



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110996934 A

(43)申请公布日 2020.04.10

(21)申请号 201880046799.4

(22)申请日 2018.07.12

(30)优先权数据

62/532,233 2017.07.13 US

62/552,814 2017.08.31 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2020.01.13

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/041862 2018.07.12

(87)PCT国际申请的公布数据

W02019/014468 EN 2019.01.17

(71)申请人 IO治疗公司

地址 美国德克萨斯州

(72)发明人 罗山赛·A·钱德拉拉特纳

马丁·E·桑德斯

(74)专利代理机构 北京中原华和知识产权代理
有限责任公司 11019

代理人 陈伟 寿宁

(51)Int.Cl.

A61K 31/192(2006.01)

A61K 31/196(2006.01)

A61K 31/352(2006.01)

A61K 31/382(2006.01)

A61K 39/395(2006.01)

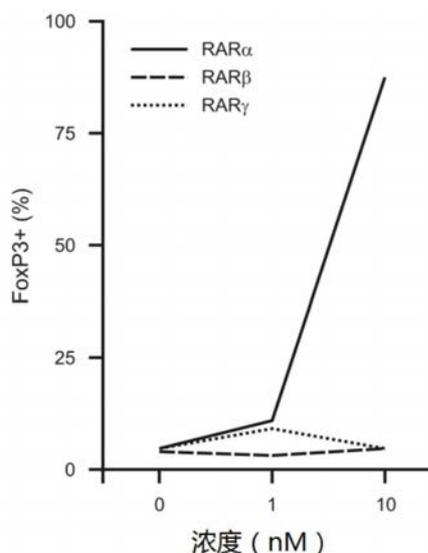
权利要求书5页 说明书29页 附图2页

(54)发明名称

与免疫调节剂联合应用于癌症免疫治疗的受体亚型和功能选择性类视黄醇和REXINOID化合物

(57)摘要

本申请公开了用于治疗癌症的方法,其包括施用CAR修饰的免疫细胞和至少一种视黄酸受体和/或类视黄醇X受体活性剂。



1. 一种癌症免疫疗法的方法,包括向有此需要的受试者施用嵌合抗原受体 (CAR) 修饰的免疫细胞和至少一种类视黄醇活性剂和/或rexinoid活性剂 (RAR/RXR活性剂)。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述RAR/RXR活性剂包括视黄酸受体 (RAR) 活性剂。

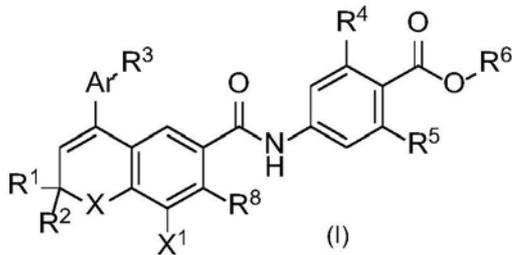
3. 根据权利要求1所述的方法,其中所述RAR/RXR活性剂包括类视黄醇X受体 (RXR) 活性剂。

4. 根据权利要求2所述的方法,其中所述RAR活性剂是RAR α 拮抗剂。

5. 根据权利要求1所述的方法,包括施用两种RAR活性剂。

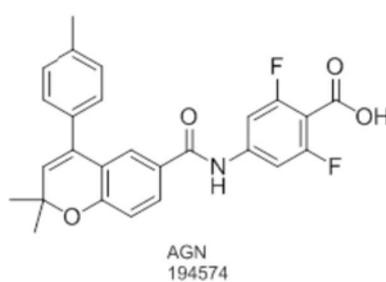
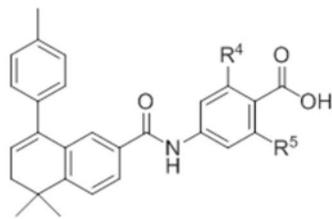
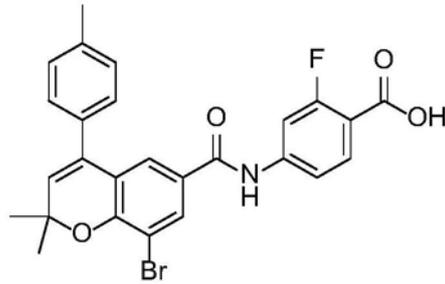
6. 根据权利要求5所述的方法,其中第一RAR活性剂是RAR α 选择性拮抗剂,第二RAR活性剂是RAR γ 激动剂。

7. 根据权利要求4所述的方法,其中,所述RAR α 拮抗剂是通式 (I) 的化合物:



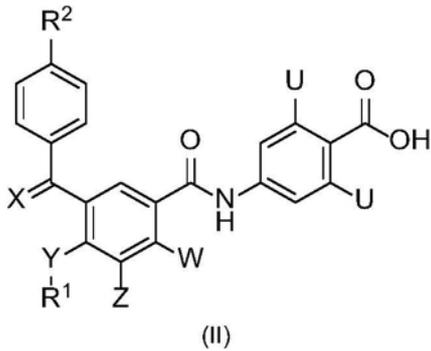
其中R¹、R²、R³和R⁶独立地为H或C₁₋₆烷基;R⁴和R⁵独立地为H或F;Ar是苯基、吡啶基、噻吩基、咪唑基或萘基;X为C(CH₃)₂、O、S或NR⁷,其中R⁷为H或C₁₋₆烷基;X¹为H或卤素,例如F、Cl或Br;R⁸为H或OH。

8. 根据权利要求7所述的方法,其中所述RAR α 拮抗剂是:



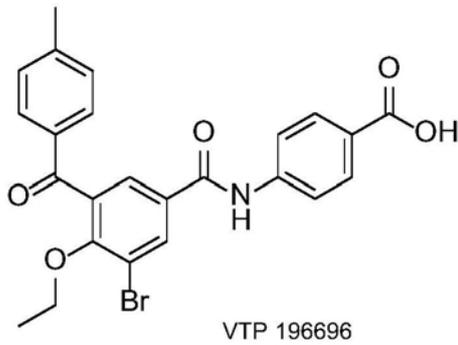
或

9. 根据权利要求4所述的方法,其中所述RAR α 拮抗剂是通式 (II) 的化合物:

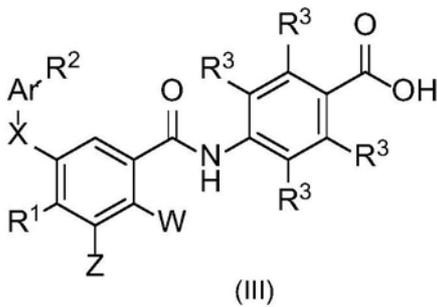


其中R¹和R²独立地为C₁₋₆烷基；X是O、S或CH₂；Y为O、S、CH₂或NR³，其中R³为C₁₋₆烷基；Z是Cl或Br；W是H或OH；U独立为H或F。

10. 根据权利要求9所述的方法，其中所述RAR α 拮抗剂是：

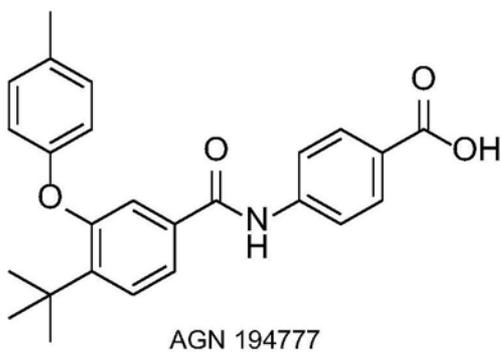


11. 根据权利要求4所述的方法，其中所述RAR α 拮抗剂是通式(III)的化合物：



其中R¹和R²独立地为H或C₁₋₆烷基；R³是H或F；Ar是苯基、吡啶基、噻吩基、呋喃基或萘基；X是O、S、N或CH₂；W是H或OH；Z是Cl或Br。

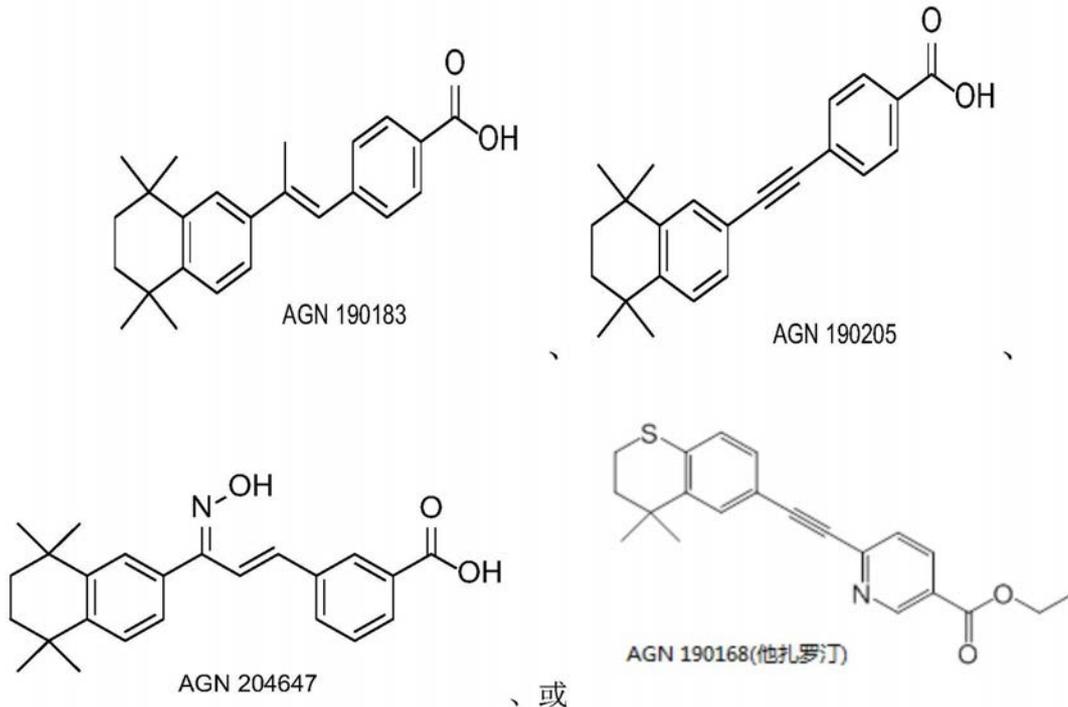
12. 根据权利要求4所述的方法，其中，所述RAR α 拮抗剂是：



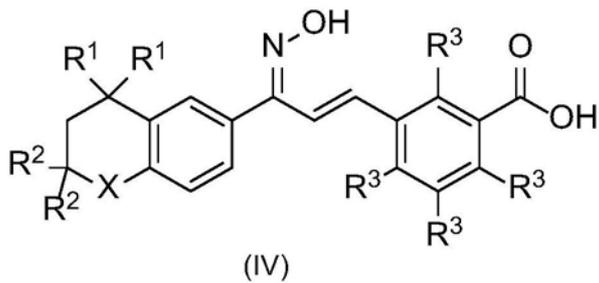
13. 根据权利要求4所述的方法，其中所述RAR α 拮抗剂是BMS185411、BMS614、Ro41-5253或Ro46-5471。

14. 根据权利要求2所述的方法,其中所述RAR活性剂是RAR γ 激动剂。

15. 根据权利要求14所述的方法,其中,所述RAR γ 激动剂是:



16. 根据权利要求14所述的方法,其中所述RAR激动剂是通式IV的RAR γ 选择性激动剂:

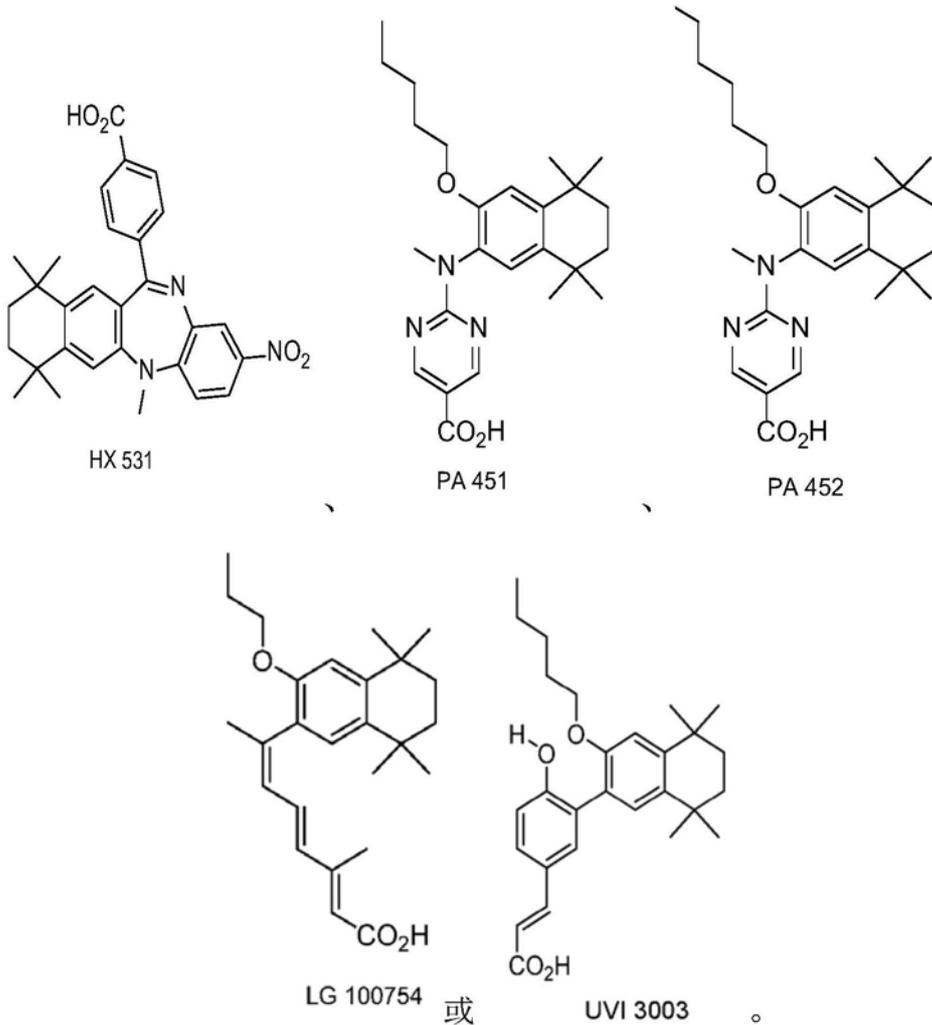


其中 R^1 和 R^2 独立地为H或 C_{1-6} 烷基; R^3 为H或F; X 是O、S、 CH_2 、 $C(R^4)_2$ 或 NR^5 ,其中 R^4 和 R^5 独立地为H或 C_{1-6} 烷基。

17. 根据权利要求14所述的方法,其中所述RAR激动剂是选自CD437、CD2325、CD666和BMS961的RAR γ 选择性激动剂。

18. 根据权利要求3所述的方法,其中所述RXR活性剂是RXR拮抗剂。

19. 根据权利要求18所述的方法,其中所述RXR拮抗剂选自



20. 根据权利要求20所述的方法,其中所述RXR拮抗剂是AGN 195393或LGN 100849。

21. 根据权利要求1所述的方法,其中所述方法包括另外施用至少一种癌症化学治疗剂。

22. 根据权利要求1所述的方法,其进一步包括向所述受试者施用至少一种免疫检查点抑制剂。

23. 根据权利要求1所述的方法,其中所述免疫检查点抑制剂是CTLA-4、PD-1、TIM-3、LAG-3、PD-L1配体、B7-H3、B7-H4、BTLA中的至少一种的抑制剂,或是ICOS或OX40激动剂。

24. 根据权利要求1所述的方法,其中所述免疫检查点抑制剂是对CTLA-4、PD-1、TIM-3、LAG-3、PD-L1配体、B7-H3、B7-H4、BTLA、ICOS或OX40中的至少一种具有特异性的抗体。

25. 一种延长癌症患者无病生存时间的方法,包括施用CAR修饰的免疫细胞和至少一种类视黄醇活性剂和/或rexinoid活性剂。

26. 一种降低CAR修饰的免疫细胞毒性的方法,包括向将有此需要的受试者联合施用至少一种类视黄醇活性剂和/或rexinoid活性剂以及CAR修饰的免疫细胞,使得与单独施用CAR修饰的免疫细胞相比,施用较低剂量的CAR修饰的免疫细胞。

27. 一种扩大CAR修饰的免疫细胞的数量方法,包括在培养基中培养所述CAR修饰的免疫细胞,所述培养基包含至少一种类视黄醇活性剂和/或rexinoid活性剂。

28. 一种治疗癌症的方法,包括向有此需要的受试者施用嵌合抗原受体(CAR)修饰的免

疫细胞、至少一种类视黄醇活性剂和/或rexinoid活性剂和至少一种免疫检查点抑制剂。

与免疫调节剂联合应用于癌症免疫治疗的受体亚型和功能选择性类视黄醇和REXINOID化合物

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2017年7月13日提交的美国临时专利申请号为62/532233和2017年8月31日提交的美国临时专利申请号为62/552814的优先权。其全部内容均通过引用并入本文。

背景技术

[0003] 多年来,癌症治疗的基础一直是手术、化学疗法和放射疗法。在过去的十年中,靶向疗法-通过针对主要在癌细胞中见到的特定分子变化而靶向癌细胞的药物-也已成为许多癌症的标准疗法。免疫疗法的一种方法涉及改造免疫细胞以识别和攻击肿瘤。

发明内容

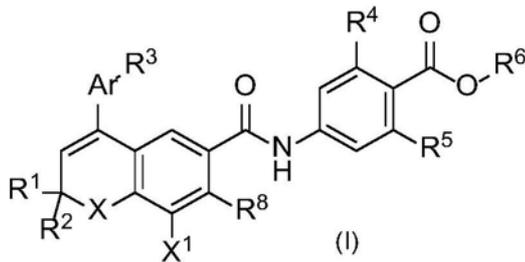
[0004] 本文公开了用于增强靶向癌症免疫疗法的化合物。对视黄酸受体 (RAR) 和类视黄醇X受体 (RXR) 起作用的化合物与嵌合抗原受体 (CAR) 修饰的免疫细胞 (有时缩写为CAR-MIC) 结合使用,以增强抗癌活性。

[0005] 因此,本申请提供了治疗癌症的方法,该方法包括施用CAR修饰的免疫细胞和至少一种类视黄醇活性剂和/或rexinoid活性剂(统称为RAR/RXR活性剂)。在一些实施方式中,类视黄醇活性剂是视黄酸受体 (RAR) 活性剂。在一些实施方式中,rexinoid活性剂是类视黄醇X受体 (RXR) 活性剂。在一些实施方式中,使用两种RAR/RXR活性剂;它们可以是两种RAR活性剂,两种RXR活性剂,或一种RAR活性剂和一种RXR活性剂。在一些实施方式中,RAR/RXR活性剂充当其受体的激动剂,而在其他实施方式中,RAR/RXR活性剂充当其受体的拮抗剂。在利用多种RAR/RXR活性剂的一些实施方式中,所述多种RAR/RXR活性剂被分别配制和施用。在这些实施方式的一些方面,RAR/RXR活性剂分开施用,但是是在同一治疗过程中。在这些实施方式的其他方面,RAR/RXR活性剂在不同的治疗过程中施用。在其他实施方式中,多种RAR/RXR活性剂分别配制,但是共同施用(即,在同一治疗期间施用)。在其他实施方式中,多种RAR/RXR活性剂一起配制为单一的普通药物。

[0006] 在一些实施方式中,CAR修饰的免疫细胞是CAR修饰的T细胞或包含CAR修饰的T细胞。在一些实施方式中,CAR修饰的免疫细胞是CAR修饰的NK细胞或包含CAR修饰的NK细胞。在一些实施方式中,CAR修饰的免疫细胞是CAR修饰的NKT细胞或者包含CAR修饰的NKT细胞。在一些实施方式中,CAR修饰的免疫细胞是CAR修饰的巨噬细胞或包含CAR修饰的巨噬细胞。其他实施方式可包含这些细胞类型的混合物。最典型地,这种细胞制剂通过输注例如静脉内输注给药。相反,RAR/RXR活性剂是可以口服给药的小分子,例如作为丸剂或胶囊剂等。因此,RAR/RXR活性剂和CAR修饰的免疫细胞可以按照独立的时间表进行给药。

[0007] 在一些实施方式中,类视黄醇活性剂是RAR α 拮抗剂。在一些实施方式中,所述RAR α 拮抗剂是通式(I)的化合物:

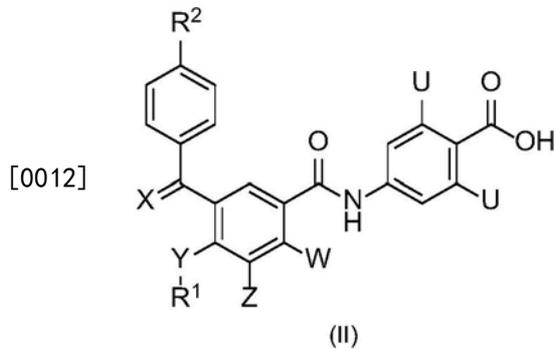
[0008]



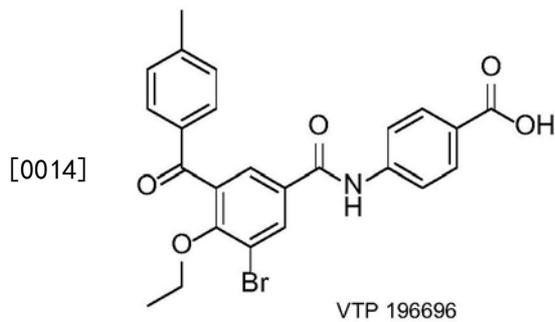
[0009] 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^6 独立地为H或 C_{1-6} 烷基； R^4 和 R^5 独立地为H或F； Ar 是苯基、吡啶基、噻吩基、呋喃基或萘基； X 为 $C(CH_3)_2$ 、O、S或 NR^7 ，其中 R^7 为H或 C_{1-6} 烷基； X^1 为H或卤素，例如F、Cl或Br； R^8 为H或OH。

[0010] 在一些实施方式中，所述 $RAR\alpha$ 拮抗剂是AGN 194301、AGN 193491、AGN 193618、AGN 194202或AGN 194574。

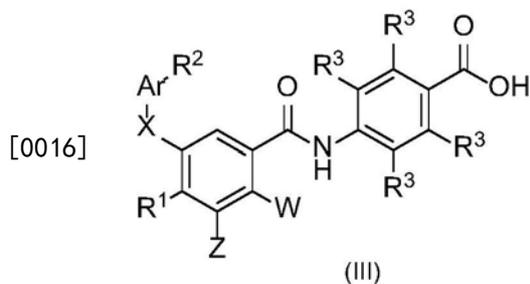
[0011] 在一些实施方式中，所述 $RAR\alpha$ 拮抗剂是通式(II)的化合物：



[0013] 其中 R^1 和 R^2 独立地为 C_{1-6} 烷基； X 是O、S或 CH_2 ； Y 为O、S、 CH_2 或 NR^3 ，其中 R^3 为 C_{1-6} 烷基； Z 是Cl或Br； W 是H或OH； U 独立为H或F。在一些实施方式中， $RAR\alpha$ 拮抗剂是：



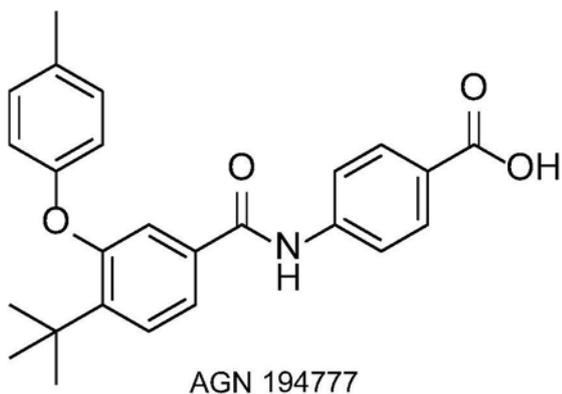
[0015] 在一些实施方式中， $RAR\alpha$ 拮抗剂是通式III的化合物：



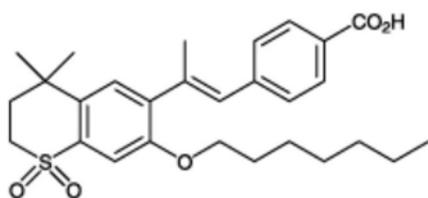
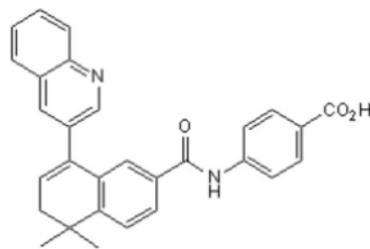
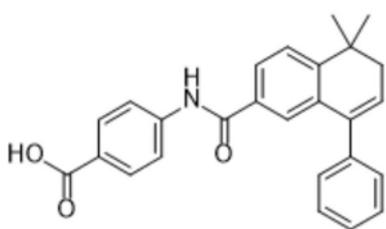
[0017] 其中 R^1 和 R^2 独立地为H或 C_{1-6} 烷基； R^3 是H或F； Ar 是苯基、吡啶基、噻吩基、呋喃基或萘基； X 是O、S、N或 CH_2 ； W 是H或OH； Z 是Cl或Br。

[0018] 在一些实施方式中，所述 $RAR\alpha$ 拮抗剂是：

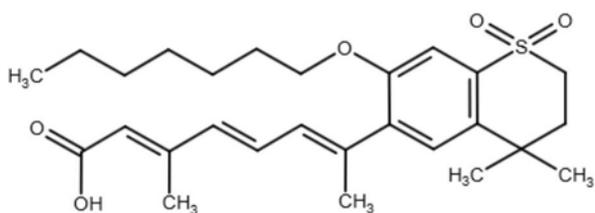
[0019]

[0020] 在一些实施方式中,所述RAR α 拮抗剂是

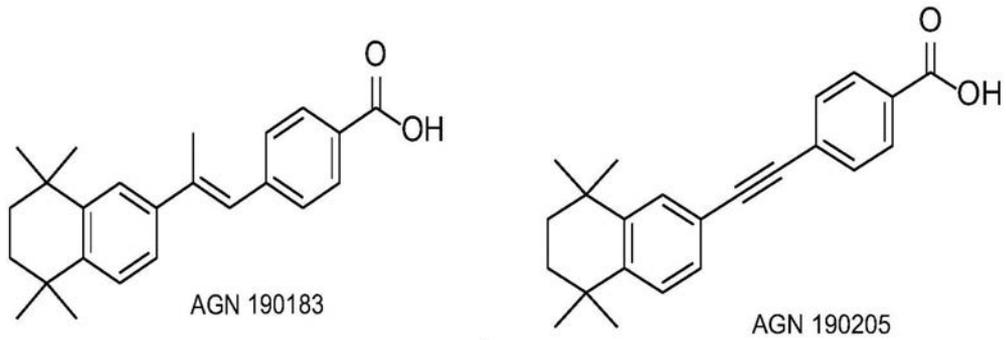
[0021]



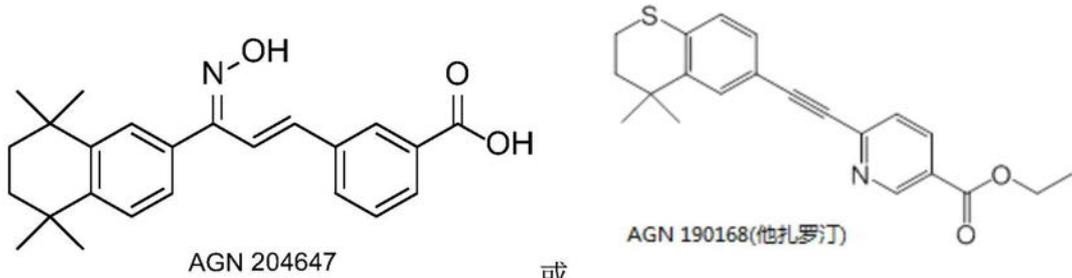
[0022]



[0023] 在一些实施方式中,类视黄醇活性剂是RAR激动剂。在一些实施方式中,RAR激动剂是:

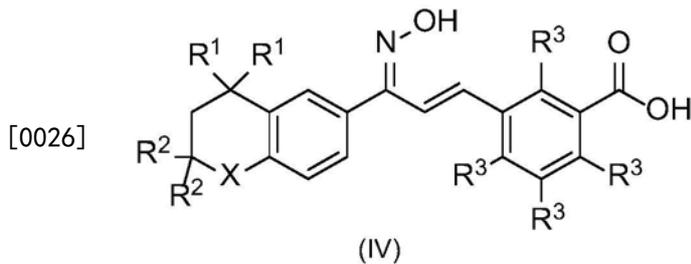


[0024]



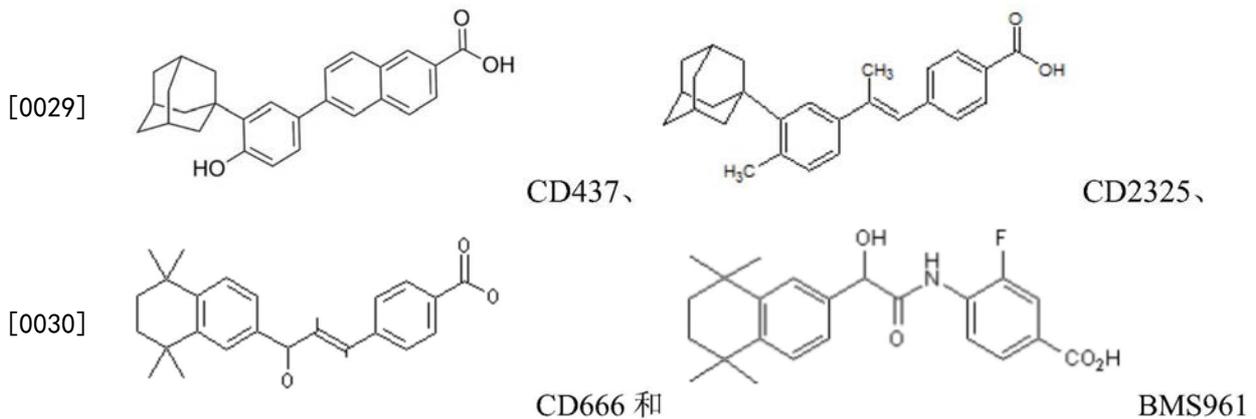
或

[0025] 在一些实施方式中,RAR激动剂是通式(IV)的RAR γ 选择性激动剂:



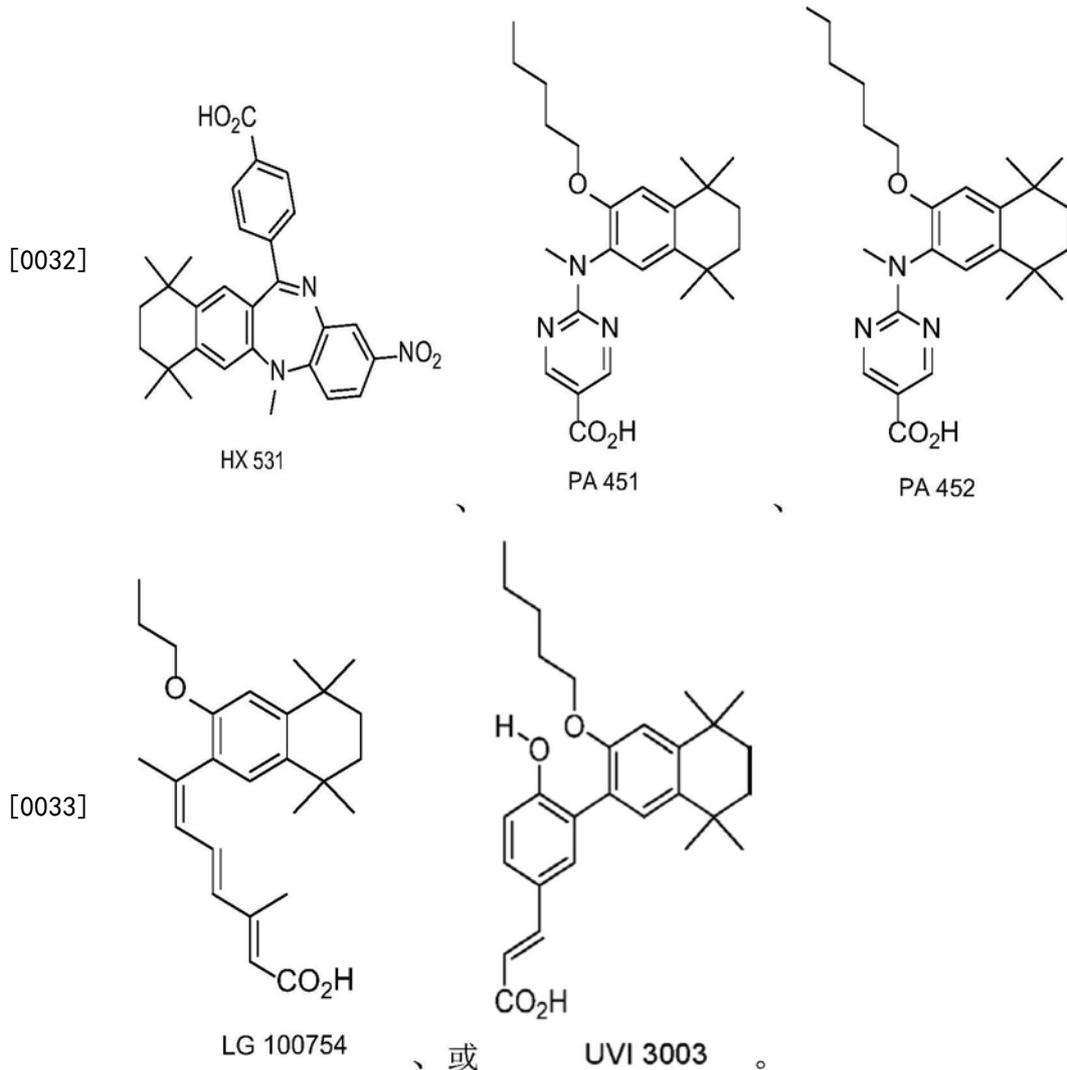
[0027] 其中 R^1 和 R^2 独立地为H或 C_{1-6} 烷基; R^3 为H或F;X是O、S、 CH_2 、 $C(R^4)_2$ 或 NR^5 ,其中 R^4 和 R^5 独立地为H或 C_{1-6} 烷基。

[0028] 在一些实施方式中,RAR激动剂是选自



的RAR γ 选择性激动剂。

[0031] 在一些实施方式中,类视黄醇活性剂是RXR拮抗剂。在一些实施方式中,RXR拮抗剂是:



[0034] 在一些实施方式中,RXR拮抗剂是AGN195393或LGN100849。

[0035] 在一些实施方式中,该方法包括另外施用至少一种癌症化学治疗剂。

[0036] 在一些实施方式中,该方法包括施用至少两种视黄醇活性剂。在一些实施方式中,两种视黄醇活性剂是RAR α 拮抗剂和RAR γ 激动剂。

[0037] 在一些实施方式中,该方法进一步包括向受试者施用至少一种免疫检查点抑制剂。在一些实施方式中,免疫检查点抑制剂是CTLA-4、PD-1、TIM-3、LAG-3、PD-L1配体、B7-H3、B7-H4、BTLA中的至少一种的抑制剂,或是ICOS或OX40激动剂。在一些实施方式中,免疫检查点抑制剂是对CTLA-4、PD-1、TIM-3、LAG-3、PD-L1配体、B7-H3、B7-H4、BTLA、ICOS或OX40中的至少一种的特异性抗体。

[0038] 本文还公开了延长癌症患者的无病生存的方法,其包括施用CAR修饰的免疫细胞和至少一种视黄醇活性剂和/或rexinoid活性剂。

[0039] 本文还公开了降低CAR修饰的免疫细胞毒性的方法,该方法包括向有此需要的受试者施用至少一种视黄醇活性剂和/或rexinoid活性剂与CAR修饰的免疫细胞组合,使得这种组合的结果是,与单独使用CAR修饰的免疫细胞相比,施用较低剂量的CAR修饰的免疫细胞可以更安全、更有效,或使得更高剂量的CAR-MIC可以更高疗效和同等安全地施用。

[0040] 本文还公开了增加CAR修饰的免疫细胞数量的方法,包括在包含至少一种视黄

醇活性剂和/或rexinoid活性剂的培养基中培养CAR修饰的免疫细胞。在一些实施方式中，这代替向患者施用RAR/RXR活性剂。在其他实施方式中，除了向患者施用RAR/RXR活性剂外，还进行了该操作。在不同实施方式中，在CAR修饰的免疫细胞培养物中使用的RAR/RXR活性剂与施用于患者的那些RAR/RXR活性剂是不同的、相同的或一组构成另一组的子集。

[0041] 本文还公开了治疗癌症的方法，该方法包括向有此需要的受试者施用嵌合抗原受体 (CAR) 修饰的免疫细胞、至少一种类视黄醇活性剂和/或rexinoid活性剂以及至少一种免疫检查点抑制剂。

附图说明

[0042] 图1A-C显示RAR受体特异性激动剂调节FoxP3、 $\alpha 4\beta 7$ 和CCR9表达。纯化的 $CD4^+CD25^-$ FoxP3⁻细胞在含有指定浓度的每种RAR激动剂的培养基中培养，并通过流式细胞仪分析总CD4⁺ T细胞中的FoxP3 (图1A)， $\alpha 4\beta 7$ (图1B) 和CCR9 (图1C) 的表达。FoxP3结果代表了三个独立实验。CCR9和 $\alpha 4\beta 7$ 结果代表多次实验。

[0043] 详细描述

[0044] 本文公开了用于治疗癌症的组合，其包含类视黄醇和/或rexinoid化合物和表达嵌合抗原受体的免疫细胞的过继转移 (CAR修饰的免疫细胞或CAR-MIC)。对视黄酸受体 (RAR) 和/或类视黄醇X受体 (RXR) 起作用的化合物可加强CAR修饰的免疫细胞的活性。增强是指当RAR/RXR活性剂与CAR修饰的免疫细胞一起使用时，相比不将RAR/RXR活性剂与CAR一起使用时，CAR修饰的免疫细胞具有更大和/或更快速的作用，或者类似地，与不使用RAR/RXR活性剂时相比，如果还使用RAR/RXR活性剂，则可以用较小剂量的CAR修饰的免疫细胞获得给定的效果。如本文所用，术语“增强”是指与在不存在RAR/RXR活性剂的情况下使用CAR修饰的免疫细胞相比，和RAR/RXR活性剂—尤其是RAR α 拮抗剂、RAR γ 激动剂、RXR拮抗剂或其组合组合使用时，CAR修饰的免疫细胞的功效改善，或患者的反应改善。如本文所用，与不使用RAR/RXR活性剂的情况相比，术语“加强”还指的是当使用RAR/RXR活性剂时的改善的效果。本文所述的增强作用源自RAR/RXR活性剂的免疫调节/免疫调节活性。

[0045] 多种增强模式是可能的。在某些模式下，RAR/RXR活性剂直接作用于CAR修饰的免疫细胞。如下所述，这可能涉及增加效应细胞的数量或效力和/或Treg细胞的抑制，这取决于所使用的特定RAR/RXR活性剂。通过在CAR修饰的免疫细胞的制备培养基中包括RAR/RXR活性剂或通过给患者施用CAR修饰的免疫细胞的同时和/或在其后将RAR/RXR活性剂给患者施用，可以获得这些效果。在某些模式下，RAR/RXR活性剂与CAR修饰的免疫细胞协同作用是通过：1) 通过减少肿瘤中Treg细胞的存在或活性来改变肿瘤环境，从而使肿瘤更容易受到免疫攻击；和/或2) 产生作用于CAR修饰的免疫细胞以增强其有效性的促炎反应。这些效果通常取决于向患者给药的RAR/RXR活性剂。另外，由RAR/RXR活性剂促进的患者的一般抗肿瘤免疫应答可以进一步提高这些治疗的总体有效性。

[0046] 较高的药理学浓度的视黄酸 (RA) 通过增加抑制性CD4⁺调节性T细胞 (Treg细胞) 的水平而引起抗炎作用。RA通过增强转录因子Fox P3的表达来影响此功能，而Fox P3是Treg细胞分化的主要调节因子。RA还可以降低促炎性Th17细胞的水平。RA通过激活视黄酸受体的RAR α 亚型来引起这些作用。RA或RAR α 选择性激动剂的上述功能导致这些化合物有助于肿瘤对免疫疗法的抵抗。抑制性Treg细胞水平的增加阻碍了免疫疗法产生的T细胞的抗肿瘤

活性。RAR α 激动剂还可以减少攻击肿瘤的T细胞的补体,因为它可以降低Th17细胞的水平。相反,RAR α 拮抗剂使肿瘤对免疫疗法敏感,因为RAR α 拮抗剂降低了抑制性Treg细胞的水平并且还增加了效应Th17细胞的水平。因此,在本文公开的一个实施方式中,用CAR修饰的免疫细胞与RAR α 拮抗剂的组合治疗目标癌症。

[0047] 在RA功能的另一个方面,已经表明RA的生理浓度对于T细胞介导的免疫应答的发展至关重要。向T细胞传导信号的RA是CD4⁺ T细胞效应子功能的关键早期介体。

[0048] 使用T细胞表达显性负RAR α (dnRAR α)、取消RAR功能的修饰RAR α 或RAR拮抗剂,表明T细胞介导的功能(例如皮肤移植排斥)需要通过RAR α 进行RA信号传导。因此,在癌症免疫疗法的情况下,将RAR α 拮抗剂或RAR α 反向激动剂与CAR修饰的免疫细胞联合使用具有抵消作用:它可以通过降低抑制性Treg细胞的水平来促进抗肿瘤作用,但是这种拮抗剂也可以通过阻断CD4⁺ T细胞效应功能降低抗肿瘤作用。在这种情况下,将RAR α 拮抗剂与癌症免疫疗法联合使用可能具有有限的价值,甚至可能是有害的。

[0049] 在本文公开的另一个实施方式中,对抗癌免疫应答至关重要的RA信号传导是由RAR γ 介导的。在上述情况下,仅将RAR α 拮抗剂与癌症免疫疗法结合使用将仅导致抑制性Treg细胞的减少,因此有限地提高了免疫疗法的抗肿瘤作用。然而,该方法没有利用通过RAR γ 起作用的RA或其他RAR激动剂对促进CD4⁺ T细胞效应子功能的早期作用和共同施用的癌症免疫疗法的抗肿瘤作用的潜在实质性增强。因此,通过RAR γ 特异性发挥作用的RAR激动剂将促进CD4⁺ T细胞效应子功能而不增加Treg细胞,并且这种RAR γ 选择性激动剂将实质上增强癌症免疫疗法的抗肿瘤作用。在另一个实施方式中,癌症免疫疗法与RAR α 拮抗剂和RAR γ 激动剂的组合一起用于治疗肿瘤。在这种情况下,类视黄醇化合物将通过以下机制增强免疫疗法的抗肿瘤活性:RAR γ 激动剂将促进健康的CD4⁺ T细胞介导的免疫应答的发展;RAR α 拮抗剂将降低抑制性Treg细胞的水平并维持Th17细胞的水平,从而使免疫疗法抗肿瘤作用的调节减至最小。应当理解,使用RAR α 拮抗剂和(非选择性)RAR激动剂的效果将与使用RAR α 拮抗剂和RAR γ 激动剂的效果相似,因为RAR α 拮抗剂会阻断(非选择性)RAR激动剂的RAR α 激动活性。

[0050] RXR激动剂促进抑制性Treg细胞的形成并抑制效应子Th17细胞的形成。因此,在其他实施方式中,RXR拮抗剂(或反向激动剂)与CAR修饰的免疫细胞组合使用将通过减少抑制性Treg细胞的形成和通过增加Th17效应子细胞的水平来增强抗肿瘤活性。

[0051] 总之,以下类型的化合物可用于增加癌症免疫疗法的抗肿瘤活性:RAR α 拮抗剂、RAR γ 激动剂和RXR拮抗剂。在本文公开的方法中,CAR修饰的免疫细胞与一种或多种RAR/RXR活性剂(例如RAR α 拮抗剂、RAR γ 激动剂、RXR拮抗剂)联合给药,有或没有治疗某些癌症的其他药剂。RAR α 拮抗作用和RAR γ 激动作用的性质可能在同一分子中同时存在。因此,在RAR α 处作为拮抗剂的相同分子可以减少Treg细胞形成,并且同时在RAR γ 处作为激动剂进一步减少Treg细胞形成并促进CD4⁺ T细胞效应子功能。以相同的方式,RXR拮抗作用的性质可以与不同分子中的RAR α 拮抗作用或RAR γ 激动作用的性质分开组合。如本文所用,术语“类视黄醇活性剂”包括但不限于作用于RAR的任何化合物。类视黄醇活性剂的非限制性实例是RAR α 拮抗剂和RAR γ 激动剂。如本文所用,术语“类视黄醇活性剂”包括但不限于作用于RXR的任何化合物。类视黄醇活性剂的非限制性实例是RXR拮抗剂。

[0052] RAR/RXR活性剂作为一类,并且在许多情况下单独地,是多效的。在公开的实施方

式中,RAR/RXR活性剂(例如,RAR α 拮抗剂、RAR γ 激动剂、RXR拮抗剂)被用作免疫治疗剂或免疫治疗增强剂。这是间接的作用机制,因为关键作用是对免疫系统的细胞而不是直接对肿瘤细胞。这些或其他RAR/RXR活性剂可能会通过RAR/RXR介导的机制(例如RXR拮抗剂)或通过非RAR/RXR介导的机制直接作用于癌细胞,从而具有可能对某些癌症有用的其他作用。

[0053] 癌症治疗可以通过许多机制进行。一些抗癌药被归类为抗增殖药。这些药物包括通常具有细胞毒性的长期建立的化学治疗剂,以及最近开发的靶向疗法,例如作用于癌细胞中生长调节途径的激酶抑制剂,以及可识别癌细胞表面细胞抗原的基于抗体的疗法。其他治疗方式包括抗血管新生(其中破坏了向肿瘤中为其供应营养的血管内生长)和抗激素(其中激素依赖性肿瘤通过破坏激素的供给或信号传导来治疗)。

[0054] 也可以在各种免疫疗法模式之间进行区分。例如,可以区分基于抗体的疗法和基于细胞的疗法,以及被动和主动疗法。如本文所用,被动疗法是指向患者施用初级免疫治疗剂的疗法。如本文所用,主动疗法是指这样的疗法,其中主要免疫治疗剂是由所施用的试剂例如疫苗在患者中诱导的免疫应答的组分。其他免疫治疗剂被分类为免疫调节剂。如本文所用,主要活性免疫调节剂不是对靶疾病的直接治疗作用,而是增加或减少介导或促进治疗作用的免疫系统组分的产生或活性。免疫系统(细胞或抗体)的此类成分直接作用于抗原靶标或以其他方式对抗原刺激作出反应以促进这种反应,也就是说,在当前公开的实施方式中,免疫系统成分对肿瘤细胞,特别是癌细胞起直接作用,或提供辅助功能。因此,在包括向癌症患者施用CAR修饰的免疫细胞的实施方式中,CAR修饰的免疫细胞被认为是被动的细胞免疫治疗剂。在这些实施方式的另一方面,CAR修饰的免疫细胞具有直接的细胞毒性作用。在涉及使用RAR/RXR活性剂的实施方式中,无论是在CAR修饰的免疫细胞培养基中还是施用于癌症患者,RAR/RXR活性剂都被认为是免疫调节剂。类似地,在那些涉及免疫检查点抑制剂给药的实施方式中,即使该免疫检查点抑制剂是抗体,该免疫检查点抑制剂也被认为是免疫调节剂。

[0055] 多种实施方式专门针对免疫治疗机制,即,使用RAR/RXR活性剂促进对肿瘤的免疫学攻击,并且RAR/RXR活性剂可能具有其他活性,如果有的话,这对于有效性不是至关重要的。一些实施方式可以排除具有其他抗癌活性的药剂。其他实施方式可以利用RAR/RXR活性剂的附加活性。类似地,一些实施方式需要仅施用RAR/RXR活性剂和CAR修饰的免疫细胞。其他实施方式允许与其他疗法和治疗剂组合。这些实施方式中的一些具体包括其他疗法和治疗剂中的一种或另一种。其他或这些实施方式具体排除了其他疗法和治疗剂中的一种或另一种。其他疗法或治疗剂包括其他免疫疗法,抗增殖疗法、化学疗法、细胞毒素剂、细胞抑制剂、靶向疗法、放射疗法、抗激素疗法、抗脉管系统疗法、抗肿瘤抗原抗体、抗癌疫苗、免疫检查点抑制剂和免疫检查点抑制剂抗体。因此,例如,一些实施方式具体包括或排除使用免疫检查点抑制剂,或允许与免疫检查点抑制剂组合,但排除其他免疫疗法或其他癌症疗法。

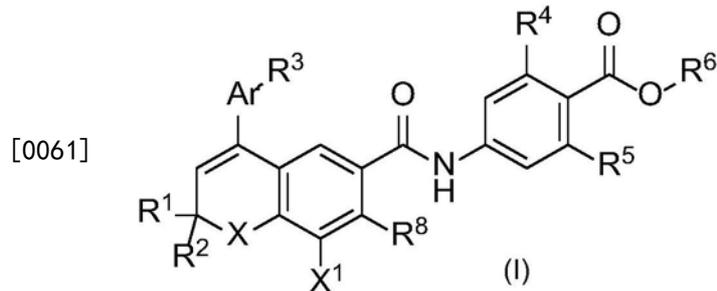
[0056] 本文所用的术语“激动剂”应理解为是指与受体结合并激活受体,产生基因转录和随后的药理反应(例如,收缩、松弛、分泌、酶激活等)的化合物。如本文所用,术语“RAR γ 激动剂”是指相比于与另一分子例如不同的RAR结合相比,以更高的亲和力与RAR γ 结合的化合物。在示例性实施方式中,RAR γ 激动剂对RAR γ 具有超过对RAR α 和/或RAR β 的选择性。因此,RAR选择性激动剂倾向于以高结合亲和力结合至特定的RAR受体靶标。如本文所用,术语“激动剂”包括选择性激动剂。

[0057] 本文使用的术语“拮抗剂”是指通过在与激动剂相同的位点结合而不激活受体来减弱激动剂作用的化合物。拮抗剂本身不会影响未占用受体的基因转录活性。按照惯例，RAR α 拮抗剂是抑制RAR α 激动剂活性的化学试剂。如本文所用，术语“RXR拮抗剂”是指与RXR结合并且不激活它，而是拮抗RXR激动剂产生的转录的化合物。如本文所用，术语“拮抗剂”包括选择性拮抗剂。

[0058] 如本文所用，术语“反向激动剂”应理解是指产生与激动剂相反的作用但作用于相同受体的化合物。反向激动剂本身将减少空位受体的基础基因转录活性。

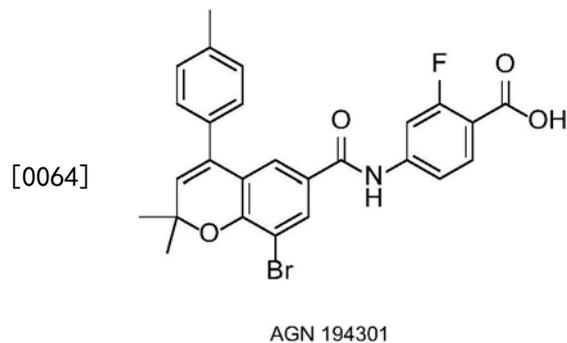
[0059] RAR α 拮抗剂

[0060] 在某些实施方式中，所述RAR α 选择性拮抗剂是由通式(I)表示的化合物：

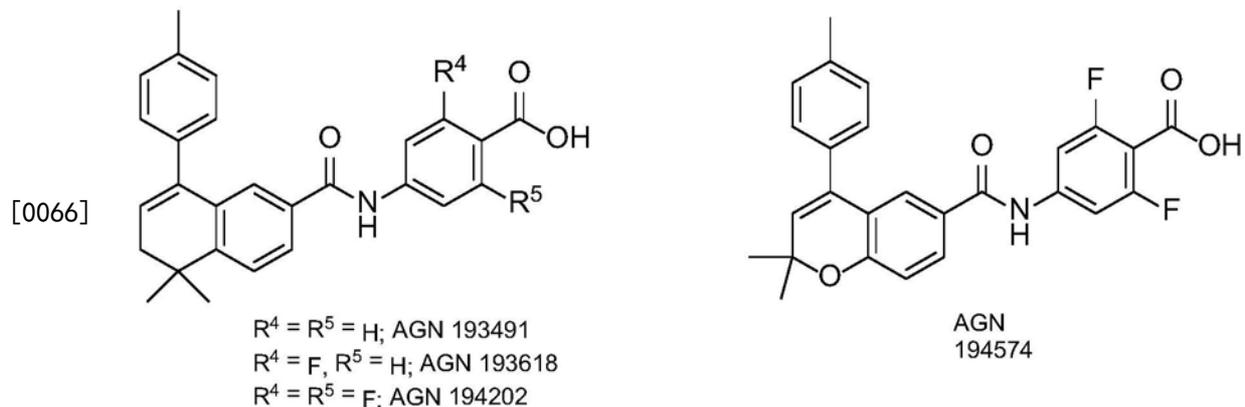


[0062] 其中R¹、R²、R³和R⁶独立地为H或C₁₋₆烷基；R⁴和R⁵独立地为H或F；Ar是苯基、吡啶基、噻吩基、呋喃基或萘基；X为C(CH₃)₂、O、S或NR⁷，其中R⁷为H或C₁₋₆烷基；X¹为H或卤素，例如F、Cl或Br；R⁸为H或OH。R基团的每种组合及其独立选择的取代基的每种组合定义了不同的单独的实施方式。

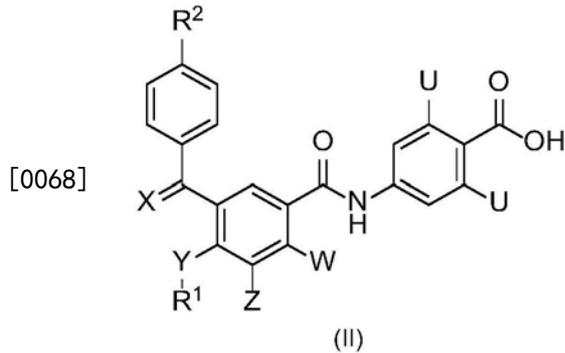
[0063] 通式(I)的示例性RAR α 选择性拮抗剂是化合物AGN194301：



[0065] 通式(I)的一般类别的其他示例性RAR α 拮抗剂包括但不限于AGN 193491, AGN 193618, AGN 194202, AGN 193625和AGN 194574。

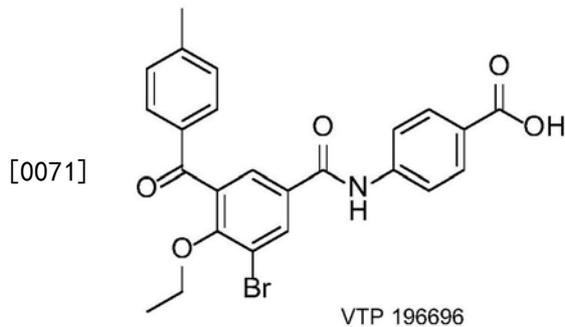


[0067] 在其他实施方式中, RAR α 选择性拮抗剂是通式 (II) 代表的一类化合物的成员

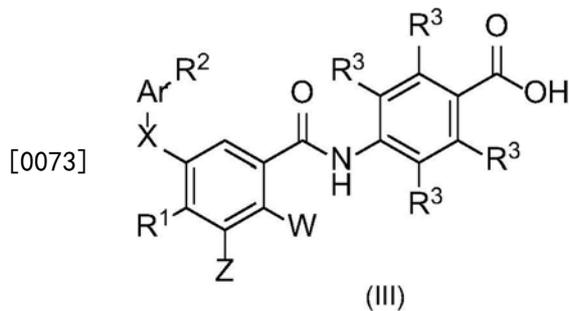


[0069] 其中R¹和R²独立地为C₁₋₆烷基; X是O、S或CH₂; Y为O、S、CH₂或NR³, 其中R³为C₁₋₆烷基; Z是Cl或Br; W是H或OH; U独立为H或F。R基团的每种组合和它们独立选择的取代基的每种组合定义了不同的单独的实施方式。

[0070] 用于本文公开的方法的由通式 (II) 表示的类别的示例性RAR α 选择性拮抗剂由以下结构 (VTP 196696) 表示:

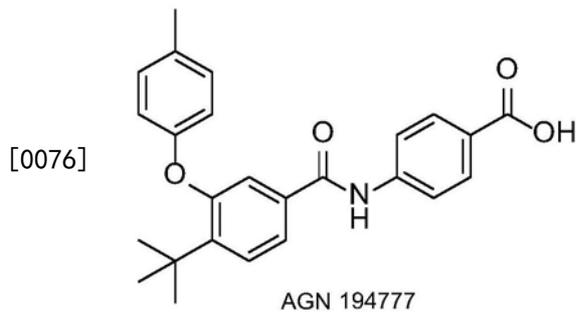


[0072] 在其他实施方式中, RAR α 选择性拮抗剂是通式 (III) 的化合物。



[0074] 其中R¹和R²独立地为H或C₁₋₆烷基; R³是H或F; Ar是苯基、吡啶基、噻吩基、呋喃基或萘基; X是O、S、N或CH₂; W是H或OH; Z是Cl或Br。R基团的每种组合及其独立选择的取代基的每种组合定义了不同的单独的实施方式。

[0075] 通式 (III) 的示例性化合物是AGN194777。

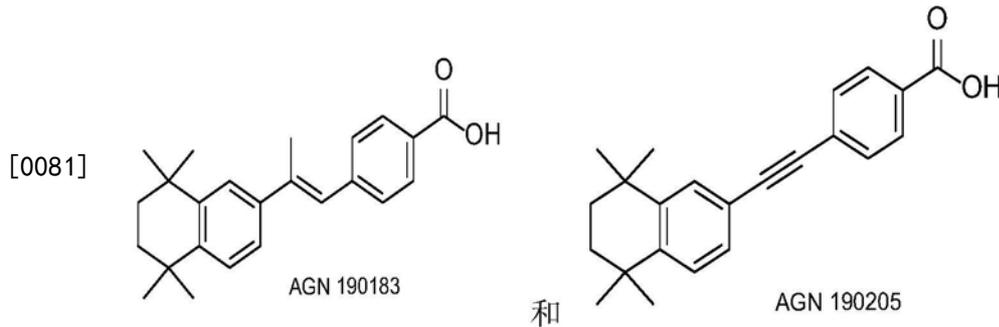


[0077] 其他示例性RAR α 拮抗剂包括但不限于BMS185411、BMS614、Ro41-5253和Ro46-5471。

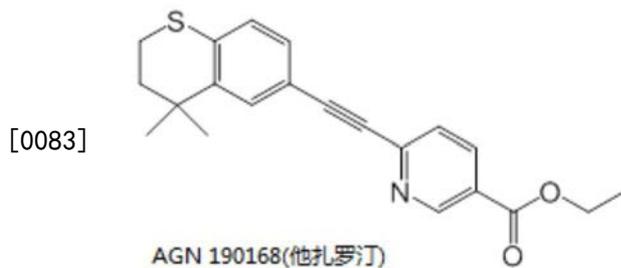
[0078] 另外的RAR拮抗剂或反向激动剂描述于美国专利6037488、5612356、5776699、5958954、5877207、6225494、6455701、5723666、5739338和5919970,以及美国专利申请2009/0176862,因为它们均公开了RAR拮抗剂,因此这些均通过引用并入本文。

[0079] RAR γ 激动剂

[0080] 美国专利5234926、4326055、5324840、5824685和6452032中公开了示例性的RAR γ 激动剂,包括但不限于以下化合物:

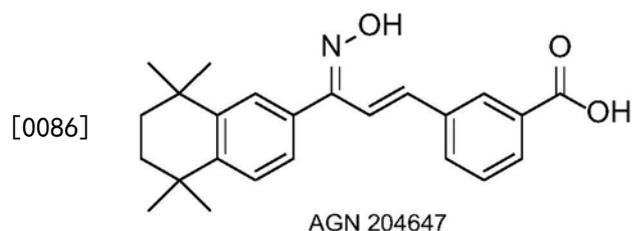


[0082] 另一个示例性的RAR γ 激动剂是AGN 190168。

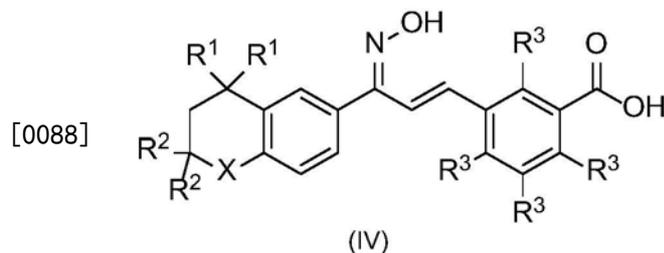


[0084] 尽管诸如AGN190183、AGN190205、AGN190168(他扎罗汀)之类的化合物是RAR γ 激动剂,但它们不具有RAR γ 选择性,因为它们也能激活RAR α 和/或RAR β 。可能更优选使用RAR γ 选择性激动剂,因为RAR α 的激活可以通过增加Treg细胞的产生而抵消由RAR γ 激活产生的T效应子细胞激活作用。另一方面,RAR γ 选择性激动剂将增强癌症免疫疗法的抗肿瘤作用。

[0085] 高度选择性的RAR γ 激动剂的一个实施方式是化合物AGN204647 (IRX4647):



[0087] 其他RAR γ 选择性激动剂是通式 (IV) 的化合物家族的成员:

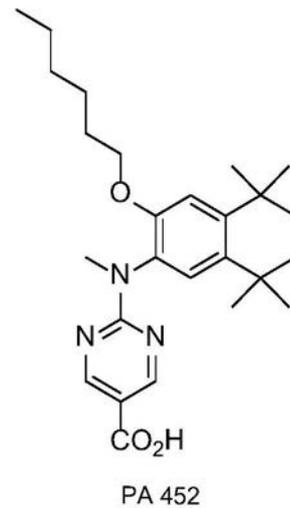
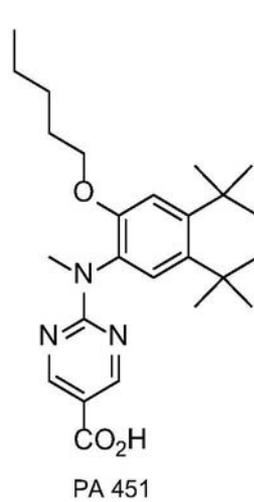
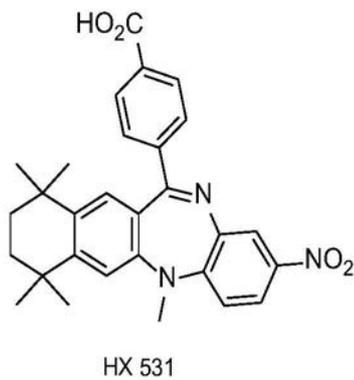


[0089] 其中 R^1 和 R^2 独立地为H或 C_{1-6} 烷基; R^3 为H或F; X 是O、S、 CH_2 、 $C(R^4)_2$ 或 NR^5 ,其中 R^4 和 R^5 独立地为H或 C_{1-6} 烷基。 R 基团的每种组合及其独立选择的取代基的每种组合定义了不同的单独的实施方式。

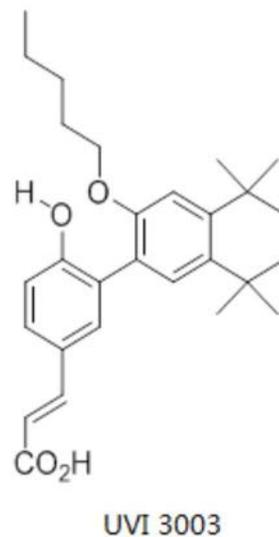
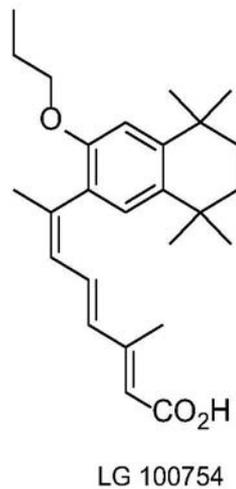
[0090] 另外的RAR γ 选择性激动剂包括但不限于CD437、CD2325、CD666和BMS961。在国际公开WO 02/28810A2中描述了另外的RAR γ 激动剂,其关于RAR γ 激动剂的所有公开内容通过引用并入本文。

[0091] RXR拮抗剂

[0092] 示例性的RXR拮抗剂包括但不限于AGN195393、LGN100849、HX531、LG100754、PA451、PA452和UVI3003。



[0093]



、或

[0094] CAR修饰的免疫细胞

[0095] 肿瘤细胞通常下调主要组织相容性复合体 (MHC) 的表达,此外,当它们确实表达 MHC 等位基因时,通常并不知道免疫优势表位。因此,依赖 MHC 的癌症免疫疗法通常无效。嵌合抗原受体 (CAR) 修饰的免疫细胞与癌细胞上的靶抗原发生 MHC 独立反应。CAR 允许通过抗原结合结构域与靶细胞结合,其中 CAR 修饰的细胞通过与靶细胞结合并诱导针对肿瘤目标的修饰细胞的激活、增殖和细胞毒性作用以 MHC 非限制性方式杀死靶细胞。

[0096] 如本文所用,术语“靶细胞”是指表达可被 CAR 结合的表面抗原的细胞。抗原也可以称为“靶抗原”。靶抗原是在癌细胞上差异表达的抗原,因此 CAR 优先于非癌细胞靶向癌细胞。

[0097] 一旦修饰的免疫细胞与靶抗原结合,内部刺激结构域就会为免疫细胞充分激活提供必要的信号。在这种完全激活的状态下,免疫细胞可以更有效地增殖并攻击癌细胞。

[0098] CAR 修饰的细胞可以识别多种类型的抗原,不仅可以识别蛋白质,还可以识别通常在肿瘤细胞表面表达的碳水化合物和糖脂结构。与 T 细胞受体 (TCR) 识别不同,该抗原不需要由 MHC 处理和呈递,因此无论 HLA 类型如何,所有表达相同肿瘤抗原的患者都可以使用相同的 CAR 分子。

[0099] CAR包含重组多肽构建体,其包含至少抗原结合结构域、跨膜结构域和一个或多个细胞内刺激结构域(也称为细胞质信号传导结构域或细胞内信号传导结构域)。抗原结合结构域允许修饰的免疫细胞特异性结合靶组织,跨膜结构域将CAR锚定至免疫细胞,而细胞内刺激结构域则在转导的细胞中诱导持久性、运输和效应子功能。

[0100] CAR的抗原结合结构域通常源自单克隆抗体,但是也可以使用其他配体(例如调蛋白、细胞因子)和受体(例如NKp30)。抗原结合结构域可包括保留抗原结合功能的抗体的任何片段。例如,CAR抗原结合结构域通常由单链可变片段(scFv)贡献,该单链可变片段由单克隆抗体的重链和轻链的可变区形成。

[0101] 一方面,跨膜结构域包含与T细胞受体复合物相关的zeta(ζ)链的序列,例如人CD3 ζ 链的胞内结构域。

[0102] 细胞内刺激结构域可包括CD28、4-1BB(CD137)、CD134(OX-40)、ICOS和CD40L中的一种或多种。

[0103] 抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内刺激结构域直接或通过间隔序列连接。

[0104] CAR序列被掺入表达载体中。多种表达载体是本领域已知的,并且可以使用任何此类载体。在一些实施方式中,载体将是逆转录病毒或慢病毒载体。在其他实施方式中,载体将衍生自腺相关病毒。

[0105] 免疫细胞用CAR转化,然后CAR在细胞表面表达。通常,免疫细胞稳定表达CAR,尽管在一些实施方式中,免疫细胞可以瞬时表达CAR。免疫细胞因此被编码CAR的核酸例如mRNA、cDNA、DNA转染。本公开的免疫细胞包括哺乳动物细胞(例如人细胞),并且可以是自体细胞、同系细胞、同种异体细胞,甚至在某些情况下是异种细胞。这些细胞被改造成表达CAR,因此没有发现天然的。示例性免疫细胞包括T淋巴细胞(T细胞)、自然杀伤(NK)细胞、NKT细胞和巨噬细胞(包括单核细胞和树突状细胞)。

[0106] 然后培养CAR修饰的免疫细胞以扩大种群,以单剂量或多剂量获得合适数量的细胞。

[0107] 在某些实施方式中,在培养期间将一种或多种类视黄醇和/或rexinoid活性剂添加至扩增培养基中,并直接对CAR修饰的细胞产生作用。例如,在培养CAR-MIC时,将选择添加至扩增培养基中的一种或多种类视黄醇和/或rexinoid活性剂,用于例如抑制Treg细胞发育的能力和/或促进Th 17细胞发育的能力。在一些实施方式中,一种或多种类视黄醇和/或rexinoid活性剂包括在CAR修饰的免疫细胞的扩增培养基中,并直接施用于受试者。

[0108] 免疫检查点靶向的癌症疗法

[0109] 免疫检查点疗法的目标是调节T细胞分化和激活的途径,以通过这些检查点促进T细胞发育程序,从而可以实现抗肿瘤(或其他治疗)活性。引起免疫检查点治疗的药剂通常被称为免疫检查点抑制剂,应该理解的是,对T细胞发育的检查被抑制了。因此,尽管许多免疫检查点抑制剂也抑制受体-配体对(例如抗PD-1、抗PD-L1和CTLA-4)的相互作用,但其他(例如抗OX40和抗ICOS)作为靶标的抑制剂,释放或以其他方式抑制T细胞发育检查,最终促进效应子功能和/或抑制调节功能。

[0110] 本文公开了类视黄醇和/或rexinoid受体活性分子(RAR/RXR活性剂)作为与CAR修饰的免疫细胞联合的免疫检查点抑制剂分子的抗肿瘤作用的增强剂的用途。抑制免疫检查点蛋白的分子包括对PD-1、PD-1配体、CTLA-4、TIM-3、LAG-3、B7-H3和B7-H4中的一种或多种

具有特异性的抗体。

[0111] 程序性死亡-1 (PD-1) 是T细胞上的检查点蛋白,通常充当“关闭开关”的一种,有助于防止T细胞攻击机体内的其他细胞。它通过与程序性死亡配体-1 (PD-L1) 结合来实现此目的,PD-L1是一些正常细胞和癌细胞上的蛋白质。当PD-1与PD-L1结合时,T细胞将不会攻击靶细胞。一些癌细胞具有大量的PD-L1,这有助于它们逃避免疫攻击。靶向PD-1或PD-L1的单克隆抗体可以增强针对癌细胞的免疫反应,并且在治疗某些癌症方面显示出巨大的希望。靶向PD-1/PL-L1的单克隆抗体的例子包括:抗PD-1mAbs纳武单抗 (nivolumab) (OPDIVO[®], 百时美施贵宝) 和派姆单抗 (pembrolizumab) (KEYTRUDA[®], 默沙东公司)、BMS-936559 (百时美施贵宝)、pidilizumab (Medivation): 和抗PD-L1 mAbs德瓦鲁单抗 (durvalumab) (MEDI4736, IMFINZI[™], Medimmune)、阿特殊单抗 (atezolizumab) (MPDL3280A; TECENTRIQ[®], Hoffman-La Roche)、阿维鲁单抗 (avelumab) (BAVENCIO[®], EMD雪兰诺)。这些抗体在各种方面已证明可用于治疗各种癌症,包括恶性黑色素瘤 (MM)、肾细胞癌 (RCC)、默克尔细胞癌、尿路上皮癌和非小细胞肺癌 (NSCLC)。PD-1/PD-I1相互作用的非抗体抑制剂也正在开发;例如,基于Stefin A的小型工程蛋白 (称为AFFIMER[®]分子)。除PD-L1外,PD-1还可以与PD-L2结合。除PD-1外,PD-L1还可以与B7-1 (CD80) 结合。

[0112] CTLA-4是在CD4和CD8 T细胞表面以及CD25+, FOXP3+ T调节 (Treg) 细胞上表达的免疫检查点分子。CTLA-4产生阻断T细胞反应的抑制信号,并使肿瘤生长。抗CTLA-4mAb, 例如伊匹单抗 (ipilimumab) (YERVOY[®]; 百时美施贵宝) 在动物模型中引起肿瘤缩小。伊匹单抗可改善MM患者的总体生存率,并被批准用于MM治疗。在RCC和NSCLC中也观察到了反应。其他示例性的抗CTLA-4抗体包括tremelimumab (Medimmune)。

[0113] CTLA-4阻断抗体伊匹单抗仅在一部分黑色素瘤患者中产生持久应答,并且其对总体生存的影响有限。这导致对CTLA-4阻断抗性机制的寻找,并确定了胞质酶吡啶胺2,3-二加氧酶 (IDO) 作为黑色素瘤抗性的有效介体。IDO直接抑制效应子T细胞并激活抑制性Treg细胞,从而调节CTLA-4阻断剂的抗肿瘤作用。IDO抑制剂 (例如1-甲基色氨酸) 具有T细胞依赖性抗肿瘤作用,并与CTLA-4阻断抗体协同作用,以控制肿瘤的生长并提高生存率。

[0114] TIM-3 (T细胞免疫球蛋白和含有粘蛋白结构域-3) 是在产生IFN- γ 的CD4⁺ T辅助细胞1 (Th1) 和CD8⁺ T细胞毒性1 (Tc1) T细胞上选择性表达的分子。TIM-3是一种免疫检查点受体,其功能特别是限制Th1和Tc1 T细胞反应的持续时间和强度。在美国专利申请公开20160075783中公开了针对TIM-3的示例性抗体,其包含的关于抗TIM-3抗体的全部内容通过引用并入本文。

[0115] LAG-3 (淋巴细胞激活基因3; CD223) 以与CTLA-4和PD-1类似的方式负调节T细胞的细胞增殖、激活和稳态,并在Treg抑制功能中发挥作用。针对LAG-3的示例性抗体包括GSK2831781 (葛兰素史克)、BMS-986016 (百时美施贵宝) 和美国专利申请公开2011/0150892中公开的抗体,该专利所包含的有关抗LAG-3抗体的全部内容通过引用并入本文。

[0116] B7家族是共刺激蛋白家族,在抗原呈递细胞表面表达并与T细胞上的配体相互作用。B7-H3 (CD276) 是该家族的分子之一。针对B7-H3的抗体Enoblituzumab (EMPLICITI[™], 百时美施贵宝) 批准了用于治疗多发性骨髓瘤。该家族中的另一个分子是B7-H4 (含V-set结构域的T细胞活化抑制剂1),目前正在开发针对其的抗体。

[0117] 其他免疫检查点抑制剂靶标、B细胞和T细胞减毒剂(BTLA)、诱导型T细胞共刺激物(ICOS)、OX40(肿瘤坏死因子受体超家族,成员4)等在公开的方法中可能有用。几种抗OX40激动剂单克隆抗体正在早期癌症临床试验中,包括MEDI0562和MEDI6469(Medimmune)、MOXR0916(Genentech)和PF-04518600(Pfizer);以及抗ICOS激动剂抗体、JTX-2011(Jounce Therapeutics)。

[0118] 本文公开了增强免疫检查点靶向免疫治疗剂的抗癌活性的方法,所述免疫治疗剂包括CTLA-4抑制剂、PD-1抑制剂、TIM-3抑制剂、LAG-3抑制剂、PD-1配体(例如PDL-1)、PD-1配体的抑制剂、OX40激动剂、ICOS激动剂、B7-H3蛋白、B7-H3蛋白的抑制剂、B7-H4蛋白和B7-H4的抑制剂蛋白。在某些实施方式中,抑制剂是抗体。

[0119] 靶向免疫治疗抗体的免疫检查点可以是完整抗体或抗体片段。术语“抗体的片段”、“抗体片段”和“抗体的功能片段”在本文可互换使用,是指保留特异性结合抗原的能力的一个或多个抗体片段。抗体片段理想地包含例如一个或多个互补决定区(CDR)、可变区(或其部分)、恒定区(或其部分)或其组合。抗体片段的实例包括但不限于Fab片段,其是由 V_L 、 V_H 、 C_L 和 CH_1 结构域组成的单价片段;和 $F(ab')_2$ 片段,其为包含通过铰链区的二硫键连接的两个Fab片段二价片段;Fv片段,其由抗体单臂的 V_L 和 V_H 结构域组成;单链Fv,其中 V_L 和 V_H 结构域通过肽接头序列连接;Fab'片段,其是通过使用温和的还原条件打破 $F(ab')_2$ 片段的二硫键而产生的;二硫键稳定的Fv片段(dsFv);域抗体(dAb),是特异性结合抗原的抗体单可变区域(V_H 或 V_L)多肽。还应该认识到,这些形式的抗原结合抗体片段中的任何一种都可以提供CAR的抗原结合结构域。

[0120] 在替代实施方式中,抗体被类似地结合至免疫检查点靶分子的另一种蛋白质替代。在一些情况下,这些非抗体分子包含免疫检查点靶分子的配体或结合伴侣的细胞外部分,即,至少介导与免疫检查点靶分子结合所需的细胞外部分。在一些实施方式中,配体的该细胞外结合部分与融合蛋白中的另外的多肽连接。在一些实施方式中,另外的多肽包含抗体的Fc或恒定区。

[0121] 治疗方法

[0122] 本文提供了通过施用CAR修饰的免疫细胞和一种或多种RAR/RXR活性剂来治疗哺乳动物中的癌症的方法。更具体地说,这些是癌症免疫治疗的方法和增强CAR修饰的免疫细胞免疫治疗的方法。在一些实施方式中,除了CAR修饰的免疫细胞和一种或多种RAR/RXR活性剂之外,还施用免疫检查点抑制剂。还提供了减少肿瘤负担、增加患有癌症的受试者的无病生存期的方法。其他实施方式涉及包含此类药剂的组合物,其用于治疗癌症、癌症免疫疗法以及增强CAR修饰的免疫细胞介导的免疫疗法。其他实施方式还涉及用于制备用于治疗癌症、用于癌症免疫疗法以及用于增强CAR修饰的免疫细胞介导的免疫疗法的药物的组合物。应当理解,所使用的多种药剂可以以单独的组合物或药物的形式提供,所述单独的组合物或药物可以通过单独的施用途径和/或在不同的时间施用。但是,要协调使用这种多种组合物或药物,以便向其给药的患者从多种药物的联合相互作用中受益。对于本文公开的治疗癌症的每种方法,都有相应的癌症免疫疗法方法。对于每种治疗癌症或癌症免疫疗法的方法,都有相应的增强癌症治疗/免疫疗法的方法。

[0123] 在一些实施方式中,该方法包括施用CAR修饰的免疫细胞和RAR活性剂。在一些实施方式中,该方法包括施用CAR修饰的免疫细胞和RAR拮抗剂。在一些实施方式中,该方法

包括施用CAR修饰的免疫细胞和RAR γ 激动剂。在一些实施方式中,该方法包括施用CAR修饰的免疫细胞和两种RAR活性剂。在一些实施方式中,该方法包括施用CAR修饰的免疫细胞和RAR α 拮抗剂和RAR激动剂。在一些实施方式中,该方法包括施用CAR修饰的免疫细胞和RAR α 拮抗剂和RAR γ 选择性激动剂。在某些实施方式中,所述RAR α 拮抗剂是AGN 194301、AGN 193491、AGN 193618、AGN 194202、AGN 194574、VTP196696、AGN 19477、BMS185411、BMS614、Ro41-5253或Ro46-5471。在一些实施方式中,RAR激动剂是AGN 190183、AGN 190205、AFN 204647或他扎罗汀。在一些实施方式中,RAR γ 选择性激动剂是CD437、CD2325、CD666或BMS961。

[0124] 在一些实施方式中,该方法包括施用CAR修饰的免疫细胞和RXR活性剂。在一些实施方式中,该方法包括施用CAR修饰的免疫细胞和RXR拮抗剂。在一些实施方式中,RXR拮抗剂是AGN 195393或LGN 100849。关于在本文所述的各种用途或治疗实施方式的方法的使用多种RAR/RXR活性剂,可以将任何公开的通式类、其子类以及单个种类与任何其他通式类组合、其子类和单个物种的组合,每个这种组合定义一个单独的实施方式。

[0125] 本文公开的化合物、药物组合物和方法对于癌症的治疗特别有用。如本文所用,术语“癌症”是指细胞失调,其特征在于细胞增殖不受控制或失调,细胞分化降低,侵袭周围组织的不适当能力和/或在异位部位建立新的生长的能力。术语“癌症”包括但不限于实体瘤和血液肿瘤。术语“癌症”涵盖皮肤、组织、器官、骨骼、软骨、血液和血管的疾病。术语“癌症”进一步涵盖原发性和转移性癌症。术语“癌细胞”包括癌症干细胞。

[0126] 所公开的方法可以用于治疗本领域已知的任何类型的癌症,例如,黑素瘤、肾细胞癌、肺癌、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、结肠癌、胆囊癌、喉癌、肝癌、甲状腺癌、胃癌、唾液腺癌、前列腺癌、胰腺癌、血液学癌或默克尔细胞癌。在一些实施方式中,血液癌症是白血病、淋巴瘤、骨髓增生异常综合症或骨髓瘤。在选择的实施方式中,治疗特定类型的癌症。在其他选择的实施方式中,将特定类型的癌症排除在治疗之外。

[0127] 如本文所用,术语“治疗(treating)”、“治疗(treatment)”等是指获得所需的药理和/或生理作用。优选地,该作用是治疗性的,即,该作用部分或完全治愈疾病和/或归因于该疾病的不良症状。“治疗有效量”是指在必要的剂量和时间段内有效达到所需治疗结果的量。治疗有效量可以根据诸如个体的疾病状态、年龄、性别和体重以及在个体中CAR修饰的免疫细胞和一种或多种类视黄醇和/或rexinoid活性剂引起期望反应的能力等因素而变化。例如,本文公开的类视黄醇活性剂的治疗有效量是增强CAR修饰的免疫细胞的抗癌活性或导致受试者无病生存的发生或持续时间增加的量。

[0128] 另外,一种或多种类视黄醇和/或rexinoid活性剂可通过允许以相同的功效施用较低剂量的CAR修饰的免疫细胞或以相同的安全度施用较高剂量的CAR修饰的免疫剂来降低与CAR修饰的免疫细胞相关的毒性。

[0129] 术语“治疗”或“治疗”广泛地包括任何种类的治疗活动,包括对人或其他动物疾病的诊断、缓解或预防,或其他会影响人或其他动物的结构或身体功能的任何活性。治疗活动包括特别是根据本文公开的各种治疗方法,无论是由医疗保健专业人员、患者本人还是任何其他其他人向患者施用本文所述的药物、剂型和药物组合物。治疗活动包括医疗保健专业人员(例如医师、医师的助手、护士从业人员等)的命令、指示和建议,然后由包括其他医疗保健专业人员或患者本人在内的任何其他其他人执行操作。在一些实施方式中,治疗活动还可包

括鼓励、诱导或要求选择特定药物或其组合来治疗疾病-并且该药物已实际使用-通过批准该药物的保险范围、拒绝该药物替代药物的范围,包括药物配方中的药物或从药物配方中排除替代药物,或提供使用该药物的经济诱因,例如保险公司或药房福利管理公司可能会这样做。在一些实施方式中,治疗活动还可以包括治疗活动还可以包括鼓励、诱导,或要求特定药剂选择治疗的条件和实际使用的药剂,其是由医院,诊所,健康维护组织,医疗实践或医师组等建立的政策或实践标准。

[0130] CAR修饰的免疫细胞的典型剂量可以是例如每剂量 1×10^6 至 3×10^{10} 个细胞。在一些实施方式中,以至少 1×10^6 细胞/剂量、至少 3×10^6 细胞/剂量、至少 1×10^7 细胞/剂量、至少 3×10^7 细胞/剂量、至少 1×10^8 细胞/剂量、至少 3×10^8 细胞/剂量、至少 1×10^9 细胞/剂量、至少 3×10^9 细胞/剂量、至少 1×10^{10} 个细胞/剂量、至少 3×10^{10} 个细胞/剂量,或由上述任意两个值定义的范围的剂量施用CAR修饰的免疫细胞。在一些实施方式中,CAR修饰的免疫细胞的典型剂量可以在例如每千克患者体重 1×10^5 至 1×10^8 个细胞的范围内。在一些实施方式中,以至少 1×10^5 细胞/kg、至少 3×10^5 细胞/kg、至少 6×10^5 细胞/kg、至少 1×10^6 细胞/kg的剂量、至少 3×10^6 个细胞/kg,至少 6×10^6 个细胞/kg、至少 1×10^7 个细胞/kg、至少 3×10^7 个细胞/kg或由上述任意两个值定义的范围的剂量施用CAR修饰的免疫细胞。

[0131] 可以通过定期评估接受治疗的患者来监测治疗或预防功效。对于几天或更长的重复给药,取决于疾病状况,可以重复治疗,直到发生所需的疾病或疾病症状抑制为止。然而,其他剂量方案可能是有用的并且在本公开的范围内。可以通过单次大剂量施用,多次大剂量施用或通过连续输注CAR修饰的免疫细胞来递送所需剂量。在各种实施方式中,连续输注可以持续半小时、一个小时、几个小时、一天或几天。治疗可以包括单次或多次输注。

[0132] 在一些实施方式中,将CAR修饰的免疫细胞与其他药剂一起进行其他预处理或同时给药。在一些实施方式中,将要接受CAR修饰的免疫细胞的受试者用非骨髓性淋巴细胞消耗疗法进行预处理,例如但不限于用环磷酰胺和/或氟达拉滨治疗。在一些实施方式中,将CAR修饰的免疫细胞与白介素2一起施用。

[0133] CAR修饰的免疫细胞可以向受试者一次或多次施用。可以每周、每两周、每月、每两个月或根据癌症进展的证据来施用细胞。

[0134] 根据癌症的类型和要治疗的患者以及给药途径,可以以不同的治疗有效量向有需要的患者施用所公开的RAR α 拮抗剂、RAR γ 激动剂和RXR拮抗剂。

[0135] 然而,在本方法的上下文中,向哺乳动物,特别是人施用的剂量应足以在合理的时间内在哺乳动物中产生治疗反应。本领域技术人员将认识到,确切剂量和组成以及最合适的递送方案的选择还将受到制剂的药理特性、所治疗病症的性质和严重程度以及接受者的身体状况和心理敏锐度,以及特定化合物的功效、年龄、状况、体重、性别和待治疗患者的反应以及疾病的阶段/严重程度的影响。

[0136] RAR α 拮抗剂的典型剂量为 0.01 至 $300\text{mg}/\text{m}^2/\text{天}$;然而,低于或高于该示例性范围的剂量也在本公开的范围内。日剂量可以为约 0.5 至 $100\text{mg}/\text{m}^2/\text{天}$, 1 至 $90\text{mg}/\text{m}^2/\text{天}$, 5 至 $80\text{mg}/\text{m}^2/\text{天}$;或至少 0.02 、 0.03 、 0.05 、 0.07 、 0.1 、 0.2 、 0.3 、 0.5 、 0.7 、 1 、 2 、 3 、 5 、 7 、 10 、 15 、 20 、 25 、 30 、 50 、 70 或 $100\text{mg}/\text{m}^2/\text{天}$;或不超过 0.1 、 0.2 、 0.3 、 0.5 、 0.7 、 1 、 2 、 3 、 5 、 7 、 10 、 15 、 20 、 25 、 30 、 50 、 60 、 70 、 80 、 90 、 100 、 125 、 150 、 175 、 200 、 225 、 250 、 275 或 $300\text{mg}/\text{m}^2/\text{天}$;或由上述任何两个值定义的范围。

[0137] RAR γ 激动剂的典型剂量是0.01至300mg/m²/天;然而,低于或高于该示例性范围的剂量也在本公开的范围。日剂量可以为约0.5至100mg/m²/天,1至90mg/m²/天,5至80mg/m²/天;或至少0.02、0.03、0.05、0.07、0.1、0.2、0.3、0.5、0.7、1、2、3、5、7、10、15、20、25、30、50、70或100mg/m²/天;或不超过0.1、0.2、0.3、0.5、0.7、1、2、3、5、7、10、15、20、25、30、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、225、250、275或300mg/m²/天;或由上述任何两个值定义的范围。

[0138] RXR拮抗剂的典型剂量为0.01至300mg/m²/天;然而,低于或高于该示例性范围的剂量也在本公开的范围。日剂量可以为约0.5至100mg/m²/天,1至90mg/m²/天,5至80mg/m²/天;或至少0.02、0.03、0.05、0.07、0.1、0.2、0.3、0.5、0.7、1、2、3、5、7、10、15、20、25、30、50、70或100mg/m²/天;或不超过0.1、0.2、0.3、0.5、0.7、1、2、3、5、7、10、15、20、25、30、50、60、70、80、90、100、125、150、175、200、225、250、275或300mg/m²/天;或由上述任何两个值定义的范围。

[0139] 通常,人体的平均表面积对于成年男性为1.9m²,对于成年女性为1.6m²,对于12-13岁的孩子为1.33m²。这些值可用于为前几段中的值计算每日剂量的剂量范围。RAR/RXR活性剂的每日总剂量可以单剂量给药,也可以以间隔8至16个小时或10至14个小时的24小时周期施用两次的剂量施用。RAR/RXR活性剂与CAR修饰的免疫细胞协同给药,如上所述,可以通过定期评估治疗的患者来监测治疗或预防功效。对于几天或更长的重复给药,取决于疾病状况,可以重复治疗直到发生所需的疾病或疾病症状抑制为止。然而,其他剂量方案可能是有用的并且在本公开的范围。可通过单次输注组合物、多次输注组合物或连续输注组合物来递送所需剂量。

[0140] 可以使用标准的给药技术将类视黄醇和/或rexinoid活性剂给予哺乳动物,包括肠胃外、口服、静脉内、腹膜内、皮下、肺、透皮、肌内、鼻内、口腔、舌下或栓剂给药。如本文所用,术语“肠胃外”包括静脉内、肌内、皮下、直肠、阴道和腹膜内给药。通过静脉内、腹膜内或皮下注射使用外周全身递送向哺乳动物施用CAR修饰的免疫细胞。类视黄醇和/或rexinoid活性剂优选适于口服给药,例如作为丸剂、片剂或胶囊剂。

[0141] 给药可以是连续的或间歇的。剂量还可以通过给药的时间和频率来确定。因此,本文公开的RAR α 激动剂可以每天、每周、每两周或每月一次给予一段时间,随后是任选的药物休假(无药期),并且可以重复该药物施用/药物休假周期有必要的。在某些实施方式中,RAR α 激动剂的总日剂量可以以单剂量或以以间隔8至16小时或10至14小时的24小时周期施用两次的剂量施用。

[0142] 本文公开的CAR修饰的免疫细胞和类视黄醇和/或rexinoid活性剂可以基本上同时(彼此在1小时之内)或在不同时间施用。在一些实施方式中,在给予CAR修饰的免疫细胞之前至少30分钟、至少1小时或至少2小时用类视黄醇和/或rexinoid活性剂对受试者进行预处理。在优选的实施方式中,在给予CAR修饰的免疫细胞之前,用类视黄醇和/或rexinoid活性剂对受试者进行至少12小时或1天、2、3、4、5天的预处理。在一些实施方式中,在施用CAR修饰的免疫细胞之前,用类视黄醇和/或rexinoid活性剂对受试者预处理5-10天,例如6、7或8天,或由上述两个值中的任何一个定义的任何范围。在一些实施方式中,类视黄醇和/或rexinoid活性剂在CAR修饰的免疫细胞施用开始后施用,例如在同一天、第二天、两天后、三天后、一周后等。可以预期,RAR/RXR治疗将每天进行一段时间,并且可能比CAR修饰的

免疫细胞更长。在一些实施方式中,持续施用RAR和/或RXR活性剂,直到患者表现出持久的完全应答,即,在施用CAR修饰的免疫细胞后至少6个月的完全应答为止。在其他实施方式中,只要肿瘤消退或疾病稳定,就继续施用RAR和/或RXR活性剂。

[0143] 本文公开的CAR修饰的免疫细胞和类视黄醇和/或rexinoid活性剂可以与其他药物组合给药,所述其他药物例如至少一种其他抗癌剂,包括例如本领域已知的任何化学治疗剂、电离辐射、小分子抗癌药、癌症疫苗、生物疗法(例如其他单克隆抗体、杀癌病毒、基因疗法和过继性T细胞转移)和/或手术。在其他实施方式中,CAR修饰的免疫细胞和类视黄醇和/或rexinoid活性剂是施用的唯一治疗剂或提供的唯一治疗方法;或提供的唯一治疗方法或试剂,其主要用途是促进抗癌免疫反应。

[0144] 癌症治疗的有效性通常用“反应”来衡量。监视反应的技术可以类似于用于诊断癌症的测试,例如但不限于:

[0145] • 可以通过体检从外部感觉并测量到涉及一些淋巴结的肿块或肿瘤。

[0146] • 一些内部癌症肿瘤会在X射线或CT扫描中显示出来,并且可以用尺子进行测量。

[0147] • 可以进行血液检查,包括那些测量器官功能的检查。

[0148] • 可以对某些癌症进行肿瘤标志物测试。

[0149] 无论使用哪种测试,无论是血液测试、细胞计数测试还是肿瘤标志物测试,都以特定的时间间隔重复进行,以便可以将结果与相同类型的早期测试进行比较。对癌症治疗的反应定义了以下几种方式:

[0150] • 完全反应-所有癌症或肿瘤消失;没有疾病的证据。肿瘤标志物的表达水平(如果适用)可能在正常范围内。

[0151] • 部分反应-癌症缩小了一定百分比,但疾病仍然存在。肿瘤标志物的水平(如果适用)可能下降(或增加,基于肿瘤标志物,以指示肿瘤负担减轻),但仍存在疾病证据。

[0152] • 疾病稳定-癌症既没有增长也没有缩小;疾病的数量没有改变。肿瘤标志物(如果适用)没有明显变化。

[0153] • 疾病进展-癌症已发展;现在的疾病比治疗前要多。肿瘤标志物测试(如果适用)表明肿瘤标志物已升高。

[0154] 癌症治疗功效的其他衡量指标包括总体生存时间间隔(即从任何原因到死亡的时间,从诊断或评估开始的治疗开始测量)、无癌症生存时间(即无法检测到完全反应的癌症的时间长度)和无进展生存期(即无法检测到疾病稳定后或恢复肿瘤生长的部分反应后的时间长度)。

[0155] 有两种标准方法可以评估关于肿瘤大小(肿瘤负担)的实体癌治疗反应,即WHO和RECIST标准。这些方法测量实体瘤,以将当前肿瘤与过去的测量结果进行比较,或将变化与未来的测量结果进行比较,并改变治疗方案。在WHO方法中,实体瘤的长轴和短轴是用这两个测量值的乘积来计算的;如果存在多个实体瘤,则计算所有乘积的总和。在RECIST方法中,仅测量长轴。如果存在多个实体瘤,则计算所有长轴测量值的总和。但是,对于淋巴结,测量的是短轴而不是长轴。

[0156] 在当前方法的一些实施方式中,治疗的患者的肿瘤负担降低了约5%,约10%,约15%,约20%,约25%,约30%,约35%,约40%,约45%,约50%,约55%,约60%,约65%,约70%,约75%,约80%,约90%,约95%,约100%或这些值限制的任何范围。

[0157] 在其他实施方式中,治疗的受试者的1年存活率提高了约5%,约10%,约15%,约20%,约25%,约30%,约35%,约40%,约45%,约50%,约55%,约60%,约65%,约70%,约75%,约80%,约90%,约95%,约100%或这些值限制的任何范围。

[0158] 在其他实施方式中,治疗的受试者的5年存活率提高了约5%,约10%,约15%,约20%,约25%,约30%,约35%,约40%,约45%,约50%,约55%,约60%,约65%,约70%,约75%,约80%,约90%,约95%,约100%或这些值限制的任何范围。

[0159] 在其他实施方式中,治疗的受试者的10年存活率提高了约5%,约10%,约15%,约20%,约25%,约30%,约35%,约40%,约45%,约50%,约55%,约60%,约65%,约70%,约75%,约80%,约90%,约95%,约100%或这些值限制的任何范围。

[0160] 在其他实施方式中,受试者持续缓解至少6个月,至少7个月,至少8个月,至少9个月,至少10个月,至少11个月,至少12个月,至少14个月,至少16个月,至少18个月,至少20个月,至少22个月,至少24个月,至少27个月,至少30个月,至少33个月,至少36个月,至少42个月,至少48个月,至少54个月或至少60个月或更长时间。

[0161] 在其他实施方式中,该方法可以帮助治疗或减轻与癌症有关的状况、症状或病症。在一些实施方式中,这些状况或症状可包括但不限于贫血、乏力、恶病质、库欣综合征、疲劳、痛风、牙龈疾病、血尿、高钙血症、甲状腺功能减退、内出血、脱发、间皮瘤、恶心、夜间出汗、中性粒细胞减少、副肿瘤综合征、胸膜炎、风湿性多肌痛、横纹肌溶解症、压力、淋巴结肿大、血小板减少症、维生素D缺乏症或体重减轻。

[0162] 在其他实施方式中,相对于仅用CAR修饰的免疫细胞进行治疗,施用RAR α 激动剂和CAR修饰的免疫细胞均延长了被治疗个体的存活期。

[0163] 具体实施方式列表

[0164] 下面的实施方式的列表说明了在本文中阐明的关于本发明的幅度、组合和子组合、类别等的各种实施方式,但是并不意图是在本文中得到支持的所有实施方式的详尽列举。

[0165] 实施方式1.一种癌症免疫疗法的方法,包括向有此需要的受试者施用嵌合抗原受体-修饰的免疫细胞(CAR-MIC)和至少一种类视黄醇活性剂和/或rexinoid活性剂(RAR/RXR活性剂)。

[0166] 实施方式2.一种治疗癌症的方法,包括向有此需要的受试者施用(CAR-MIC)和至少一种RAR/RXR活性剂。

[0167] 实施方式3.一种增强CAR-MIC癌症免疫疗法的方法,包括向正在接受、已接受或计划接受CAR-MIC的癌症患者施用至少一种RAR/RXR活性剂。

[0168] 实施方式4.一种癌症免疫疗法的方法,包括向有需要的受试者施用CAR-MIC,其中在向该受试者施用之前,将CAR-MIC在包含至少一种RAR/RXR活性剂的培养基中进行培养。

[0169] 实施方式5.一种延长癌症患者无病生存时间的方法,包括施用CAR-MIC和至少一种RAR/RXR活性剂。

[0170] 实施方式6.一种降低CAR-MIC毒性的方法,该方法包括向有此需要的受试者施用至少一种RAR/RXR活性剂,所述至少一种RAR/RXR活性剂与CAR-MIC组合使用,使得与单独使用CAR-MIC相比,施用CAR-MIC的剂量更低,同时安全性更高和效力相等;或者使得施用高剂量的CAR-MIC,效力更高,安全性相同。

[0171] 实施方式7.一种在体外增加CAR-MIC数目的方法,包括在包含至少一种RAR/RXR活性剂的培养基中培养CAR-MIC。

[0172] 实施方式8.实施方式1-6中任一项的方法,其中在施用于受试者之前,所述CAR-MIC在包含至少一种RAR/RXR活性剂的培养基中培养。

[0173] 实施方式9.实施方式1-8中任一项的方法,其中至少一种RAR/RXR活性剂是RAR α 拮抗剂、RAR γ 激动剂、RXR拮抗剂或其组合。

[0174] 实施方式10.实施方式1-6或8-9中任一项的方法,其进一步包括施用免疫检查点抑制剂。

[0175] 实施方式11.实施方式10的方法,其中所述免疫检查点抑制剂是CTLA-4、PD-1、TIM-3、LAG-3、PD-L1配体、B7-H3、B7-H4、BTLA或是ICOS或OX40激动剂。

[0176] 实施方式12.实施方式10或11的方法,其中所述免疫检查点抑制剂是抗体。

[0177] 实施方式13.实施方式1-12中任一项的方法,其中所述至少一种RAR/RXR活性剂包括视黄酸受体(RAR)活性剂。

[0178] 实施方式14.实施方式13的方法,其中所述至少一种RAR/RXR活性剂是RAR活性剂。

[0179] 实施方式15.实施方式13或14的方法,其中所述RAR活性剂是RAR α 拮抗剂。

[0180] 实施方式16.实施方式15的方法,其中所述RAR活性剂是选择性RAR α 拮抗剂。

[0181] 实施方式17.实施方式13或14的方法,其中所述RAR活性剂是RAR γ 激动剂。

[0182] 实施方式18.实施方式17的方法,其中所述RAR活性剂是选择性RAR γ 激动剂。

[0183] 实施方式19.实施方式1-13中任一项的方法,其中所述至少一种RAR/RXR活性剂包括类视黄醇X受体(RXR)活性剂。

[0184] 实施方式20.实施方式19的方法,其中所述至少一种RAR/RXR剂是类视黄醇X受体(RXR)活性剂。

[0185] 实施方式21.实施方式20的方法,其中所述RXR活性剂是RXR拮抗剂。

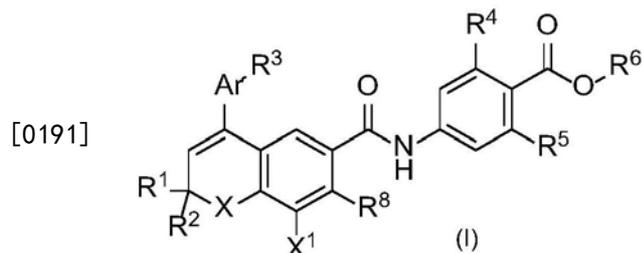
[0186] 实施方式22.实施方式1-21中任一项的方法,其中所述至少一种RAR/RXR活性剂包括至少两种RAR活性剂。

[0187] 实施方式23.实施方式22的方法,其中第一RAR活性剂是RAR α 拮抗剂,并且第二RAR活性剂是RAR γ 选择性激动剂。

[0188] 实施方式23.实施方式22的方法,其中第一RAR活性剂是RAR α 选择性拮抗剂,并且第二RAR活性剂是RAR γ 激动剂。

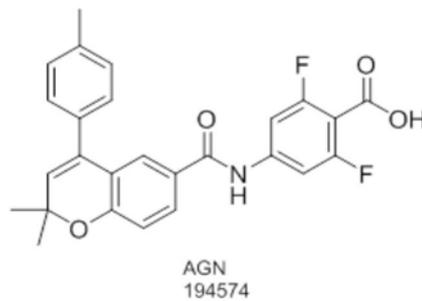
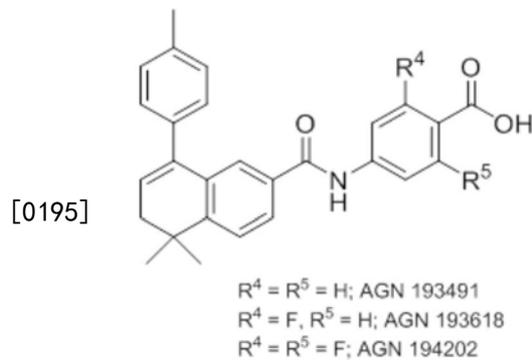
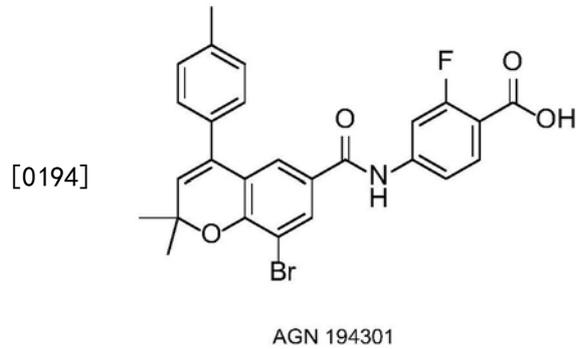
[0189] 实施方式25.实施方式22的方法,其中第一RAR活性剂是RAR α 选择性拮抗剂,第二RAR活性剂是RAR γ 选择性激动剂。

[0190] 实施方式26.实施方式9、15-16或23-25中任一项的方法,其中所述RAR α 拮抗剂是通式(I)的化合物



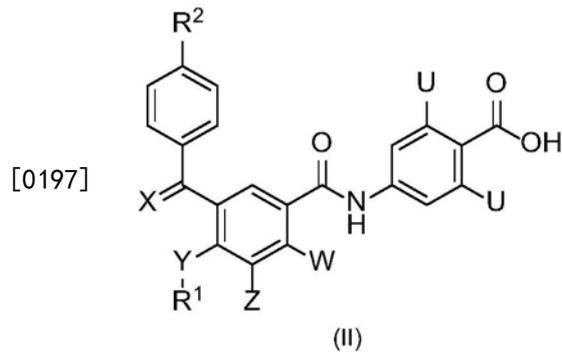
[0192] 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^6 独立地为H或 C_{1-6} 烷基； R^4 和 R^5 独立地为H或F；Ar是苯基、吡啶基、噻吩基、呋喃基或萘基；X为 $C(CH_3)_2$ 、O、S或 NR^7 ，其中 R^7 为H或 C_{1-6} 烷基； X^1 为H或卤素，例如F、Cl或Br； R^8 为H或OH。

[0193] 实施方式27. 实施方式26的方法，其中所述RAR α 拮抗剂是：



或

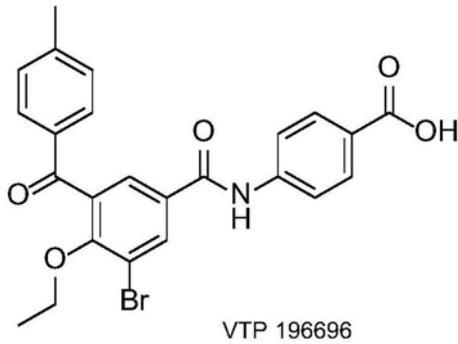
[0196] 实施方式28. 实施方式9、15-16或23-25中任一项的方法，其中所述RAR α 拮抗剂是通式(II)的化合物



[0198] 其中 R^1 和 R^2 独立地为 C_{1-6} 烷基；X是O、S或 CH_2 ；Y为O、S、 CH_2 或 NR^3 ，其中 R^3 为 C_{1-6} 烷基；Z是Cl或Br；W是H或OH；U独立为H或F。

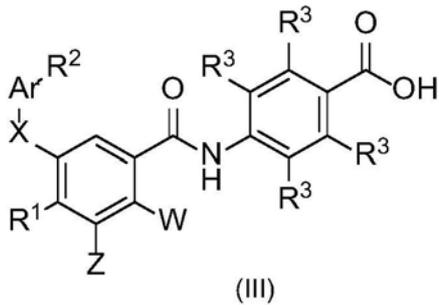
[0199] 实施方式29. 实施方式28的方法，其中所述RAR α 拮抗剂是：

[0200]



[0201] 实施方式30.实施方式9、15-16或23-25中任一项的方法,其中所述RAR α 拮抗剂是通式(III)的化合物

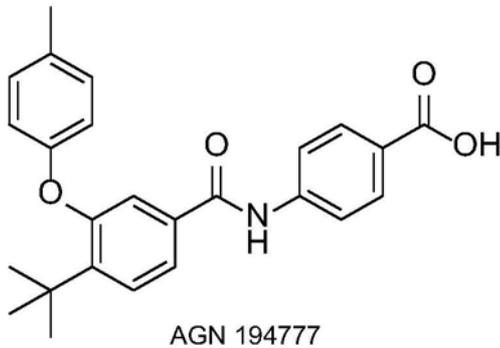
[0202]



[0203] 其中R¹和R²独立地为H或C₁₋₆烷基;R³为H或F;Ar是苯基、吡啶基、噻吩基、咪唑基或萘基;X为O、S、N或CH₂;W是H或OH;Z是Cl或Br。

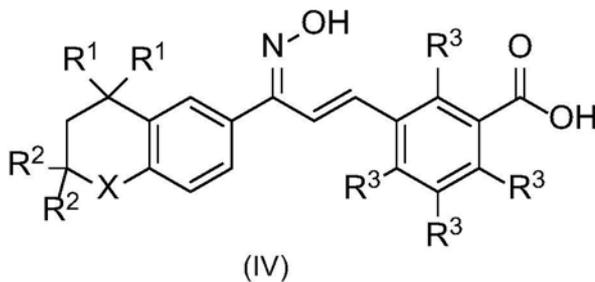
[0204] 实施方式31.实施方式9、15-16或23-25中任一项的方法,其中所述RAR α 拮抗剂是BMS185411、BMS614、Ro41-5253、Ro46-5471,或

[0205]



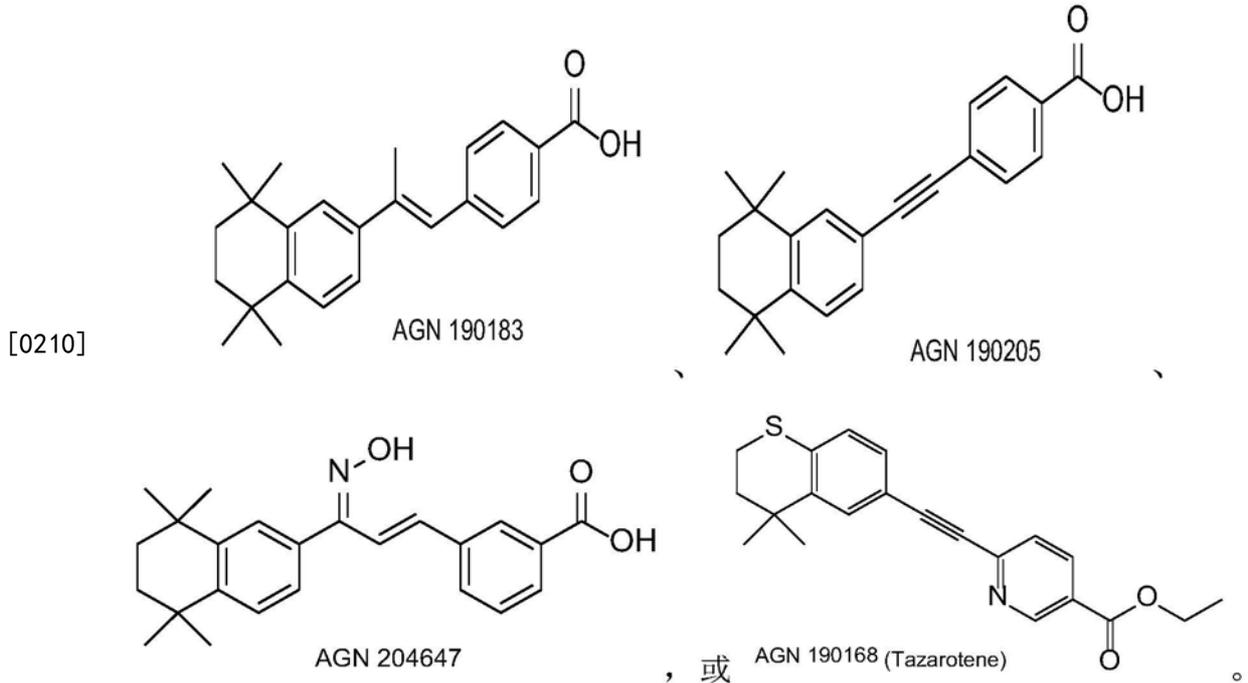
[0206] 实施方式32.实施方式9、15-16或23-25中任一项的方法,其中RAR γ 激动剂是通式IV的RAR γ 激动剂

[0207]



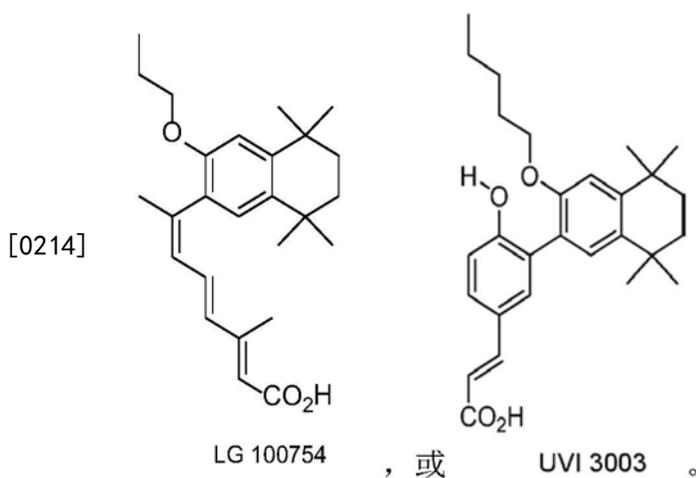
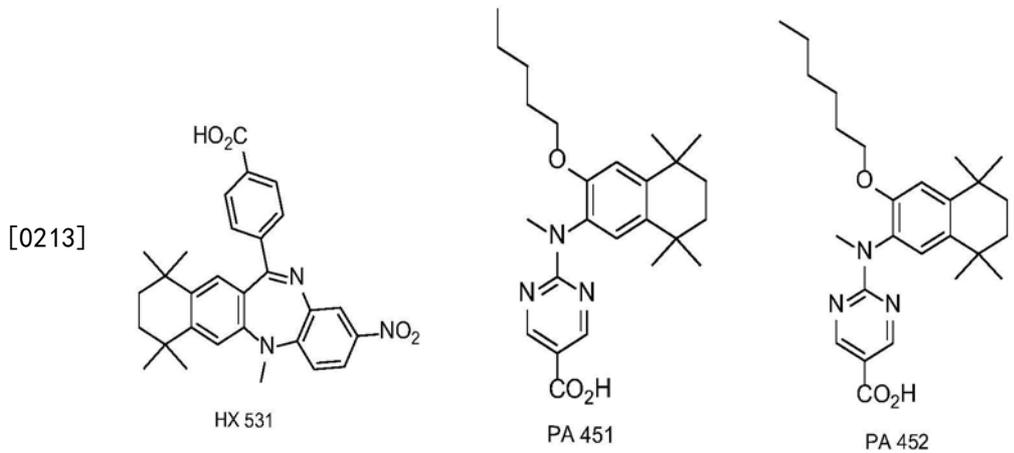
[0208] 其中R¹和R²独立地为H或C₁₋₆烷基;R³为H或F;X是O、S、CH₂、C(R⁴)₂或NR⁵,其中R⁴和R⁵独立地为H或C₁₋₆烷基。

[0209] 实施方式33.实施方式9、15-16或23-25中任一项的方法,其中RAR γ 激动剂为:



[0211] 实施方式34.实施方式9、15-16或23-25中任一项的方法,其中所述RAR γ 激动剂是选自CD437、CD2325、CD666和BMS961的选择性RAR γ 激动剂。

[0212] 实施方式35.实施方式9或19-20中任一项的方法,其中所述RXR拮抗剂选自



- [0215] 实施方式36.实施方式9或19-20中任一项的方法,其中所述RXR拮抗剂是AGN 195393或LGN 100849。
- [0216] 实施方式37.实施方式1-6或8-36中任一项的方法,其进一步包括施用至少一种癌症化学治疗剂。
- [0217] 实施方式38.实施方式1-6或8-37中任一项的方法,其中在施用CAR-MIC之前,用至少一种RAR/RXR活性剂对受试者或患者进行预处理。
- [0218] 实施方式39.实施方式38的方法,其中在施用CAR-MIC之前至少12小时施用所述至少一种RAR/RXR活性剂。
- [0219] 实施方式40.实施方式39的方法,其中在施用CAR-MIC之前施用至少一种RAR/RXR活性剂至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10天。
- [0220] 实施方式41.实施方式1-6或8-40中任一项的方法,其中在施用CAR-MIC的同时或之后,用所述至少一种RAR/RXR活性剂治疗受试者或患者。
- [0221] 实施方式42.实施方式41的方法,其中在施用或第一次施用CAR-MIC的同一天开始治疗(不同于预治疗,如果有的话)。
- [0222] 实施方式43.实施方式41的方法,其中在施用或第一次施用CAR-MIC之后的1、2、3、4、5、6或7天开始治疗(不同于预处理,如果有的话)。
- [0223] 实施方式44.实施方式41-43中任一项的方法,其中在施用或第一次施用CAR-MIC之后用所述至少一种RAR/RXR活性剂治疗持续至少6个月。
- [0224] 实施方式45.实施方式41-43中任一项的方法,其中用至少一种RAR/RXR活性剂的治疗持续直到获得持久的完全应答。
- [0225] 实施方式46.实施方式41-43中任一项的方法,其中只要有持续的肿瘤消退,就继续用所述至少一种RAR/RXR活性剂治疗。
- [0226] 实施方式47.实施方式41-43中任一项的方法,其中只要存在稳定的疾病或癌症不进展,就继续用所述至少一种RAR/RXR活性剂治疗。
- [0227] 实施方式48.实施方式1-6或8-47中任一项的方法,其中所述至少一种RAR/RXR活性剂每天施用。
- [0228] 实施方式49.实施方式1-48中任一项的方法,其中所述CAR-MIC是CAR-T细胞。
- [0229] 实施方式50.实施方式1-48中任一项的方法,其中所述CAR-MIC是CAR-NKT细胞。
- [0230] 实施方式51.实施方式1-48中任一项的方法,其中所述CAR-MIC是CAR-NK细胞。
- [0231] 实施方式52.实施方式1-48中任一项的方法,其中所述CAR-MIC是CAR巨噬细胞。
- [0232] 实施方式53.在正在接受、已接受或计划接受CAR-MIC的患者中,分化性RAR活性剂和一种或多种RAR/RXR活性剂用于癌症免疫治疗,可增强CAR-MIC的免疫治疗效果。
- [0233] 实施方式54.CAR-MIC和至少一种RAR/RXR活性剂,用于癌症免疫治疗。
- [0234] 实施方式55.CAR-MIC和至少一种RAR/RXR活性剂用于延长癌症患者的无病生存期。
- [0235] 实施方式56.一种或多种RAR/RXR活性剂用于降低CAR-MIC治疗的毒性。
- [0236] 实施方式57.CAR-MIC和至少一种RAR/RXR活性剂用于治疗癌症。
- [0237] 实施方式58.一种或多种RAR/RXR活性剂在制造用于增强在癌症治疗中CAR-MIC的免疫治疗作用的药物中的用途。

- [0238] 实施方式59.至少一种RAR/RXR活性剂在制造用于癌症免疫疗法的药物中的用途。
- [0239] 实施方式61.一种或多种RAR/RXR活性剂在制备用于延长癌症患者无病生存期的药物中的用途。
- [0240] 实施方式62.至少一种RAR/RXR活性剂在制造用于治疗癌症的药物中的用途。应当表明的是实施方式53-62中的每一个都可以以类似于实施方式1-6的修改方式被实施方式8-52修改。

实施例

[0241] 提供以下非限制性实施例仅出于说明性目的,以便于更全面地理解现在考虑的代表性实施方式。这些实施例不应被解释为限制本说明书中描述的任何实施方式。

[0242] 实施例1

[0243] RAR α 信号传导诱导Foxp3表达

[0244] 要确定哪种RAR (RAR α 、RAR β 、RAR γ) 信号传导通路在Foxp3表达的诱导中很重要是重要的。为了确定这一点,使用流式细胞仪通过基于GFP表型的分选和分离从Foxp3-GFP小鼠中纯化未成熟的CD4⁺CD25⁻FoxP3⁻细胞。在IL-2和TGF- β 存在下,这些细胞在体外用 α CD3进行了多克隆激活。为了鉴定参与RA诱导的Foxp3表达的RAR,将培养的细胞与RAR选择性激动剂一起孵育。然后对培养的细胞GFP⁺ (Foxp3⁺) 频率的评分。关于选择性激动剂的使用,只有RAR α 激动剂对诱导近100%的Foxp3⁺ T细胞的Foxp3表达有显著影响,其对 α 4 β 7和CCR9 (肠归巢受体) 的表达增强 (图1)。RAR γ 和RAR β 激动剂没有作用。这些结果表明,RAR α 选择性激动剂可用于减轻炎症或自身免疫性疾病的症状。相反,RAR α 选择性拮抗剂或反向激动剂可用于下调免疫抑制Treg细胞的产生,从而促进免疫应答,例如抗癌免疫应答。

[0245] 实施例2

[0246] 测试化合物与RAR和RXR受体的结合以及报告基因的激活

[0247] 视黄酸受体的反式激活活性和结合效率基本上如美国专利号5298429和5071773所述,其通过引用并入本文。反激活测定法使用编码全长受体RAR α 、RAR β 、RAR γ 、RXR α 、RXR β 和RXR γ 的表达质粒。包含疱疹病毒胸苷激酶启动子和适当的视黄酸受体反应元件 (RARE) 或类视黄醇X受体反应元件 (RXRE) 的报告质粒位于编码萤火虫荧光素酶的开放编码区上游。

[0248] 使用经典竞争测定形式进行结合测定,其中首先向克隆的受体RAR和RXR分子装载放射性标记的全反式视黄酸 (RAR) 或放射性标记的9-顺式视黄酸 (RXR),然后然后测量随着测试化合物浓度的增加而释放的放射性量。

[0249] 该测定用于鉴定如本文以上公开的RAR α 选择性拮抗剂、RAR γ 选择性激动剂和RXR选择性拮抗剂。

[0250] 实施例3

[0251] 使用RAR γ 激动剂的RAR γ 信号传导的药理激活与抗CTLA-4抗体在B16黑色素瘤细胞排斥中具有协同作用

[0252] 在移植了B16F10肿瘤细胞的C57BL/6小鼠中检查了抗CTLA-4抗体与10nM RAR γ 激动剂 (AGN204647 (IRX4647) 联合治疗的抗肿瘤作用。与未处理的对照小鼠相比,仅用媒介物处理的小鼠没有显示存活优势 (0%)。单独使用抗CTLA-4抗体治疗的小鼠在50天的存活率

为40%，而单独使用RAR γ 激动剂治疗的小鼠在同一时间存活率为30%。值得注意的是，同时用抗CTLA-4抗体和RAR γ 激动剂治疗的小鼠在50天生存率达100%，这表明这两种药物协同作用消除了B16黑色素瘤细胞。接受联合治疗的存活小鼠对再攻击具有两倍的活肿瘤细胞剂量抵抗力，表明B16特异性记忆细胞有效形成。重要的是，使用这种药物组合可获得抗黑色素瘤的效果，而没有急性或延迟毒性的迹象。

[0253] 除非另有说明，否则在说明书和权利要求书中使用的所有表示成分数量、性质例如分子量、反应条件等的数字均应理解为在所有情况下均由术语“约”修饰。本文所用的术语“约”和“大约”是指在10%至15%之内、优选在5%至10%之内。因此，除非有相反的指示，否则说明书和所附权利要求书中列出的数字参数是近似值，其可以根据本发明试图获得的期望性质而变化。至少，并且不试图将等同原则的应用限制于权利要求的范围，每个数字参数至少应根据所报告的有效数字的数目并通过应用普通的舍入技术来解释。尽管阐述本发明的广泛范围的数值范围和参数是近似值，但是在具体实例中阐述的数值被尽可能精确地报道。但是，任何数值都固有地包含某些误差，这些误差必定是由它们各自的测试测量中发现的标准偏差引起的。

[0254] 除非另有说明或上下文明显矛盾，否则在描述本发明的上下文中使用的术语“一”、“一种”、“该”和类似指示物(特别是在以下权利要求的上下文中)应解释为涵盖单数和复数两者。本文中数值范围的列举仅意图用作分别指代该范围内的每个单独数值的简写方法。除非本文另外指出，否则每个单独的值都被并入说明书中，就好像它在本文中被单独引用一样。除非本文另外指出或与上下文明显矛盾，否则本文描述的所有方法可以以任何合适的顺序执行。本文提供的任何和所有示例或示例性语言(例如，“诸如”)的使用仅旨在更好地阐明本发明，并且不对以其他方式要求保护的本发明的范围构成限制。说明书中的任何语言都不应解释为表示对实施本发明必不可少的任何未要求保护的要素。

[0255] 本文公开的本发明的替代元素或实施方式的分组不应解释为限制。每个组成员可以单独引用或要求保护，也可以与该组的其他成员或此处找到的其他元素组合使用。预期出于方便和/或可专利性的原因，组中的一个或多个成员可以包括在组中或从中删除。当发生任何这样的包含或删除时，说明书被认为包含经修改的基团，从而满足所附权利要求中使用的所有马库什基团的书面描述。

[0256] 本文描述了本发明的某些实施方式，包括发明人已知的用于实施本发明的最佳方式。当然，在阅读了前面的描述之后，这些描述的实施方式的变型对于本领域普通技术人员将变得显而易见。发明人期望熟练的技术人员适当地采用这样的变型，并且发明人希望以不同于本文具体描述的方式来实践本发明。因此，本发明包括适用法律所允许的所附权利要求中记载的主题的所有修改和等同物。而且，除非本文另外指出或与上下文明显矛盾，否则本发明涵盖上述元素在其所有可能的变化中的任何组合。

[0257] 本文所公开的特定实施方式可以使用由语言组成或基本上由语言组成来限制在权利要求中。当在权利要求书中使用时，无论是按修正案提交还是增加，过渡术语“由...组成”排除了权利要求书中未指定的任何要素、步骤或成分。过渡术语“基本上由组成”将权利要求的范围限制于指定的材料或步骤以及那些不会实质性地影响基本和新颖特征的材料或步骤。如此要求保护的本发明的实施方式在本文中被固有地或明确地描述和启用。

[0258] 此外，在整个说明书中，已经对专利和印刷出版物进行了大量参考。上面引用的参

考文献和印刷出版物中的每一个均通过引用以其整体全文并入本文。

[0259] 最后,应理解,本文公开的本发明的实施方式是本发明原理的说明。可以采用的其他修改在本发明的范围内。因此,作为示例而非限制,可以根据本文的教导来利用本发明的替代配置。因此,本发明不限于精确地如所示出和描述的那样。

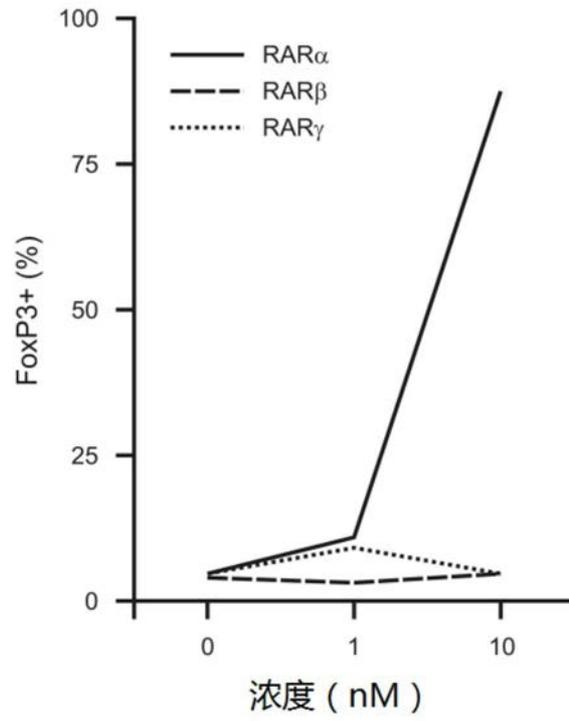


图1A

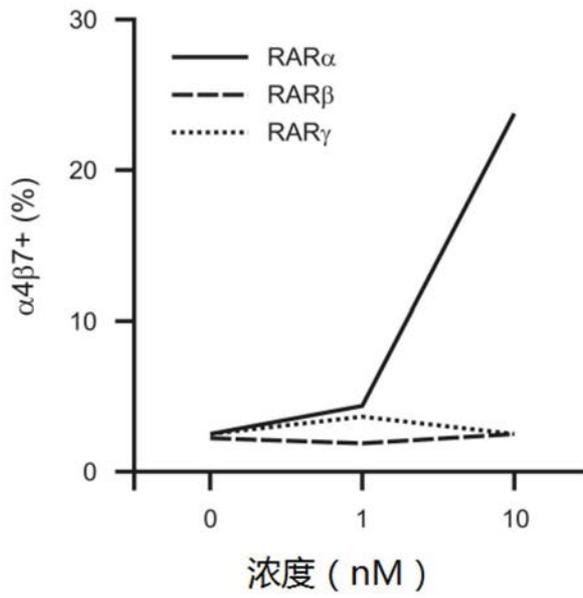


图1B

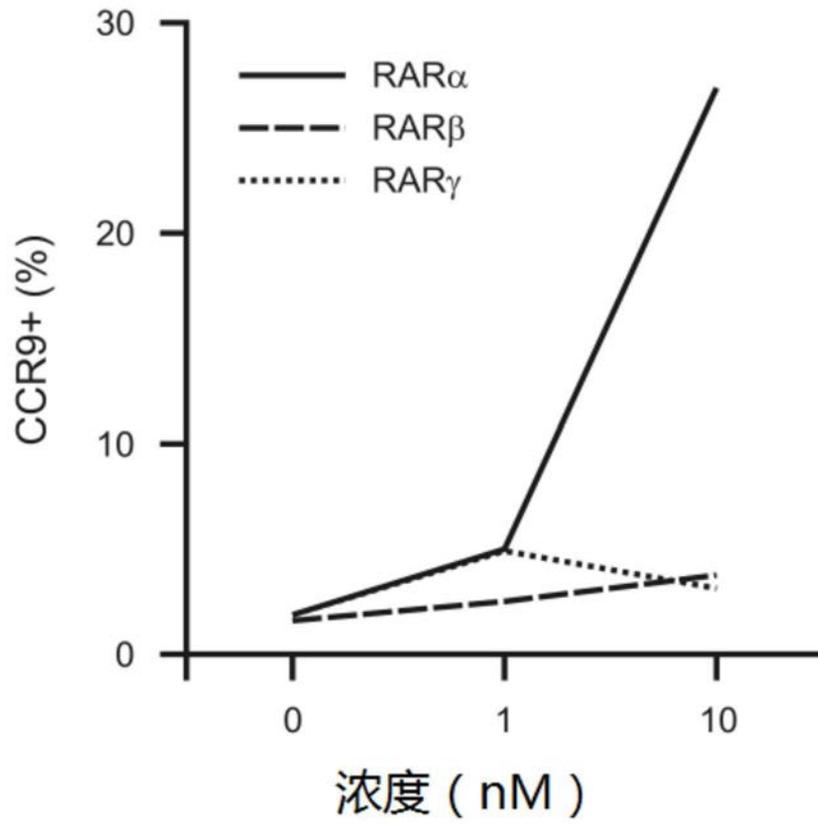


图1C