%$ o mutación TP53 por secuenciación de próxima generación. En el análisis de eficacia principal de ZUMA-2 (N = 60), la ORR fue del 93% (67% CR) después de una mediana de seguimiento de 12,3 meses. El 57% de todos los pacientes y el

78% de los pacientes en RC tuvieron respuestas continuas. La ORR fue generalmente comparable entre los pacientes de menor y mayor riesgo en ZUMA-2, incluso en pacientes con índice de proliferación Ki-67 $\leq 50\%$ y TP53 no mutado frente a mutado. Wang M, et al. *New Engl J Med*. 2020;382:1331-1342.

[0286] El segundo objetivo fue caracterizar el perfil farmacodinámico en pacientes que alcanzaron el estado temprano (día 28) negativo de enfermedad residual mínima (ERM) y aquellos con neurotoxicidad de grado 4. En un análisis previo de los resultados de ZUMA-2, los niveles de células CAR T en sangre por pico y área bajo la curva (AUC) en los días 0-28 se asociaron con ORR (incluida ERM indetectable) y CRS de grado ≥ 3 y eventos neurológicos. Wang M, et al. *New Engl J Med*. 2020;382:1331-1342. En ese análisis, el SRC y los eventos neurológicos fueron en su mayoría reversibles (N = 68 pacientes tratados): el 15% tenía CRS de Grado ≥ 3 ; 31% tuvo eventos neurológicos de grado ≥ 3 ; y dos tenían EA de grado 5 (uno de los cuales estaba relacionado con el producto CAR T). La ERM (sensibilidad 10-5) se evaluó mediante secuenciación de próxima generación, como se informó anteriormente. Wang M, et al. *New Engl J Med*. 2020;382:1331-1342.

[0287] Esta actualización informa los datos de farmacología de los 68 pacientes en ZUMA-2 que fueron tratados con los atributos del producto de células CAR T, los niveles de células CAR T en sangre y los niveles de citocinas en suero, y sus asociaciones con los resultados clínicos, fueron analizados por utilizando métodos descritos anteriormente. Locke FL, et al. *Mol Ther*. 2017;25:285-295. Se utilizó la prueba de suma de rangos de Wilcoxon para medir las asociaciones entre los resultados de los subgrupos y los niveles de células T con CAR y citocinas. Los valores de p no se ajustaron para pruebas múltiples.

[0288] Los atributos del producto de células CAR T fueron generalmente comparables entre los grupos de pronóstico definidos por el índice de proliferación de Ki-67 y el estado de mutación de TP53. Hubo una tendencia hacia fenotipos más diferenciados en el subgrupo de alto Ki-67 y fenotipos basados en CD4 en pacientes con mutación TP53. (**Tabla 8**).

[0289] Tabla 8

Mediana (rango)	Pacientes tratados ^a (n = 65)	Índice de proliferación Ki-67		TP53	
		<50% (n = 14)	≥50% (n = 34)	Mutación (n = 6)	No mutación (n = 30)
Relación CD4 / CD8	0.7 (0.04, 3.7)	0.8 (0.4, 1.7)	0.7 (0.04, 3.7)	1.2 (0.7, 3.7)	0.7 (0.04, 1.9)
Células T ingenuas, %	24.5 (0.3, 80.7)	30.4 (11.0, 57.0)	20.1 (0.3, 68.8)	23.0 (11.8, 46.5)	25.2 (0.3, 78.1)
Células T de memoria central, %	12.8 (2.3, 51.6)	10.1 (8.4, 45.0)	12.0 (2.3, 51.6)	13.2 (6.0, 51.6)	10.2 (2.3, 45.0)
Células T de memoria efectora, %	24.5 (0.8, 70.3)	19.4 (6.3, 56.1)	29.1 (5.8, 70.3)	25.9 (7.0, 38.2)	29.4 (2.2, 70.3)

Células T efectoras, %	28.7 (2.8, 65.2)	23.7 (11.5, 49.30)	32.4 (2.8, 65.2)	29.1 (2.8, 44.7)	29.1 (8.4, 54.5)
---------------------------------------	---------------------	-----------------------	---------------------	---------------------	---------------------

^a De los 68 pacientes tratados, los datos de las características del producto estaban disponibles para un total de 65 pacientes. Los datos de las características del producto estaban disponibles para un total de 48/49 pacientes con datos de Ki-67 disponibles y para todos los 36 pacientes con datos de mutación TP53 disponibles. TP53, gen de la proteína tumoral p53

[0290] También hubo expansión de células CAR T comparable en grupos con diferentes factores de pronóstico definidos por el índice de proliferación de Ki-67 y el estado de mutación de TP53. Tanto los niveles máximos como el AUC de los linfocitos T con CAR en la sangre después de la administración fueron comparables en pacientes con índice de proliferación de TP53 o Ki-67 de tipo salvaje frente a mutado <50% frente a $\geq 50\%$, lo que fue consistente con la eficacia comparable en estos subgrupos. El criterio principal de valoración de la tasa de respuesta objetiva (TRO) en los pacientes se muestra en la Tabla 9. El tiempo medio de respuesta fue de 28 días (rango: 24 a 92 días) con un tiempo medio de seguimiento de 12,3 meses. 28 pacientes tuvieron un seguimiento potencial durante ≥ 24 meses y 12 de estos pacientes permanecieron en remisión. La eficacia se estableció en función de la respuesta completa y la duración de la respuesta (DOR).

[0291] La ORR fue del 100% frente al 94% en pacientes con índice de proliferación Ki-67 <50% frente a $\geq 50\%$, mientras que la tasa de CR fue del 64% frente al 78% en pacientes con índice de proliferación Ki-67 <50% frente a $\geq 50\%$. **Tabla 9.** El número de pacientes con datos disponibles para el índice de proliferación Ki-67 fue 49.

[0292] Tabla 9

	ORR (95% CI), %	Tasa CR (95% CI), %
Ki-67 PI < 50%	100 (77 – 100)	64 (35 – 87)
Ki-67 PI ≥ 50%	94 (79 – 99)	78 (60 – 91)

[0293] El ORR fue del 100% para ambos en pacientes con TP53 de tipo salvaje frente a mutado, mientras que la tasa de CR fue del 67% frente al 100% en TP53 de tipo salvaje frente a mutado. **Tabla 10.** El número de pacientes con datos disponibles para TP53 fue de 36. Los seis pacientes con mutación TP53 y los 30 pacientes sin mutación respondieron. Entre los seis pacientes con mutación TP53, tres tenían neurotoxicidad de grado ≥ 3 y dos tenían RSC de grado ≥ 3

[0294] Tabla 10

	ORR (95% CI), %	Tasa CR (95% CI), %
Mutación <i>TP53</i>	100 (54 – 100)	100 (54 – 100)
No mutación <i>TP53</i>	100 (88 – 100)	67 (47 – 83)

[0295] Se midieron hasta 44 biomarcadores en suero antes del tratamiento, en el día 0, y en varios puntos de tiempo hasta el día 28 después de la infusión de células T con CAR, incluyendo IL (interleucinas); INF- γ (interferón gamma), MCP-1 (proteína quimioatrayente de monocitos 1), IL-2R α (receptor alfa de IL-2), sPD-L1 (ligando 1 de muerte programada soluble) y sVCAM (molécula soluble de adhesión celular vascular) . El perfil farmacodinámico de los dos grupos pronósticos con índice de proliferación Ki-67 <50% vs $\geq 50\%$ fue comparable con respecto a proliferativo (IL-15, IL-2), inflamatorio (IL-6, IL-2R α , sPD-L1 y VCAM-1), inmunomoduladoras (IFN- γ , IL-10), quimiocinas (IL-8 y MCP-1)) y citocinas efectoras (Granzima B). Además, hubo una tendencia al aumento de los niveles de citocinas proliferativas

(IL-15, IL-2) e inflamatorias (IL-6, IL-2R α , sPD-L1 y VCAM-1) en pacientes con TP53 mutado frente a TP53 de tipo salvaje. FIG. 1A-1F.

[0296] También hubo un aumento en los niveles máximos de citocinas seleccionadas en suero entre los pacientes que alcanzaron el estado de ERM negativo. La ERM se analizó en 29 de 68 pacientes (43%); 24 de estos pacientes (83% [19 pacientes con una respuesta completa y 5 con una respuesta parcial]) fueron ERM negativos un mes después de la administración de células T con CAR. Un mes después de la administración de linfocitos T con CAR, los pacientes con ERM negativos (n = 24/29) frente a los positivos (n = 5/29) tenían niveles máximos medios aumentados de interferón (IFN) γ e interleucina (IL) -6 y una tendencia hacia un aumento de IL-2. Los niveles de citocinas alcanzaron su punto máximo en suero dentro de los 7 días posteriores al tratamiento. Se observaron tendencias consistentes para PD-L1 y Granzima B. También se observaron niveles máximos de células T con CAR aumentados, medidos dentro de los 14 días posteriores al tratamiento, en pacientes que fueron ERM negativos al mes. FIG. 2A-2I.

[0297] Seis pacientes desarrollaron episodios neurológicos de grado 4, incluido uno con edema cerebral. Tres pacientes tenían SRC de grado 4 concurrente. Los pacientes con eventos neurológicos de grado 4 mostraron niveles máximos de biomarcadores séricos proinflamatorios aumentados (p. Ej., IFN γ , MCP-1, TNF- α , IL-2 e IL-6) en comparación con pacientes sin eventos neurológicos.

[0298] El edema cerebral se resolvió completamente después de una terapia multimodal agresiva. Wang M, et al. *New Engl J Med*. 2020;382:1331-1342. La expansión de las células CAR T y los niveles séricos máximos de IL-2 fueron máximos en este paciente; el aumento de múltiples citocinas fue varias veces mayor en este paciente en comparación con la mediana de otros estudios/pacientes ZUMA-2. **Tabla 11.**

[0299] Tabla 11

	Paciente con Edema cerebral		Otros pacientes con ZUMA-2 (n = 67), mediana (IQR)	
	Base (Día 0)	Pico (Post administración de células T con CAR)	Base (Día 0)	Pico (Post administración de células T con CAR)
Niveles de células T con CAR, células / μ L	0	431.3	0	83.1 (17.2 – 264.3) ^a
IFN- γ , pg/mL	7.5	584.4	7.5 (7.5 – 17.7)	411.2 (144.8 – 1876)
MCP-1, pg/mL	462.6	1500	882.9 (557.2 – 1164.8)	1084.3 (804.2 – 1500)
TNF α , pg/mL	1.9	10.4	5.7 (3.2 – 10.6)	9.5 (5.5 – 23.2)
sVCAM-1, ng/mL	527.5	1659.7	1195.9 (791.7 – 2533.1)	1900.7 (1032.4 – 3646.7)
IL-2, ng/mL	0.9	16.7	0.9 (0.9 – 0.9)	6.0 (3.0 – 14.4)
IL-6, pg/mL	1.6	159.5	1.6 (1.6 – 6.4)	87.9 (12.9 – 879.1)
CRP, mg/L	6.8	18.2	30.5 (15.1 – 63.0)	119.4 (54.6 – 173.8)
Ferritina, ng / mL	606.3	824.2	502.4 (273.5 – 877.7)	1265 (597.8 – 2970.1)
IL-15, ng/mL	29.1	56.1	33.2 (25.4 – 48)	38.4 (29.7 – 61.7)

^a De 66 pacientes con datos disponibles.

[0300] Los perfiles farmacocinéticos y farmacodinámicos de células CAR T fueron comparables entre grupos de pacientes con MCL con diferentes estados de marcadores de pronóstico asociados con un riesgo más bajo y más alto (definido por Ki-67 y TP53 mutado), consistente con tasas de respuesta clínica comparables. Hubo una tendencia hacia niveles más altos de marcadores proinflamatorios en pacientes con TP53 mutado.

[0301] El perfil farmacodinámico de la administración de células CAR T se asoció con la eficacia (estado de ERM en 1 mes) y eventos neurológicos de grado 4 emergentes del tratamiento. El paciente que desarrolló edema cerebral tuvo los niveles máximos de linfocitos T CAR e IL-2 sérica más altos, así como marcadores proinflamatorios elevados después del tratamiento.

EJEMPLO 5

[0302] Se realizó un estudio clínico de fase 2 de un solo brazo para una inmunoterapia de células T autólogas modificadas genéticamente dirigida a CD19 que trataba a pacientes con linfoma de células del manto (MCL) en recaída o refractario que habían recibido uno o más tratamientos previos (que pueden haber incluido un anticuerpo anti-CD20, quimioterapia que contenga antraciclina o bendamustina y/o un inhibidor de la tirosina quinasa de Bruton (BTKi) como ibrutinib o acalabrutinib). Los pacientes elegibles también tuvieron progresión de la enfermedad después de su último tratamiento o enfermedad refractaria a su tratamiento más reciente. El estudio excluyó a los pacientes con infecciones activas o graves, trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas (TCMH), células malignas detectables en el líquido cefalorraquídeo o metástasis cerebrales y cualquier historial de linfoma del sistema nervioso central (SNC) o trastornos del SNC.

[0303] Las células mononucleares de sangre periférica del paciente se obtuvieron mediante un procedimiento de leucocitaféresis. Las células mononucleares se enriquecieron para células T mediante la selección de células CD4 + y CD8 +, se activaron con anticuerpos anti-CD3 y anti-CD28 en presencia de IL-2, luego se transdujeron con un vector viral de replicación incompetente que contiene FMC63-28Z CAR, un receptor de antígeno quimérico

(CAR) que comprende un fragmento variable de cadena sencilla anti-CD19 (scFv), dominios CD28 y CD3-zeta. Sin estar ligado a ninguna hipótesis, la selección de células CD4+ y CD8+ puede haber reducido el potencial de células tumorales circulantes que expresan CD19 en el material de leucocitaféresis de los pacientes para ser incluido durante el proceso de fabricación *ex vivo*. El producto de células T de este proceso puede identificarse como KTE-X19. Las células T CAR anti-CD19 se expandieron, lavaron, formularon en una suspensión y se criopreservaron. Antes de recibir la terapia con células T con CAR anti-CD19, los pacientes fueron tratados con un régimen de quimioterapia de depleción linfográfica de ciclofosfamida 500 mg/m² por vía intravenosa y fludarabina 30 mg/m² por vía intravenosa en cada uno de los días quinto, cuarto y tercero antes de la infusión de CAR T -células; los pacientes también pueden haber recibido acetaminofén y difenhidramina u otro antihistamínico H1 aproximadamente 30 a 60 minutos antes de la infusión de células T CAR anti-CD19. Se evitó el uso profiláctico de corticosteroides sistémicos, ya que puede interferir con la actividad de las células T CAR.

[0304] La dosis diana fue 2×10^6 células T viables positivas para CAR o células T con CAR anti-CD19 por kg de peso corporal, con un máximo de 2×10^8 células T con CAR anti-CD19 (para pacientes de 100 kg y más) de células. 68 pacientes recibieron una sola infusión (por gravedad o una bomba peristáltica durante aproximadamente 30 minutos) de células T anti-CD19 CAR, y 60 de estos pacientes fueron seguidos durante al menos 6 meses después de su evaluación de la enfermedad en la Semana 4, calificándolos como de eficacia-evaluables. 56 pacientes recibieron 2×10^6 células T CAR anti-CD19 / kg; 1 paciente recibió una dosis de 1×10^6 células T CAR anti-CD19/kg, 1 paciente recibió una dosis de $1,6 \times 10^6$ células T CAR anti-CD19/kg, 2 pacientes recibieron una dosis de $1,8 \times 10^6$ células T CAR anti-CD19 células/kg, y -2 pacientes recibieron una dosis de $1,9 \times 10^6$ células T con CAR anti-CD19 / kg. De estos 60 pacientes, la mediana de edad fue de 65 años (rango: 38 a 79 años), 51 eran hombres y 56 eran blancos. 50 pacientes tenían enfermedad en estadio IV. Según el índice de pronóstico internacional simplificado del linfoma de células del manto (s-MIPI), 25 pacientes se clasificaron como de bajo riesgo, 25 pacientes se clasificaron como de riesgo intermedio, 8 pacientes se clasificaron como de alto riesgo y 2 pacientes tenían un estado de riesgo desconocido. Se realizaron exámenes de médula ósea de referencia a 20 pacientes por protocolo;

de estos, 10 fueron negativos, 8 positivos y 2 indeterminados. La mediana del número de terapias previas entre los 60 pacientes evaluables en cuanto a eficacia fue de 3 (rango: dos a cinco). 26 pacientes habían recaído después o eran refractarios al TCMH autólogo. 21 pacientes habían recaído después de su última terapia para MCL, mientras que 36 pacientes eran refractarios a su última terapia para MCL. 14 pacientes tenían MCL blastoide. Después de la leucocitafeuresis y antes de la infusión de linfocitos T con CAR anti-CD19, 21 pacientes recibieron terapia puente. 19 fueron tratados con BTKi, 14 pacientes fueron tratados con corticosteroides y 6 pacientes fueron tratados con BTKi y corticosteroides. 53 pacientes recibieron un régimen de quimioterapia de depleción linfoide de 500 mg/m² de ciclofosfamida por vía intravenosa y 30 mg/m² de fludarabina por vía intravenosa, ambos administrados en cada uno de los días quinto, cuarto y tercero antes de la terapia con CAR T anti-CD19 (día 0). Los 7 pacientes restantes recibieron la misma dosis de quimioterapia linfodeplectora durante 4 o más días antes de la terapia con CAR T. El criterio principal de valoración de la tasa de respuesta objetiva (TRO) en los pacientes se muestra en la Tabla 12. La mediana del tiempo de respuesta fue de 28 días (rango: 24 a 92 días) con una mediana de seguimiento de 12,3 meses. Veintiocho pacientes tuvieron un seguimiento potencial durante ≥ 24 meses y doce de estos pacientes permanecieron en remisión. La eficacia se estableció en función de la respuesta completa y la duración de la respuesta (DOR).

[0305] Tabla 12

	Eficacia-evaluables Pacientes N = 60	Pacientes con leucocitaféresis N = 74
Tasa de respuesta		
Tasa de respuesta objetiva (ORR) [95% CI]	52 [75, 94]	59 [69, 88]

Tasa de remisión completa (CR) [95% CI]	37 [48, 74]	41 [43, 67]
Tasa de remisión parcial (PR) [95% CI]	15 [15, 38]	18 [15, 36]
Duración de la respuesta (DOR) ^a		
Mediana en meses [CI del 95%] Rango en meses	NR [8.6, NE] 0.0 ^b , 29.2 ^b	NR [11.8, NE] 0.0 ^b , 29.2 ^b
DOR, si la mejor respuesta es Cr, mediana en meses [CI 95%] Rango en meses	NR [13.6, NE] 1.9 ^b , 29.2 ^b	NR [13.6, NE] 0.0 ^b , 29.2 ^b
DOR, si la mejor respuesta es PR, mediana en días [IC 95%] Rango en meses	2.2 [1.5, 5.1] 0.0 ^b , 22.1 ^b	4.2 [1.5, 5.1] 0.0 ^b , 22.1 ^b
Mediana de seguimiento para DOR en meses	8.6	8.1

CI: intervalo de confianza; NE, no estimable; NR, no alcanzado; PR, remisión parcial.

- a. Entre todos los que respondieron. El DOR se mide desde la fecha de la primera respuesta objetiva hasta la fecha de progresión o muerte.

b. Un valor censurado.

Se observó CRS (síndrome de liberación de citocinas) en 75 de 82 pacientes, incluyendo CRS de grado ≥ 3 (sistema de clasificación Lee1) en 15 de 82 pacientes. La mediana de tiempo hasta la aparición de CRS fue de 3 días (rango: 1 a 13 días) y la duración mediana de CRS fue de 10 días (rango: 1 a 50 días). Entre los pacientes con SRC, las manifestaciones clave (es decir, manifestaciones que ocurrieron en $> 10\%$ de los pacientes) incluyeron fiebre (99% de los pacientes), hipotensión (60% de los pacientes), hipoxia (37% de los pacientes), escalofríos (33% de los pacientes), taquicardia (37% de los pacientes), dolor de cabeza (24% de los pacientes), fatiga (19% de los pacientes), náuseas (13% de los pacientes), aumento de la alanina aminotransferasa (13% de los pacientes), aumento de la aspartato aminotransferasa (12% de los pacientes) y diarrea (11% de los pacientes). Los eventos graves asociados con el CRS incluyeron hipotensión, fiebre, hipoxia, lesión renal aguda y taquicardia. En respuesta al CRS, los pacientes pueden haber recibido tocilizumab y / o corticosteroides según las indicaciones de la Tabla 13.

Tabla 13

Grado CRS^a	Tocilizumab	Corticosteroides
Grado 1 Los síntomas solo requieren tratamiento sintomático (por ejemplo, fiebre, náuseas, fatiga, dolor de cabeza, mialgia, malestar).	Si no mejora después de 24 horas, administre tocilizumab ^c 8 mg / kg por vía intravenosa durante 1 hora (sin exceder los 800 mg). (para otros cánceres, esto puede no ser aplicable)	No aplica.

Grado 2 Los síntomas requieren y responden a una intervención moderada. Requerimiento de oxígeno inferior al 40% de FiO₂ o hipotensión en respuesta a líquidos o dosis bajas de un vasopresor o toxicidad orgánica de grado 2^b.	Administre tocilizumab 8 mg / kg por vía intravenosa durante 1 hora (sin exceder los 800 mg). Repita tocilizumab cada 8 horas según sea necesario si no responde a los líquidos intravenosos o al aumento de oxígeno suplementario. Límite a un máximo de 3 dosis en un período de 24 horas; máximo total de 4 dosis si no hay mejoría clínica en los signos y síntomas del CRS. Si mejora, suspenda el tocilizumab.	Manejar según el Grado 3 si no hay mejoría dentro de las 24 horas posteriores al inicio del tocilizumab. Si mejora, reduzca los corticosteroides.
Grado 3 Los síntomas requieren y responden a una intervención agresiva. Requerimiento de oxígeno mayor o igual al 40% de FiO₂ o hipotensión que requiera dosis altas o vasopresores múltiples o toxicidad orgánica de grado 3 o transaminitis de grado 4.	Por grado 2	Administre 1 mg / kg de metilprednisolona por vía intravenosa dos veces al día o dexametasona equivalente (p. Ej., 10 mg por vía intravenosa cada 6 horas) hasta Grado 1, luego disminuya los corticosteroides. Si está mejorando, administre como Grado 2. Si no está mejorando, administre como Grado 4.
Grado 4 Síntomas potencialmente mortales. Requisitos de asistencia respiratoria o hemodiálisis	Por grado 2	Administrar 1000 mg de metilprednisolona por vía intravenosa al día durante 3 días. Si mejora, reduzca los corticosteroides y

veno-venosa continua (CVVHD), o toxicidad orgánica de grado 4 (excluyendo transaminitis).		maneje como Grado 3. Si no mejora, considere la posibilidad de inmunosupresores alternativos.
---	--	---

- a. Lee DW et al (2014). Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome. Blood. 2014 Jul 10; 124(2): 188-195.
- b. Consulte la **Tabla 14** para el manejo de la toxicidad neurológica.
- c. Consulte la información de prescripción de tocilizumab para obtener más detalles.

[0306] Se observaron acontecimientos neurológicos en 53 pacientes, 20 de los cuales experimentaron reacciones adversas de Grado 3 o superior (graves o potencialmente mortales). La mediana de tiempo hasta el inicio de los eventos neurológicos fue de 6 días (rango: 1 a 32 días). Los eventos neurológicos se resolvieron en 52 de 66 pacientes con una duración media de 21 días (rango: 2 a 454 días). 3 pacientes tenían eventos neurológicos en curso en el momento de la muerte, incluido 1 paciente con encefalopatía grave. Los eventos neurológicos restantes sin resolver fueron de Grado 1 o de Grado 2. 54 pacientes experimentaron CRS al inicio de los eventos neurológicos. 5 pacientes no experimentaron CRS con eventos neurológicos y 8 pacientes desarrollaron eventos neurológicos después de la resolución de CRS. 56 pacientes experimentaron el primer SRC o evento neurológico dentro de los siete días posteriores a la infusión de células T con CAR anti-CD19.

[0307] Los eventos neurológicos más comunes (que ocurren en > 10% de los pacientes) incluyeron encefalopatía (51% de los pacientes), dolor de cabeza (35% de los pacientes), temblor (38 de los pacientes afasia (23% de los pacientes) y delirio (16% de los pacientes). Después del tratamiento se produjeron acontecimientos graves como encefalopatía, afasia y convulsiones. Algunas reacciones adversas observadas en al menos el diez por ciento de los pacientes tratados incluyeron: Trastornos de la sangre y del sistema linfático (coagulopatía, trastornos cardíacos, Taquicardias, bradicardias, arritmias no ventriculares); trastornos

gastrointestinales (náuseas, estreñimiento, diarrea, dolor abdominal, dolor oral, vómitos, disfagia); trastornos generales y afecciones en el lugar de administración (pirexia, fatiga, escalofríos, edema, dolor); Trastornos sistema inmunológico (síndrome de liberación de citoquinas, hipogammaglobulinemia); infecciones e infestaciones (infección - patógeno no especificado, infecciones virales, infecciones bacterianas); trastornos del metabolismo y de la nutrición (disminución del apetito), trastornos musculoesqueléticos y del tejido conjuntivo (dolor musculoesquelético, disfunción motora); Trastornos del sistema nervioso (encefalopatía, temblor; dolor de cabeza, afasia, mareos, neuropatía); Trastornos psiquiátricos (insomnio, delirio, ansiedad); Trastornos renales y urinarios (insuficiencia renal, disminución de la producción de orina); Trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos (hipoxia, tos, disnea, derrame pleural); Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo (erupción); y trastornos vasculares (hipotensión, hipertensión, trombosis). Los pacientes que experimentan toxicidades neurológicas de Grado 2 o superiores pueden haber sido tratados según las indicaciones que se muestran en la Tabla 14.

[0308] Tabla 14

Evaluación de calificaciones ^a	CRS concurrente	Sin CRS concurrente
Grado 2	Administre tocilizumab según la Tabla 13 para el manejo del CRS de Grado 2. Si no mejora dentro de las 24 horas posteriores al inicio de tocilizumab, administre dexametasona 10 mg por vía intravenosa cada 6 horas hasta que el evento sea de Grado 1 o menos, luego disminuya los corticosteroides. Si aún no está mejorando, administre como Grado 3.	Administre 10 mg de dexametasona por vía intravenosa cada 6 horas hasta que el evento sea de Grado 1 o menos, luego disminuya los corticosteroides.

	Considere medicamentos anticonvulsivos no sedantes (por ejemplo, levetiracetam) para la profilaxis de las convulsiones.	
Grado 3	Administre tocilizumab según la Tabla 13 para el manejo del CRS de Grado 2. Además, administre dexametasona 10 mg por vía intravenosa con la primera dosis de tocilizumab y repita la dosis de dexametasona cada 6 horas. Continúe usando dexametasona hasta que el evento sea de Grado 1 o menos, luego disminuya los corticosteroides. Si mejora, suspenda el tocilizumab y trátelo como Grado 2. Si aún no está mejorando, administre como Grado 4 (abajo).	Administre dexametasona 10 mg por vía intravenosa cada 6 horas. Continúe usando dexametasona hasta que el evento sea de Grado 1 o menos, luego disminuya los corticosteroides. Si no está mejorando, administre como Grado 4.
	Considere medicamentos anticonvulsivos no sedantes (por ejemplo, levetiracetam) para la profilaxis de las convulsiones.	
Grado 4	Administre tocilizumab según la Tabla 13 para el manejo del CRS de Grado 2. Administre 1000 mg de metilprednisolona por vía intravenosa por día con la primera dosis de tocilizumab y continúe con 1000 mg de metilprednisolona por vía intravenosa por día durante 2 días más. Si está mejorando, gestione como Grado 3. Si no mejora, considere la	Administrar 1000 mg de metilprednisolona por vía intravenosa al día durante 3 días. Si está mejorando, gestione como Grado 3. Si no mejora, considere la posibilidad de inmunosupresores alternativos.

	posibilidad de inmunosupresores alternativos.	
	Considere medicamentos anticonvulsivos no sedantes (por ejemplo, levetiracetam) para la profilaxis de las convulsiones.	

- a. Gravedad basada en criterios de terminología común para eventos adversos.

[0309] Después de la infusión de células T CAR anti-CD19, se evaluaron las respuestas farmacodinámicas durante un intervalo de cuatro semanas midiendo la elevación transitoria de citocinas, quimiocinas y otras moléculas en sangre. Se analizaron los niveles de IL-6, IL-8, IL-10, IL-15, TNF- α , IFN- γ y/o sIL2R α . La elevación máxima de estos niveles de citocinas se observó generalmente entre 4 y 8 días después de la infusión, y los niveles generalmente regresaron a los valores iniciales en 28 días. Se esperaba un período de aplasia de células B. Después de la infusión, una expansión inicial de las células T con CAR anti-CD19 fue seguida por una disminución a niveles cercanos a la línea de base a los 3 meses. Los niveles máximos de células T con CAR anti-CD19 se produjeron dentro de los primeros 7 a 15 días después de la infusión. Los resultados mostraron que los niveles de células T con CAR anti-CD19 en sangre se asociaron con una respuesta objetiva (es decir, remisión completa (RC) o remisión parcial (PR)). La mediana del nivel máximo de células T con CAR anti-CD19 en los respondedores (aquellos con remisión completa y remisión parcial) fue de 102,4 células / μ l (rango: 0,2 a 2589,5 células / μ l; n = 51), y en los que no respondieron fue de 12,0 células / μ l (rango: 0,2 a 1364,0 células / μ L, n = 8). La mediana del AUC día 0-28 (AUC₀₋₂₈) en pacientes con una respuesta objetiva fue 1487,0 células / μ L • días (rango: 3,8 a 2,77 x 10⁴ células / μ L • días; n = 51) y 169,5 células / μ L • días en no respondedores (rango: 1.8 a 1.17 10 x 10⁴ células / μ L • días; n

= 8). La mediana del pico (24,7 células / μL) de linfocitos T CAR anti-CD19 (pico: y niveles de AUC_{0-28} (360,4 células / $\mu\text{L} \cdot \text{días}$) en pacientes ($n = 18$) que no recibieron ni corticosteroides ni tocilizumab fue similar a los de los pacientes ($n = 2$) que recibieron solo corticosteroides (pico: 24,2 células / μL ; AUC_{0-28} : 367,8 células / $\mu\text{L} \cdot \text{días}$). En los pacientes que recibieron solo tocilizumab ($n = 10$), el pico medio de CAR T anti-CD19 células fue 86,5 células / μL y AUC_{0-28} fue 1188,9 células / $\mu\text{L} \cdot \text{días}$. En los pacientes que recibieron tanto corticosteroides como tocilizumab ($n = 37$), el pico medio fue 167,2 células / μL y AUC_{0-28} fue 1996,0 células / $\mu\text{L} \cdot \text{días}$. La mediana de los valores máximos de células T con CAR anti-CD19 fue 74,1 células / μL en pacientes ≥ 65 años ($n = 39$) y 112,5 células / μL en pacientes <65 años ($n = 28$). Los valores de AUC_{0-28} de células T con CAR anti-CD19 fueron 876,5 células/ $\mu\text{L} \cdot \text{día}$ en pacientes ≥ 65 años y 1640,2 células/ $\mu\text{L} \cdot \text{día}$ en pacientes <65 años. El sexo no tuvo un impacto significativo en el AUC_{0-28} y C_{max} de células T CAR anti-CD19.

EJEMPLO 6

[0310] Los pacientes con MCL que progresan después de la terapia con BTKi tienen una supervivencia global media de solo 5,8 meses con las terapias de rescate. ZUMA-2 (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02601313) es un estudio multicéntrico de registro de fase 2 de pacientes con MCL R/R después de 1 a 5 terapias previas, incluido un BTKi. A los pacientes se les administró una terapia autóloga de células T con receptor de antígeno quimérico (CAR) anti-CD19, preparada y administrada como se describe en el EJEMPLO 5. Este producto de células T con CAR anti-CD19 puede denominarse KTE-X19. En el análisis primario de ZUMA-2 ($N = 60$), la tasa de respuesta objetiva (TRO) con el tratamiento con células T con CAR anti-CD19 (seguimiento medio de 12,3 meses) fue del 93% (tasa de respuesta completa [CR] del 67%). Este Ejemplo describe un análisis comparativo del perfil farmacológico del tratamiento de células T con CAR anti-CD19 preparado como se describe en el EJEMPLO 5 y los resultados por morfología de MCL y exposición previa a BTKi (ibrutinib [Ibr] y/o acalabrutinib [Acala]), acompañado de Caracterización de atributos básicos del producto.

[0311] Los pacientes elegibles con MCL R/R se sometieron a leucoféresis y quimioterapia de acondicionamiento seguido de una única infusión de 2×10^6 células T CAR

anti-CD19/kg. Los atributos del producto (p. Ej., Producción de IFN γ por las células T con CAR anti-CD19 tras el cocultivo con células CD19 +), los niveles de células T con CAR en sangre y los niveles de citocinas en suero se evaluaron usando métodos descritos anteriormente (ver EJEMPLOS anteriores). Los resultados clínicos se informan en los 60 pacientes con evaluación de eficacia; Los atributos del producto y los datos farmacológicos se informan para los 68 pacientes tratados.

[0312] Al inicio del estudio, 40 pacientes (59%) tenían MCL clásico, 17 (25%) tenían MCL blastoide y 4 (6%) tenían MCL pleomórfico, según lo evaluado por el investigador. Antes del ingreso al estudio, 52 pacientes (76%) tenían Ibr previa, 10 (15%) tenían Acala antes y 6 (9%) tenían ambos; El 88% tenía enfermedad refractaria a BTKi. En el producto fabricado anti-CD19 CAR T, la mediana (rango) de las proporciones de linfocitos T CD4 + / CD8 + para pacientes con MCL clásico, blastoide o pleomórfico fue 0,7 (0,04 - 2,8), 0,6 (0,2 - 1,1) o 0,7 (0,5 - 2,0), respectivamente. Los fenotipos de células T producto (mediana [rango]) incluían células T CCR7 + menos diferenciadas (40,0% [2,6 - 88,8] clásicas; 35,3% blastoides [14,3 - 73,4]; 80,8% pleomórficas [57,3 - 88,8]) y CCR7 de memoria efectora y efectora - Células T (clásicas 59,9% [11,1 - 97,4]; blastoides 64,8% [26,6 - 85,7]; pleomórficas 19,2% [11,1 - 42,7]). Los niveles medios (rango) de interferón (IFN) - γ por cocultivo en pacientes con MCL clásico, blastoide o pleomórfico fueron 6309.5 pg/mL (424.0 - 20,000), 6510.0 pg/mL (2709.0 - 18,000) o 7687.5 pg / mL (424,0 - 12.000), respectivamente. En pacientes con MCL clásico, blastoide o pleomórfico, la mediana (rango) de los niveles máximos de células T con CAR fue 77,6 células / μ L (0,2 - 2241,6), 35,0 células / μ L (0,2 - 2589,5) o 144,9 células / μ L (39,2 - 431,3), respectivamente. Las tasas de ORR / CR fueron del 93% / 65% en pacientes con MCL clásico, 88% / 53% en aquellos con MCL blastoide y 100% / 75% en aquellos con MCL pleomórfico. Las tasas de supervivencia a 12 meses en pacientes con MCL clásico, blastoide o pleomórfico fueron 86,7%, 67,9% o 100%, respectivamente. El síndrome de liberación de citocinas (CRS) de grado ≥ 3 y los eventos neurológicos ocurrieron en el 15% y el 38% de los pacientes con MCL clásico, el 6% y el 8% de los pacientes con MCL blastoide y el 25% y 50% de los pacientes con MCL pleomórfico.

[0313] Para los pacientes que recibieron Ibr, Acala o ambos previamente, las proporciones medias de células T CD4 + / CD8 + en el producto de células T CAR anti-CD19 fabricado fueron 0,7 (rango, 0,04 - 3,7), 0,6 (rango, 0,3 - 1,2) o 1.0 (rango, 0.7 - 1.9), respectivamente. Los fenotipos de células T producto (mediana [rango]) incluían células T CCR7 + menos diferenciadas (Ibr 39,3% [2,6 - 86,4]; Acala 42,7% [16,3 - 88,8]; ambos 49,5% [14,3 - 83,0]) y CCR7- efector y efector células T de memoria (Ibr 60,6 [13,7 - 97,4]; Acala 57,3% [11,1 - 83,8]; ambos 50,6% [17,0 - 85,7]). La mediana (rango) de los niveles de IFN- γ por cocultivo en pacientes con Ibr anterior, Acala o ambos fue 6496.0 pg/mL (424.0 - 20,000), 5972.5 pg/mL (2502.0 - 18,000) o 7985.5 pg/mL (2709.0 - 12.000), respectivamente. Para los pacientes con Ibr, Acala o ambos previos, la mediana (rango) de los niveles máximos de linfocitos T con CAR fue 95,9 (0,4 - 2589,5), 13,7 (0,2 - 182,4) o 115,9 (17,2 - 1753,6), respectivamente. Las tasas de ORR / CR fueron 94% / 65% en pacientes con Ibr previa, 80% / 40% en pacientes con Acala previa y 100% / 100% en pacientes con ambos BTKis. Las tasas de supervivencia a 12 meses en pacientes con Ibr previa, Acala o ambos fueron del 81%, 80% o 100%, respectivamente. Se produjeron reacciones neurológicas y CRS de grado ≥ 3 en el 17% y el 31% de los pacientes con Ibr previa, el 10% y el 10% de los pacientes con Acala y el 0 y el 67% de los pacientes con ambos BTKis. Si bien los niveles de células T con CAR después del tratamiento fueron más bajos en pacientes con morfología blastoide o tratados previamente con Acala solo, reflejados por tendencias similares en los resultados clínicos, todos los subgrupos definidos por la morfología del MCL o BTKi previo obtuvieron beneficios clínicos del tratamiento con células T con CAR anti-CD19.

EJEMPLO 7

[0314] Este EJEMPLO proporciona un análisis actualizado de eficacia, seguridad y farmacología para todos los pacientes en ZUMA-2 con un seguimiento mínimo de 1 año. Los pacientes elegibles con MCL R/R se sometieron a leucaféresis y quimioterapia de acondicionamiento seguida de una única infusión de terapia de células T con CAR anti-CD19 (2×10^6 células T con CAR/kg) como se describe en los EJEMPLOS anteriores. El criterio de valoración principal fue ORR (CR + respuesta parcial) según lo evaluado por un Comité de Revisión Independiente de acuerdo con la Clasificación de Lugano. Los datos de eficacia se

informan para los 60 pacientes tratados con ≥ 1 año de seguimiento; Se presentan datos de seguridad para los 68 pacientes tratados.

[0315] La mediana de seguimiento fue de 17,5 meses (rango, 12,3 - 37,6). La ORR fue del 92% (IC del 95%, 81,6 - 97,2), con una tasa de RC del 67% (IC del 95%, 53,3 - 78,3). De todos los pacientes evaluables por eficacia, el 48% tenía respuestas continuas al corte de los datos. No se alcanzaron las medianas para la duración de la respuesta, la supervivencia libre de progresión (SLP) o la supervivencia general; Las estimaciones a 15 meses fueron 58,6% (IC del 95%, 42,5 - 71,7), 59,2% (IC del 95%, 44,6 - 71,2) o 76,0% (IC del 95%, 62,8 - 85,1), respectivamente. En los pacientes que alcanzaron una RC, no se alcanzó la mediana de SLP (tasa a los 15 meses, 75,1% [IC del 95%, 56,8 - 86,5]); en aquellos que lograron una respuesta parcial, la mediana de SLP fue de 3,1 meses (IC del 95%, 2,3 - 5,2). La mediana de SLP fue de 1,1 meses (IC del 95%, 0,9 - 3,0) en los pacientes que no respondieron. Los primeros 28 pacientes tratados tuvieron una mediana de seguimiento de 32,3 meses (rango, 30,6 - 37,6); El 39,3% de estos pacientes permanecieron en remisión continua sin terapia adicional.

[0316] Los eventos adversos de grado ≥ 3 comunes fueron neutropenia (85%), trombocitopenia (53%), anemia (53%) e infecciones (34%). Se notificaron citopenias de grado ≥ 3 en el 60% de los pacientes ≥ 30 días después de la infusión. El síndrome de liberación de citocinas de grado ≥ 3 ocurrió en el 15% de los pacientes; El 59% recibió tocilizumab para el manejo del SRC. Se notificaron eventos neurológicos (NE) de grado ≥ 3 en el 31% de los pacientes y el 38% recibió esteroides para el tratamiento de la NE. Se resolvieron todos los eventos de CRS y la mayoría de los NE (37/43). No hubo eventos de SRC de Grado 5 o NE, y no ocurrieron nuevos eventos de Grado 5 con un seguimiento adicional. Hubo 2 casos de infección por citomegalovirus de grado 2, 1 caso de hipogammaglobulinemia de grado ≥ 3 y síndrome de lisis tumoral de grado ≥ 3 , y ningún caso de linfoproliferación asociada al virus de Epstein-Barr, retrovirus con capacidad de replicación, linfohistiocitosis hemofagocítica o Cánceres secundarios relacionados con las células T con CAR anti-CD19.

[0317] La mediana de los niveles máximos de células T con CAR y la mediana del área bajo la curva (días 0-28) fueron 98,9 células / μl (rango, 0,2 - 2565,8) y 1394,9 células / μl

(rango, 3,8 - 27,700) en pacientes con respuestas en curso. a los 12 meses, 202,6 células / μ L (rango, 1,6 - 2589,5) y 2312,3 células / μ L (rango, 19,0 - 27,200) en pacientes que recayeron a los 12 meses, y 0,4 células / μ L (rango, 0,2 - 95,9) y 5,5 células / μ L (rango, 1.8 - 1089.1) en no respondedores. De los 57 pacientes de eficacia evaluable con datos disponibles, el 84% tenía células B detectables mediante citometría de flujo al inicio del estudio. De aquellos en respuestas en curso a los 12 meses, 10 de 26 pacientes (38%) con muestras evaluables tenían células B detectables a los 3 meses, y 10 de 18 (56%) tenían células B detectables a los 12 meses; Las células T CAR marcadas con genes ya no eran detectables a los 12 meses en 5 de 28 pacientes evaluables (17%). El estudio ZUMA-2 continúa mostrando un beneficio clínico sustancial y duradero de la terapia de células T con CAR anti-CD19 con una seguridad manejable en pacientes con MCL R / R. Dentro de esta población de pacientes, que carecía de opciones de tratamiento curativo, la mayoría de los pacientes lograron una RC duradera y no se informaron nuevas señales de seguridad. Aunque la expansión temprana de las células CAR T fue mayor en los pacientes que lograron una respuesta objetiva, los que posteriormente recayeron mostraron niveles elevados de células CAR T que apuntan a mecanismos alternativos de fracaso del tratamiento secundario en el LCM.

EJEMPLO 8

[0318] Aunque aproximadamente el 80-85% de los pacientes con LLA logran remisiones completas (RC) duraderas después del tratamiento inicial, el 15-20% restante de los pacientes con LLA en recaída o refractaria (R / R) tienen resultados desfavorables con un período de 2 años. supervivencia libre de eventos de% 40% en pacientes con enfermedad recidivante. Una terapia de células T con CAR anti-CD19 preparada como se describe anteriormente mostró altas tasas de respuestas completas, con un perfil de seguridad manejable para pacientes adultos con linfoma de células B R/ R (ver EJEMPLOS anteriores). En particular se, por ejemplo, Ejemplo 5). ZUMA-4 (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02625480) es un estudio de fase 1/2 que evalúa esta terapia de células T con CAR anti-CD19 en pacientes pediátricos y adolescentes con LLA de células R / R B o LNH. El análisis intermedio al final de la fase 1 de ZUMA-4 mostró la viabilidad de la terapia de células T con CAR anti-CD19 con estrategias de administración de dosis optimizadas y eventos adversos (EA) para el tratamiento

de pacientes pediátricos con LLA R / R. El protocolo para la Fase 2 de ZUMA-4 se modificó para incluir criterios más amplios de inscripción de LLA de células B con un enfoque en pacientes con recaída temprana asociada con peores resultados, y se agregó una cohorte de LNH.

[0319] Los criterios clave de inclusión de LLA de células B incluyeron edad ≤ 21 años, peso ≥ 10 kg y LLA de células B que era refractaria primaria, recaída dentro de los 18 meses del primer diagnóstico, R / R después de ≥ 2 líneas de terapia sistémica, o R / R después del trasplante alogénico de células madre al menos 100 días antes de la inscripción. La LLA de células B también fue LLA de células precursoras B R / R después del autotrasplante de células madre al menos 100 días antes de la inscripción y sin medicamentos inmunosupresores durante ≥ 4 semanas. El estado funcional de Lansky (edad <16 años) o Karnofsky (edad ≥ 16 años) fue PS ≥ 80 , peso ≥ 6 kg. Los pacientes elegibles incluyeron pacientes con enfermedad del SNC-1, pacientes con enfermedad del SNC-2 sin cambios neurológicos clínicamente evidentes y pacientes con $> 5\%$ de blastos de BM o enfermedad con ERM positiva (umbral 10-4 por flujo o PCR). La enfermedad del SNC-1 se definió por la ausencia de linfoblastos detectables en el LCR; La enfermedad del SNC-2 se definió por una enfermedad detectable y un recuento de glóbulos blancos $<5/\mu\text{L}$ en el LCR. La enfermedad del SNC-3 se definió por WBC $\geq 5 / \mu\text{L}$ en LCR. Los criterios para la carga de morbilidad se habían modificado para incluir también a los pacientes con enfermedad mínima residual positiva en el momento de la inscripción. Los pacientes con LLA positiva para el cromosoma Filadelfia eran elegibles si eran intolerantes a la terapia con inhibidores de tirosina quinasa o si R/R después de ≥ 2 terapias con inhibidores de tirosina quinasa. También se incluyeron pacientes con blinatumomab previo. Los pacientes con leucemia mielógena crónica crisis blástica linfoide o infecciones clínicamente significativas no fueron elegibles. Los pacientes con leucemia/linfoma de Burkitt tampoco fueron elegibles.

[0320] Para el LNH de células B, los criterios clave de inscripción incluyeron edad <18 años, peso ≥ 10 kg, linfoma difuso de células B grandes confirmado histológicamente no especificado de otra manera (DLBCL NOS), linfoma mediastínico primario de células B grandes, linfoma de Burkitt (BL), Linfoma tipo Burkitt o linfomas de células B no clasificados intermedios entre LDCBG y BL, con ≥ 1 lesión medible. Para el LNH, la enfermedad debe haber sido refractaria primaria, R/R después de ≥ 2 líneas de terapia sistémica, o R/R después de un

trasplante autólogo o alogénico de células madre ≥ 100 días antes de la inscripción. Los pacientes deben haber estado sin medicamentos inmunosupresores durante ≥ 4 semanas. El estado funcional de Lansky (edad <16 años) o Karnofsky (edad ≥ 16 años) fue PS ≥ 80 , peso ≥ 6 kg. También se incluyeron pacientes con blinatumomab previo. Los pacientes deben haber recibido una terapia previa adecuada, con un mínimo de mAb anti-CD20 y quimioterapia que contenga antraciclina y tener una o más lesiones medibles. Los pacientes con enfermedad injerto contra huésped aguda o enfermedad injerto contra huésped crónica que requirieran tratamiento dentro de las 4 semanas posteriores a la inscripción no fueron elegibles. Se excluyó a los pacientes con terapia previa con células T con CAR u otra terapia con células T modificadas genéticamente, aunque los pacientes que recibieron KTE-X19 en este estudio fueron elegibles para un nuevo tratamiento. También se excluyeron los pacientes con afectación de linfoma cardíaco o que requirieran tratamiento urgente debido a los efectos de la masa tumoral. La exclusión adicional de las cohortes de LLA y LNH incluyó: pacientes con infección clínicamente significativa; pacientes con EICH aguda o crónica que requieran tratamiento en las 4 semanas posteriores a la inscripción Alemtuzumab (u otro anticuerpo anti-CD52) en los últimos 6 meses, clofarabina o cladribina en los últimos 3 meses, PEG-asparaginasa en las últimas 3 semanas o infusión de leucocitos de donante (DLI) en los últimos 28 días.

[0321] Se excluyeron los pacientes con afectación del SNC y determinadas anomalías. Pacientes con enfermedad del sistema nervioso central-1 (sin linfoblastos detectables en el líquido cefalorraquídeo), enfermedad del sistema nervioso central-2 (enfermedad detectable, pero recuento de glóbulos blancos $<5/\mu\text{L}$ en líquido cefalorraquídeo) con presencia de linfoblastos y con síntomas neurológicos y sin Los cambios neurológicos clínicamente evidentes que recibieron tratamiento previo con blinatumomab pueden haberse incluido en las cohortes de LLA y LNH. Pacientes con presencia de linfoblastos y con síntomas neurológicos, enfermedad del sistema nervioso central-3 (WBC $\geq 5 / \mu\text{L}$ en LCR) enfermedad con presencia de linfoblastos con o sin síntomas neurológicos, pacientes con cualquier masa tumoral del SNC por imagen y / o masa parameningea, antecedentes o presencia de cualquier trastorno del SNC como isquemia / hemorragia cerebrovascular, demencia, enfermedad cerebelosa o cualquier enfermedad autoinmune con afectación del SNC, síndrome de encefalopatía posterior reversible o edema cerebral con defectos estructurales, antecedentes de accidente cerebrovascular o ataque

isquémico transitorio en los últimos 12 meses y se excluyeron los trastornos convulsivos que requerían medicación anticonvulsiva activa. Se excluyeron los pacientes con terapia previa dirigida a CD19, excepto para blinatumomab.

[0322] Los pacientes recibieron quimioterapia de acondicionamiento con fludarabina 25 mg/m² los días -4, -3 y -2 y ciclofosfamida 900 mg/m² el día -2 seguido de una única infusión de células T con CAR anti-CD19 a una dosis objetivo. de 1×10^6 células T con CAR anti-CD19 / kg el día 0. Para la LLA, el objetivo principal de la Fase 2 fue evaluar la eficacia de las células T con CAR anti-CD19 según la tasa de RC general (RC y RC con recuperación hematológica incompleta). Para el LNH, el objetivo principal de la Fase 2 fue evaluar la eficacia de la terapia de células T con CAR anti-CD19 mediante la tasa de respuesta objetiva (CR + respuesta parcial). Los objetivos secundarios de la Fase 2 para las cohortes de LLA y LNH incluyeron seguridad y tolerabilidad, criterios de valoración de eficacia adicionales y cambios en las puntuaciones de resultado informadas por el paciente.

[0323] El tratamiento de células T con CAR usado en este estudio se describió en ejemplos anteriores, como el Ejemplo 5 (también conocido como KTE-X19), que es una terapia autóloga de células T con CAR anti-CD19 para el tratamiento del manto R / R linfoma de células y otras neoplasias hematológicas R/R. Las PBMC de un producto de aféresis se enriquecen en células T mediante selección positiva de CD4 + / CD8 + que da como resultado la eliminación de células malignas. Las células T resultantes se activan con anticuerpos anti-CD3/anti-CD28 en presencia de IL-2, transducidas retrovéricamente para introducir la construcción del gen anti-CAR (FMC63-28Z CAR) y expandidas a la dosis deseada. Las células T expandidas pueden congelarse para su transporte y enviarse de regreso al paciente para su infusión. Axicabtagene ciloleucel se prepara mediante un método diferente como se describe en, por ejemplo, Park J.H. et al. *N Engl J Med.* 2018;378(5):449-459; y Lee D.W. et al. *Lancet.* 2015;385(9967):517-528. En pacientes adultos con R/R B-ALL, el tratamiento con KTE-X19 mejoró la tasa de RC, la tasa de RCi o el perfil de seguridad en la Fase 1. Shah BD, et al. *J Clin Oncol.* 2019;37(suppl, abstr):7006.

[0324] Durante la evaluación de DLT en la Fase 1, la dosis inicial fue de 2×10^6 células T CAR anti-CD19 / kg. La DLT se definió como EA no hematológicos de grado 3 que duraron > 7 días y EA no hematológicos de grado 4 independientemente de la duración, con excepciones especificadas por el protocolo, o EA hematológicos de grado 4 que duraron > 30 días. También se examinó la dosis de 1×10^6 células CAR-T en un volumen de 68 ml o en un volumen de 40 ml. Los pacientes que recibieron la cohorte de 40 ml, 1×10^6 recibieron tratamiento de EA modificado. Según los datos disponibles, en la Fase 2 se utilizó 1×10^6 células/kg en 40 ml. Los resultados del estudio de Fase 1 mostraron 94% de ERM-negatividad y 73% de CR + Cri se observaron en pacientes pediátricos y adolescentes con R / R B-ALL. Los resultados también mostraron un perfil de EA manejable consistente con toxicidades conocidas, y menor incidencia y severidad de NE con formulación de dosis optimizada y manejo de seguridad revisado. Wayne AS, et al. *Pediatr Blood Cancer*. 2019;66(suppl):S24.

[0325] En la Fase 2, los pacientes fueron seleccionados y sometidos a leucocitaféresis seguida de quimioterapia de acondicionamiento comenzando en el Día -4. La terapia puente puede haberse administrado después de la leucocitaféresis a discreción del investigador y tuvo que completarse ≥ 7 días o 5 vidas medias antes de acondicionar la quimioterapia. KTE-X19 se infundió en el día 0. La primera evaluación de la enfermedad se realizó el día 28. La evaluación posterior al tratamiento de la seguridad y la eficacia se realizó en la semana 2, la semana 4, el mes 2 y el mes 3. Se realiza un seguimiento de los pacientes cada 3 meses hasta el mes 18 y cada 6 meses entre los meses 24 y 60. A partir del año 6, los pacientes regresan una vez al año durante un máximo de 15 años. Se inscribieron un total de 50 pacientes con LLA R / R y 16 pacientes con LNH R / R con la formulación de 40 ml de 1×10^6 células KTE-X19 / kg. Los pacientes en la fase 2 del estudio actual incluyeron también una cohorte de LNH y ampliaron los criterios de inscripción para R / R B-ALL para incluir a pacientes con una primera recaída temprana, que se asoció con peores resultados, así como a pacientes con enfermedad con ERM positiva. El objetivo principal fue la eficacia evaluada por la tasa de RC global (RC y Cri) para ALL y por ORR (RC + PR) para NHL. Los objetivos secundarios incluyeron la evaluación de seguridad, tolerabilidad, DOR, SG, supervivencia sin recaídas (SLR) / supervivencia sin progresión (SLP) y resultados informados por el paciente (PRO). Para ALL, los objetivos secundarios adicionales incluyeron la evaluación de la tasa de MRD negativa y la tasa de alo-

SCT. Para la tasa de RC general (solo la cohorte de ALL), se determinarán la incidencia y los IC del 95% exactos de ambos lados. Se comparará con una tasa de respuesta del 35% a un nivel α unilateral de 0,025 utilizando una prueba binomial exacta. Para la tasa de ERM negativa (solo cohorte de LLA), se determinarán la incidencia y los IC del 95% exactos de ambos lados. Si la prueba estadística de la tasa de RC general es significativa, la tasa de MRD negativa se comparará con una tasa del 30% a un nivel α unilateral de 0.025 usando una prueba binomial exacta. Para DOR y OS, se determinarán las estimaciones de Kaplan-Meier y los IC del 95% bilaterales. Para la tasa de AlloSCT (solo cohorte de ALL), se determinará la incidencia en el conjunto de mITT y los IC del 95% exactos de ambos lados. En términos de seguridad, se determinarán las tasas de incidencia de EA, incluidos todos los EA graves, mortales, CTCAE versión 4.03 de Grado ≥ 3 y relacionados con el tratamiento que hayan aparecido en la fecha de la infusión o después. No se probará ninguna hipótesis específica para la cohorte de NHL. Con el tamaño de muestra planificado en esta cohorte, asumiendo una ORR observada del 63% (10/16 pacientes), 69% (11/16), 75% (12/16) y 81% (13/16), el límite inferior del IC exacto del 95% para la ORR estimada será 35%, 41%, 48% y 54%, respectivamente.

EJEMPLO 9

[0326] Este ejemplo informa sobre los resultados de la fase 1 para ZUMA-3 (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02614066), un estudio de fase 1/2 que evalúa una terapia de células T autóloga anti-CD19 receptor de antígeno quimérico (CAR) que incluye un CD3 ζ y dominio coestimulador de CD28 y se prepara como se describe en los Ejemplos anteriores (enriquecimiento / eliminación de CD4 + / CD8 + de células malignas), en adultos con LLA de células B en recaída / refractaria (R / R). Este protocolo para la preparación de células T con CAR anti-CD19 con eliminación de células cancerosas reduce la probabilidad de activación y agotamiento de las células T con CAR anti-CD19 durante la fabricación ex vivo. La presencia de blastos leucémicos en la sangre periférica puede limitar el número de células T disponibles para la fabricación de productos de células T con CAR, lo que podría provocar fallos en la fabricación. Sabatino M. et al. *Blood*. 2016;128(22):1227. El producto de células T CAR anti-CD19 usado en este estudio se ha descrito en Wang M. et al. *N Engl J Med*. 2020;382(14):1331-1342 para su uso en MCL. Es diferente del utilizado en Sabatino M. et al. *Blood*.

2016;128(22):1227, Park J.H. et al. *N Engl J Med*. 2018;378(5):449-459; y Lee D.W. et al. *Lancet*. 2015;385(9967):517-528. Este producto de células T con CAR anti-CD19 tiene características de producto diferentes en términos de fenotipo de células T que las que se obtienen mediante los métodos descritos anteriormente. Este CAR anti-CD19 también se denominó KTE-X19 en este ejemplo y en otras partes de la aplicación.

[0327] Después de la linfodepleción de fludarabina / ciclofosfamida, los pacientes recibieron células T con CAR anti-CD19 a 2, 1 o 0,5 x 10⁶ células / kg. La tasa de toxicidades limitantes de la dosis (DLT) dentro de los 28 días posteriores a la infusión de células T con CAR fue el criterio de valoración principal. Se fabricaron células T con CAR anti-CD19 para 54 pacientes inscritos y se administraron a 45 (mediana de edad 46 años [rango, 18-77]). No se produjeron DLT en la cohorte evaluable por DLT. El síndrome de liberación de citocinas (SRC) de grado ≥ 3 y los eventos neurológicos (NE) ocurrieron en el 31% y el 38% de los pacientes, respectivamente. Para optimizar la relación beneficio-riesgo, se evaluó el manejo revisado de eventos adversos (EA) para CRS y NE (uso temprano de esteroides para NE y tocilizumab solo para CRS) a 1 x 10⁶ células / kg de células T con CAR anti-CD19. En los 9 pacientes tratados bajo el manejo revisado de EA, el 33% tenía RSC de grado 3 y el 11% tenía NE de grado 3, sin NE de grado 4/5. La tasa global de remisión completa se correlacionó con la expansión de las células T con CAR y fue del 83% en los pacientes tratados con 1 x 10⁶ células/kg y del 69% en todos los pacientes. La enfermedad residual mínima fue indetectable en todos los pacientes que respondieron. A los 22,1 meses (rango, 7,1-36,1) de seguimiento medio, la mediana de DOR fue de 17,6 meses (rango, 5,8-17,6) en los pacientes tratados con 1 x 10⁶ células / kg y 14,5 meses (rango, 5,8-18,1) en todos los pacientes. El tratamiento con células T con CAR anti-CD19 proporcionó una alta tasa de respuesta y una seguridad tolerable en adultos con R / R B-ALL. La fase 2 procedió a 1 x 10⁶ células / kg con manejo revisado de AE.

[0328] *Pacientes*

[0329] Los pacientes elegibles tenían ≥ 18 años de edad con LLA de células R / RB, definida como refractaria a la terapia de primera línea (es decir, refractaria primaria), recaída ≤ 12 meses después de la primera remisión, recaída o refractaria después de ≥ 2 líneas previas de

terapia sistémica o recaída después de un trasplante alogénico de células madre (SCT). Los pacientes debían tener $\geq 5\%$ de blastos de médula ósea, un estado funcional del Eastern Cooperative Oncology Group de 0 o 1 y una función renal, hepática y cardíaca adecuada. Se requirió que los primeros seis pacientes inscritos tuvieran $\geq 25\%$ de blastos en la médula ósea. Para los pacientes que recibieron blinatumomab previamente, se requirieron blastos leucémicos con expresión de CD19 $\geq 90\%$. Pacientes con enfermedad con cromosoma Filadelfia positivo (Ph +), enfermedad extramedular concomitante, enfermedad del sistema nervioso central (SNC) -2 (células blásticas del líquido cefalorraquídeo [LCR] con < 5 glóbulos blancos / mm^3) sin cambios neurológicos y pacientes con síndrome de Down elegible. La enfermedad del SNC-3 (células blásticas del LCR con ≥ 5 leucocitos / mm^3) independientemente de los cambios neurológicos y un historial de trastornos del SNC fueron exclusiones.

[0330] Los criterios de elegibilidad adicionales incluyeron: Los sujetos con enfermedad del cromosoma Filadelfia (Ph) + eran elegibles si tenían una enfermedad intolerante a la terapia con inhibidores de tirosina quinasa (TKI), o si tenían una enfermedad en recaída / refractaria a pesar del tratamiento con ≥ 2 TKI diferentes; Recuento absoluto de neutrófilos ≥ 500 / μL a menos que, en opinión del investigador, la citopenia se deba a una leucemia subyacente y sea potencialmente reversible con el tratamiento contra la leucemia; Recuento de plaquetas ≥ 50.000 / μL a menos que, en opinión del investigador, la citopenia se deba a una leucemia subyacente y sea potencialmente reversible con el tratamiento contra la leucemia; Recuento absoluto de linfocitos ≥ 100 / μL ; Se definió una función renal, hepática, pulmonar y cardíaca adecuada [Aclaramiento de creatinina (estimado por Cockcroft Gault) ≥ 60 cc / min; Suero alanina aminotransferasa / aspartato aminotransferasa $\leq 2,5 \times$ límite superior de lo normal; Bilirrubina total $\leq 1,5$ mg / dL, excepto en sujetos con síndrome de Gilbert; Fracción de eyección del ventrículo izquierdo $\geq 50\%$, sin evidencia de derrame pericárdico según lo determinado por un ecocardiograma, sin clasificación funcional clase III o IV de la New York Heart Association y sin arritmias clínicamente significativas; Sin derrame pleural clínicamente significativo; Saturación de oxígeno basal $> 92\%$ en aire ambiente]; Las mujeres en edad fértil deben haber tenido una prueba de embarazo en suero u orina negativa; Las mujeres en edad fértil deben haber tenido una prueba de embarazo en suero u orina negativa.

[0331] Los criterios de exclusión adicionales incluyeron: diagnóstico de leucemia / linfoma de Burkitt según la clasificación de la Organización Mundial de la Salud o crisis blástica linfoide de leucemia mielógena crónica; Historia de malignidad diferente al cáncer de piel no melanoma o carcinoma in situ (p. Ej., Cuello uterino, vejiga, mama) a menos que haya estado libre de enfermedad durante ≥ 3 años; Antecedentes de reacción de hipersensibilidad grave a los aminoglucósidos o cualquiera de los agentes utilizados en este estudio; Anormalidades del sistema nervioso central (SNC) [Presencia de enfermedad del SNC-3 definida como células blásticas cerebroespinales detectables en una muestra de líquido cefalorraquídeo (LCR) con ≥ 5 glóbulos blancos (WBC) por mm^3 con o sin cambios neurológicos, y; Presencia de enfermedad del SNC-2 definida como células blásticas cerebroespinales detectables en una muestra de LCR con < 5 WBC por mm^3 con cambios neurológicos. Nota: Los sujetos con CNS-1 (sin leucemia detectable en el LCR) y aquellos con CNS-2 sin cambios neurológicos clínicamente evidentes son elegibles para participar en el estudio; Historia o presencia de cualquier trastorno del SNC como un trastorno convulsivo, isquemia / hemorragia cerebrovascular, demencia, enfermedad cerebelosa, cualquier enfermedad autoinmune con compromiso del SNC, síndrome de encefalopatía posterior reversible o edema cerebral]; Antecedentes de reacción de hipersensibilidad grave a los aminoglucósidos o cualquiera de los agentes utilizados en este estudio; Historia de síndrome genético concomitante asociado con insuficiencia de la médula ósea; Historia de enfermedad cardíaca clínicamente significativa dentro de los 12 meses posteriores a la inscripción; Antecedentes de trombosis venosa profunda sintomática o embolia pulmonar dentro de los 6 meses posteriores a la inscripción; Inmunodeficiencia primaria; Infección conocida por el VIH, la hepatitis B o el virus de la hepatitis C. Se permite un historial de hepatitis B o hepatitis C si la carga viral es indetectable por reacción cuantitativa en cadena de la polimerasa y / o prueba de ácido nucleico; Se permiten la infección simple del tracto urinario y la faringitis bacteriana sin complicaciones si se responde al tratamiento activo y después de consultar con el monitor médico de Kite; Enfermedad de injerto contra huésped aguda (EICH) grado II-IV según los criterios de Glucksberg o gravedad B-D según el índice del Registro Internacional de Trasplantes de Médula Ósea; EICH aguda o crónica que requiera tratamiento sistémico en las 4 semanas anteriores a la inscripción; Medicación previa [Terapia sistémica de rescate (que incluye quimioterapia, inhibidores de la tirosina quinasa para la enfermedad Ph + y blinatumomab) ≤ 1 blinatumomab; Antecedentes de los criterios

terminológicos comunes para eventos adversos Evento neurológico de grado 4 o síndrome de liberación de citocinas de grado 4 con terapia previa dirigida a CD19; Tratamiento con alemtuzumab ≤ 6 meses antes de la inscripción, clofarabina o cladribina ≤ 3 meses antes de la inscripción o PEG-asparaginasa ≤ 3 meses antes de la inscripción; Infusión de linfocitos de donantes ≤ 4 semanas antes de la inscripción; Tratamiento con cualquier fármaco para la EICH y cualquier anticuerpo inmunosupresor 4 semanas antes de la inscripción; Deben haber transcurrido al menos 3 semividas de cualquier terapia molecular de punto de control inmunológico inhibidor / estimulante sistémico previo a la inscripción; La terapia con corticosteroides a una dosis farmacológica (> 5 mg / día de prednisona o dosis equivalentes de otros corticosteroides) y otros fármacos inmunosupresores deben evitarse durante 1 semana antes de la inscripción]; Presencia de cualquier línea o drenaje permanente. Se permiten los reservorios Ommaya y los catéteres de acceso venoso central dedicados; Vacuna viva ≤ 4 semanas antes de la inscripción; Mujeres en edad fértil que estén embarazadas o amamantando debido a los efectos potencialmente peligrosos de la quimioterapia preparativa en el feto o el lactante; Sujetos de ambos sexos en edad fértil que no estén dispuestos a practicar el control de la natalidad desde el momento del consentimiento hasta 6 meses después de la finalización de la terapia con células T con CAR anti-CD19; Sujetos que, a juicio del investigador, es poco probable que completen todas las visitas o procedimientos del estudio requeridos por el protocolo o que cumplan con los requisitos de participación del estudio [Historial de enfermedad autoinmune que resulte en lesión de órgano terminal o que requiera inmunosupresión sistémica o agentes modificadores de la enfermedad sistémica en el último 2 años].

[0332] *Diseño y tratamiento del estudio*

[0333] El objetivo de la fase 1 fue evaluar la seguridad del tratamiento con células T con CAR anti-CD19 y determinar la dosis óptima de la fase 2 basándose en la incidencia de toxicidades limitantes de la dosis (DLT) y el perfil de seguridad global. Las DLT se definieron como eventos adversos (EA) relacionados con linfocitos T con CAR anti-CD19 que ocurrieron dentro de los primeros 28 días después de la infusión de linfocitos T con CAR anti-CD19, incluidos EA no hematológicos de grado 3 que duraron > 7 días, EA no hematológicos de grado 4 independientemente de la duración, excepto para los eventos esperados preespecificados (p.

ej., síndrome de lisis tumoral) y EA hematológicos de grado 4 que duran > 30 días, excepto linfopenia (**Tabla 15**).

[0334] Tabla 15. Toxicidades limitantes de la dosis

• Las DLT se definieron como los siguientes eventos relacionados con las células T con CAR anti-CD19 que comenzaron dentro de los primeros 28 días después de la infusión de células T con CAR anti-CD19:
• Toxicidad hematológica de grado 4 que dura más de 30 días (excepto linfopenia) si no es atribuible a una enfermedad subyacente
• Todas las toxicidades no hematológicas de grado 3 relacionadas con las células T con CAR anti-CD19 que duraron más de 7 días y todas las toxicidades no hematológicas de grado 4 relacionadas con las células T con CAR anti-CD19, independientemente de la duración, se consideraron DLT, con la excepción de las siguientes: ○ Afasia / disfasia o confusión / alteración cognitiva que se resolvió al menos al grado 1 o al inicio en 2 semanas y al menos al inicio en 4 semanas ○ Fiebre de grado 3 o 4 ○ Reacciones de hipersensibilidad inmediata que ocurren dentro de las 2 horas posteriores a la infusión de células T con CAR anti-CD19 (relacionadas con la infusión de células T con CAR anti-CD19) que fueron reversibles a un grado 2 o menos dentro de las 24 horas de la infusión de células T con CAR anti-CD19 con terapia estándar ○ Toxicidad renal que requirió diálisis durante ≤ 7 días ○ Intubación para la protección de las vías respiratorias si ≤ 7 días

- SLT incluyendo manifestaciones asociadas atribuibles a SLT (p. ej., anomalías electrolíticas, función renal, hiperuricemia)
 - Elevación de transaminasas, fosfatasa alcalina, bilirrubina u otra prueba de función hepática de grado 3, siempre que haya una resolución a $\leq$ grado 2 en 14 días
 - Anormalidades transitorias de las enzimas hepáticas séricas de grado 4, siempre que haya una resolución a $\leq$ grado 3 en <72 horas
 - Hipogammaglobulinemia grado 3 o 4
 - Náuseas y / o anorexia de grado 3
-
- Los eventos adversos atribuidos a CRS se asignaron a la evaluación general de clasificación de CRS para la determinación de DLT
 - Todas las ocurrencias de CRS de grado 3 de duración > 7 días y todas las ocurrencias de CRS de grado 4 se consideraron DLT, a excepción de las ocurrencias de CRS debido a las excepciones enumeradas anteriormente

CRS, síndrome de liberación de citocinas; DLT, toxicidad limitante de la dosis; TLS, síndrome de lisis tumoral

[0335] Los pacientes iniciales se inscribieron con una dosis inicial de 2×10^6 células T CAR / kg (Figura 3). Según el perfil de seguridad general, los pacientes posteriores recibieron 2×10^6 , 1×10^6 o $0,5 \times 10^6$ células T CAR / kg. A $0,5 \times 10^6$ células T CAR / kg. Se exploraron dos formulaciones para los pacientes que recibieron la dosis más baja de $0,5 \times 10^6$ células T CAR / kg, una con un volumen total de 40 ml y la otra con un volumen de 68 ml. La formulación

de 40 ml estaba destinada a mantener la densidad celular y la viabilidad celular durante el proceso de congelación / descongelación).

[0336] Para mitigar el riesgo de síndrome de liberación de citocinas (SRC) y eventos neurológicos (NE), se revisaron las pautas de manejo de EA para limitar el tocilizumab al tratamiento de CRS (y no a la neurotoxicidad aislada), y para iniciar el tratamiento con corticosteroides al inicio de grado 2 en lugar de grado 3 NE (**Tabla 16**).

[0337] Tabla 16. Pautas de manejo de neurotoxicidad originales y revisadas

Grado EN	Directrices de gestión originales	Directrices de gestión revisadas
Grado 1	• Cuidados de apoyo • Examen neurológico y evaluación adicional según indicación clínica	• Cuidados de apoyo • Monitorear de cerca el estado neurológico • Considere un antiepiléptico profiláctico
Grado 2	<u>Evaluación y cuidados de apoyo</u> • Examen neurológico, resonancia magnética cerebral y evaluación del LCR; considerar el EEG como clínicamente indicado • Considere un antiepiléptico profiláctico	<u>Evaluación y cuidados de apoyo</u> • Telemetría cardíaca continua y oximetría de pulso según se indique • Exámenes neurológicos seriados para incluir fundoscopia y Glasgow Coma Score, resonancia magnética cerebral, evaluación de LCR, EEG; considere consultar neurología • Administrar antiepilépticos a pacientes con convulsiones.

	<u>Tocilizumab</u> • Considere tocilizumab 8 mg / kg IV durante 1 hora (sin exceder los 800 mg) para pacientes con enfermedades comórbidas (p. Ej., CRS de grado ≥ 2)	<u>Tocilizumab</u> • Para pacientes con SRC concurrente, administre tocilizumab 8 mg / kg IV durante 1 hora (sin exceder 800 mg); repita cada 4-6 horas según sea necesario si no responde a los líquidos intravenosos o aumenta el oxígeno suplementario, hasta un máximo de 3 dosis en 24 horas • Suspenda tocilizumab si el paciente mejora
	<u>Corticosteroides</u> • N/A	<u>Corticosteroides</u> • Para pacientes sin SRC concurrente, administre dexametasona 10 mg IV cada 6 horas • Para pacientes con SRC concurrente, si no hay mejoría dentro de las 24 horas posteriores al inicio de tocilizumab, administre dexametasona 10 mg IV cada 6 horas. • Reducir los corticosteroides si el paciente mejora
Grado 3	<u>Evaluación y cuidados de apoyo</u> • Por grado 2 • Monitor con telemetría cardíaca continua y oximetría de pulso	<u>Evaluación y cuidados de apoyo</u> • Manejar en cuidados monitoreados o UCI

	<u><i>Tocilizumab</i></u> • Considere tocilizumab 8 mg / kg IV durante 1 hora (sin exceder los 800 mg); repita cada 4-6 horas si los síntomas no se han estabilizado o mejorado	<u><i>Tocilizumab</i></u> • Por grado 2 • Suspenda tocilizumab si el paciente mejora
	<u><i>Corticosteroides</i></u> • • Considere los corticosteroides (p. Ej., Dexametasona 10 mg IV cada 6 horas o metilprednisolona 1 mg / kg BID) para el empeoramiento de los síntomas a pesar de tocilizumab	<u><i>Corticosteroides</i></u> • Administrar dexametasona 10 mg IV cada 6 horas. • Reducir los corticosteroides si el paciente mejora
Grado 4	<u><i>Evaluación y cuidados de apoyo</i></u> • Por grado 2 • Monitor con telemetría cardíaca continua y oximetría de pulso	<u><i>Evaluación y cuidados de apoyo</i></u> • Por grado 3 • Es posible que se requiera ventilación mecánica • Administrar inmunosupresores si el paciente no mejora
	<u><i>Tocilizumab</i></u> • Administrar tocilizumab de grado 3 si no se administró previamente	<u><i>Tocilizumab</i></u> • Por grado 2
	<u><i>Corticosteroides</i></u> • Administrar corticosteroides (p. Ej., Metilprednisolona 1 g / d × 3 días,	<u><i>Corticosteroides</i></u>

	seguido de 250 mg BID × 2 días, luego 125 mg BID × 2 días, luego 60 mg BID × 2 días)	• Administrar corticosteroides en dosis altas (p. Ej., Metilprednisona 1 g / d × 3 días) • Reducir los corticosteroides si el paciente mejora
--	--	--

[0338] Se implementaron directrices revisadas para el manejo de EA en una cohorte adicional de pacientes tratados con 1×10^6 células T CAR / kg. Un equipo de revisión de seguridad (SRT) revisó los datos de seguridad y eficacia de forma continua y formuló recomendaciones con respecto a la inscripción adicional de la fase 1 y la dosis recomendada de la fase 2 (RP2D) en los hitos definidos en el protocolo y la carta de SRT.

[0339] Los pacientes se sometieron a leucocitaféresis en el momento de la inscripción para obtener un objetivo de $5-10 \times 10^9$ células mononucleares para la fabricación de células T CAR anti-CD19. Se recomendó la quimioterapia puente predefinida (Tabla 17) después de la leucoféresis, particularmente para pacientes con alta carga de enfermedad al inicio del estudio ($> 25\%$ de blastos leucémicos en la médula ósea o ≥ 1000 blastos / mm^3 en la circulación periférica según una revisión local).

[0340] Tabla 17. Quimioterapia puente

Regímenes de quimioterapia puente predefinidos	
VAD atenuado	Vincristina no liposomal (1-2 mg IV semanalmente) o liposomal (2.25 mg / m^2 IV semanal) y dexametasona 20-40 mg IV o PO diariamente x 3-4 días por semana. Doxorrubicina opcional 50 mg / m^2 IV x 1 (solo la primera semana)
Mercaptopurina (6-MP)	50-75 $\text{mg}/\text{m}^2/\text{día}$ por vía oral (administrar antes de acostarse con el estómago vacío para mejorar la absorción)

Hidroxiurea	Dosis tituladas entre 15-50 mg / kg / día (redondeadas a la cápsula de 500 mg más cercana y administradas como una dosis oral diaria única de forma continua)
DOMP	Dexametasona 6 mg/m ² /día VO (o IV) dividido BID días 1-5, vincristina 1,5 mg/m ² (dosis máxima 2 mg) IV el día 1, metotrexato 20 mg/m ² VO semanal, 6-MP 50-75 mg/m ² /día VO al día
FLAG/FLAG-IDA atenuado	Fludarabina 30 mg/m ² IV días 1-2, citarabina 2 g/m ² IV días 1-2, G-CSF 5 µg/kg SC o IV comienza el día 3 y puede continuar hasta el día antes del inicio de la quimioterapia de acondicionamiento. Con o sin idarrubicina 6 mg/m ² IV días 1-2
Mini-hiper CVAD (cursos A y / o B)	Curso A: Ciclofosfamida 150 mg/m ² cada 12 h x 3 días, dexametasona 20 mg/d IV o PO diariamente los días 1-4 y 11-14, vincristina 2 mg IV x 1 Curso B: metotrexato 250 mg/m ² IV durante 24 horas el día 1, citarabina 0.5 g/m ² IV cada 12 horas x 4 dosis los días 2 y 3

BID, dos veces al día; CVAD, ciclofosfamida, vincristina, doxorubicina y dexametasona; DOMP, dexametasona, 6-mercaptopurina, metotrexato y vincristina; FLAG, fludarabina, citarabina en dosis altas y G-CSF; G-CSF, factor estimulante de colonias de granulocitos; IDA, idarrubicina; IV, intravenoso; MP, 6-mercaptopurina; PO, oral; SC, subcutáneo; VAD, vincristina, doxorubicina y dexametasona.

[0341] Después de ≥ 7 días o 5 semividas (si son más cortas) de lavado de la quimioterapia puente, los pacientes recibieron un régimen de agotamiento linfográfico de

fludarabina intravenosa (IV) 25 mg/m²/día los días -4, -3 y -2, y ciclofosfamida IV 900 mg/m²/día el día -2. El día 0, se administró una única infusión de células T CAR anti-CD19.

[0342] *Resultados y evaluaciones*

[0343] El criterio de valoración principal de la fase 1 fue la incidencia de DLT en pacientes evaluables con DLT. Los criterios de valoración secundarios incluyeron seguridad, tasa de remisión general evaluada por el investigador (RC + RC con recuperación hematológica incompleta [CRi]), duración de la remisión (DOR), supervivencia sin recaídas, SG y tasa de enfermedad mínima residual indetectable (ERM) en el hueso médula. Los niveles de células T CAR y citocinas en sangre fueron criterios de valoración exploratorios. Los EA, incluidos los síntomas de SRC y NE, se clasificaron según los Criterios de terminología común para EA versión 4.03. CRS se calificó según los criterios de Lee, et al. *Blood*. 2014; 124 (2): 188-195. Para los pacientes con enfermedad extramedular, la respuesta se evaluó según los criterios de respuesta para enfermedad extramedular y del SNC en los Criterios revisados del Grupo de Trabajo Internacional para linfoma maligno. Cheson BD y col. *J Clin Oncol*. 2007; 25 (5): 579-586. La ERM indetectable, definida como <1 célula leucémica por cada 10.000 células viables, se evaluó de forma centralizada mediante citometría de flujo. (NeoGenomics, Fort Myers, FL). Borowitz MJ et al *Blood*. 2015;126(8):964-971; Bruggemann M. et al. *Blood Adv*. 2017;1(25):2456-2466; and Gupta S. et al. *Leukemia*. 2018;32(6):1370-1379.

[0344] Se requirió hospitalización durante ≥ 7 días después de la infusión. Los pacientes fueron evaluados los días 14 y 28 y los meses 2 y 3 mediante exámenes físicos, mediciones de signos vitales y evaluaciones neurológicas y de laboratorio. Las evaluaciones de la médula ósea y las evaluaciones de la respuesta se realizaron en los días 7-14 (opcional) y 28 y los meses 2 y 3. Para los pacientes que se sometieron a SCT después de la infusión de células T CAR anti-CD19, no se requirió una evaluación de la médula ósea durante los primeros 100 días post-SCT. Se requirió la recolección y análisis de LCR para confirmar la RC en pacientes con enfermedad basal del SNC-2. Los pacientes que completaron las evaluaciones postratamiento del mes 3 fueron seguidos para la supervivencia y el estado de la enfermedad cada 3 meses hasta el mes 18, cada 6 meses durante los meses 24-60 y anualmente hasta por 15 años. Los pacientes que

alcanzaban la RC podían recibir una segunda infusión de células T con CAR anti-CD19 si progresaban después de > 3 meses de remisión, siempre que se mantuviera la expresión de CD19 y no se sospecharan anticuerpos neutralizantes contra la CAR.

[0345] Se realizaron análisis de biomarcadores en muestras de sangre y suero para evaluar la farmacocinética predictiva y los marcadores farmacodinámicos para las células T CAR anti-CD19. Como se describió previamente, la reacción en cadena de la polimerasa digital de gotitas se utilizó para medir la presencia, expansión y persistencia de células T CD19 CAR + transducidas en sangre Locke FL et al. Mol Ther. 2017; 25 (1): 285-295. Se evaluó el suero en busca de citocinas, quimiocinas, moléculas efectoras inmunes y marcadores del síndrome de activación de macrófagos utilizando métodos previamente informados. Locke FL y col. Mol Ther. 2017; 25 (1): 285-295.

[0346] *Análisis estadístico*

[0347] La cohorte evaluable por DLT incluyó a los primeros 3 pacientes tratados al nivel de dosis de 2×10^6 . Los análisis de seguridad y eficacia incluyeron a todos los pacientes tratados con cualquier dosis de células T CAR anti-CD19. Se generaron estimaciones de Kaplan-Meier e intervalos de confianza del 95% bilaterales para los criterios de valoración del tiempo transcurrido hasta el evento. DOR se definió como el tiempo desde la RC hasta la recaída o la muerte sin recaída documentada. El DOR para los pacientes que se sometieron a TCM alogénico mientras estaban en remisión fue censurado en la fecha del trasplante. La SG se definió como el tiempo desde la infusión de células T con CAR anti-CD19 hasta la fecha de muerte por cualquier causa. Los datos se presentan al 1 de abril de 2019. Todos los análisis estadísticos se realizaron en SAS (versión 9.4).

[0348] *Resultados*

[0349] *Pacientes*

[0350] Entre el 9 de marzo de 2016 y el 12 de julio de 2018, se inscribieron 54 pacientes y se sometieron a leucocitaféresis en la fase 1 (Figura 4). El producto de células T CAR anti-CD19 se fabricó con éxito para los 54 pacientes; 1 paciente requirió 2 procedimientos de leucocitaféresis y 1 paciente requirió 3 procedimientos para la fabricación del producto. El tiempo medio desde la leucocitaféresis hasta la entrega de células T con CAR anti-CD19 al sitio de estudio fue de 15 días. Cinco pacientes interrumpieron antes de la linfodepleción debido a EA ($n = 3$; Figura 4), retiro del consentimiento ($n = 1$) o inelegibilidad después de la leucocitaféresis ($n = 1$). Cuatro pacientes adicionales interrumpieron después de la linfodepleción. Tres no recibieron células T CAR anti-CD19 debido a sepsis de grado 4 ($n = 1$), inicio de una nueva terapia ($n = 1$) y muerte por sepsis de grado 5 ($n = 1$). Un paciente interrumpió antes de la infusión debido a trombosis venosa profunda (un criterio de exclusión) pero recibió células T CAR anti-CD19 bajo uso compasivo. Cuarenta y cinco de 54 pacientes (83%) recibieron linfocitos T con CAR anti-CD19 a estos niveles de dosis: 2×10^6 ($n = 6$), 1×10^6 ($n = 23$) o $0,5 \times 10^6$ linfocitos T con CAR / kg ($n = 16$). Nueve de los 23 pacientes de la cohorte de 1×10^6 células T con CAR / kg fueron tratados según las pautas de manejo de EA revisadas que requerían el uso temprano de esteroides para la NE y reservaban tocilizumab solo para el tratamiento del SRC. Cuarenta y cuatro pacientes recibieron su dosis objetivo de células T CAR anti-CD19; 1 paciente inscrito para recibir 1×10^6 células T con CAR anti-CD19 / kg y el tratamiento revisado de EA se trató con $0,5 \times 10^6$ células / kg, pero se incluyó en el análisis al nivel de dosis de 1×10^6 .

[0351] La edad media de todos los pacientes tratados fue de 46 años (rango, 18-77), y el 67% recibió ≥ 3 líneas de terapia previas (**Tabla 18**). Antes de la inscripción, 16 pacientes (40%) eran refractarios primarios, 13 (29%) recayeron después de un trasplante de células madre y 21 (47%) recibieron blinatumomab antes. Blinatumomab fue el último tratamiento utilizado antes del ingreso al estudio en 8 pacientes (18%), de los cuales solo 1 logró una respuesta (RC) al blinatumomab.

[0352] Tabla 18. Características basales del paciente

Características basales	N = 45
Edad, mediana (rango), años	46 (18 – 77)
Masculino, n (%)	22 (49)
Puntaje de estado de desempeño ECOG, n (%)	
0	15 (33)
1	29 (64)
Desaparecido	1 (2)
Cromosoma Filadelfia positivo, n (%)	8 (18)
Enfermedad extramedular, n (%)	4 (9)
Enfermedad del SNC en el screening, n (%)	
CNS-1	42 (93)
CNS-2	3 (7)
Regímenes previos, n (%)	
1	6 (13)
2	9 (20)
≥3	30 (67)
Blinatumomab previo, n (%)	21 (47)
Inotuzumab ozogamicina previa, n (%)	6 (13)
Refractario, n (%)	
Refractario primaria	16 (36)
Primera recaída con remisión ≤12 meses	2 (4)
SCT post-alogénico recidivante o refractario	13 (29)
Blastos de BM en el screening, mediana (rango), %	61 (5 – 100)
Blastos de BM en el preacondicionamiento después del puenteo, mediana (rango), %	70 (0 – 97)

BM, médula ósea; SNC, sistema nervioso central; ECOG, Grupo de Oncología Cooperativa del Este; SCT, trasplante de células madre

[0353] *Seguridad*

[0354] No se observaron DLT entre el conjunto evaluable de DLT (n = 3). El 98% de los pacientes experimentaron EA de grado ≥ 3 (**Tabla 19**). Los EA de cualquier grado más comunes fueron pirexia (89%), hipotensión (69%), diarrea (42%) y escalofríos (42%). Grado común ≥ 3 EAs ($\geq 20\%$ de los pacientes) fueron pirexia (42%), hipotensión (40%), disminución del recuento de plaquetas (33%), anemia (31%), hipofosfatemia (31%), hipoxia (24%) , encefalopatía (22%), neutropenia febril (22%) y disminución del recuento de neutrófilos (22%). Se produjeron acontecimientos adversos graves de cualquier grado en el 84% de los pacientes.

[0355] Tabla 19. Eventos adversos

n (%)*	2 × 10 ⁶ (n = 6)		1 × 10 ⁶ (n = 23)		0.5 × 10 ⁶ (n = 16)		Todos los pacientes (N = 45)	
	Cualquier grado	Grado ≥ 3	Cualquier grado	Grado ≥ 3	Cualquier grado	Grado ≥ 3	Cualquier grado	Grado ≥ 3
Cualquier evento adverso	6 (100)	6 (100)	23 (100)	23 (100)	16 (100)	15 (94)	45 (100)	44 (98)
Pirexia	6 (100)	3 (50)	22 (96)	11 (48)	12 (75)	5 (31)	40 (89)	19 (42)
Hipotension	5 (83)	3 (50)	17 (74)	11 (48)	9 (56)	4 (25)	31 (69)	18 (40)
Resfriado	3 (50)	0	13 (57)	0	3 (19)	0	19 (42)	0 (0)
Diarrea	3 (50)	0	10 (43)	1 (4)	6 (38)	0	19 (42)	1 (2)
Dolor de cabeza	1 (17)	0	10 (43)	1 (4)	7 (44)	1 (6)	18 (40)	2 (4)
Anemia	4 (67)	4 (67)	10 (43)	8 (35)	3 (19)	2 (13)	17 (38)	14 (31)
Encefalopatía	4 (67)	2 (33)	11 (48)	6 (26)	2 (13)	2 (13)	17 (38)	10 (22)
Hipofosfatemia	2 (33)	1 (17)	12 (52)	10 (43)	3 (19)	3 (19)	17 (38)	14 (31)
Náusea	1 (17)	0	13 (57)	1 (4)	3 (19)	0	17 (38)	1 (2)
Estado de confusión	2 (33)	1 (17)	9 (39)	1 (4)	5 (31)	2 (13)	16 (36)	4 (9)
Hipoxia	2 (33)	1 (17)	8 (35)	6 (26)	6 (38)	4 (25)	16 (36)	11 (24)

Disminución del recuento de plaquetas	3 (50)	3 (50)	8 (35)	8 (35)	5 (31)	4 (25)	16 (36)	15 (33)
Estreñimiento	2 (33)	0	10 (43)	0	2 (13)	0	14 (31)	0 (0)
Fatiga	1 (17)	0	7 (30)	1 (4)	6 (38)	0	14 (31)	1 (2)
Taquicardia sinusal	2 (33)	0	10 (43)	1 (4)	2 (13)	0	14 (31)	1 (2)
Hipopotasemia	1 (17)	0	11 (48)	0	1 (6)	0	13 (29)	0 (0)
Taquicardia	1 (17)	1 (17)	6 (26)	1 (4)	6 (38)	0	13 (29)	2 (4)
Temblor	1 (17)	0	8 (35)	0	4 (25)	0	13 (29)	0 (0)
Disminución del apetito	0	0	9 (39)	2 (9)	3 (19)	0	12 (27)	2 (4)
Hiper glucemia	1 (17)	0	6 (26)	0	5 (31)	1 (6)	12 (27)	1 (2)
Hipomagne semia	2 (33)	0	8 (35)	0	2 (13)	0	12 (27)	0 (0)
Hiponatremia	3 (50)	2 (33)	7 (30)	3 (13)	2 (13)	0	12 (27)	5 (11)
Edema periférico	1 (17)	0	7 (30)	1 (4)	4 (25)	0	12 (27)	1 (2)

* La tabla incluye eventos adversos de cualquier grado que ocurren en $\geq 25\%$ de todos los pacientes

[0356] Se informó CRS en 42 pacientes (93%); 14 pacientes (31%) experimentaron RSC de grado ≥ 3 (**Tabla 19**). Los síntomas comunes de grado ≥ 3 de SRC fueron pirexia (45%), hipotensión (36%) e hipoxia (17%). Se utilizaron vasopresores para el tratamiento del SRC en 12 pacientes (27%). La mediana de tiempo hasta el inicio del SRC después de la infusión fue de 2 días (rango, 1-12); las duraciones medias de cualquier grado y grado ≥ 3 CRS fueron 9 y 4,5 días, respectivamente. Los eventos asociados al SRC se resolvieron en todos menos en 2 pacientes que experimentaron EA relacionados con células T CAR anti-CD19 de grado 5. Un paciente tratado con 2×10^6 células T CAR / kg presentó insuficiencia multiorgánica secundaria a RSC (día 6). Un paciente tratado con $0,5 \times 10^6$ células / kg desarrolló un accidente cerebrovascular (ictus) en el contexto de CRS y NE (día 7). No se informaron otros EA de grado 5 relacionados con las células T CAR anti-CD19.

[0357] Se notificaron EN en 35 pacientes (78%); eventos de grado ≥ 3 ocurrieron en 17 pacientes (38%; **Tabla 19**). Los EN de grado ≥ 3 que ocurrieron en $\geq 5\%$ de los pacientes fueron encefalopatía (22%), afasia (16%) y estado de confusión (9%). No hubo casos de edema cerebral ni EN de grado 5. La mediana de tiempo hasta el inicio de la EN fue de 6 días (rango, 1-31) después de la infusión; las duraciones medias de cualquier grado y EN grado ≥ 3 fueron 12 y 9 días, respectivamente. La EN se resolvió en 31/35 pacientes (89%); 1 paciente murió por enfermedad progresiva y 3 pacientes murieron por EA considerados no relacionados con células T CAR anti-CD19 (sepsis [n = 1], accidente cerebrovascular [n = 1], viremia por herpes simple [n = 1]) antes del evento neurológico resolución.

[0358] El cincuenta y tres por ciento de todos los pacientes recibieron tocilizumab y el 36% también recibieron esteroides para el tratamiento del SRC; 31% y 44% recibieron tocilizumab y esteroides, respectivamente, para EN. Se observó una seguridad general mejorada para los 9 pacientes tratados según las pautas de manejo de EA revisadas en comparación con los 14 pacientes tratados con la misma dosis según las pautas originales (**Tabla 20**). Cuatro de los 14 pacientes tratados con 1×10^6 células T CAR / kg según las pautas originales tenían CRS de grado 3 o 4. Con el manejo revisado de EA, 3/9 pacientes tratados con 1×10^6 células T CAR / kg tenían CRS de grado 3, sin que se informara CRS de grado 4. Estos pacientes también tuvieron una mediana de duración más corta de RSC de grado ≥ 3 (4 frente a 7 días) que los pacientes que recibieron 1×10^6 células T CAR / kg según las pautas originales de EA, y un tiempo más prolongado hasta la aparición de síntomas de grado ≥ 3 (6 frente a 4.5 días, respectivamente). En particular, 9/14 pacientes en la cohorte de dosis de 1×10^6 células T CAR / kg manejados con las pautas originales experimentaron EN de grado 3/4, en comparación con un evento de grado 3 y ningún evento de grado 4 en pacientes que recibieron la misma dosis según las pautas de manejo revisadas (**Tabla 20**). Sobre la base de la revisión de todos los datos disponibles de seguridad y eficacia, la relación beneficio / riesgo se consideró más favorable a la dosis de 1×10^6 células T CAR / kg, por lo que esta dosis fue la RP2D. Todos los pacientes de la fase 2 estaban siendo tratados según las pautas revisadas de manejo de EA.

[0359] Tabla 20. Síndrome de liberación de citocinas y eventos neurológicos, incluidos los lineamientos revisados de manejo de EA

n (%)	2 × 10 ⁶ (n = 6)		1 × 10 ⁶ Gestión original (n = 14)		1 × 10 ⁶ Gestión AE revisada (n = 9)		0.5 × 10 ⁶ (n = 16)	
Esteroides								
Para el tratamiento del SRC	1 (17)		5 (36)		5 (56)		5 (31)	
Para el tratamiento de EN	3 (50)		7 (50)		5 (56)		5 (31)	
Tocilizumab								
Para el tratamiento del SRC	1 (17)		9 (64)		9 (100)		5 (31)	
Para el tratamiento de EN	4 (67)		5 (36)		4 (44)		1 (6)	
Evento adverso, n (%)	Cualquier grado	Grado ≥3	Cualquier grado	Grado ≥3	Cualquier grado	Grado ≥3	Cualquier grado	Grado ≥3
Síndrome de liberación de citocinas	6 (100)	3 (50)	14 (100)	4 (29)	9 (100)	3 (33)	13 (81)	4 (25)
Pirexia	6 (100)	3 (50)	12 (86)	5 (36)	9 (100)	6 (67)	10 (77)	5 (31)
Hipotensión	4 (67)	3 (50)	11 (79)	6 (43)	6 (67)	3 (33)	8 (62)	3 (19)
Taquicardia sinusal	2 (33)	0	6 (43)	0	4 (44)	1 (11)	2 (15)	0
Resfriado	1 (17)	0	5 (36)	0	4 (44)	0	2 (15)	0
Taquicardia	1 (17)	1 (17)	4 (29)	1 (7)	2 (22)	0	4 (31)	0

Taquipnea	0	0	4 (29)	1 (7)	0	0	0	0
Hipoxia	2 (33)	1 (17)	2 (14)	2 (14)	3 (33)	2 (22)	3 (23)	2 (15)
Náusea	0	0	2 (14)	0	0	0	0	0
Fatiga	0	0	1 (7)	0	3 (33)	0	1 (8)	0
Dolor de cabeza	0	0	1 (7)	0	2 (22)	0	3 (23)	0
Hiponatremia	0	0	1 (7)	0	1 (11)	0	1 (8)	0
Cualquier evento neurológico	5 (83)	3 (50)	13 (93)	9 (64)	7 (78)	1 (11)	10 (63)	4 (25)
Estado de confusión	2 (33)	1 (17)	3 (21)	0	6 (67)	1 (11)	5 (31)	2 (13)
Temblor	1 (17)	0	4 (29)	0	4 (44)	0	4 (25)	0
Afasia	0	0	6 (43)	4 (29)	2 (22)	1 (11)	2 (13)	2 (13)
Encefalopatía	4 (67)	2 (33)	9 (64)	6 (43)	2 (22)	0	2 (13)	2 (13)
Letargo	0	0	1 (7)	0	2 (22)	0	2 (13)	0
Cambios de estado mental	0	0	0	0	2 (22)	0	0	0
Agitación	0	0	4 (29)	1 (7)	1 (11)	1 (11)	2 (13)	0
Disartria	0	0	1 (7)	1 (7)	1 (11)	0	0	0
Inquietud	0	0	1 (7)	1 (7)	1 (11)	1 (11)	0	0
Incautación	1 (17)	0	2 (14)	2 (14)	1 (11)	0	1 (6)	0
Ataxia	0	0	1 (7)	0	1 (11)	0	0	0

EA, evento adverso; CRS, síndrome de liberación de citocinas; EN, eventos neurológicos

[0360] Veintiséis pacientes tratados (58%) murieron por causas que incluían progresión de la enfermedad en 19 (42%) y EA en 7 pacientes (16%), incluidas las 2 muertes relacionadas con el tratamiento mencionadas anteriormente. Las restantes 5 muertes relacionadas con EA ocurrieron en una mediana de 63 días (rango, 48-579) después de la infusión de células T CAR anti-CD19 y se consideraron no relacionadas con las células T CAR anti-CD19. Incluyeron sepsis (n = 2), accidente cerebrovascular (n = 1), viremia por herpes simple (n = 1) y bacteriemia (n = 1).

[0361] *Eficacia*

[0362] Los 45 pacientes tratados fueron elegibles para el análisis de eficacia. Con una mediana de seguimiento de 22,1 meses (rango, 7,1-36,1), la tasa de remisión global (ORR) fue del 69%, con un 51% de los pacientes que alcanzaron una RC y un 18% de RCi (**Tabla 21**). Entre los 23 pacientes tratados con 1×10^6 células T CAR / kg, la ORR fue del 83%, con 14 que alcanzaron RC (61%) y 5 (22%) RCi. Seis de los 9 pacientes que recibieron tratamiento revisado de EA lograron RC / RCi (4 RC, 2 RCi). La mediana del tiempo hasta la RC / RCi a través de los niveles de dosis fue de 30 días (rango, 26-192), que incluyó 1 paciente con médula ósea hipoplásica / aplásica libre de blastocitos (BFBM) el día 28 que no cumplió con los criterios de RC hasta el mes 6. La TRO fue generalmente consistente en todas las covariables clave, incluidos los pacientes refractarios (56%), trasplante previo (77%), blinatumomab previo (57%) o inotuzumab ozogamicina (50%) y pacientes con enfermedad Ph + (100%) (FIG.5). La ERM indetectable en la médula ósea se logró el día 28 en el 100% de los que respondieron, incluidos los 31 pacientes con RC / RCi, 1 paciente con respuesta parcial y 1 con BFBM. La evaluación de la enfermedad residual no estuvo disponible en 1 paciente con BFBM. Dos de los 6 pacientes que se sometieron a la evaluación opcional de la médula ósea en el día 7-14 tenían ERM indetectable; los 5 pacientes con datos disponibles al día 30 tenían ERM indetectable.

[0363] Tabla 21. Respuesta a células T CAR anti-CD19

Categoría de respuesta, n (%)	2×10^6 (n = 6)	1×10^6 (n = 23)	0.5×10^6 (n = 16)	Total (N = 45)
Remisión completa	4 (67)	19 (83)	8 (50)	31 (69)
Remisión completa	3 (50)	14 (61)	6 (38)	23 (51)
Remisión completa con recuperación hematológica incompleta	1 (17)	5 (22)	2 (13)	8 (18)
Médula ósea hipoplásica / aplásica libre de blastocitos	0	1 (4)	1 (6)	2 (4)
Remisión parcial	0	1 (4)*	0	1 (2)
Ninguna respuesta	1 (17)	2 (9)	6 (3)	8 (18)
Desconocido o no evaluable	1 (17) [†]	0	1 (6) [‡]	2 (4)

* El paciente tenía enfermedad extramedular en la evaluación de la respuesta.

[†] El paciente falleció el día 6 por fallo multiorgánico secundario a RSC.

[‡] Paciente fallecido el día 7 por accidente cerebrovascular (ictus) en el contexto de RSC y eventos neurológicos

[0364] La mediana de DOR para los 31 pacientes que alcanzaron RC / RCi fue de 14,5 meses (IC del 95%, 5,8-18,1; **Figura 6A**) y 17,6 meses (IC del 95%, 5,8-17,6) en los pacientes tratados con 1×10^6 Células T CAR / kg. La mediana de DOR fue similar independientemente de la censura de células T CAR anti-CD19 de SCT (**Figura 6B**). En el momento de corte de los datos, 8 pacientes (26%) tenían RC en curso, incluidos 2 que recibieron $0,5 \times 10^6$ células T CAR / kg y 6 que recibieron 1×10^6 células T CAR / kg, con una mediana de seguimiento de 6,3 meses. (rango, 5,9-18,2). Seis pacientes (2 RC y 1 respuesta parcial tratados con 1×10^6 células T CAR / kg; 3 RC tratados con $0,5 \times 10^6$ células / kg) se sometieron a SCT en una mediana de 2,7 meses (rango, 1,7-4,3) después de la infusión. A partir de este análisis, 3 de estos

permanecieron en CR (2 tratados con 1×10^6 células CAR T / kg y 1 con $0,5 \times 10^6$ células / kg). En todos los niveles de dosis, la mediana de duración de la supervivencia sin recaída fue de 7,3 meses (IC del 95%, 2,7-18,7) frente a 7,7 meses (IC del 95%, 3,2-18,7) en pacientes que recibieron 1×10^6 células T CAR / kg (**Figura 6C**). La mediana de SG fue de 12,1 meses (IC del 95%, 6,1-19,1) en todos los niveles de dosis y 16,1 meses (IC del 95%, 10,2 - no estimable) con 1×10^6 células T CAR / kg (**Figura 6D**).

[0365] A partir del punto de corte de los datos, 1 paciente (2%) retiró el consentimiento, 1 (2%) se perdió durante el seguimiento y 17 (38%) estaban vivos, incluidos 11/23 pacientes (50%) tratados con 1×10^6 células / kg. Cuatro pacientes recibieron una segunda infusión de células T CAR anti-CD19; uno estaba en RC 15 meses después de la nueva dosis, 2 habían recaído en la evaluación del tercer mes y 1 retiró el consentimiento antes de la primera evaluación de respuesta.

[0366] *Farmacología clínica*

[0367] Los niveles de células T CAR, medidos por copias del gen CAR por μg de ADN en sangre, alcanzaron un máximo de 7-14 días después de la infusión de células T CAR anti-CD19 para la mayoría de los pacientes y permanecieron detectables en 2/12 pacientes evaluables a los 12 meses, ambos de que estaban en CR (**Figura 7A; Tabla 22**).

[0368] Tabla 22. Copias del gen CAR en sangre a lo largo del tiempo

Copias de genes CAR por μg de ADN en sangre	2×10^6	1×10^6 Gestión original	1×10^6 Gestión revisada	$0,5 \times 10^6$
Base	(n = 6)	(n = 14)	(n = 9)	(n = 16)
Mediana	0	0	0	0
Rango	0 – 0	0 – 0	0 – 0	0 – 0
Día 7	(n = 4)	(n = 12)	(n = 9)	(n = 15)
Mediana	62,411	154,386	91,287	3702
Rango	11,097 – 162,972	12,231 – 443,880	0 – 353,160	0 – 375,030

Semana 2	(n = 5)	(n = 14)	(n = 8)	(n = 13)
Mediana	44,064	48,114	60,507	3669
Rango	2228 – 106,110	7614 – 283,500	10,935 – 224,370	0 – 100,845
Semana 4	(n = 5)	(n = 11)	(n = 9)	(n = 13)
Mediana	1304	3119	16,200	1588
Rango	405 – 4860	1029 – 95,580	235 – 56,052	0 – 27,540
Semana 8	(n = 0)	(n = 5)	(n = 7)	(n = 7)
Mediana	-	0	527	219
Rango	-	0 – 907	0 – 972	0 – 9882
Mes 3	(n = 4)	(n = 11)	(n = 6)	(n = 9)
Mediana	0	203	99	0
Rango	0 – 0	0 – 1458	0 – 478	0 – 5508
Mes 6	(n = 3)	(n = 8)	(n = 0)	(n = 7)
Mediana	0	0	-	0
Rango	0 – 0	0 – 105	-	0 – 518
Mes 9	(n = 1)	(n = 6)	(n = 0)	(n = 4)
Mediana	0	0	-	0
Rango	0 – 0	0 – 138	-	0 – 0
Mes 12	(n = 1)	(n = 4)	(n = 0)	(n = 3)
Mediana	65	0	-	0
Rango	65 – 65	0 – 0	-	0 – 57

EA, evento adverso; CAR, receptor de antígeno quimérico

[0369] Las células T CAR fueron indetectables en los 5 pacientes con datos disponibles en el momento de la recaída. La mediana de los niveles máximos de células T CAR fueron más altos con 1×10^6 células T CAR / kg y fueron similares entre los pacientes que recibieron tratamiento AE original versus revisado (**Figura 7B; Figura 8**). Los pacientes que lograron CR / CRi tuvieron una expansión máxima mediana mayor que los que no respondieron, al igual que los pacientes con ERM indetectable frente a detectable (**Figura 7C-D; Figura 84B-C**). También se observó una mayor expansión del pico medio en pacientes con grado ≥ 3 frente a aquellos con grado ≤ 2 NE (**Figura 7E-F; Figura 8D-E**). De 13 pacientes que recayeron, 7 tenían células

CD19 positivas detectables en la recaída, 3 no tenían células CD19 positivas detectables y 3 no tenían datos disponibles.

[0370] Los niveles máximos de citocinas, quimiocinas y marcadores proinflamatorios clave ocurrieron el día 7, con algunas tendencias más altas en pacientes que recibieron 2×10^6 en comparación con 1×10^6 células T CAR / kg (IL-15, CRP, SAA , CXCL10, IFN γ), o menor en aquellos con manejo de EA revisado frente a aquellos con manejo de EA original (IL-6, Ferritina, IL-1RA, IFN γ , IL-8, CXCL10, MCP-1) **FIG. 9; FIG. 10**). Si bien los niveles séricos máximos de IL-15 fueron sorprendentemente más bajos en pacientes con RSC de grado ≥ 3 , los niveles máximos medios de varios marcadores proinflamatorios tendieron a ser más altos en pacientes con RSC de grado ≥ 3 y aquellos con NE de grado ≥ 3 (IFN γ , IL-8, GM-CSF, IL-1RA, CXCL10, MCP-1, Granzima B; **Figura 11**).

[0371] Cuatro pacientes dieron positivo durante los ensayos de selección de anticuerpos anti-CAR, pero todos fueron negativos en los ensayos de confirmación en la leucocitaféresis. Las características de los productos de células T CAR fabricadas fueron las previstas y notificadas anteriormente (Tabla 23).

[0372] Tabla 23. Características del producto

Característica media (rango)	2×10^6 (n = 6)	1×10^6 Gestión original (n = 14)	1×10^6 Gestión revisada (n = 9)	0.5×10^6 (n = 16)
Subconjuntos de células T,%				
Naïve	32.9 (16.4-60.5)	41.1 (9.9-73.2)	30.2 (0.1-65.0)	33.1 (12.5-80.9)
Memoria central	34.5 (15.1-42.7)	21.9 (14.6-40.7)	19.3 (3.2-36.3)	18.0 (3.0-48.2)
Efector	8.9 (3.7-13.4)	8.9 (4.5-41.6)	14.5 (2.4-20.9)	14.3 (2.4-38.1)
Memoria efectora	20.7 (15.5-52.4)	18.4 (4.8-60.0)	19.9 (3.9-94.3)	22.6 (1.0-45.3)
CD4, %	44.7 (33.9-58.8)	47.6 (21.9-76.8)	56.8 (41.0-93.7)	58.8 (28.5-85.9)

CD8, %	55.4 (41.2-66.2)	49.0 (23.2-78.1)	43.3 (6.3-59.0)	41.2 (14.1-71.4)
CD4/CD8 proporción	0.8 (0.5-1.4)	1.0 (0.3-3.3)	1.4 (0.7-14.9)	1.4 (0.4-6.1)
Producción de IFNγ en cocultivo (pg/mL)*	7944.0 (1679.5-11214.4)	9980.5 (3025.0-37921.9)	10317.3 (5255.0-45235.7)	9059.5 (1040.6-27859.1)

* Se realizaron experimentos de co-cultivo usando células de Toledo mezcladas en una proporción 1: 1 con el producto de células T CAR anti-CD19. Se midió el IFN γ en medio de cultivo celular 24 h después de la incubación utilizando un ELISA calificado.

EA, evento adverso; IFN γ , interferón gamma

[0373] ZUMA-3 es el primer estudio multicéntrico que evalúa la terapia de células T con CAR en adultos R / R B-ALL para completar la fase 1. En la parte de la fase 1, no se observaron DLT definidos por el protocolo con células T CAR anti-CD19, y los EA informados fueron consistentes con estudios previos de terapias de células T CAR anti-CD19. Neelapu SS. et al. N Engl J Med. 2017; 377 (26): 2531-2544; Maude SL y col. N Engl J Med. 2018; 378 (5): 439-448. La dosis de 1×10^6 linfocitos T CAR / kg, junto con las pautas de manejo de EA revisadas, tuvo la relación riesgo / beneficio más favorable sin comprometer la actividad. Aunque los pacientes tenían una alta carga de enfermedad y fueron tratados previamente en gran medida, se lograron altas tasas de remisión y ERM indetectable en la médula ósea, particularmente en aquellos tratados con el nivel de dosis de 1×10^6 ; la ORR fue del 83%, incluido el 61% de RC y el 22% de RCi, todos los cuales tenían ERM indetectable. En base a estos resultados que muestran que las células T CAR anti-CD19 son seguras y tienen una eficacia prometedora, se eligió la dosis de 1×10^6 células T CAR / kg para una evaluación adicional en la fase 2 de ZUMA-3.

[0374] El uso de células T CAR anti-CD19 para tratar R / R B-ALL de adultos ha demostrado ser difícil debido a la naturaleza altamente proliferativa de esta enfermedad y la incapacidad para tolerar los EA relacionados con el tratamiento. Un ensayo previo de células T CAR en esta población se cerró temprano debido a una EN fatal, incluidos 5 casos de edema

cerebral. DeAngelo DJ, Ghobadi A, Park JH, et al. Revista de inmunoterapia del cáncer. 2017; 5 (Suppl 2): P217. Según las pautas de manejo de EA originales en ZUMA-3, 2 pacientes murieron por EA de grado 5 considerados relacionados con células T CAR anti-CD19, ya sea secundarios a CRS o en el contexto de CRS y NE fuera del plazo de evaluación de DLT. Además de evaluar dosis múltiples para identificar la dosis con las toxicidades más manejables, se implementaron pautas revisadas de manejo de EA que requerían una intervención temprana con esteroides para la neurotoxicidad y el uso de tocilizumab solo para CRS entre 9 pacientes inscritos en un nivel de dosis de 1×10^6 células T CAR / kg. Esto resultó en una menor duración de los eventos de RSC y una menor incidencia, gravedad y duración de la EN en comparación con 14 pacientes tratados con la misma dosis según las pautas originales.

[0375] En una mediana de seguimiento de 22,1 meses, las respuestas estaban en curso en el 26% de los pacientes, la mayoría de los cuales recibieron 1×10^6 células T CAR / kg (32% de CR / CRi en curso). Las respuestas tendieron a ocurrir poco después del tratamiento. La mayoría ocurrió durante el primer mes, aunque 1 paciente con enfermedad extramedular alcanzó RC en el mes 6. Se observaron altas tasas de respuesta en todos los subgrupos preespecificados, incluida una tasa de RC del 100% en pacientes con enfermedad Ph +. La respuesta (CR / CRi) se asoció con una mayor expansión de las células T CAR medida dentro de las 2 semanas posteriores al tratamiento. De manera similar, en un estudio de fase 1 de un solo centro que utilizó una terapia de células T CAR anti-CD19 que también contenía un dominio coestimulador CD3 ζ y CD28 (Park JH et al. N Engl J Med. 2018; 378 (5): 449 -459), la tasa global de RC fue del 83%, aunque después de la terapia puente, solo la mitad de los pacientes tenía $\geq 5\%$ de blastos en la médula ósea, el 28% tenía ERM y el 11% tenía ERM indetectable. Sin embargo, los resultados de esos ensayos coincidieron en gran medida con los del presente estudio, lo que respalda aún más la utilidad potencial de las terapias de células T con CAR anti-CD19 utilizando un dominio coestimulador de CD3 ζ y CD28 en la LLA-B R / R adulta.

[0376] Tisagenlecleucel, una terapia de células T CAR anti-CD19 que contiene un dominio de activación de células T CD3 ζ y un dominio coestimulador 4-1BB, está aprobado para el tratamiento de LLA-B R / R en niños y adultos jóvenes (≤ 25 años). Maude SL y col. N Engl J Med. 2018; 378 (5): 439-448; KYMRIAH (tisagenlecleucel) [prospecto]. Novartis. East

Hanover, Nueva Jersey; 2018. Sin embargo, el régimen de dosificación de tisagenlecleucel en pacientes más jóvenes resultó en una toxicidad sustancial y muertes relacionadas con el SRC en adultos con R / R B-ALL. Frey NV. et al. *J Clin Oncol.* 2020; 38 (5): 415-422. En un estudio de un solo centro en adultos R / R B-ALL en dos ensayos clínicos, la administración de la dosis en fracciones resultó en un CRS manejable y una tasa de RC del 90%. Frey NV y col. *J Clin Oncol.* 2020; 38 (5): 415-422. De manera similar a las observaciones de ZUMA-3, las estrategias de administración de dosis y toxicidad optimizadas pueden permitir que los pacientes vulnerables a las toxicidades relacionadas con el tratamiento que ponen en peligro la vida se beneficien de la terapia con células T CAR.

[0377] A pesar de las diferencias en los diseños de los ensayos, las poblaciones de pacientes y la metodología de SG, la mediana de SG con 1×10^6 células T CAR / kg en el presente estudio fue de 16,1 meses, mientras que la mediana de SG informada anteriormente con blinatumomab, que también se dirige a CD19, fue de 6,1 a 7,7 meses en adultos R / R B-ALL. Topp MS y col. *Lancet Oncol.* 2015; 16 (1): 57-66; Kantarjian H. y col. *N Engl J Med.* 2017; 376 (9): 836-847. De 10 pacientes evaluables en la recaída para la expresión de blastos de CD19, 3 mostraron falta de expresión de CD19, lo que recuerda a otros informes que atribuyen la pérdida de la diana a la selección de variantes y mutaciones de empalme de exón. Sotillo E et al. *Cancer Discov.* 2015; 5 (12): 1282-1295. En el presente estudio, solo 1/8 de los pacientes (13%) con blinatumomab como último tratamiento previo respondieron a blinatumomab. Esto puede sugerir incompetencia inmunológica en las células T no manipuladas en algunos pacientes con LLA R / R, lo que posiblemente limita la utilidad de la terapia con engager de células T biespecíficas. De los 21 pacientes con blinatumomab previo en cualquier línea, 12 (57%) lograron RC / RCi después de la terapia con células T CAR anti-CD19. Como se informó anteriormente (Shah BD. Et al. *J Clin Oncol.* 2018; 36 (supl.): Abstr 7006), las respuestas a las células T CAR anti-CD19 fueron similares independientemente de la exposición previa a blinatumomab en pacientes con positividad continua para CD19. Además, 6 pacientes que lograron RC se sometieron a SCT y fueron censurados en el momento del SCT; 3 permanecieron en remisión.

[0378] Los adultos con R / R B-ALL lograron altas tasas de CR y ERM de médula ósea indetectable con un perfil de seguridad tolerable después del tratamiento con células T CAR anti-CD19. La fabricación exitosa para todos los pacientes inscritos y el tiempo de respuesta relativamente rápido respaldaron la viabilidad de proporcionar este tratamiento de terapia celular a pacientes con una enfermedad que progresa rápidamente y que necesitan un tratamiento rápido. Al evaluar cuidadosamente una gama de dosis y adoptar estrategias de seguridad, incluido el uso de tocilizumab o esteroides y las condiciones en las que deben administrarse para controlar los EA, fue posible hacer la transición del estudio de la fase 1 a un estudio internacional de fase 2. No hubo casos mortales de edema cerebral en la fase 1, una limitación de estudios previos en esta población. La fase 2 de ZUMA-3 estaba en curso con la dosis de 1×10^6 células T CAR / kg con las pautas de manejo de EA revisadas.

EJEMPLO 10

[0379] Este ejemplo describió los resultados de CD19 Δ Tyr260 en CD19 en B-ALL asociado con resistencia a un tratamiento de terapia con células T CAR. Después de fracasar en varias terapias, incluido blinatumomab antes de KTE-X19, un paciente de LLA-B recibió una dosis objetivo de 1×10^6 células T CAR / kg. El paciente no respondió clínicamente; no se detectaron linfocitos que expresaran CAR T y CD19 el día 28. Se recogieron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) del paciente con LLA B antes y después de la infusión de KTE-X19 en varios puntos de tiempo. Se usó citometría de flujo multicolor para examinar la expresión de superficie de CD19 (clon FMC63, HIB19, SJ25C1) en PBMC de pacientes y líneas celulares Jurkat diseñadas para ser CD19 de tipo salvaje (WT) o para expresar CD19 Δ Tyr260. La presencia de variantes genéticas se evaluó utilizando una secuenciación mejorada del ARN y del genoma completo (TruSeq Stranded Total RNA). La ubicación de la expresión de la proteína celular se evaluó mediante Western blot con y sin enzimas desglicosilantes.

[0380] Aunque la patología local concluyó que los linfoblastos B previos a la infusión eran uniformemente CD19^{dim}, los análisis adicionales de la misma muestra con FMC63 (el fragmento variable monocatenario de KTE-X19) revelaron que el CD19 no era detectable en

los linfoblastos B previos a la infusión. Los resultados de la secuenciación de ARN mostraron una delección en marco dentro del dominio intracelular de CD19 en Tyr260 (CD19 Δ Tyr260) en blastos de leucemia circulantes. Un análisis adicional mediante citometría de flujo mostró que la expresión de CD19 no se detectó en las células Jurkat CD19 Δ Tyr260, pero estaba presente en las células Jurkat CD19-WT, lo que sugirió que la falta de visualización de las células portadoras de esta mutación puntual y su resistencia a la terapia con células T CAR. El análisis de secuenciación longitudinal de ARN y ADN mostró que la mutación se había producido antes de la infusión de la terapia CAR-T. Los lisados celulares fraccionados mostraron WT CD19 en la membrana celular con una banda de alto y menor peso molecular, así como CD19 Δ Tyr260 expresado en la superficie con una única banda de bajo peso molecular. En condiciones de desglicosilación, solo estaba presente 1 banda en las fracciones celulares WT CD19 y CD19 Δ Tyr260. Sin estar ligado a ninguna teoría o hipótesis científicas, es probable que la mutación CD19 Δ Tyr260 pueda resultar en una falta de glicosilación de CD19 adecuada o funcional y / o inhibición de la detección. La mutación en las células malignas B-ALL puede tener implicaciones potenciales para otras terapias con células CAR anti-CD19 o CAR que no son CD19.

EJEMPLO 11

[0381] Los pacientes con MCL que progresan después de la terapia con BTKi normalmente tienen un mal pronóstico, con una supervivencia global de sólo 5,8 meses con las terapias de rescate. Martin P y col. *Sangre*. 2016; 127: 1559-1563. En el estudio de fase 2 ZUMA-2, se evaluó KTE-X19 en pacientes con MCL que estaban R / R a 1 - 5 terapias previas, incluido un BTKi. Wang M y col. *N Engl J Med*. 2020; 382: 1331-1342. Con una mediana de seguimiento de 12,3 meses, la ORR fue del 93% (67% de respuestas completas) en el análisis de eficacia principal de ZUMA-2 (N = 60). Las variantes agresivas de la enfermedad, incluido el MCL blastoide o pleomórfico, generalmente se asocian con resultados clínicos deficientes, sin embargo, la ORR fue comparable en pacientes con diversas histologías en ZUMA-2. Wang M y col. *N Engl J Med*. 2020; 382: 1331-1342; Jain P y Wang M. *Am J Hematol*. 2019; 94: 710-725. En este estudio, se compararon el perfil farmacológico y los resultados clínicos en subgrupos de pacientes definidos por la morfología del MCL y la exposición previa a BTKi en

ZUMA-2, acompañados de una caracterización de los atributos del producto y otros factores previos al tratamiento. Los pacientes se sometieron a leucocitaféresis y quimioterapia de acondicionamiento seguida de una infusión única de células CAR-T CD19 a una dosis objetivo de 2×10^6 células CAR T / kg, por infusión intravenosa única el día 0. Algunos pacientes recibieron terapia puente con dexametasona (20 - 40 mg o equivalente por vía oral o intravenosa al día durante 1 a 4 días), ibrutinib (560 mg por vía oral al día) o acalabrutinib (100 mg por vía oral dos veces al día), administrados después de la leucocitaféresis y completados ≤ 5 días antes de iniciar la quimioterapia de acondicionamiento; Se requirió PET-CT después del puenteo. El criterio de valoración principal fue la tasa de respuesta objetiva (ORR [respuesta completa (RC) + respuesta parcial]). Los criterios de valoración secundarios fueron la duración de la respuesta (DOR), la supervivencia libre de progresión (SSP), la SG, la frecuencia de los eventos adversos (EA), los niveles de células CAR T en sangre y los niveles de citocinas en suero. Los análisis de eficacia y seguridad incluyeron a todos los pacientes que recibieron terapia con células CAR-T CD19. La primera evaluación del tumor se realizó el día 28. Se realizó una biopsia de médula ósea en el momento del cribado y, si era positiva, no se realizó o era indeterminada, se necesitaba una biopsia para confirmar la RC.

[0382] De los 60 pacientes en ZUMA-2 con MCL tratados con KTE-X19 con una mediana de seguimiento de 12,3 meses, hubo una ORR del 93%, una tasa de RC del 67% y el 57% de todos los pacientes y el 78% de los pacientes en RC tenían respuestas continuas. El SRC y los eventos neurológicos fueron en su mayoría reversibles (N = 68 pacientes tratados). Aproximadamente el 15% tenía SRC de grado ≥ 3 , el 31% eventos neurológicos de grado ≥ 3 y 2 EA de grado 5 (1 relacionado con KTE-X19). Los subgrupos de pacientes se definieron por las características morfológicas (MCL clásico, blastoide o pleomórfico) y por la exposición previa a ibrutinib solo, solo acalabrutinib o ambos ibrutinib y acalabrutinib. **Tabla 24.** Las características iniciales fueron generalmente comparables entre estos grupos. Hubo una tendencia hacia una mayor carga tumoral antes del tratamiento en pacientes tratados previamente con ibrutinib. Los atributos del producto, los niveles de células T CAR en sangre y los niveles de citocinas en suero se analizaron utilizando métodos descritos anteriormente. Locke FL y col. Mol Ther. 2017; 25: 285-295. Los atributos de las células T del producto fueron generalmente comparables entre los subgrupos de morfología del MCL. Hubo tendencias hacia

un aumento en el cocultivo del producto IFN- γ y el porcentaje de células CCR7 + en productos de pacientes con morfología pleomórfica. **Tabla 25.** Los atributos de las células T del producto también fueron generalmente comparables entre los subgrupos de BTKi anteriores. Hubo una tendencia hacia un mayor cocultivo del producto IFN- γ en pacientes tratados previamente con ibrutinib. **Tabla 26.**

[0383]

[0384] Tabla 24. Características basales del paciente.

	Ibrutinib (n = 52)	Acalabrutinib (n = 10)	Ambos (n = 6)
Edad media (rango), años	65 (45 – 79)	57 (38 – 73)	62 (55 – 72)
≥ 65 años, n (%)	32 (62)	4 (40)	3 (50)
Masculino, n (%)	43 (83)	9 (90)	5 (83)
Enfermedad en estadio IV, n (%)	44 (85)	9 (90)	5 (83)
ECOG 0/1, n (%)	52 (100)	10 (100)	6 (100)
Carga tumoral media ^a (rango), mm ²	2697 (386 – 16878)	1144 (293 – 14390)	536 (260 – 1174)
Índice de proliferación Ki- 67, n/N (%)			
≥ 50	25/38 (66)	3/5 (60)	6/6 (100)
< 50	13/38 (34)	2/5 (40)	0

Morfología MCL			
Clásico	30 (58)	6 (60)	4 (67)
Pleomórfico	1 (2)	2 (20)	1 (17)
Blastoide	12 (23)	3 (30)	2 (33)
Afectación de la médula ósea, n (%)	28 (54)	3 (30)	6 (100)
Enfermedad extraganglionar, n (%)	31 (60)	3 (30)	4 (67)
Media sin terapias previas (rango)	3 (1 – 5)	3 (2 – 5)	3 (3 – 4)
Bendamustina previa, n (%)	28 (54)	7 (70)	2 (33)

^aMedido por la suma de las dimensiones del producto de todas las lesiones diana al inicio del estudio. Para los sujetos que recibieron terapia puente, la medición después de la terapia puente se utiliza como línea de base.

[0385] Tabla 25. Caracterizaciones celulares y morfología de MCL.

Media (rango)	Morfología MCL		
	Clásica (n = 40)	Blastoide (n = 17)	Pleomórfico (n = 4)
Tasa de transducción, %	58.1 (35.0 – 82.4)	60.0 (46.0 – 79.4)	61.9 (50.0 – 77.1)

Relación CD4 / CD8	0.7 (0.04 – 2.8) ^a	0.6 (0.2 – 1.1) ^a	0.7 (0.5 – 2.0)
CCR7+ células T, %	40.0 (2.6 – 88.8) ^a	35.3 (14.3 – 73.4) ^a	80.8 (57.3 – 88.8)
CCR7- efector + efector de memoria células T, %	59.9 (11.1 – 97.4) ^a	64.8 (26.6 – 85.7) ^a	19.2 (11.1 – 42.7)
Relación (CCR7+ células T)/(CCR7- efector + efector de memoria células T)	0.7 (0.03 – 8.0) ^a	0.5 (0.2 – 2.8) ^a	4.7 (1.3 – 8.0)
IFN- γ por cocultivo, pg/mL	6309.5 (424.0 – 2.0×10^4)	6510.0 (2709.0 – 1.8×10^4)	7687.5 (424.0 – 1.2×10^4)

^aBasado en datos disponibles: clásico, n = 38; blastoide, n = 16

[0386] Tabla 26. Caracterizaciones celulares y subgrupos BTKi.

Media (rango)	Exposición BTKi		
	Ibrutinib (n = 52)	Acalabrutinib (n = 10)	Ambos (n = 6)
Tasa de transducción, %	56.7 (32.0 – 82.4)	65.0 (35.0 – 74.0)	58.5 (46.0 – 67.0)
Relación CD4 / CD8	0.7 (0.04 – 3.7) ^a	0.6 (0.3 – 1.2)	1.0 (0.7 – 1.9)
CCR7+ células T, %	39.3 (2.6 – 86.4) ^a	42.7 (16.3 – 88.8)	49.5 (14.3 – 83.0)

CCR7- efector + efector de memoria células T, %	60.6 (13.7 – 97.4) ^a	57.3 (11.1 – 83.8)	50.6 (17.0 – 85.7)
Relación (CCR7+ células T)/(CCR7- efector + efector de memoria células T)	0.7 (0.03 – 6.3) ^a	0.8 (0.2 – 8.0)	1.2 (0.2 – 4.9)
IFN- γ por cocultivo, pg/mL	6496.0 (424.0 – 2.0 $\times 10^4$)	5972.5 (2502.0 – 1.8 $\times 10^4$)	7985.5 (2709.0 – 1.2 $\times 10^4$)

^a Basado en datos disponibles: ibrutinib, n = 49

[0387] Se lograron altas tasas de respuesta a través de la morfología de MCL y subgrupos de BTKi previos. **Tabla 27.** Se observó un beneficio clínico del tratamiento con KTE-X19 en todos los subgrupos definidos por la morfología del MCL o BTKi previo. Se observó una tendencia hacia una mayor tasa de respuesta continua a los 6 meses en pacientes tratados previamente con ibrutinib. **Tabla 27.** El SRC y los eventos neurológicos fueron generalmente comparables entre la morfología del MCL y los subgrupos de BTKi previos. **Tabla 28.** Se observó una tendencia hacia una mayor tasa de eventos neurológicos de Grado ≥ 3 en pacientes con morfología no blastoide o tratados previamente con ibrutinib. **Tabla 28.**

[0388] Tabla 27. Tasa de respuesta

	Morfología MCL			Exposición BTKi		
	Clásico (n = 35)	Blastoide (n = 14)	Pleomórfico (n = 4)	Ibrutinib (n = 45)	Acalabrutinib (n = 9)	Ambos (n = 6)
ORR, n (%)	32 (91) ¹	13 (93) ¹	4 (100) ¹	43 (96)	7 (78)	6 (100)

CR, n (%)	22 (63) ¹	9 (64) ¹	3 (75) ¹	30 (67)	4 (44)	6 (100)
Respuesta continua en 6 meses, n (%)	18 (51)	8 (57)	3 (75)	25 (56)	3 (33)	6 (100)
12-meses OS, % (95% CI)	85.7 (69.0 – 93.8) ¹	71.4 (40.6 – 88.2) ¹	100.0 (NE – NE) ¹	82.0 (67.2 – 90.6)	77.8 (36.5 – 93.9)	100.0 (NE – NE)

¹Wang M, et al. *N Engl J Med*. 2020;382:1331-1342. CR, respuesta completa; MCL, linfoma de células del manto; NE, no evaluable; ORR, tasa de respuesta objetiva; SG, supervivencia global

[0389] Tabla 28. Eventos adversos

n (%)	Morfología MCL			Exposición BTKi		
	Clásico (n = 40)	Blastoide (n = 17)	Pleomórfico (n = 4)	Ibrutinib (n = 52)	Acalabrutinib (n = 10)	Ambos (n = 6)
CRS						
Cualquier grado	36 (90)	15 (88)	4 (100)	50 (96)	6 (60)	6 (100)
Grado ≥ 3	6 (15)	1 (6)	1 (25)	9 (17)	1 (10)	0
Eventos neurológicos						

Cualquier grado	25 (63)	11 (65)	3 (75)	33 (63)	4 (40)	6 (100)
Grado ≥ 3	15 (38)	3 (18)	2 (50)	16 (31)	1 (10)	4 (67)

[0390] Se realizaron comparaciones entre subgrupos usando la prueba de Kruskal-Wallis; La prueba post-hoc de Dunn se utilizó para comparar entre grupos. Se informaron el perfil farmacológico, los atributos del producto y los datos de seguridad de los 68 pacientes tratados con KTE-X19 (2×10^6 células / kg). El perfil farmacológico y farmacodinámico de KTE-X19 en los subgrupos de morfología del MCL sugirió un aumento de la expansión de las células CAR T y citocinas proinflamatorias seleccionadas en pacientes con morfología clásica en comparación con pacientes con morfología blastoide (Figuras 12 y 13) o en pacientes tratados previamente con ibrutinib en comparación con acalabrutinib solo, las FIG. 14 y 15). Las características del producto y del paciente antes del tratamiento fueron generalmente comparables en todas las morfologías y subconjuntos de MCL con diferentes terapias anteriores. Los pacientes con morfología blastoide exhibieron una disminución de la expansión de las células T CAR, citocinas y quimiocinas relacionadas con mieloides circulantes y tasa de CRS de grado ≥ 3 y eventos neurológicos, mientras que la eficacia clínica fue comparable a la de los pacientes con morfología clásica. La tendencia hacia un perfil de seguridad mejorado en pacientes con morfología blastoide fue acorde con un menor pico de expansión de células CAR T y niveles máximos de citocinas asociados con la inflamación relacionada con mieloides. Los pacientes tratados previamente con ibrutinib mostraron un aumento de la expansión de las células CAR T, citocinas y quimiocinas inflamatorias circulantes y una tasa de eventos neurológicos de grado ≥ 3 ; así como una mayor tasa de respuesta continua a los 6 meses y una TRO comparable con la de los pacientes tratados previamente con acalabrutinib solo. Los pacientes tratados previamente con acalabrutinib mostraron una disminución de la expansión de las células CAR T y citocinas y quimiocinas relacionadas con T1 circulantes, lo que fue consistente con un perfil de seguridad mejorado.

EJEMPLO 12

[0391] Este ejemplo caracterizó dos terapias anti-CD19 CAR T, KTE-X19 preparado según el Ejemplo 5 y axicabtagene ciloleucel. Las células se marcaron con anticuerpos conjugados de forma fluorescente para CD3 (marcador de células T pan), CD14, CD19 (marcador de células B), CD45 (marcador de leucocitos) y CD56 (marcador de activación y NK) y se evaluaron mediante citometría de flujo. La viabilidad celular se evaluó usando tinción negativa de un tinte de viabilidad (SYTOX near-IR). El límite inferior de cuantificación (LLOQ) del ensayo fue del 0,2% y para las células NK y los monocitos fue del 5%. Se determinó el porcentaje de células NK (las células NK eran CD45⁺, CD14⁻, CD3⁻ y CD56⁺; las células T eran CD45⁺, CD14⁻ y CD3⁺). Los porcentajes medios de células NK de 23 lotes de axicabtagene ciloleucel y 97 lotes de KTE-X19 fueron 1,9% (rango 0,8% - 3,2%) y 0,1% (rango 0,0% - 2,8%), respectivamente. El porcentaje medio de impurezas celulares CD3⁻ de los mismos lotes de axicabtagene ciloleucel y KTE-X19 fue del 2,4% (rango 0,9% - 4,6%) y 0,5% (rango 0,3% - 3,9%), respectivamente. Los resultados de KTE-X19 y axicabtagene ciloleucel en la viabilidad celular fueron $\geq 72\%$ y $\geq 80\%$, respectivamente; en la expresión de CAR anti-CD19 fueron $\geq 24\%$ y $\geq 15\%$, respectivamente; en la producción de IFN- γ fueron ≥ 190 pg / mL y ≥ 520 pg / mL, respectivamente; y en porcentaje de células CD3⁺ fueron $\geq 90\%$ y $\geq 85\%$, respectivamente.

EJEMPLO 13

[0392] Se proporcionaron resultados adicionales de pacientes que recibieron 2×10^6 células KTE-X19 / kg en una única infusión en los ejemplos anteriores que incluyen el EJEMPLO 2 y el EJEMPLO 7. La ORR según la evaluación del IRRC fue del 92% (IC del 95%, 82 - 97) y la Tasa de RC fue del 67% (IC del 95%, 53 - 78). En una mediana de seguimiento de 17,5 meses (rango, 12,3 - 37,6), 29 pacientes siguieron respondiendo. Las tasas de respuesta continua fueron en gran medida consistentes entre los pacientes con características de enfermedad de alto riesgo. Los primeros 28 pacientes tratados tuvieron una mediana de seguimiento de 32,3 meses (rango, 30,6 - 37,6). El 39% de los pacientes permaneció en remisión continua sin más terapia. En todos los pacientes incluidos (N = 74), la ORR fue del 84% (tasa de RC del 59%). Las medianas para DOR, PFS y OS no se alcanzaron después de una mediana

de seguimiento de 17,5 meses. **Tabla 29.** La tasa de respuesta en curso fue constante en todos los grupos de pronóstico adverso. FIG. 16. Con una mediana de seguimiento de 17,5 meses, el estudio ZUMA-2 continuó mostrando un beneficio clínico sustancial y duradero de la terapia con KTE-X19 en pacientes con MCL R / R. No se observaron nuevas señales de seguridad con un seguimiento adicional. No se produjeron nuevos eventos de SRC o de grado 5 desde los informes anteriores. **Tabla 30.** Las tasas de EA disminuyeron con el tiempo. La terapia con KTE-X19 mostró un perfil de seguridad manejable con un seguimiento prolongado.

[0393] Tabla 29. Duración de la respuesta, supervivencia libre de progresión y supervivencia global.

	DOR		PFS		OS	
	Mediana (95% CI), meses	Tasa de 15 meses (95% CI)	Mediana (95% CI), meses	Tasa de 15 meses (95% CI)	Mediana (95% CI), meses	Tasa de 15 meses (95% CI)
Ptos evaluables (N = 60)	NR (13.6 – NE) ^a	58.6 (42.5 – 71.7) ^a	NR (9.6 – NE)	59.2 (44.6 – 71.2)	NR (NE, NE)	76.0 (62.8, 85.1)
Pts in CR (n = 40)	NR (14.4 – NE)	69.7 (49.3 – 83.2)	NR (15.3 – NE)	75.1 (56.8 – 86.5)	NR (NE, NE)	91.7 (76.2, 97.2)
Pts in PR (n = 15)	2.2 (1.4 – 4.3)	24.1 (5.9 – 48.9)	3.1 (2.3 – 5.2)	24.1 (5.9 – 48.9)	12.6 (3.3, NE)	46.7 (21.2, 68.7)

^a De un total de 55 pacientes que respondieron.

[0394] Tabla 30. Análisis de seguridad

	Todos los pacientes tratados (N = 68)			
	Encendido / Después de 3 meses		Encendido / Después de 6 meses	
	Post-infusión		Post-infusión	
AE, n (%) ^a	Cualquier grado	Grado ≥ 3	Cualquier grado	Grado ≥ 3
Cualquier AE	55 (81)	33 (48)	49 (72)	25 (37)
Anemia	22 (32)	9 (13)	13 (19)	4 (6)
Neutropenia	20 (29)	16 (24)	14 (21)	11 (16)
Trombocitopenia	20 (29)	14 (21)	14 (21)	9 (13)
Disminución del recuento de glóbulos blancos	16 (24)	9 (13)	12 (18)	6 (9)
Fatiga	10 (15)	0	10 (15)	0
Neumonía	9 (13)	5 (7)	6 (9)	4 (6)
Tos	8 (12)	0	7 (10)	0
Hipogammaglobulinemia	8 (12)	0	7 (10)	0
Infección del tracto respiratorio superior	7 (10)	2 (3)	5 (7)	1 (1)

^a Incluye EA de cualquier grado que ocurren en $\geq 10\%$ de los pacientes.

[0395] De 57 pacientes evaluables para la eficacia con datos disponibles, 48 (84%) tenían células B detectables al inicio. Entre los pacientes con respuestas en curso a los 12 meses, más del 50% de los pacientes evaluables tenían células B detectables y células T CAR marcadas con genes en los meses 6, 12, 15 y 24. Entre los pacientes en respuesta en curso a los 12 meses, el porcentaje de los pacientes con linfocitos T CAR marcados con genes generalmente disminuyeron con el tiempo, con un 100%, 93%, 82%, 89%, 80% y 56% a los 3, 6, 12, 15, 18 y 24 meses, respectivamente. Hubo una disminución de la expansión máxima de las células T con CAR en pacientes que no respondieron a KTE-X19. La expansión máxima de células T con CAR aumentó en pacientes con una respuesta continua a los 12 meses o en aquellos que recayeron a los 12 meses, en comparación con los pacientes que no respondieron. Los niveles elevados de células T con CAR se observaron inicialmente en pacientes que luego recayeron, lo que posiblemente apunta a mecanismos alternativos para el fracaso del tratamiento secundario. Los niveles máximos de células CAR T normalizados por la carga tumoral inicial y la respuesta en curso al corte de datos de 12 meses se muestran en la FIG. 17A (INV) y 17B (CEN).

[0396] Todas las publicaciones, patentes, solicitudes de patentes y otros documentos citados en esta solicitud se incorporan aquí como referencia en su totalidad para todos los propósitos en la misma medida que si cada publicación individual, patente, solicitud de patente u otro documento se indicara individualmente para ser incorporado por referencia. para todos los propósitos.

[0397] Aunque se han ilustrado y descrito varias realizaciones específicas, se apreciará que se pueden realizar varios cambios sin apartarse del espíritu y alcance de la divulgación.