权利要求

1. 一种基因工程化的细胞，其特征在于，所述细胞表达特异性结合靶抗原的外源性受体和外源性CCL21；优选地，还表达促进所述细胞增殖的蛋白；更优选地，所述促进细胞增殖的蛋白为IL-7R结合蛋白或外源性IL-7。

2. 如权利要求1所述的的细胞，其特征在于，所述IL-7R结合蛋白为外源性IL-7R结合蛋白，所述外源性IL-7R结合蛋白能特异性结合IL-7R且增强IL-7R活性；

优选地，所述外源性IL-7R的氨基酸序列如SEQ ID NO: 19所示。

3．如权利要求1或2所述的细胞，其特征在于，所述外源性CCL21为天然CCL21、或与天然CCL21具有相同功能的天然CCL21的截短片段或天然CCL21的突变体；

优选地，所述天然CCL21与SEQ ID NO: 21所示的氨基酸序列具有至少90%同一性、或是SEQ ID NO: 21所示的氨基酸序列的截短片段；或者与由SEQ ID NO: 14或15所示的核苷酸编码的氨基酸序列具有至少90%同一性，或是由SEQ ID NO: 14或15所示的核苷酸编码的氨基酸序列的截短片段。

4. 如权利要求1-3中任一项所述的细胞，其特征在于，所述外源性CCL21是组成型表达。

5. 如权利要求1-3中任一项所述的细胞，其特征在于，所述外源性CCL21是诱导型表达；较佳地，所述诱导型表达通过免疫细胞诱导型启动子启动；更佳地，所述的免疫细胞诱导型启动子是NFAT启动子。

6. 如权利要求1-5中任一项所述的细胞，其特征在于，所述外源性IL-7为天然IL-7、或与天然IL-7具有相同功能的天然IL-7的截短片段或天然IL-7的突变体；

优选地，所述天然IL-7与SEQ ID NO: 18所示的氨基酸序列具有至少90%同一性、或是SEQ ID NO: 18所示的氨基酸序列的截短片段；或者与由SEQ ID NO: 13所示的核苷酸编码的氨基酸序列具有至少90%同一性、或是由SEQ ID NO: 13所示的核苷酸编码的氨基酸序列的截短片段。

7. 如权利要求1-5中任一项所述的细胞，其特征在于，所述外源性IL-7R结合蛋白或外源性IL-7是组成型表达。

8. 如权利要求1-5中任一项所述的细胞，其特征在于，所述外源性IL-7R结合蛋白或外源性IL-7是诱导型表达；较佳地，所述诱导型表达通过免疫细胞诱导型启动子启动；更佳地，所述的免疫细胞诱导型启动子是NFAT启动子。

9. 如权利要求1-8中任一项所述的细胞，其特征在于，所述的细胞为免疫效应细胞；

优选地，所述免疫效应细胞为T细胞、NK细胞或者NKT细胞；

更优选地，所述免疫效应细胞为T细胞。

10. 如权利要求1所述的细胞，其特征在于，所述靶抗原包括肿瘤抗原和/或病原体抗原；优选地，为肿瘤抗原。

11. 如权利要求10所述的细胞，其特征在于，所述靶抗原为实体瘤抗原；

优选地，所述实体瘤抗原为GPC3、EGFR或Claudin18.2，更优选地，所述实体瘤抗原为Claudin18.2。

12. 如权利要求1-11中任一项所述的细胞，其特征在于，所述外源性受体为嵌合受体，其包含特异性结合靶抗原的抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内结构域。

13. 如权利要求12所述的细胞，其特征在于，所述外源性受体选自嵌合抗原受体(CAR)、修饰的T细胞(抗原)受体(TCR)、T细胞融合蛋白(TFP)、T细胞抗原耦合器(TAC)或其组合；

优选地，所述外源性受体为嵌合抗原受体。

14. 如权利要求13所述的细胞，其特征在于，所述的嵌合抗原受体包括：

(i) 特异性结合靶抗原的抗体或其片段、CD28或CD8的跨膜域、CD28的共刺激信号结构域和CD3ζ；或

(ii) 特异性结合靶抗原的抗体或其片段、CD28或CD8的跨膜域、4-1BB的共刺激信号

结构域和CD3ζ；或

(iii) 特异性结合靶抗原的抗体或其片段、CD28或CD8的跨膜域、CD28的共刺激信号结构域、4-1BB的共刺激信号结构域和CD3ζ。

15. 如权利要求12所述的细胞，其特征在于，所述外源性受体的抗原结合结构域的氨基酸序列与SEQ ID NO: 2所示的氨基酸序列具有至少90%的同一性。

16. 如权利要求15所述的细胞，其特征在于，所述外源性受体的氨基酸序列与SEQ ID NO: 26、27或35所示的氨基酸序列具有至少90%的同一性。

17. 如权利要求1-16中任一项所述的细胞，其特征在于，所述外源性受体、和/或外源性IL-7R结合蛋白或外源性IL-7、和/或外源性CCL21利用病毒载体表达；

较佳地，所述的病毒载体包括：慢病毒载体，逆转录病毒载体或腺病毒载体。

18. 一种表达构建物，其特征在于，该表达构建物包括顺序连接的：特异性结合靶抗原的外源性受体的表达盒1，外源性IL-7R结合蛋白或外源性IL-7的表达盒2，及外源性CCL21的表达盒3；优选地，所述表达盒之间任选地由选自F2A、P2A、T2A、和/或E2A的串联片段连接。

19. 如权利要求18所述的表达构建物，其特征在于，所述表达盒2含有如SEQ ID NO : 17所示的核酸序列。

20. 如权利要求18所述的表达构建物，其特征在于，所述表达盒3含有如SEQ ID NO : 20所示的核酸序列。

21. 一种表达载体，其包含权利要求18-20中任一项所述的表达构建物。

22. 一种病毒，其特征在于，所述的病毒包含权利要求21所述的表达载体。

23. 一种提高表达嵌合受体的免疫效应细胞在个体中的活力的方法，其特征在于在所述免疫应答细胞中共表达外源性CCL21、外源性IL-7R结合蛋白或外源性IL-

7；优选地，所述嵌合受体是嵌合抗原受体。

24. 如权利要求23所述的方法，其特征在于，所述外源性IL-7R结合蛋白能特异性结合IL-7R且增强IL-7R活性；

优选地，所述外源性IL-7R的氨基酸序列如SEQ ID NO: 19所示。

25. 如权利要求23或24所述的方法，其特征在于，所述的外源性CCL21为天然CCL21、或与天然CCL21具有相同功能的天然CCL21的截短片段或天然CCL21的突变体；

优选地，所述天然CCL21与SEQ ID NO: 21所示的氨基酸序列具有至少90%同一性、或是SEQ ID NO: 21所示的氨基酸序列的截短片段；或者与由SEQ ID NO: 14或15所示的核苷酸编码的氨基酸序列具有至少90%同一性、或是由SEQ ID NO: 14或15所示的核苷酸编码的氨基酸序列的截短片段。

26. 如权利要求23-25中任一项所述的方法，其特征在于，所述外源性CCL21是组成型表达。

27. 如权利要求23-25中任一项所述的方法，其特征在于，所述外源性CCL21是诱导型表达；较佳地，所述诱导型表达通过免疫细胞诱导型启动子启动；更佳地，所述的免疫细胞诱导型启动子是NFAT启动子。

28. 如权利要求23-27中任一项所述的方法，其特征在于，所述外源性IL-7为天然IL-7、或与天然IL-7具有相同功能的天然IL-7的截短片段或天然IL-7的突变体；

优选地，所述IL-7与SEQ ID NO: 18所示的氨基酸序列具有至少90%同一性、或是SEQ ID NO: 18所示的氨基酸序列的截短片段；或者与由SEQ ID NO: 13所示的核苷酸编码的氨基酸序列具有至少90%同一性、或是由SEQ ID NO: 13所示的核苷酸编码的氨基酸序列的截短片段。

29. 如权利要求23-27中任一项所述的方法，其特征在于，所述外源性IL-7R结合蛋白或外源性IL-7是组成型表达。

30. 如权利要求23-27中任一项所述的方法，其特征在于，所述外源性IL-7R结合蛋白或外源性IL-7是诱导型表达；较佳地，所述诱导型表达通过免疫细胞诱导型启动子启动；更佳地，所述的免疫细胞诱导型启动子是NFAT启动子。

31. 如权利要求23-30中任一项所述的方法，其特征在于，所述的免疫效应细胞是T细胞、NK细胞或NKT细胞。

32. 如权利要求1-17中任一项所述的细胞，或权利要求18-20中任一项所述的表达构建物，或权利要求21所述的表达载体，或权利要求22所述的病毒的用途，用于制备抑制肿瘤或抑制病原体的药物；优选地，用于制备抑制肿瘤的药物。

33. 如权利要求32所述的用途，其特征在于，所述制备抑制肿瘤的药物与化疗药物联用。

34. 一种药物组合物，其特征在于，所述的药物组合物包括权利要求1-17任一所述的细胞和药学上可接受的载体或赋形剂。

35. 一种药盒，其包括药盒A和药盒B，所述药盒A包括基因工程化的细胞，所述细胞表达特异性结合靶抗原的外源性受体；所述药盒B包括CCL21，和/或，促进所述细胞增殖的蛋白；优选地，所述促进细胞增殖的蛋白为IL-7R结合蛋白或IL-7；更优选地，所述药盒A和药盒B的施用不分先后。

36. 如权利要求35所述的药盒，其特征在于，所述IL-7R结合蛋白能特异性结合IL-7R且增强IL-7R活性；优选地，所述外源性IL-7R的氨基酸序列如SEQ ID NO: 19所示。

37. 如权利要求35或36所述的药盒，其特征在于，所述CCL21为天然CCL21、或与天然CCL21具有相同功能的天然CCL21的截短片段或天然CCL21的突变体；

优选地，所述天然CCL21与SEQ ID NO: 21所示的氨基酸序列具有至少90%同一性、或是SEQ ID NO: 21所示的氨基酸序列的截短片段；或者与由SEQ ID NO: 14或15所示的核苷酸编码的氨基酸序列具有至少90%同一性，或是由SEQ ID NO: 14或15

所示的核苷酸编码的氨基酸序列的截短片段。

38. 如权利要求35-37中任一项所述的药盒，其特征在于，所述IL-7为天然IL-7、或与天然IL-7具有相同功能的天然IL-7的截短片段或天然IL-7的突变体；

优选地，所述天然IL-7与SEQ ID NO: 18所示的氨基酸序列具有至少90%同一性、或是SEQ ID NO: 18所示的氨基酸序列的截短片段；或者与由SEQ ID NO: 13所示的核苷酸编码的氨基酸序列具有至少90%同一性、或是由SEQ ID NO: 13所示的核苷酸编码的氨基酸序列的截短片段。

39. 如权利要求35所述的药盒，其特征在于，所述药盒A包括嵌合受体修饰的免疫效应细胞；

优选地，所述嵌合受体为嵌合抗原受体。

40. 如权利要求35所述的药盒，其特征在于，所述免疫效应细胞为T细胞、NK细胞或NKT细胞。