



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년08월26일
(11) 등록번호 10-2698909
(24) 등록일자 2024년08월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 5/0783 (2010.01) A61K 35/14 (2015.01)
A61K 35/17 (2015.01) C12N 5/0784 (2010.01)
(52) CPC특허분류
C12N 5/0636 (2023.05)
A61K 35/14 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-7028517
(22) 출원일자(국제) 2016년03월11일
심사청구일자 2021년03월11일
(85) 번역문제출일자 2017년10월10일
(65) 공개번호 10-2017-0122270
(43) 공개일자 2017년11월03일
(86) 국제출원번호 PCT/CN2016/076165
(87) 국제공개번호 WO 2016/146035
국제공개일자 2016년09월22일
(30) 우선권주장
PCT/CN2015/074227 2015년03월13일 중국(CN)
(56) 선행기술조사문헌
J Immunother. 2011 Jun,34(5):409-18.
Journal for ImmunoTherapy of Cancer. volume
2, Article number: P245 (2014)
WO2001029192 A2

(73) 특허권자
에스와이제트 셀 테라피 코.
중국 518057 광둥 선전 난산 하이-테크 파크 노스
손핑산 로드 1 사우스 타워 15층 플로어
(72) 발명자
저우, 시양권
중국 518057 광둥 선전 난산 하이-테크 파크 노스
손핑산 로드 1 사우스 타워 15층 플로어
리, 진
중국 518057 광둥 선전 난산 하이-테크 파크 노스
손핑산 로드 1 사우스 타워 15층 플로어
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이상영

전체 청구항 수 : 총 17 항

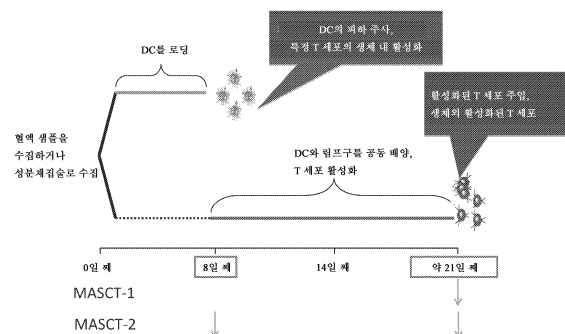
심사관 : 이현지

(54) 발명의 명칭 **활성화된 T 세포를 사용하는 암 치료 방법**

(57) 요약

본 발명은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포(예컨대 수지상 세포)에 의해 유도되는 활성화된 T 세포 또는 PBMC를 사용하여 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포를 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 상기 방법은 단독으로 또는 면역 체크포인트 억제제와 병용하여 사용될 수 있다. 신생항원 펩티드를 사용하거나 개체의 종양에서의 돌연변이 부하에 기초한 개체 맞춤형 정밀 치료 방법이 제공된다. 활성화된 T 세포를 제조하는 방법, 치료를 모니터링하는 방법 및 종양 특이적 T 세포 수용체를 복제하는 방법이 추가로 개시된다. 활성화된 T 세포를 포함하는 단리된 세포 집단 및 암 면역치료에 유용한 조성물 및 키트가 또한 제공된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 35/17 (2023.05)

C12N 5/0639 (2023.05)

C12N 2501/998 (2013.01)

C12N 2502/1114 (2013.01)

C12N 2502/1121 (2013.01)

(72) 발명자

한, 연연

중국 518057 광둥 선전 난산 하이-테크 파크 노스
손핑산 로드 1 사우스 타워 15층 플로어

우, 동원

중국 518057 광둥 선전 난산 하이-테크 파크 노스
손핑산 로드 1 사우스 타워 15층 플로어

리우, 권원

중국 518057 광둥 선전 난산 하이-테크 파크 노스
손핑산 로드 1 사우스 타워 15층 플로어

타오, 란

중국 518057 광둥 선전 난산 하이-테크 파크 노스
손핑산 로드 1 사우스 타워 15층 플로어

탕, 룡청

중국 518057 광둥 선전 난산 하이-테크 파크 노스
손핑산 로드 1 사우스 타워 15층 플로어

명세서

청구범위

청구항 1

활성화된 T 세포를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법에 사용하기 위한 조성물이며, 여기서 (b) 개체에게 활성화된 T 세포의 유효량을 투여하기 전에, (a) 개체에게 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 투여하는 것을 포함하며, 여기서 활성화된 T 세포는 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포의 집단을 공동 배양함으로써 제조되고, 여기서 활성화된 T 세포는 활성화된 T 세포의 단리된 집단인, 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

수지상 세포가 활성화된 T 세포의 투여 7일 내지 21일 전에 투여되는, 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

(i) T 세포의 집단이 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 7일 내지 21일 동안 공동 배양되거나;

(ii) T 세포의 집단이 공동 배양 전에 면역 체크포인트 억제제와 접촉되거나; 또는

(iii) T 세포의 집단이 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 공동 배양되는, 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 및 LAG-3으로 이루어진 군으로부터 선택되는 면역 체크포인트 분자의 억제제인, 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 활성화된 T 세포의 제조가 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 제조하는 것을 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서,

(i) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단이 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킴으로써 제조되거나; 또는

(ii) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단이, 수지상 세포에 의한 복수의 종양 항원 펩티드의 흡수를 촉진하는 조성물의 존재 하에, 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킴으로써 제조되는, 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서,

(i) T 세포의 집단 및 수지상 세포의 집단이 동일한 개체로부터 유래되거나; 또는

(ii) T 세포의 집단 및 수지상 세포의 집단이 치료되는 개체로부터 유래되는, 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서,

- (i) 활성화된 T 세포가 개체에 적어도 3회 투여되거나;
- (ii) 활성화된 T 세포가 개체에 적어도 3회 투여되며, 여기서 활성화된 T 세포의 각 투여 사이의 간격이 0.5개월 내지 5개월이거나;
- (iii) 활성화된 T 세포가 정맥내 투여용으로 제형화되거나;
- (iv) 활성화된 T 세포가 적어도 3×10^9 개의 세포/개체의 투여량으로 투여되거나; 또는
- (v) 활성화된 T 세포가 1×10^9 내지 1×10^{10} 개의 세포/개체의 투여량으로 투여되는, 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서,

- (i) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포가 적어도 3회 투여되거나;
- (ii) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포가 적어도 3회 투여되며, 여기서 수지상 세포의 각 투여 사이의 간격이 0.5개월 내지 5개월이거나;
- (iii) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포가 피하 투여되거나; 또는
- (iv) 수지상 세포가 1×10^6 내지 5×10^6 개의 세포/개체의 투여량으로 투여되는, 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서,

- (i) 복수의 종양 항원 펩티드가 각각 20 내지 40개의 아미노산 길이거나;
- (ii) 복수의 종양 항원 펩티드가 MHC-I 에피토프를 포함하는 적어도 하나의 펩티드를 포함하거나;
- (iii) 복수의 종양 항원 펩티드가 MHC-II 에피토프를 포함하는 적어도 하나의 펩티드를 포함하거나;
- (iv) 복수의 종양 항원 펩티드가 MHC-I 에피토프 또는 MHC-II 에피토프를 포함하는 적어도 하나의 펩티드를 포함하며, 여기서 MHC-I 에피토프 또는 MHC-II 에피토프를 포함하는 적어도 하나의 펩티드는 N-말단, C-말단 또는 둘 모두에서 에피토프를 플랭킹하는 추가의 아미노산을 추가로 포함하거나;
- (v) 복수의 종양 항원 펩티드가 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹을 포함하거나;
- (vi) 복수의 종양 항원 펩티드가 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹을 포함하고 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 추가로 포함하거나;
- (vii) 복수의 종양 항원 펩티드가 신생항원 펩티드를 포함하거나;
- (viii) 복수의 종양 항원 펩티드가 신생항원 펩티드를 포함하며, 여기서 신생항원 펩티드는 개체로부터의 종양 샘플의 유전자 프로파일에 기초하여 선택되거나;
- (ix) 복수의 종양 항원 펩티드가 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함하거나;
- (x) 복수의 종양 항원 펩티드가, hTERT, p53, 서바이빈(Survivin), NY-ESO-1, CEA, CCND1, MET, RGS5, MMP7, VEGFR, AFP, GPC3, HBVc, HBVp, CDCA, KRAS, PARP4, MLL3 및 MTHFR로 이루어진 군으로부터 선택되는 암-관련 유전자에 의해 암호화되는 하나 이상의 에피토프를 각각 포함하는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함하거나;
- (xi) 복수의 종양 항원 펩티드가 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함하며, 여기서 각각의 적어도 10종의 종양 항원 펩티드는 서열 번호 1 내지 40으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 에피토프를 포함하거나;
- (xii) 복수의 종양 항원 펩티드가 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함하며, 여기서 각각의 적어도 10종의 종양 항원 펩티드는 서열 번호 1 내지 24로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 에피토프를 포함하거나;

나;

(xiii) 복수의 종양 항원 펩티드가 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함하며, 여기서 각각의 적어도 10종의 종양 항원 펩티드는 서열 번호 1 내지 24로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 에피토프를 포함하고, 여기서 적어도 10종의 종양 항원 펩티드는 서열 번호 1 내지 24의 에피토프를 포함하거나;

(xiv) 복수의 종양 항원 펩티드가 적어도 14종의 종양 항원 펩티드를 포함하며, 여기서 각각의 적어도 14종의 종양 항원 펩티드는 서열 번호 1 내지 35로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 에피토프를 포함하거나;

(xv) 복수의 종양 항원 펩티드가 적어도 14종의 종양 항원 펩티드를 포함하며, 여기서 각각의 적어도 14종의 종양 항원 펩티드는 서열 번호 1 내지 35로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 에피토프를 포함하고, 여기서 적어도 14종의 종양 항원 펩티드는 서열 번호 1 내지 35의 에피토프를 포함하거나; 또는

(xvi) 복수의 종양 항원 펩티드 중 적어도 하나가 서열 번호 36 내지 38로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖는 에피토프를 포함하는, 조성물.

청구항 11

제1항에 있어서, 암이 간세포 암종, 자궁경부암, 폐암, 대장암, 림프종, 신장암, 유방암, 췌장암, 위암, 식도암, 난소암, 전립선암, 비인두암, 흑색종 및 뇌종양으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 조성물.

청구항 12

제1항에 있어서, 개체에게 면역 체크포인트 억제제의 유효량이 추가로 투여되는, 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 및 LAG-3으로 이루어진 군으로부터 선택되는 면역 체크포인트 분자의 억제제인, 조성물.

청구항 14

제1항에 있어서,

개체가 암에서의 돌연변이 부하(mutation load)에 기초하여 치료를 위해 선택되는, 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서,

(i) 개체가 하나 이상의 MHC 유전자에 10개 이하의 돌연변이를 갖거나;

(ii) 개체가 B2M에 돌연변이를 갖지 않거나;

(iii) 개체가 하나 이상의 MHC 유전자의 기능성 영역에 돌연변이를 갖지 않거나; 또는

(iv) 암의 돌연변이 부하가 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써 측정되는, 조성물.

청구항 16

제1항에 있어서, 개체가, 암에서 하나 이상의 신생항원을 갖는 것에 기초하여 치료를 위해 선택되는, 조성물.

청구항 17

제1항에 있어서, 개체가 활성화된 T 세포의 투여 후에 모니터링되는, 조성물.

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 관련 출원과의 상호 참조
- [0002] 본 출원은 2015년 3월 13일자로 출원된 국제 출원 제PCT/CN2015/074227호의 우선권의 이득을 주장하며, 이의 내용은 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.
- [0003] ASCII 텍스트 파일 상의 서열 목록 제출
- [0004] ASCII 텍스트 파일 상의 다음과 같은 제출 내용은 전체적으로 본원에 참고로 포함된다: 컴퓨터로 판독가능한 형태 (CRF)의 서열 목록 (파일명: 744852000141SEQLIST.TXT, 기록일: 2016년 3월 11일, 크기: 7.83 KB).
- [0005] 기술분야
- [0006] 본 발명은 암 면역치료 분야에 관한 것이다. 더욱 구체적으로, 본 발명은 활성화된 T 세포를 사용하여 개체에서 암을 치료하는 방법, 조성물 및 키트를 제공한다.

배경 기술

- [0007] 인체는 내부 악성 종양을 포함하는 질환으로부터 스스로를 방어하기 위해 정교한 면역계를 갖는다. 따라서, 암을 치료하고 예방하는 신체의 면역력을 최대로 발휘하는 것이 종양학에서 오래 지속된 이상이었다. 종양에 대한 자연 면역 반응은 전형적으로 암 세포에서만 발현되는 돌연변이 단백질을 포함하는 종양 항원 및 암의 기원 조직에서 과발현되지만, 그럼에도 불구하고 "그 자체"로는 완전히 인식되지 않는 종양 관련 항원 (TAA)에 의해 유발된다. 종양 항원을 마주하는 항원 제시 세포 (APC), 특히 수지상 세포 (DC)는 이들의 세포 표면 상에서 종양 항원을 처리하고 제시할 수 있다. 성숙 시, 종양 항원이 로딩된 DC는 종양 항원을 보유하는 암 세포에 대한 T 세포 반응을 유도할 수 있고, 이는 세포독성 T 세포, 보조 T 세포 및 기능적으로 다른 이펙터 및 기억 T 세포를 포함한다. 특히 강력한 유형의 T 세포 반응은 사이토카인, 효소 및 세포 독소를 방출하거나, 세포-세포 상호작용을 통해 프로아포토시스(pro-apoptosis) 신호전달 캐스케이드를 유도함으로써 암 세포를 죽일 수 있는 세포독성 T 세포의 생성을 포함한다.
- [0008] 암 면역치료는 암을 치료하기 위한 상기 과정을 활용하는 것을 목표로 하지만 최근까지 성공은 제한적이었다. 초기 시도는 종양 항원을 암호화하는 특정 항원 펩티드, 전장 항원 단백질 또는 바이러스 벡터에 기초한 암 백신의 개발에 집중되어 왔다. 적은 수의 암 백신이 임상까지 진행되었고, 훨씬 더 적은 수가 인상적인 임상 결과를 생성하였다. 화학요법, 방사선 치료 및 외과적 절제술과 같은 전통적인 암 치료와 달리, 일반적으로, 암 면역치료, 특히 암 백신에 대한 신체의 반응은 APC가 항원을 처리하여 T 세포에 제시하며, T 세포가 성숙하고 면역 반응을 유도하는 데 시간이 걸리기 때문에 훨씬 지연된다. 종양이 환자에게 존재하는 경우, 종양의 암 세포는 이미 면역계의 감시를 피하는 기전(mechanism)을 가지고 있다. 따라서, 성공적인 종양 백신은 면역 감시의 결함을 우회하여 강력한 면역 반응을 유도할 수 있어야 한다. 추가로, 암 백신에는 접근법이 특이적이고 지속적인 임상 효과를 생성하는 것을 막는 몇 가지 병목 현상 문제가 존재한다. 첫째로, 동일한 조직학적 유형의 암 세포 조차도 상이한 환자 사이에서 그리고 동일한 환자 내의 상이한 병변 사이에서 이들의 유전적 조성 및 발현 프로파일이 꽤 이질적이다 (문헌 및 공개 데이터베이스에서 입수가 가능한 암 세포에 대한 최근의 차세대 시퀀싱(sequencing) 실험의 많은 유전 데이터에 의해 잘 입증되어 있는 현상이다). 결과적으로, 특정 암 백신 치료제 내의 제한된 수의 종양 항원(들)은 모든 환자에서 개개의 종양의 특징적인 항원 스펙트럼을 나타낼 수 없을 것이다. 둘째로, 암 백신의 많은 항원 부분은 혈청 반감기 및 생체이용률 문제로 인해 APC 상으로 효과적으로 로딩되지 않는다. 셋째로, APC가 암 백신에 함유된 항원에 의해 적절하게 프라이밍된 경우조차도, 적합한 활성화 신호 및 미세환경이 부족하면 잘못된 아집단이 T 세포, 특히 종양에 대한 면역 반응을 자극하는 대신에 억제하는 면역억제 조절 T 세포 (T_{reg})가 생성될 수 있다. 마지막 두 가지 문제의 근원은 일단 임의의 암 백신이 투여되면 이에 대한 환자의 실제 반응에서 임상가가 완전히 통제하지 못하는 것과 관련이 있다.
- [0009] 세포 기반 암 면역치료 방법은 상대적으로 정의되고 제어된 조건 하에서 제조되는 면역-매개 세포 또는 세포 생성물을 환자에게 투여함으로써 암 백신에서 상기 문제 중 일부를 완화한다. 특히, DC 기반 방법은 특히 FDA가 2010년 4월에 진행성 전립선암을 위해 프로벤지(PROVENGE)[®] (시푸류셀(sipuleucel)-T)를 승인한 후 많은 관심을 불러 일으켰다. 전형적인 DC 기반 면역치료 방법은 암 환자로부터 DC를 분리하고, DC를 종양 항원 (또는 종양 세포 용해물 및 총 mRNA를 포함하는 항원)으로 생체의 로딩한 후, 암을 죽이는 T 세포 반응을 유도하기 위해 DC를 환자에게 다시 투여하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 프로벤지[®]는 환자의 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)를 사이토카인 (예컨대 GM-CSF)에 결합된 종양 유래 항원을 포함하는 융합 단백질에 노출시킨 후, (아마도 종양 유래 항원을 T 세포에 제시할 수 있는 활성화된 DC를 함유하는) PBMC를 환자에 주입하는 단계를 포함한다 (미국

특허 제5, 976, 546호, 제6,080,409호 및 제6,210, 662호를 참조한다). 중추적인 III상 시험 (문헌[Kantoff PW, Higano CS et al. (2010) "Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer." *N J Med* 363:411-22])에서, 프로벤지®의 특정 실시 형태는 DC를 끌어당기고 유도하는 것으로 알려진 사이토카인인 GM-CSF에 융합된 전립선암 관련 항원인 전립선 산성 포스파타제 (PAP)의 재조합 단백질을 사용하여 제조되었다. 프로벤지®는 대조군 (21.7개월)의 것과 비교하여 실험군 (25.8개월)의 환자의 중위 생존을 연장할 수 있지만, 임상 시험 결과는 통계적으로 유의한 종양 진행의 지연 또는 종양 크기의 감소의 증거를 보이지 않았다. 더 큰 문제는 프로벤지® 치료에서 개별 환자의 생존이 융합 단백질 또는 PAP에 대한 특이적 T 세포 반응과 관련이 없는 것으로 보인다는 사실이다 (문헌[Cheever MA, Higano CS (2011) "PROVENGE (Sipuleucel-T) in prostate cancer: the first FDA-approved therapeutic cancer vaccine." *Clin. Cancer Res.* 17:3520-6]).

[0010] 양자 림프구 치료(adoptive lymphocyte therapy)로 명명된 세포 기반 면역치료 방법의 두 번째 방법은 환자의 종양에서 종양 침윤 림프구 (TIL)를 분리하여, TIL을 생체의 증식시키고, 환자의 천연 비골수 림프구를 고갈시킨 후 TIL을 환자에게 다시 주입하는 단계를 포함한다. 완전한 종양 퇴행 및 긴 무병 생존을 포함하는 극적인 임상 반응이 흑색종 환자에게 양자 림프구 치료의 임상 적용에서 보고되어 있다 (문헌[Restifo NP, Dudley ME, and Rosenberg SA. (2012) "Adoptive immunotherapy for cancer: harnessing the T cell response." *Nat. Rev. Immunol.* 12: 269-81]). TIL의 임상 이익이 TIL 개체군에 존재하는 종양 특이적 T 세포와 관련되거나 이로부터 생성된다는 것이 추가로 밝혀졌다 (문헌[Robbins PF et al. (2013) "Mining exomic sequencing data to identify mutated antigens recognized by adoptively transferred tumor-reactive T cells." *Nature Medicine* 19: 747-752]; 및 문헌[Tran E et al. (2014) "Cancer immunotherapy based on mutation-specific CD4+ T cells in a patient with epithelial cancer" *Science* 344: 641-645]). 최근에, 소정 종양 항원 또는 키메라 항원 수용체 (CAR-T)에 대해 변형된 친화력을 갖는 유전자 조작된 T 세포 수용체를 갖는 T 세포는, T 세포-종양 상호작용의 미세환경을 변형시킴으로써 양자 림프구 치료 방법의 능력(capacity)을 추가로 확장시킨다. 현재의 양자 림프구 치료 방법의 주요 문제는 부적절한 표적의 선택 (소위 종양 이외의 표적에 작용) 및 T 세포 집단의 편향된 증식과 관련있는 것으로 보이는 임상 시험에서의 CNS 독성을 포함하는 심각한 유해 사례에 대한 다수의 보고에 관한 것이다. 상기 방법의 또 다른 문제는 주입된 T 림프구 상에 제시된 종양 특이적 항원에 대한 신속하게 발현되는 면역 관용 및 암 세포에 의한 면역 회피(escape)로 인해 일부 환자에서 지속적인 반응이 부족하다는 것이다.

[0011] 면역 관용 및 면역 회피는 종종 면역억제 세포, 예컨대 T_{조절} 및 MDSC (골수 유래 억제 세포)의 상승된 수준에 더하여, 종양 부위의 미세환경에서 T 세포와 상호작용하는 세포 상의 체크포인트 분자 또는 공동 억제(co-inhibitory) 신호에 의해 매개된다. 잘 연구된 체크포인트 분자쌍은 T 세포 상의 면역-억제 PD-1 수용체 및 APC (예를 들어, DC), MDSC 및 암 세포 상의 PD-L1 리간드를 포함한다. PD-L1의 PD-1과의 결합은 전염증성 사이토카인 (예를 들어, IL-2) 생성 및 세포독성 T 세포의 증식을 억제하는 신호를 유발한다. 많은 시나리오에서, PD-1에 결합하는 PD-L1은 세포독성 T 세포의 아포토시스를 유발한다. 반면에, PD-1/PD-L1 신호 전달은 종양 공격 능력을 갖는 T 세포를 추가로 억제하는 역할을 하는 T_{조절} 세포를 유도한다. PD-1, PD-L1 및 다른 체크포인트 분자 (예컨대, T 세포 상의 CTLA-4)에 대한 항체는 T-세포 체크포인트의 차단이 종양 부위에서 면역 관용 및 면역 회피를 극복하는 데 도움이 될 수 있다는 이론에 기초한 암 면역치료의 다른 방법으로서 여러 제약 회사에 의해 현재 개발되고 있다. 체크포인트 차단 방법의 항종양 효과가 생체내 종양 특이적 T 세포의 사전 존재(pre-existence)를 필요로 한다는 점은 주목할 가치가 있다 (문헌[Boussiotis VA (2014) "Somatic mutations and immunotherapy outcome with CTLA-4 blockade in melanoma" *N. Engl. J. Med.* 371:2230-2232]; 문헌[Wolchok JD and Chan TA, (2014) "Cancer: antitumor immunity gets a boost" *Nature* 515: 496-498]).

[0012] 상기 기재된 바와 같은 다양한 암 면역치료 방법의 가망성 및 문제를 고려하면, 알려진 위험을 피하면서 이전 방법의 장점을 조합한 새로운 암 면역치료 방법을 제공하는 것이 바람직하다.

[0013] 본 명세서에 언급된 모든 공보, 특허, 특허 출원 및 공개된 출원의 개시 내용은 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.

발명의 내용

[0014] 본 발명은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포 (예를 들어, 수지상 세포)에 의해 유도되는 활성화된 T 세포를 사용하여 개체에서 암을 치료하는 방법, 조성물 및 키트를 제공한다.

- [0015] 본 출원의 일 측면은 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 개체 (예컨대, 인간 개체) 에서 암을 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 활성화된 T 세포는 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포의 집단을 공동 배양함으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, 개체에 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량이 사전 투여되었다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 개체에 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포는 활성화된 T 세포의 투여 전에 (예를 들어, 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일 또는 약 7일 내지 약 21일 전에) 투여된다.
- [0016] 상기 기재된 방법 중 어느 하나에 따른 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 투여 단계 전에 T 세포의 집단과 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 공동 배양함으로써 활성화된 T 세포를 제조하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, T 세포의 집단은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 동안 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 공동 배양된다.
- [0017] 상기 기재된 방법 중 어느 하나에 따른 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, T 세포의 집단은 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 공동 배양된다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1, PD-L1 및 CTLA-4로 이루어진 군으로부터 선택되는 면역 체크포인트 분자의 억제제이다.
- [0018] 상기 기재된 방법 중 어느 하나에 따른 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 제조하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단은 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킴으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단은 수지상 세포에 의한 복수의 종양 항원 펩티드의 흡수를 촉진하는 조성물의 존재 하에 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킴으로써 제조된다.
- [0019] 상기 기재된 방법 중 어느 하나에 따른 일부 실시 형태에서, T 세포의 집단 및 수지상 세포의 집단은 동일한 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, T 세포의 집단 및 수지상 세포의 집단은 치료되는 개체로부터 유래된다.
- [0020] 본 출원의 일 측면은 (a) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하는 단계; (b) 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻는 단계; 및 (c) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 비부착성 PBMC의 집단을 공동 배양하여 활성화된 T 세포의 집단을 얻는 단계를 포함하는, 활성화된 T 세포의 집단을 제조하는 방법을 제공하며, 여기서 단핵구의 집단 및 비부착성 PBMC의 집단은 개체로부터의 PBMC의 집단으로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 단계 b)는 수지상 세포에 의한 복수의 종양 항원 펩티드의 흡수를 촉진시키는 조성물의 존재 하에 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단계 b)는 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 복수의 Toll-유사 수용체 (TLR) 작용제 (예컨대 폴리IC, MALP, R848 또는 이들의 임의의 조합)와 접촉시켜, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단의 성숙을 유도하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단계 c)는 활성화된 T 세포의 집단을 복수의 사이토카인 및 임의로 항-CD3 항체와 접촉시켜, 활성화된 T 세포의 집단의 증식 및 분화를 유도하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 사이토카인은 IL-2, IL-7, IL-15 또는 IL-21을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 비부착성 PBMC의 집단을 면역 체크포인트 억제제와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 단계 c)는 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 비부착성 PBMC의 집단을 공동 배양하는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1, PD-L1 및 CTLA-4로 이루어진 군으로부터 선택되는 면역 체크포인트 분자의 억제제이다.
- [0021] 상술한 문단에서 기재된 방법 중 어느 하나의 방법에 의해 제조되는 활성화된 T 세포의 집단의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 (예컨대 인간 개체) 암을 치료하는 방법이 추가로 제공된다. 일부 실시 형태에서, PBMC의 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다.
- [0022] 상기 기재된 바와 같은 암을 치료하는 방법 중 어느 하나에 따른 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 개체에 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포의 각 투여 사이의 간격은 약 0.5개월 내지 약 5개월 (예컨대 약 0.5개월 내지 약 2개월)이다.
- [0023] 상기 기재된 바와 같은 암을 치료하는 방법 중 어느 하나에 따른 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥

내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 약 3×10^9 개의 세포/개체의 투여량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 약 1×10^9 내지 약 1×10^{10} 개의 세포/개체로 투여된다.

[0024] 상기 기재된 바와 같은 암을 치료하는 방법 중 어느 하나에 따른 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 각 투여 사이의 간격은 약 0.5개월 내지 약 5개월 (예컨대 약 0.5개월 내지 약 2개월)이다.

[0025] 상기 기재된 바와 같은 암을 치료하는 방법 중 어느 하나에 따른 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포는 약 1×10^6 내지 약 5×10^6 개의 세포/개체의 투여량으로 투여된다.

[0026] 본 출원의 일 측면은 a) PBMC의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜, 활성화된 PBMC의 집단을 얻는 단계 및 b) 개체에 유효량의 활성화된 PBMC를 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 (예컨대 인간 개체) 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시 형태에서, 단계 (a)는 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에 PBMC의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 및 LAG-3으로 이루어진 군으로부터 선택되는 면역 체크포인트 분자의 억제제이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC의 각 투여 사이의 간격은 약 0.5개월 내지 약 5개월 (예컨대 약 0.5개월 내지 약 2개월)이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 약 1×10^9 내지 약 1×10^{10} 개의 세포/개체의 투여량으로 투여된다.

[0027] 상기 기재된 방법 중 어느 하나에 따른 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 각각 약 20 내지 약 40 개의 아미노산 길이이다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 MHC-I 에피토프를 포함하는 적어도 하나의 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, MHC-I 에피토프를 포함하는 적어도 하나의 펩티드는 N-말단, C-말단 또는 둘 모두에서 에피토프를 플랭킹하는(flanking) 추가의 아미노산을 추가로 포함한다.

[0028] 상기 기재된 방법 중 어느 하나에 따른 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 MHC-II 에피토프를 포함하는 적어도 하나의 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, MHC-II 에피토프를 포함하는 적어도 하나의 펩티드는 N-말단, C-말단 또는 둘 모두에서 에피토프를 플랭킹하는 추가의 아미노산을 추가로 포함한다.

[0029] 상기 기재된 방법 중 어느 하나에 따른 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 제1 코어 그룹은 약 10 내지 약 20개의 일반적인 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 제2 그룹은 약 1 내지 약 10개의 암-유형 특이적 항원 펩티드를 포함한다.

[0030] 상기 기재된 방법 중 어느 하나에 따른 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 신생항원 펩티드는 개체로부터의 종양 샘플의 유전자 프로파일에 기초하여 선택된다.

[0031] 상기 기재된 바와 같은 암을 치료하는 방법 중 어느 하나에 따른 일부 실시 형태에서, 암은 간세포 암종, 자궁경부암, 폐암, 대장암, 림프종, 신장암, 유방암, 췌장암, 위암, 식도암, 난소암, 전립선암, 비인두암, 흑색종 및 뇌종양으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0032] 상기 기재된 바와 같은 암을 치료하는 방법 중 어느 하나에 따른 일부 실시 형태에서, 방법은 개체에 면역 체크포인트 억제제의 유효량을 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1, PD-L1 및 CTLA-4로 이루어진 군으로부터 선택되는 면역 체크포인트 분자의 억제제이다.

[0033] 상기 기재된 바와 같은 암을 치료하는 방법 중 어느 하나에 따른 일부 실시 형태에서, 암의 돌연변이 부하(mutation load)에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 개체는 암에서 낮은 돌연변이 부하를 갖는다. 일부 실시 형태에서, 개체는 하나 이상의 MHC 유전자에서 낮은 돌연변이 부하를 갖는다. 일부 실시 형태에서, 개체는 하나 이상의 MHC 유전자에 약 10개 이하의 돌연변이를 갖는다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 MHC 유전자는 MHC 클래스 I 유전자이다. 개체가 인간 개체인 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 MHC 유전자는 HLA-A, HLA-B, HLA-C 및 B2M으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, 개체는 B2M에 돌연변이가 없다. 일부 실시 형태에서, 개체는 하나 이상의 MHC 유전자의 기능성 영역 (예컨대 리

더 펩티드 서열, a1 도메인, a2 도메인 또는 a3 도메인)에 돌연변이가 없다. 일부 실시 형태에서, 암의 돌연변이 부하는 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써 측정된다.

[0034] 상기 기재된 바와 같은 암을 치료하는 방법 중 어느 하나에 따른 일부 실시 형태에서, 암에 하나 이상의 신생항원을 갖는 것에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 개체는 적어도 5개의 신생항원을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 방법은 암의 신생항원을 동정하는 단계 및 신생항원 펩티드를 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입하는 단계를 추가로 포함하며, 여기서 신생항원 펩티드는 신생항원에 네오에피토프를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써 신생항원을 동정한다. 일부 실시 형태에서, 상기 시퀀싱은 암-관련 유전자의 표적 시퀀싱이다. 일부 실시 형태에서, 방법은 MHC 분자에 대한 네오에피토프의 친화력을 측정하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 방법은 네오에피토프 및 MHC 분자를 포함하는 복합체의 T 세포 수용체에 대한 친화력을 측정하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, MHC 분자는 MHC 클래스 I 분자이다. 일부 실시 형태에서, MHC 분자는 개체로부터 유래된다.

[0035] 상기 기재된 바와 같은 암을 치료하는 방법 중 어느 하나에 따른 일부 실시 형태에서, 방법은 활성화된 T 세포 또는 활성화된 PBMC의 투여 후에 개체를 모니터링하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 모니터링하는 단계는 개체에서 순환 종양 세포 (CTC)의 수를 측정하는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 모니터링하는 단계는 개체 내의 복수의 종양 항원 펩티드에 대한 특이적 면역 반응을 검출하는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 특이적 면역 반응에 기초하여 조정되어, 복수의 맞춤형(customized) 종양 항원 펩티드를 제공한다. 일부 실시 형태에서, 치료 방법은 복수의 맞춤형 종양 항원 펩티드를 사용하여 반복된다.

[0036] 본 출원의 일 측면은 (a) 상기 기재된 바와 같은 암을 치료하는 방법 중 어느 하나를 사용하여 개체를 치료하는 단계; (b) 개체로부터 복수의 종양 항원 펩티드에서 종양 항원 펩티드를 특이적으로 인식하는 T 세포를 분리하는 단계; 및 (c) T 세포로부터 T 세포 수용체를 복제하여 종양 특이적 T 세포 수용체를 제공하는 단계를 포함하는, 종양 특이적 T 세포 수용체의 복제 방법을 제공한다. 일부 실시 형태에서, 개체는 종양 항원 펩티드에 대한 강한 특이적 면역 반응을 갖는다. 일부 실시 형태에서, T 세포는 개체의 PBMC 샘플로부터 분리된다. 일부 실시 형태에서, 종양 항원 펩티드는 신생항원 펩티드이다.

[0037] 상기 기재된 바와 같은 종양 특이적 T 세포 수용체를 복제하는 방법 중 어느 하나를 사용하여 복제된 종양 특이적 T 세포 수용체, 종양 특이적 T 세포 수용체를 포함하는 분리된 T 세포 및 개체에 유효량의 분리된 T 세포를 투여하는 단계를 포함하는 개체에서 암을 치료하는 방법이 또한 제공된다.

[0038] 상기 기재된 바와 같은 제조 방법 중 어느 하나의 방법에 의해 제조된, 분리된 세포 (예컨대 활성화된 T 세포 또는 활성화된 PBMC)의 집단이 추가로 제공된다.

[0039] 본 출원의 일 측면은 활성화된 T 세포를 포함하는 분리된 세포 집단을 제공하며, 여기서 약 1% 미만의 활성화된 T 세포가 조절 T (T_{조절}) 세포이다.

[0040] 상기 기재된 분리된 세포 집단 중 어느 하나에 따른 일부 실시 형태에서, 분리된 세포 집단은 약 0.3% 내지 약 0.5%의 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 분리된 세포 집단은 약 65% 내지 약 75%의 CD3⁺CD8⁺ 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 분리된 세포 집단은 약 16% 내지 약 22%의 CD3⁺CD4⁺ 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 분리된 세포 집단은 약 13% 내지 약 15%의 CD3⁺CD56⁺ 세포를 포함한다.

[0041] 상기 기재된 분리된 세포 집단 중 어느 하나에 따른 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 생체내 또는 생체외에서 복수의 종양 항원 펩티드에 특이적 반응을 유도할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 복수의 전염증성 분자를 발현한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 전염증성 분자는 IFN γ , TNF α , 그랜자임 B 또는 퍼포린을 포함한다.

[0042] 상기 기재된 분리된 세포 집단 중 어느 하나에 따른 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 복수의 면역억제 사이토카인의 발현이 없거나 낮다. 일부 실시 형태에서, 복수의 면역억제 사이토카인은 IL-10 또는 IL-4를 포함한다.

[0043] 상기 기재된 분리된 세포 집단 중 어느 하나에 따른 일부 실시 형태에서, 약 5% 미만의 활성화된 T 세포가 면역-억제 분자 PD-1를 발현한다.

[0044] 상기 기재된 분리된 세포 집단 중 어느 하나에 따른 일부 실시 형태에서, 분리된 세포 집단의 적어도 약 90% 세

포가 활성화된 T 세포이다.

[0045] 본 출원의 일 측면은 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함하는 조성물을 제공하며, 여기서 적어도 10종의 종양 항원 펩티드 각각은 서열 번호 1 내지 35로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 에피토프를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 적어도 10종의 종양 항원 펩티드는 도 2c의 종양 항원 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, 적어도 10종의 종양 항원 펩티드 각각은 hTERT, p53, 서바이빈(Survivin), NY-ESO-1, CEA, CCND1, MET, RGS5, MMP7, VEGFR, AFP, GPC3, HBVc, HBVp, CDCA, KRAS, PARP4, MLL3 및 MTHFR로 이루어진 군으로부터 선택되는 암-관련 유전자에 의해 암호화되는 하나 이상의 에피토프를 포함한다.

[0046] 상기 기재된 바와 같은 조성물 (예컨대 단리된 세포 집단 또는 종양 항원 펩티드의 조성물) 중 어느 하나를 포함하는 키트, 약품 및 제품이 또한 제공된다.

[0047] 본 발명의 이러한 측면 및 다른 측면, 및 이점은 후속하는 상세한 설명 및 첨부된 청구범위로부터 명백해질 것이다. 본원에 기재된 다양한 실시 형태의 특성 중 하나, 일부 또는 전부를 조합하여, 본 발명의 다른 실시 형태를 형성할 수 있는 것으로 이해될 것이다.

도면의 간단한 설명

[0048] 도 1은 DC 및 T 세포 제조 단계의 타이밍 및 특정 세포 기반 조성물의 투여(들)를 포함하는 MASCT 방법의 2가지 바람직한 실시 형태를 도시한다. 타임 라인 아래의 화살표는 투여 단계를 나타낸다.

도 2a 내지 도 2c는 실시예 1에 기재된 예시적인 MASCT 방법의 세포 제조 과정을 도시한다. 도 2a는 MASCT 방법의 바람직한 실시 형태의 세포 제조 과정을 예시하는 개략도이다. 도 2b는 HCC 환자에서 MASCT 치료를 위해 DC로 로딩되는 HCC 항원 펩티드 풀의 예시적인 조성물을 도시한다. 일부 종양 항원 펩티드는 암 면역치료의 임상 시험에서 사용되어 왔다; 이러한 DC 백신, 양자 세포 이식 (ACT) 및 펩티드 백신에 대한 언급이 포함된다. OC: 난소암; BC: 유방암; PC: 췌장암; LC: 폐암; RCC: 신장암종; HCC: 간세포 암종. 도 2c는 HCC의 펩티드 풀에 함유된 에피토프의 목록을 보여준다.

도 3은 iDC에 의한 종양 항원 펩티드의 세포 흡수를 보여준다. 인간 단핵구 유도된 iDC를 서바이빈 (왼쪽 두 번째 컬럼, 2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$)의 형광 표지된 펩티드로 2시간 동안, 이어서 DAPI (왼쪽 첫 번째 컬럼) 및 리소트래커[®] (오른쪽 두 번째 컬럼)로 표지하여 핵 및 리소좀을 각각 확인하였다. 형광 이미지를 공초점 현미경 (라이카 (Leica) TCSST5)으로 기록하였는데, 스케일 바는 7.5 μm 이며, 이미지는 4개의 독립적인 실험을 나타낸다.

도 4a 및 도 4b는 실시예 1에서 제조된 성숙 DC의 특성을 나타낸다. 도 4a는 TLR 작용제를 사용한 성숙 전 (회색 피크) 및 후 (검정색 피크) DC의 유세포 분석법 결과를 나타낸다. 유세포 분석법 실험에서 세포를 분리하는데 사용되는 항체에 의해 표적화된 분자 마커를 상기 각각의 크로마토그래프에 나타내었다. 각 분자 마커의 (표시된 범위 내) 높은 발현 수준의 DC의 백분율을 각각의 패널 안에 나타내었다. 결과는 대부분의 성숙 DC가 세포독성 T 세포를 활성화하는 세포-표면 발현 특징(signature)을 보였음을 보여준다. DC는 MHC 클래스 II 분자 및 공동 자극 신호전달 리간드 CD86, CD80 및 CD83뿐만 아니라 성숙 수용체 CCR7를 발현하지만, 미성숙 DC에서 전형적으로 발현되는 CD14의 발현 수준이 낮다. 도 4b는 실시예 1에서 제조된 성숙 DC에 의한 사이토카인의 분비 수준을 나타낸다. 기능성 성숙 DC로 예상되는 바와 같이, DC는 높은 수준의 전염증성 사이토카인 IL-12를 분비하였지만, 낮은 수준의 면역억제 사이토카인 IL-10을 분비하였다.

도 5a 내지 도 5e는 실시예 1에서 제조된 활성화된 T 세포의 특성을 나타낸다. 도 5a는 트리판 블루 배제 (trypan blue exclusion)를 사용한 세포 계수에 기초하여 배양 14 내지 17일 후 T 세포 증식을 나타낸다. 10명의 환자 샘플의 중앙값이 도시된다. 도 5b는 공동 배양물에서 T 세포 아집단의 백분율을 나타내며, 이는 활성화된 T 세포 중 T_{조절} 세포 ($\text{CD4}^+\text{CD25}^+\text{Foxp3}^+$, $0.4\%\pm 0.1\%$)가 매우 낮은 수준임을 나타낸다. 도 5c는 사이토카인 (IFN γ 및 TNF α) 및 효소 그랜자임 B를 공동 발현하는 T 세포 서브세트의 백분율을 나타내는 원형 차트를 도시한다. 5명의 환자의 평균 $\pm$ 측정치의 표준 오차 (SEM)가 각 군에 대해 도시되어 있다. 3배 생산자 (Triple producer): 진회색; 2배 생산자: 연회색; 단일 생산자(single producer): 검정색; 비-생산자: 백색. 도 5d는 환자의 PBMC로부터 제조되고 펠싱된 DC와 공동 배양되는 활성화된 T 세포의 3차원 유세포 분석 크로마토그래프를 나타내며, 이는 포볼 12-미리스테이트 13-아세탄산(PMA)으로 약 4시간 동안 추가로 자극되었다. 테이터는 5개의 독립적인 실험을 나타낸다. 활성화된 T 세포는 $\text{CD3}^+\text{CD8}^+$ 세포독성 T 세포, $\text{CD3}^+\text{CD4}^+$ 보조 T 세포 및 $\text{CD3}^+\text{CD56}^+$ NK T 세포의 큰 아집단을 함유하였으며, 이의 대부분이 전염증성 사이토카인 (IFN γ 및 TNF α) 및

프로테아제 그랜자임 B의 세포내 생성이 높았다. 도 5e는 약 4시간 동안 PMA로 자극한 환자로부터 단리된 비-활성화된 T 세포의 3차원 유세포 분석 크로마토그래프를 나타낸다. 비-활성화된 T 세포는 IFN γ , TNF α 및 그랜자임 B의 발현 수준이 낮다.

도 6a 내지 도 6f는 실시예 1에서 제조되는 활성화된 T 세포의 분자 및 기능적 특성을 나타낸다. 도 6a는 활성화된 T 세포에 의한 다양한 사이토카인의 분비를 나타낸다. HCC 환자로부터 생성된, 결과로서 얻어진 세포는 유의한 양의 IFN γ 및 TNF α 를 분비하지만, IL10 및 IL4는 거의 또는 전혀 분비하지 않았다. 6명의 환자의 평균 $\pm$ SEM이 도시되어 있다. 도 6b 및 도 6c는 건강한 공여자와 비교하여 HCC 환자로부터 단리된 T 세포의 CD3⁺CD8⁺ (도 6b) 및 CD3⁺CD4⁺ (도 6c) 서브세트의 표면 상에서 PD-1의 발현 빈도 감소를 나타낸다. 7명의 환자의 발현 백분율과 통계가 도시되어 있다. 도 6d는 생체의 활성화 후 T 세포의 CD3⁺CD8⁺ 서브세트에서 PD-1 발현 T 세포의 빈도 감소를 나타낸다. 도 6e는 생체의 활성화 후 T 세포의 CD3⁺CD4⁺ 서브세트에서 PD-1 발현 T 세포의 빈도 감소를 나타낸다. 7명의 환자의 발현 백분율과 통계가 도시되어 있다. 도 6f는 활성화된 T 세포의 HLA (또는 MHC) 제한 세포독성을 나타낸다. HLA-A2⁺ 환자 (n=7, 왼쪽 그룹)의 PBMC로부터 생성된, 활성화된 T 세포는 HuH-7 세포 (해쉬형(hashed) 막대, HLA-A2⁻)보다 HCC 세포주 HepG2 (백색 막대, HLA-A2⁺)에 대해 더 큰 세포독성 활성 수준을 나타내는 반면, HLA-A2⁻ 환자 (n=7, 오른쪽 그룹)의 PBMC로부터 생성된, 활성화된 T 세포는 이러한 두 세포주에 대해 유사한 수준의 세포독성을 나타내었다. 각각의 세포 용해 실험에서, 이펙터 T 세포 (제조된, 활성화된 T 세포) 대 표적 세포 (HepG2 또는 HuH-7 세포; E:T 비율)의 상대 비율은 약 40:1이었다.

도 7a는 실시예 1에 기재된 바와 같은 MASCT 치료의 임상 데이터의 후향성 분석에서 환자의 선정 및 제외 기준을 설명하는 흐름도이다.

도 7b는 지속적으로 치료하고 정기적으로 추적한 (바르셀로나 임상 간암 병기 분류(Barcelona Clinic Liver Cancer staging classification)에 따라) B기 HCC 환자의 후향성 분석의 개략도이다.

도 8a는 실시예 1에서 분석한 대조군의 간세포 암종 (B기) 환자의 특징, 치료 및 RECIST 평가를 나타낸다.

도 8b는 진단 후 1년 동안 통상적인 치료만 받았던 (통상군, n=17) 간세포 암종 (B기) 환자의 특징, 치료 및 RECIST 평가를 나타낸다.

도 9a는 실시예 1에서 분석한 MASCT 치료군의 간세포 암종 (B기) 환자의 특징, 치료 및 RECIST 평가를 나타낸다.

도 9b는 진단 후 1년 동안 다회의 MASCT 치료를 받았던 (통상+MASCT 군, n=15) 간세포 암종 (B기) 환자의 특징, 치료 및 RECIST 평가를 나타낸다.

도 10a는 실시예 1에서 분석한 대조군과 MASCT 치료군의 환자를 비교하여 요약한 것이다.

도 10b는 후향성 분석에 등록된 간세포 암종 (B기) 환자의 특징을 나타낸다.

도 11a 내지 도 11f는 실시예 1에 기재된 바와 같이, MASCT 치료(들) 후에 HCC 환자에서 면역 반응이 상승되었음을 도시한다. 도 11a는 3회의 MASCT 치료를 받은 후 4명의 환자의 PBMC에서 T_{조절} 백분율의 유의한 감소를 나타낸다. 4명의 환자의 발현 백분율과 통계가 도시되어 있다. 도 11b는 MASCT 치료를 받은, 7명의 상이한 HCC 환자의 PBMC 샘플에서 증식하는 T 세포의 백분율의 증가를 나타낸다. 도 11c는 MASCT 치료를 받은 7명의 상이한 HCC 환자의 PBMC 샘플에서 INF γ -생성 세포독성 T 세포 (CD8⁺ INF γ +) 백분율의 증가를 나타낸다. 도 11d는 MASCT 치료를 받은 HCC 환자의 PBMC 샘플의 유세포 분석 크로마토그래프를 나타낸다. 이러한 결과는 INF γ -생성 세포독성 T 세포 (CD8⁺ INF γ +)가 CD27과 CD28을 공동 발현함을 나타내며, HCC-특이적 T 세포 반응의 면역 기억을 획득할 가능성이 높음을 시사한다. 도 11e는 3회의 MASCT 치료 후에 HCC 환자의 CD8⁺ T 세포에 의한 세포내 INF γ 생성의 증가를 나타낸다. 3회의 MASCT 치료 전후에 각각 PBMC를 환자로부터 단리하여 T 세포 반응을 측정하였다. 도 11f는 MASCT 세포 치료의 다회의 치료 동안 환자에서 순차적으로 증가하는 T 세포의 특이적 증식을 나타낸다. 1회 및 3회의 MASCT 치료(들) 전후에 각각 PBMC를 환자로부터 단리하였다. 2명의 환자의 T 세포 증식을 EdU (5-에티닐-2'-데옥시우리딘) 염색으로 측정하였다. 도 11b 내지 도 11f에서, PBMC를 HCC 항원 펩티드 풀 (HCC-pep)로 자극한 후 특이적 T 세포 반응을 측정하였다. PBMC를 무관한 펩티드풀 (ir-pep, 대조)로 자극한 후 대조 반응을 측정하였다. 모든 배수 변화를 특이적 반응 값 대 대조 반응 값을 정규화하여 계산

한다.

도 12a 내지 도 12d는 실시예 1의 환자에서 HCC 항원 펩티드에 대한 특이적 면역 반응을 나타낸다. 다회의 MASCT 치료 후 HCC 환자에서 (도 12a; n=6) 및 MASCT 치료를 받지 않은 HCC 환자에서 (도 12b; n=5) 개개의 HCC 항원 펩티드에 대한 특이적 면역 반응의 평균. 도 12c는 3회의 MASCT 치료 전 (빈 막대)과 후 (해쉬형 막대) 한 명의 환자에서 각 종류의 HCC 항원 펩티드에 대한 특이적 면역 반응을 나타낸다. 도 12d는 다회의 MASCT 치료 동안 두 번째 HCC 환자에서 각 종류의 HCC 항원 펩티드에 대한 특이적 면역 반응의 순차적인 증가를 나타낸다 (백색 막대: 치료 전; 회색: 1회의 치료 후; 해쉬형: 3회의 치료 후). 개개의 HCC 항원 펩티드로 자극한 환자의 PBMC의 IFN γ 분비를 ELISPOT에 의해 계산하였다. 결과가 자극을 받지 않은 PBMC와 비교하여 IFN γ 분비의 평균 $\pm$ SEM 배수 변화로 도시되어 있다. 숫자는 반응하는 환자/총 환자를 나타낸다. 더 높은 점선은 컷오프값의 1.5배 증가를 나타낸다. W/O: 자극없음.

도 13a 내지 도 13d는 7회의 MASCT 치료를 받은 전이성 자궁경부암 환자 WJ의 임상 데이터를 나타낸다. 도 13a, 도 13b 및 도 13d는 2013년 12월 (MASCT 치료 전에), 2014년 6월 (10회의 국소 방사선 치료에 이어서 3회의 MASCT 치료) 및 2014년 12월 (총 7회의 MASCT 치료 후)에 취한 환자의 ECT 결과이다. 화살표와 원은 우측 천장골관절 상의 전이 부위를 가리키며, 이는 MASCT 치료에 반응하여 전이성 종양이 감소되고 추가의 전이가 없음을 보여준다. 도 13c는 MASCT 치료 후 자궁경부암종 항원 펩티드 풀 (CC pep 풀) 및 풀의 각 종류의 항원 펩티드에 대한 특이적 면역 반응을 보여준다. MASCT 치료 전과 총 6회의 MASCT 치료 후에 PBMC를 환자로부터 분리하여, CC pep 풀 및 풀에 포함된 개개의 항원 펩티드로 각각 자극하였다. 각 컬럼은 MASCT 치료 전 환자의 PBMC의 대응하는 반응에 대한 IFN γ (Y-축)의 배수 변화로 측정된 각각의 항원 펩티드 (또는 CC pep 풀)에 대한 MASCT 치료 후 환자의 PBMC의 면역 반응 수준을 나타낸다. W/O = 어떤 항원 펩티드로도 자극하지 않은 반응 ENV는 무관한 펩티드를 사용한 실험을 지칭한다. 점선은 IFN γ 배수 변화로 측정된 상승되지 않은 면역 반응의 역치를 가리킨다. 화살표는 IFN γ 배수 변화로 측정된 면역 반응 상승을 유도하는 특이적 항원 펩티드를 가리킨다.

도 14는 실시예 2의 환자의 치료 이력을 요약하여 나타낸 것이다.

도 15는 활성화된 T 세포를 제조하기 위한 예시적인 실험 구성의 개략도이다.

도 16a는 항-PD-L1 항체 및 항-CD11c 항체를 사용한 성숙 수지상 세포의 FACS 결과를 보여준다. 도 16b는 활성화 8일 전후에 4명의 상이한 공여자의 PBMC 샘플에서 T 세포의 PD-1 발현 수준을 보여준다.

도 17a는 항-PD-1 항체 (니볼루맵)의 존재 또는 부재하에 항원 펩티드로 1회 또는 2회 자극한 공동 배양물 샘플에서 펩티드-특이적 CD8⁺ T 세포의 백분율을 보여준다. 도 17b는 항-PD-1 항체의 존재 또는 부재하에 항원 펩티드로 1회 또는 2회 자극한 공동 배양물 샘플에서 기능성 펩티드-특이적 CD8⁺ T 세포의 백분율을 보여준다. 도 17c는 항-PD-1 항체 (SHR-1210 또는 니볼루맵)의 존재 또는 부재하에 항원 펩티드로 1회 또는 2회 자극한 공동 배양물 샘플에서 펩티드-특이적 CD8⁺ T 세포의 백분율을 보여준다. 도 17d는 항-PD-1 항체 (SHR-1210 또는 니볼루맵)의 존재 또는 부재하에 항원 펩티드로 1회 또는 2회 자극한 공동 배양물 샘플에서 기능성 펩티드-특이적 CD8⁺ T 세포의 백분율을 보여준다.

도 18은 활성화된 T 세포를 제조하기 위한 예시적인 실험 구성의 개략도이다.

도 19a는 항-PD-1 항체 (SHR-1210 또는 니볼루맵)의 존재 또는 부재하에 항원 펩티드로 1회 자극하고 5일 또는 10일 동안 배양된 공동 배양물 샘플에서 펩티드-특이적 CD8⁺ T 세포의 백분율을 보여준다. 도 19b는 항-PD-1 항체 (SHR-1210 또는 니볼루맵)의 존재 또는 부재하에 항원 펩티드로 1회 자극하고 10일 동안 배양된 공동 배양물 샘플 또는 항원 펩티드로 2회 자극하고 두 번째 자극 후에 5일 동안 배양된 공동 배양물 샘플에서 펩티드-특이적 CD8⁺ T 세포의 백분율을 보여준다. 도 19c는 항-PD-1 항체 (SHR-1210 또는 니볼루맵)의 존재 또는 부재하에 항원 펩티드로 1회 자극하고 10일 동안 배양된 공동 배양물 샘플 또는 항원 펩티드로 2회 자극하고 두 번째 자극 후에 5일 동안 배양된 공동 배양물 샘플에서 기능성 펩티드-특이적 CD8⁺ T 세포의 백분율을 보여준다.

도 20a 및 도 20b는 항-PD-1 항체 (SHR-1210 또는 니볼루맵)의 존재 또는 부재하에 시간 경과에 따른 2명의 상이한 공여자의 PBMC로부터의 공동 배양물에서 총 T 세포 수를 나타낸다.

도 21a 및 도 21b는 항-PD-1 항체 (SHR-1210 또는 니볼루맵)의 존재 또는 부재하에 시간 경과에 따른 2명의 상

이한 공여자의 PBMC로부터의 공동 배양물에서 세포 표면 상에 PD-1을 발현하는 세포의 백분율을 나타낸다.

도 22는 실시예 5의 5명의 환자의 종양 샘플 및 임상 평가에서 333개의 암-관련 유전자에 대한 차세대 시퀀싱(NGS)의 통계 데이터를 나타낸다.

도 23a 및 도 23b는 35개의 종양 샘플의 DMM 분류 분석을 도시한다. 도 23a는 가장 적합한 분류 군의 수를 도시한다. 도 23b는 35개의 종양 샘플의 DMM 분류 플롯을 도시한다. 14개의 샘플을 DMM 1군(상자 A의 적색)으로 분류하고(clustered) 21개의 샘플을 DMM 0군(상자 B의 녹색)으로 분류하였다.

도 24a 및 도 24b는 각 샘플에서 333개의 암유전자의 돌연변이 부하에 기초하여 35종의 종양 조직 샘플의 클러스터링 분석을 도시한다. 도 24a는 암 임상 유형, MMR 결핍 유형(0: MMR 결핍, 1:MMR 능숙(proficient)) 및 DMM 군이 표시된 333개의 암-관련 유전자 각각에서 검출한 돌연변이 부하에 기초하여 분류된 35개의 종양 샘플의 히트맵을 나타낸다. 도 24b는 도 24a와 동일한 순서로 정렬한 각각의 샘플의 HLA-I 유전자 돌연변이 부하에 대한 막대 차트를 나타낸다. 검정색 선은 HLA-I 돌연변이 부하에서 6개의 돌연변이를 표시한 것이다.

도 25a 및 25b는 두 DMM 군 내의 각 종양 조직 샘플의 HLA-I 유전자 돌연변이 부하에 대한 통계적 분석을 도시한다.

도 26a 내지 도 26e는 5개의 시점에서 환자 3-HJL의 CT 스캔을 도시한다. 도 26a의 CT 스캔은 폐의 두엽에서 가장 큰 것의 직경이 2 cm인 유육종증을 나타낸다. 도 26b는 2 사이클의 화학요법 후, 유사한 유육종증을 나타낸다. 도 26c는 4 사이클의 화학요법 후, 폐 유육종증에 개선이 없음을 나타낸다. 도 26d의 CT 스캔은 PD-1 억제제(키트루다[®])와 MASCT 병용 요법을 3 사이클 받은 후, 폐 유육종증의 크기가 약 50% 축소됨을 도시한다. 도 26e는 PD-1 억제제(키트루다[®])와 MASCT 병용 요법을 5 사이클 받은 후, 폐 두엽에서 유육종증이 소멸됨을 보여준다.

도 27a 내지 도 27d는 4개의 지점에서 환자 4-LKS의 CT 스캔을 도시한다. 도 27a의 CT 스캔은 종양 크기가 약 3 cm인 뇌 전이를 나타낸다. 도 27b는 방사선 치료 후 종양 축소를 보여준다. 도 27c에서 CT 스캔 재검은 종양 축소 및 뇌 부종의 완화를 나타낸다. 도 27d는 종양 및 부종 상태가 추가로 완화됨을 보여준다.

도 28은 환자의 종양 샘플의 시퀀싱 결과에 기초하여 예측한 신생항원 펩티드 및 HLA 돌연변이 상태에 기초한 예후를 사용한 예시적인 정밀 MASCT의 개략적인 흐름도를 나타낸다.

도 29a는 환자의 종양 샘플의 시퀀싱 분석에 기초하여 환자의 후보 신생항원을 나타낸다. 도 29b는 MASCT 치료 전후에 환자의 순환 종양 세포(CTC)의 연속 모니터링 결과를 보여준다. 도 29c는 환자가 3 사이클의 정밀 MASCT 치료를 받은 후, 다양한 항원 펩티드를 투여한 환자의 PBMC의 ELISPOT 결과를 보여준다.

도 30a는 MASCT 치료를 받은 45명의 간세포 암종(HCC) 환자의 임상 특징을 나타낸다.

도 30b는 MASCT 치료 전후의 45명의 환자의 일반 혈액 검사 결과를 나타낸다.

도 30c는 MASCT 치료 전후의 45명의 환자의 간 및 신장 기능 파라미터를 나타낸다.

도 30d는 MASCT 치료 전 및 5회의 MASCT 치료 과정 동안의 8명의 HCC 환자의 ALT 및 AST 수준을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0049]

본 발명은 다중 항원 특이적 세포 치료(Multiple Antigen Specific Cell Therapy; MASCT)로 총칭되는 신규한 세포 기반 면역치료 방법을 개시하며, 이는 개체에서 암의 진행을 지연시키고/키거나, 이의 재발 또는 전이를 방지하고/거나, 이의 증상을 완화시킬 뿐만 아니라 다양한 암을 치료하는 데 유용하다. 일부 실시 형태에서 방법은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포(DC)에 의해 유도되는 활성화된 T 세포를 이용한다. 예를 들어, T 세포 및 DC는 개체의 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)로부터 유래될 수 있다. 다중-항원 로딩된 DC는 일반적인 종양 항원 펩티드 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드를 포함하는 복수의 종양 항원 펩티드에 대한 DC(예컨대 미성숙 DC)의 노출에 의해 제조될 수 있다. 활성화된 T 세포는 T 세포의 집단을 다중-항원 로딩된 DC와 공동 배양함으로써 제조될 수 있다. 임의로, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제와 접촉시킨다. 활성화된 T 세포는 개체에 투여되며, 이는 생체내에서 종양 항원에 대한 양자 면역 반응을 유도할 수 있다. 임의로, 다중-항원 로딩된 DC는 개체에 투여되어, 종양 항원에 대한 활성 면역을 유발할 수 있다. 대안적으로, 활성화된 PBMC의 투여를 포함하는 PBMC 기반 MASCT 방법이 제공된다. 본 명세서에 기재된 임의의 MASCT 방법은 개체에서 암을 치료하기 위해 단독으로 또는 면역 체크포인트 억제제(예

컨대 PD-1 억제제)와 병용하여 사용될 수 있다.

[0050] 본 발명은 개체의 종양의 유전자 프로파일과 같은 치료되는 개체에 맞춘 정밀 MASCT 치료 방법을 추가로 제공한다. 예를 들어, 개체의 종양에서의 (예컨대 하나 이상의 MHC 유전자에서의) 돌연변이 부하에 기초하여 MASCT 치료에 적합한 개체를 선택할 수 있다. 또한 개체의 종양에서 발견되는 신생항원의 수에 기초하여 MASCT 치료에 적합한 개체를 선택할 수 있다. 일부 경우에, 하나 이상의 신생항원은 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써 동정될 수 있다. 신생항원 펩티드는 개체의 신생항원에 기초하여 설계될 수 있으며, 개체에 정밀 MASCT를 제공하기 위해 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 개체는 미래의 MASCT 치료 사이클에 대한 특이적 면역 반응의 강도에 기초하여 복수의 종양 항원 펩티드의 맞춤화를 허용하기 위해 MASCT 치료 사이클 후에 각각의 종양 항원 펩티드에 대한 특이적 면역 반응에 대해 모니터링된다. 추가로, 종양 항원 펩티드에서 에피토프를 특이적으로 인식하고 강력한 특이적 면역 반응을 유도하는 종양 특이적 T 세포 수용체 (TCR)는 MASCT 후에 개체로부터 복제될 수 있으며, 개체에 대한 보다 정밀한 면역치료에 사용될 수 있다.

[0051] 본 명세서에 제공된 (PBMC 기반 MASCT 및 정밀 MASCT를 포함하는) MASCT 방법 및 조성물은 배경기술 섹션에서 논의된 이전의 암 면역치료 방법이 직면한 많은 기술적 문제를 완화할 수 있다. 예를 들어, 시험관 내에서 종양 항원 펩티드의 풀에 DC를 노출시키면, 많은 암 백신 또는 프로벤진(PROVEGENE)[®]에서의 단일 종양 항원과 대조적으로, 다수의 종양 항원이 DC에 의해 제시되어, 종양이 풀 중에 하나 이상의 특정 종양 항원을 공유하는 한, 동일한 개체 내의 또는 상이한 개체에서 상이한 항원 발현 프로파일의 종양에 대한 보다 광범위한 스펙트럼의 반응을 허용한다. 종양 항원 펩티드 풀은 각각의 개체의 특정 조건, 예컨대 암 유형, 바이러스 감염 상태 및 개체 항원 펩티드에 대한 반응에 따라 추가로 맞춤화되어, 각 치료에서 최적의 치료 효과를 달성할 수 있다. 암 백신 및 DC 기반 요법과 달리, MASCT 치료 방법은 종양 세포에 의해 야기된 다양한 면역 결합 때문에 암 환자에서 약화된 반응과 통상 관련되는 이전 면역치료의 생체내 T 세포 유도 단계를 우회하는, 활성화된 T 세포를 투여하는 단계를 포함하며; 이에 따라, MASCT 방법은 암 세포에 대한 강력하고 신속하며 특이적인 T 세포 반응을 유도할 수 있다. 또한, 활성화된 T 세포는 매우 낮은 T_{조절} 수준 및 PD-1 발현을 가지므로 암-공격 T 세포에 대한 면역억제를 감소시켜, 암 면역 회피를 지연시킨다. 종합하면, 본 발명은 특히 현재의 표준적인 치료법이 실패하거나 이용될 수 없는 경우, 암 환자의 중대한 충족되지 않은 의학적 요구를 충족시키기 위해 효과적이고, 지속적이며, 광범위하게 적용가능한 암 면역치료 방법을 제공한다.

[0052] 정의

[0053] 이하에서 달리 정의되지 않는 한, 용어는 본 기술 분야에서 일반적으로 사용되는 바와 같이 본 명세서에 사용된다.

[0054] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "치료" 또는 "치료하는"은 임상 결과를 포함하는 유익하거나 원하는 결과를 얻기 위한 방법이다. 본 발명의 목적을 위해, 유익하거나 원하는 임상 결과로는 다음 중 하나 이상을 들 수 있으나 이에 한정되지 않는다: 질환에 의한 하나 이상의 증상의 감소, 질환 정도의 저하, 질환 안정화 (예를 들어, 질환의 악화 저지 또는 지연), 질환의 만연 (예를 들어, 전이) 방지 또는 지연, 질환의 발생 또는 재발 방지 또는 지연, 질환의 진행 지연 또는 둔화, 질환 상태의 개선, 질환 관해 (부분 관해인지 완전 관해인지에 관계없이)의 달성, 질환을 치료하는데 필요한 하나 이상의 기타 약물의 용량 감량, 질환의 진행의 지연, 삶의 질 상승 및/또는 생존 기간의 연장. 또한 "치료"에는 암의 병리학적 결과의 감소가 포함된다. 본 발명의 방법은 하나 이상의 이러한 치료 측면을 고려한다.

[0055] 용어 "개체" 또는 "환자"는 인간을 포함하는 포유류를 설명하기 위해 본 명세서에서 동의어로 사용된다. 개체에는 인간, 소, 말, 고양이, 개, 설치류 또는 영장류를 포함되나, 이에 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에서, 개체는 인간이다. 일부 실시 형태에서, 개체는 암과 같은 질환을 앓고 있다. 일부 실시 형태에서, 개체는 치료를 필요로 한다.

[0056] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 암의 발병을 "지연하는 것"은 질환의 발병을 지연, 저해, 감속, 지체, 안정화 및/또는 연기하는 것을 의미한다. 이러한 지연은 병력 및/또는 치료 중인 개체에 따라, 다양한 기간으로 될 수 있다. 본 기술 분야의 숙련가에게 명백한 바와 같이, 충분하거나 유의한 지연은 사실상 개체가 질환을 발병하지 않는다는 점에서 예방을 포함할 수 있다. 암의 발병을 "지연시키는" 방법은 방법을 사용하지 않은 경우와 비교할 때 주어진 시간 동안 질환 발병의 가능성을 감소시키고/키거나 주어진 시간 동안 질환의 정도를 감소시키는 방법이다. 이러한 비교는 전형적으로 통계적으로 유의한 수의 개체를 사용하는 임상 연구에 기초한다. 암 발병은 컴퓨터 단층 촬영 (CAT 스캔), 자기 공명 영상 (MRI), 복부 초음파, 응고 시험, 동맥조영 또는 생검

을 포함하나, 이에 한정되지 않는 표준 방법을 사용하여 검출가능할 수 있다. 발병은 또한 초기에는 검출되지 않을 수 있는 암의 진행으로 지칭할 수 있으며, 발생, 재발 및 발현을 포함한다.

[0057] 본 기술 분야에서 이해되는 바와 같이, "유효량"은 원하는 치료 결과 (예를 들어, 암의 중증도 또는 지속 기간의 경감, 이의 중증도의 안정화, 또는 이의 하나 이상의 증상의 제거)를 도출하기에 충분한 조성물 (예를 들어 다중-항원 로딩된 DC, 활성화된 T 세포, 활성화된 PMBC 또는 단리된 T 세포), 제1 치료제, 제2 치료제 또는 병용 치료제의 양을 지칭한다. 치료 용도의 경우, 유익하거나 원하는 결과에는, 예를 들어, 질환의 발병 중 나타나는 이것의 합병증 및 중간 병리학적 표현형을 포함하는 (생화학적, 조직학적 및/또는 행동학적) 질환으로 인한 하나 이상의 증상의 감소, 질환을 앓는 사람들의 삶의 질 향상, 질환을 치료하는 데 필요한 기타 약물의 투여량의 감소, 다른 약물의 효과 증진, 질환의 진행 지연 및/또는 환자의 생존 연장이 포함된다.

[0058] 방법은 수술후 보조요법(adjutant setting)에서 실행될 수 있다. "수술후 보조요법"은 개체가 증식성 질환, 특히 암 병력이 있고, (반드시 그런 것은 아니지만) 일반적으로 수술 (예컨대 외과적 절제), 방사요법 및 화학요법을 포함하나, 이에 한정되지 않는 요법에 반응하는 임상 환경을 지칭한다. 그러나, 개체의 증식성 질환 (예컨대 암) 병력으로 인해, 그들은 질환의 발병 위험이 있다고 간주된다. "수술후 보조요법"에서의 치료 또는 투여는 후속 치료 방식을 지칭한다. 위험 정도 (즉, 수술후 보조요법의 개체가 "고위험" 또는 "저위험"으로 간주되는 경우)는 여러가지 인자, 가장 일반적으로 처음 치료될 때 질환의 정도에 따라 달라진다.

[0059] 본 명세서에 제공된 방법은 또한 "수술전 보조요법(neoadjuvant setting)"에서 실행될 수 있는데, 즉, 이 방법은 1차/확정적(definitive) 치료 전에 수행될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 개체는 이전에 치료를 받아왔다. 일부 실시 형태에서, 개체는 이전에 치료를 받아오지 않았다. 일부 실시 형태에서, 치료는 1차 치료이다.

[0060] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "병용 요법"은 제1 약제가 다른 약제와 함께 투여되는 것을 의미한다. "와 함께"는 본 명세서에 기재된 활성화된 T 세포 또는 PBMC의 투여에 더하여 다른 약제 (예컨대 면역 체크포인트 억제제)의 투여와 같이, 동일한 개체에 하나의 치료 방식에 더하여 또 다른 치료 방식의 투여를 지칭한다. 이와 같이, "와 함께"는 개체에 하나의 치료 방식의 전달 전에, 동안에 또는 후에 또 다른 치료 방식의 투여를 지칭한다. 이러한 병용은 단일 치료 계획(regimen 또는 regime)의 일부로 간주된다.

[0061] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "동시 투여"는 병용 요법에서 제1 치료제 및 제2 치료제가 약 15분 이하, 예컨대 약 10, 5 또는 1분 중 어느 하나 이하의 시간 간격으로 투여되는 것을 의미한다. 제1 치료제 및 제2 치료제가 동시에 투여되는 경우, 제1 치료제 및 제2 치료제는 동일한 조성물 (예를 들어, 제1 치료제 및 제2 치료제를 모두 포함하는 조성물)에 또는 별개의 조성물 (예를 들어, 하나의 조성물에 제1 치료제 및 다른 조성물에 제2 치료제가 포함됨)에 포함될 수 있다.

[0062] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "순차적 투여"는 병용 요법에서 제1 치료제 및 제2 치료제가 약 15분 초과, 예컨대 약 20, 30, 40, 50, 60분 또는 그 이상 중 어느 하나 초과 시간 간격으로 투여되는 것을 의미한다. 제1 치료제 또는 제2 치료제는 먼저 투여될 수 있다. 제1 치료제 및 제2 치료제는 동일하거나 상이한 패키지 또는 키트에 포함될 수 있는, 별개의 조성물에 포함된다.

[0063] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "병행 투여"는 병용 요법에서 제1 치료제의 투여와 제2 치료제의 투여가 서로 중첩되는 것을 의미한다.

[0064] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "약제학적으로 허용되는" 또는 "약리학적으로 적합한"은 생물학적으로 또는 다른 방식으로 바람직한 물질, 예를 들어, 임의의 유의한 바람직하지 않은 생물학적 효과를 일으키지 않거나, 이를 함유한 조성물의 임의의 다른 성분과 유해한 방식으로 상호작용하지 않으면서 개체에 투여되는 약제학적 조성물로 혼입될 수 있는 재료를 의미한다. 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제는 바람직하게는 독성 시험 및 제조 시험의 요구되는 기준을 충족하고/하거나, 미국 식품의약국(U.S. Food and Drug administration)에 의해 작성된 비활성 성분 지침서(Inactive Ingredient Guide)에 포함된다.

[0065] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 "유해 사례" 또는 "AE"는 시판되는 의약품 투여 받은 개체에서 또는 임상 시험용(investigational) 또는 비임상시험용 약제를 투여 받은 임상 시험에 참여 중인 개체에서 발생한, 바람직하지 않은 의료 사건(untoward medical occurrence)을 지칭한다. AE는 개체의 치료와 반드시 인과관계를 가져야 하는 것은 아니다. 따라서, AE는 의약품과 관련되는 것으로 간주되는지 여부와 관계없이, 의약품의 사용과 시간적으로 관련된, 바람직하지 않고 의도되지 않은 증후, 증상 또는 질환일 수 있다. AE에는 기존 질환의 악화; 기존 에피소드성 사례(episodic event) 또는 상태의 빈도 또는 강도의 증가; 연구 시작 전에 존재했을 수 있더라도 연구 약물 투여 후에 검출되거나 진단된 상태; 및 기준선에서 존재하였고 연구 시작 후에 악화되는,

계속 지속되는 질환 또는 증상이 포함되나, 이에 한정되지 않는다. AE는 일반적으로 의료 또는 외과 시술 (예를 들어, 수술, 내시경, 발치 또는 수혈)을 포함하지 않으나, 시술에 이르는 다음과 같은 상태는 유해 사례이다; 악화되지 않은, 연구 시작 시에 존재하거나 검출된 기존의 질환, 상태 또는 검사조건 이상; 바람직하지 않은 의료 사건과 관련되지 않은 선택적(elective) 목적으로 행해진 입원 또는 시술 (예를 들어, 성형 수술 또는 선택적 수술을 위한 입원 또는 사회적/편의 입원); 개체의 상태에 대해 예상되는 것보다 더 중증인 경우를 제외한, 연구 중인 질환 또는 이러한 질환과 관련된 증후/증상; 및 임상 증후 또는 증상이 없는 연구 약물의 과잉투여.

[0066] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 "중대한 유해 사례" 또는 (SAE)는 a) 치사성인 경우; b) 생명을 위협하는 경우 (사례가 발생했을 때 사례로부터의 즉각적인 사망 위험으로 정의됨); c) 지속적이거나 유의한 장애 또는 불능을 초래하는 경우; d) 환자 입원 또는 기존의 입원 기간의 연장을 필요로 하는 경우 (예외: 연구 동안 악화되지 않은 기존 상태의 선택적 치료를 위한 입원은 유해 사례으로 간주되지 않는다. 입원 동안 발생한 합병증은 AE이며, 합병증이 입원을 연장하는 경우에는, 중대한 유해 사례이다); e) 약물이 투여된 개체의 자손에서의 선천적 기형/출생 결함이 있는 경우; 또는 f) 개체의 기저 질환과 명확하게 관련된 것을 제외한, 개체를 위태롭게 할 수 있거나, 상기 열거된 결과 중 하나를 방지하기 위한 개입을 필요로 할 수 있는 상기 정의에 포함되지 않는 상태를 포함하나, 이에 한정되지 않는 임의의 용량에서의 임의의 바람직하지 않은 의료 사례를 지칭한다. "효능 결여" (진행성 질환)는 AE 또는 SAE로 간주되지 않는다. 효능 결여로 인한 증후 및 증상 또는 임상 후유증은 이들이 AE 또는 SAE 정의를 충족한다면 보고되어야 한다.

[0067] 다음의 정의는 표적 병변에 기초하여 반응을 평가하는 데 사용될 수 있다: "완전 반응" 또는 "CR"은 모든 표적 병변의 소멸을 지칭하고; "부분 반응" 또는 "PR"은 기준선 최장 직경의 합 (SLD)을 기준으로 표적 병변의 SLD에서의 30% 이상의 감소를 지칭하며; "안정적인 질환" 또는 "SD"는 치료를 시작한 이래의 최저점(nadir) SLD를 기준으로 PR에 부합하는데 충분하지 않은 표적 병변의 축소 또는 PD에 부합하는데 충분하지 않은 증가를 지칭하고; "진행성 질환" 또는 "PD"는 치료를 시작한 이래로 기록된 최저점 SLD를 기준으로 표적 병변의 SLD에서의 20% 이상의 증가 또는 하나 이상의 새로운 병변의 존재를 지칭한다.

[0068] 하기 반응 평가의 정의가 비-표적 병변을 평가하는 데 사용될 수 있다: "완전 반응" 또는 "CR"은 모든 비-표적 병변의 소멸을 지칭하고; "안정적인 질환" 또는 "SD"는 CR 또는 PD에 부합하지 않는 하나 이상의 비-표적 병변의 지속을 지칭하며; "진행성 질환" 또는 "PD"는 기존의 비-표적 병변(들)의 "명백한 진행"을 지칭하거나, 하나 이상의 새로운 병변(들)의 출현이 진행성 질환으로 간주된다 (개체에 대한 PD가 한 시점에 대해 오직 비-표적 병변(들)의 진행을 기초로 평가되는 경우, 추가적인 기준이 충족될 필요가 있다).

[0069] "무진행 생존" (PFS)은 치료 동안 및 치료 후에 암이 성장하지 않는 기간을 가리킨다. 무진행 생존은 개체가 안정적인 질환을 겪은 시간의 양뿐만 아니라, 개체가 완전 반응 또는 부분 반응을 겪은 시간의 양을 포함한다.

[0070] 본 명세서에서 "예측하는" 또는 "예측"은 개체가 치료 계획에 대하여 유리하게 또는 불리하게 반응할 가능성을 지칭하는 데 사용된다.

[0071] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "치료 시작 시점" 또는 "기준선"은 치료에 처음 노출 시점 또는 노출 이전의 기간을 지칭한다.

[0072] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "샘플"은, 예를 들어, 물리적, 생화학적, 화학적, 생리학 및/또는 유전적 특징을 기준으로 하여 특징구명되고/거나 확인되는 분자를 함유하는 조성물을 지칭한다.

[0073] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "세포"는 특정 개체 세포뿐만 아니라 이러한 세포의 자손 또는 잠재적 자손을 지칭하는 것으로 이해된다. 돌연변이 또는 환경적 영향으로 인해 특정 변형이 다음 세대에서 발생할 수 있기 때문에, 사실상 이러한 자손은 부모 세포와 동일하지 않을 수 있지만, 여전히 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어의 범주 내에 포함된다.

[0074] 용어 "펩티드"는 약 100개 이하의 아미노산 (단백질의 단편을 포함)의 중합체를 지칭하며, 이는 선형 또는 분지형일 수 있고/거나, 변형 아미노산을 포함하고/거나 비-아미노산에 의해 중단될 수 있다. 용어는 또한 자연적으로 변형되거나, 예를 들어, 이황화 결합 형성, 글루코실화, 지질화, 아세틸화, 인산화 또는 다른 조작 또는 변형을 포함하는 개입에 의해 변형된 아미노산 중합체를 포함한다. 예를 들어, 본 기술 분야에 알려진 다른 변형체 뿐만 아니라 하나 이상의 아미노산 유사체 (예를 들어, 비천연 아미노산 등을 포함)를 함유하는 폴리펩티드가 이러한 용어에 또한 포함된다. 본 명세서에 기재된 펩티드는 천연 발생, 즉, 천연 공급원 (예를 들어, 혈액)으로부터 얻거나 유래되거나 합성될 수 있다 (예를 들어, 화학적으로 합성되거나 재조합 DNA 기술에 의한 합

성될 수 있음).

- [0075] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "복수의 종양 항원 펩티드", "다중 종양 항원 펩티드", "종양 항원 펩티드의 풀" 및 "종양 항원 펩티드 풀"은 하나 초과와 종양 항원 펩티드의 조합을 지칭하는 데 상호 교환가능하게 사용된다.
- [0076] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포" 및 "다중-항원 로딩된 수지상 세포"는 복수의 종양 항원 펩티드 중에서 하나 초과와 종양 항원 펩티드의 향상된 제시 능력을 갖는 수지상 세포를 지칭하는 데 상호 교환가능하게 사용된다. 마찬가지로, "복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 APC" 및 "다중-항원 로딩된 APC"는 복수의 종양 항원 펩티드 중에서 하나 초과와 종양 항원 펩티드의 향상된 제시 능력을 갖는 항원 처리 세포를 지칭하는 데 상호 교환가능하게 사용된다.
- [0077] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "활성화된 T 세포"는 적어도 하나의 종양 항원 펩티드를 인식하는 T 세포 수용체를 갖는, 단일클론 (예를 들어, 동일한 TCR을 암호화하는) 또는 다클론 (예를 들어, 상이한 TCR을 암호화하는 클론을 갖는) T 세포 집단을 지칭한다. 활성화된 T 세포는 세포독성 T 세포, 보조 T 세포, 자연 살해 T 세포, $\gamma \delta$ T 세포, 조절 T 세포 및 기억 T 세포를 포함하나, 이에 한정되지 않는 T 세포의 하나 이상의 아형을 함유할 수 있다.
- [0078] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "면역 체크포인트 억제제"는 면역 세포 (예컨대 T 세포 또는 PBMC) 또는 종양 세포에 대한 억제 면역 체크포인트 분자를 억제하거나 차단하는 분자 또는 제제 (항체를 포함함)를 지칭한다. "면역 체크포인트 분자"는 종양 세포에 대한 면역 신호를 높이는 분자 (즉, "공동 자극 분자") 또는 면역 신호를 줄이는 분자 (즉, "억제 면역 체크포인트 분자")를 포함한다.
- [0079] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "돌연변이 부하"는 세포 (예컨대 종양 세포)의 게놈에서 하나 이상의 유전자좌 (예컨대 유전자)에 축적된 돌연변이의 총 수를 지칭한다. 돌연변이에는 점 돌연변이, 삽입, 결실, 프레임 시프트 돌연변이, 유전자 융합 및 복제수 변이가 포함되나, 이에 한정되지 않는다. 돌연변이는 유전자좌에 의해 암호화되는 생성물의 물리적/화학적 특성 및/또는 기능에 악영향을 미치거나 미치지 않을 수 있다.
- [0080] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "T 세포 수용체" 또는 "TCR"은 MHC 분자 내에 결합된 특정 항원 에피토프에 결합하는 세포의 항원 결합 도메인을 포함하는 내인성 또는 유전자 조작된 T 세포 수용체를 지칭한다. TCR은 TCR α 폴리펩티드 사슬 및 TCR β 폴리펩티드 사슬을 포함할 수 있다. "종양 특이적 TCR"은 종양 세포에 의해 발현되는 종양 항원을 특이적으로 인식하는 TCR을 지칭한다.
- [0081] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "HLA" 또는 "인간 백혈구 항원"은 면역계의 조절의 원인이 되는 세포의 표면 상에서 MHC (주조직 적합성 복합체) 단백질을 암호화하는 인간 유전자를 지칭한다. "HLA-I" 또는 "HLA 클래스 I"은 HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F, HLA-G 및 $\beta 2$ -마이크로글로불린 유전자좌를 포함하는 인간 MHC 클래스 I 유전자를 지칭한다. "HLA-II" 또는 "HLA 클래스 II"는 HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DRA1, HLA-DRB1, HLA-DRB3, HLA-DRB4, HLA-DRB5, HLA-DM, HLA-DOA 및 HLA-DOB 유전자좌를 포함하는 인간 MHC 클래스 II 유전자를 지칭한다.
- [0082] 본 명세서에서 사용되는 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되며, 특히 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한, (전장 단일클론성 항체를 포함하는) 단일클론성 항체, 다중특이성 항체 (예를 들어, 이중특이성 항체) 및 항체 단편을 포함한다.
- [0083] "항체 단편"은 온전한 항체의 일부, 바람직하게는 이의 항원 결합 영역을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 단편은 항원-결합 단편이다. 항체 단편의 예에는 Fab, Fab', F(ab')₂ 및 Fv 단편; 디아바디(diabody); 선형 항체; 단일 사슬 항체 분자; 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이성 항체가 포함된다.
- [0084] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "에 특이적으로 결합한다", "인식한다", "특이적으로 인식한다", "표적으로 한다" 또는 "에 특이적이다"는 표적과 항체, 수용체와 리간드 또는 수용체와 에피토프/MHC 복합체 사이의 결합과 같은 측정가능하고 재현가능한 상호작용을 지칭하며, 이는 생물학적 분자를 포함하는 분자의 이중 집단의 존재 중에 표적의 존재를 확정한다. 예를 들어, (에피토프일 수 있는) 표적에 결합하거나 특이적으로 결합하는 항체는 다른 표적에 결합하는 것보다 이러한 표적에 보다 큰 친화력, 결합력(avidity)으로, 보다 용이하게 및/또는 보다 긴 지속 기간으로 결합하는 항체이다. 일 실시 형태에서, 예를 들어, 방사 면역 측정법 (RIA)으로 측정된, 관련이 없는 표적에 대한 항체 결합 정도는 표적에 대한 항체의 결합의 약 10% 미만이다. 소정 실시 형태에서, 항원 펩티드 (또는 에피토프)에 특이적으로 결합하는 항체의 해리 상수 (Kd)는 1 μ M 이하, 100 nM

이하, 10 nM 이하, 1 nM 이하 또는 0.1 nM 이하이다. 소정 실시 형태에서, 항체는 상이한 종으로부터의 단백질 중에서 보존되는 단백질 상의 에피토프에 특이적으로 결합한다. 다른 실시 형태에서, 특이적 결합은 배타적 결합을 포함할 수 있지만, 이를 필요로 하지는 않는다.

[0085] 본 명세서에 기재된 본 발명의 측면 및 실시 형태는 측면 및 실시 형태로 "이루어지는" 및/또는 "실질적으로 이루어지는"을 포함하는 것으로 이해된다.

[0086] 본 명세서에서의 "약" 값 또는 파라미터에 관한 언급은 값 또는 파라미터 그 자체에 관한 변화량을 포함한다 (기술한다). 예를 들어, "약 X"에 관한 표현은 "X"의 표현을 포함한다.

[0087] 본 명세서에 사용되는 용어 "약 X-Y"는 "약 X 내지 약 Y"와 동일한 의미를 갖는다.

[0088] 본 명세서에 사용되는, 값 또는 파라미터가 "아니다"에 관한 언급은 일반적으로, 그 값 또는 파라미터 "이외의" 것을 의미하고 나타낸다. 예를 들어, 방법이 유형 X의 암을 치료하는 데 사용되지 않는다는 것은 상기 방법이 X 이외의 유형의 암을 치료하는 데 사용된다는 것을 의미한다.

[0089] 본 명세서 및 첨부된 청구범위에 사용되는 단수형 "부정관사 (a)", "또는" 및 "정관사 (the)"는 문맥이 명확하게 달리 지시하지 않는 한, 복수의 지시 대상을 포함한다.

[0090] **MASCT 방법**

[0091] 본 발명은 다중 항원 특이적 세포 치료 (MASCT)로 총칭되는, 개체에서 암을 치료하는 세포 기반 면역치료 방법을 제공한다. 방법은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포 (APC, 예컨대 수지상 세포) 및 다중-항원 로딩된 APC에 의해 유도되는 활성화된 T 세포를 사용한다. 다중-항원 로딩된 APC 및 활성화된 T 세포는 모두 세포독성 T 세포 및 보조 T 세포에 의한 반응을 포함하는, 생체내 및 생체외에서 종양 항원 특이적 T 세포 반응을 유도할 수 있고, 기억 T 세포를 통한 면역 기억을 생성할 수 있다. 따라서, MASCT 방법의 다양한 실시 형태에서, 다중-항원 로딩된 APC (예컨대 수지상 세포), 활성화된 T 세포, APC와 T 세포의 공동 배양물 (활성화된 PBMC를 포함함) 또는 이들의 임의의 조합은 개체에 투여되어, 암 또는 종양성 상태를 치료하거나 종양 제발, 진행 또는 전이를 예방할 수 있다.

[0092] 본 발명의 일 측면은 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 활성화된 T 세포는 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포 (예컨대 수지상 세포)의 집단과 T 세포의 집단을 공동 배양함으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 및 항원 제시 세포의 집단은 동일한 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 및/또는 항원 제시 세포의 집단은 치료되는 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 항원 제시 세포의 집단은 수지상 세포, B 세포 또는 대식세포의 집단이다. 일부 실시 형태에서, 항원 제시 세포는 수지상 세포이다.

[0093] 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 활성화된 T 세포는 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포 (예컨대 수지상 세포)의 집단과 T 세포의 집단을 공동 배양함으로써 제조되고, 개체에는 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포 유효량이 사전 투여되었다. 일부 실시 형태에서, 항원 제시 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일)이다. 일부 실시 형태에서, 항원 제시 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 항원 제시 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 및 항원 제시 세포의 집단은 동일한 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 및/또는 항원 제시 세포의 집단은 치료되는 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 항원 제시 세포의 집단은 수지상 세포, B 세포 또는 대식세포의 집단이다. 일부 실시 형태에서, 항원 제시 세포는 수지상 세포이다.

[0094] 일부 실시 형태에서, (a) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포 (예컨대 수지상 세포)의 유효량을 개체에 투여하는 단계; 및 (b) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포의 집단과 T 세포의 집단을 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 항원 제시 세포는 활성화된 T 세포의 투여 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 전에 투여된다. 일부 실시 형태에서, 항원 제시 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 및 항원 제시 세포의 집단은

동일한 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 및/또는 항원 제시 세포의 집단은 치료되는 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 항원 제시 세포의 집단은 수지상 세포, B 세포 또는 대식세포의 집단이다. 일부 실시 형태에서, 항원 제시 세포는 수지상 세포이다.

[0095] 수지상 세포, B 세포 및 대식세포를 포함하나, 이에 한정되지 않는 임의의 적합한 항원 제시 세포가 MASCT 방법에서 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 항원 제시 세포는 수지상 세포이다.

[0096] 따라서, 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 활성화된 T 세포는 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포의 집단을 공동 배양함으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 투여 전에 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포의 집단을 공동 배양함으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 및 수지상 세포의 집단은 동일한 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 및/또는 수지상 세포의 집단은 치료되는 개체로부터 유래된다.

[0097] 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 활성화된 T 세포는 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포의 집단을 공동 배양함으로써 제조되고, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량이 개체에 사전 투여되었다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포는 활성화된 T 세포의 투여 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 전에 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 및 수지상 세포의 집단은 동일한 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 및/또는 수지상 세포의 집단은 치료되는 개체로부터 유래된다.

[0098] 일부 실시 형태에서, (a) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; 및 (b) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포의 집단을 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포는 활성화된 T 세포의 투여 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 전에 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 및 수지상 세포의 집단은 동일한 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 및/또는 수지상 세포의 집단은 치료되는 개체로부터 유래된다.

[0099] 투여 단계(들) 이외에, MASCT 방법의 일부 실시 형태는 하기 세포 제조 단계 중 하나 또는 둘을 추가로 포함한다: 1) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포의 집단 (예컨대 수지상 세포)의 제조; 및 2) 활성화된 T 세포의 제조. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 투여 전에 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포 집단과 T 세포 집단을 공동 배양함으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포 집단과 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일, 약 14일 또는 약 21일) 동안 공동 배양된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포 집단은 항원 제시 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킴으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, 항원 제시 세포에 의한 복수의 종양 항원 펩티드의 흡수를 촉진하는 조성물의 존재 하에, 항원 제시 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에 항원 제시 세포 집단과 공동 배양된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단 및 항원 제시 세포 집단은 동일한 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단 및 항원 제시 세포 집단은 치료되는 개체로부터 유래된다.

[0100] 따라서, 일부 실시 형태에서, (a) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포의 집단을 공동 배양하여, 활성화된 T 세포 집단을 얻는 단계; 및 (b) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를

포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포 집단과 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일, 약 14일 또는 약 21일) 동안 공동 배양된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 집단의 비부착성 부분으로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양하는 단계는 활성화된 T 세포를 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합) 및 임의로 항-CD3 항체와 접촉시키는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단은 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킴으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단 및 수지상 세포 집단은 동일한 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단, 수지상 세포 집단, PBMC 집단 또는 이들의 임의의 조합은 치료되는 개체로부터 유래된다.

[0101] 일부 실시 형태에서, (a) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 T 세포의 집단을 공동 배양하여, 활성화된 T 세포 집단을 얻는 단계; 및 (b) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량이 개체에 사전 투여되었다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포 집단과 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일 또는 약 10일) 동안 공동 배양된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 집단의 비부착성 부분으로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양하는 단계는 활성화된 T 세포를 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합) 및 임의로 항-CD3 항체와 접촉시키는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단은 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킴으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단 및 수지상 세포 집단은 동일한 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단, 수지상 세포 집단, PBMC 집단 또는 이들의 임의의 조합은 치료되는 개체로부터 유래된다.

[0102] 일부 실시 형태에서, (a) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (b) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 T 세포 집단을 공동 배양하여, 활성화된 T 세포 집단을 얻는 단계; 및 (c) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포 집단과 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 10일, 약 10일 내지 약 15일, 약 15일 내지 약 21일, 약 14일 내지 약 21일 또는 약 10일) 동안 공동 배양된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 집단의 비부착성 부분으로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양하는 단계는 활성화된 T 세포를 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합) 및 임의로 항-CD3 항체와 접촉시키는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단은 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킴으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단 및 수지상 세포 집단은 동일한 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단, 수지상 세포 집단, PBMC 집단 또는 이들의 임의의 조합은 치료되는 개체로부터 유래된다.

[0103] 일부 실시 형태에서, (a) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 제조하는 단계; (b) 복수의

종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포 집단을 공동 배양하여, 활성화된 T 세포 집단을 얻는 단계; 및 (c) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포 집단과 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일 또는 약 10일) 동안 공동 배양된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 집단의 비부착성 부분으로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양하는 단계는 활성화된 T 세포를 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합) 및 임의로 항-CD3 항체와 접촉시키는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단은 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킴으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단 및 수지상 세포 집단은 동일한 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단, 수지상 세포 집단, PBMC 집단 또는 이들의 임의의 조합은 치료되는 개체로부터 유래된다.

[0104] 일부 실시 형태에서, (a) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 제조하는 단계; (b) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포 집단을 공동 배양하여, 활성화된 T 세포 집단을 얻는 단계; 및 (c) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량이 개체에 사전 투여되었다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포 집단과 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일 또는 약 10일) 동안 공동 배양된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 집단의 비부착성 부분으로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양하는 단계는 활성화된 T 세포를 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합) 및 임의로 항-CD3 항체와 접촉시키는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단은 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킴으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단 및 수지상 세포 집단은 동일한 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단, 수지상 세포 집단, PBMC 집단 또는 이들의 임의의 조합은 치료되는 개체로부터 유래된다.

[0105] 일부 실시 형태에서, (a) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 제조하는 단계; (b) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (c) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포 집단을 공동 배양하여, 활성화된 T 세포 집단을 얻는 단계; 및 (d) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포 집단과 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일 또는 약 10일) 동안 공동 배양된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 집단의 비부착성 부분으로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양하는 단계는 활성화된 T 세포를 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합) 및 임의로 항-CD3 항체와 접촉시키는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단 및 수지상 세포 집단은 동일한 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단은 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킴으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, T

세포 집단 및 수지상 세포 집단은 동일한 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단, 수지상 세포 집단, PBMC 집단 또는 이들의 임의의 조합은 치료되는 개체로부터 유래된다.

[0106] 일부 실시 형태에서, (a) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하는 단계; (b) 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻는 단계; (c) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 비부작성 PBMC의 집단을 공동 배양하여 활성화된 T 세포의 집단을 얻는 단계 (여기서, 단핵구 집단 및 비부작성 PBMC의 집단은 PBMC 집단으로부터 얻음); 및 (d) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포 집단과 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일 또는 약 10일) 동안 공동 배양된다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양하는 단계는 활성화된 T 세포를 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합) 및 임의로 항-CD3 항체와 접촉시키는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 비부작성 PBMC의 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, PBMC의 집단은 치료되는 개체로부터 유래된다.

[0107] 일부 실시 형태에서, (a) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하는 단계; (b) 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻는 단계; (c) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 비부작성 PBMC의 집단을 공동 배양하여 활성화된 T 세포의 집단을 얻는 단계; 및 (d) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 단핵구 집단 및 비부작성 PBMC의 집단은 PBMC 집단으로부터 얻고, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량이 개체에 사전 투여되었다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일 또는 약 10일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양하는 단계는 활성화된 T 세포를 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합) 및 임의로 항-CD3 항체와 접촉시키는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 비부작성 PBMC의 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, PBMC 및/또는 수지상 세포의 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다.

[0108] 일부 실시 형태에서, (a) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하는 단계; (b) 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻는 단계; (c) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (d) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 비부작성 PBMC의 집단을 공동 배양하여 활성화된 T 세포의 집단을 얻는 단계; 및 (e) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 단핵구의 집단 및 비부작성 PBMC의 집단은 PBMC의 집단으로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일 또는 약 10일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양하는 단계는 활성화된 T 세포를 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합) 및 임의로 항-CD3 항체와 접촉시키는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 비부작성 PBMC의 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, PBMC의 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다.

[0109] 본 명세서에 기재된 방법은 간세포 암종, 자궁경부암, 폐암, 대장암, 림프종, 신장암종, 유방암, 췌장암, 위암,

식도암, 난소암, 전립선암, 비인두암종, 흑색종 및 뇌종양으로 이루어진 군으로부터 선택되는 암을 포함하는, 본 명세서에 기재된 암과 같은 다양한 암을 치료하기에 적합하다. 상기 방법은 초기, 진행성 병기 및 전이성 암을 포함하는 모든 병기의 암에 적용할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 암은 고형 종양이다. 일부 실시 형태에서, 암은 액형 암이다.

[0110] 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 치료 전의 동일한 개체의 대응하는 증상과 비교하거나, 치료 방법을 제공받지 않은 다른 개체의 대응하는 증상과 비교하여, 암과 관련된 하나 이상의 증상의 증증도를 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 100% 중 어느 하나만큼 감소시킨다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 암의 진행을 지연한다.

[0111] 본 명세서에 기재된 방법에 의해 치료될 수 있는 암의 예에는 부신피질 암종, 특발성 골수화생, 항문암, 충수암 (appendix cancer), 성상세포종 (예를 들어, 소뇌 및 뇌), 기저세포 암종, 담관암 (예를 들어, 간외), 방광암, 골암, (골육종 및 악성 섬유성 조직구종), 뇌종양 (예를 들어, 신경교종, 뇌간 신경교종, 소뇌 또는 뇌 성상세포종 (예를 들어, 털모양 성상세포종, 미만성 성상세포종, 역형성 (악성) 성상세포종), 악성 신경교종, 상의세포종, 핍지교종, 수막종, 두개인두종, 혈관모세포종, 수모세포종, 천막상 원시 신경외배엽 종양, 시각 경로 및 시상하부 신경교종 및 교모세포종), 유방암, 기관지 선종/카르시노이드, 카르시노이드 종양 (예를 들어, 위장 카르시노이드 종양), 원인불명 원발성 암종, 중추 신경계 림프종, 자궁경부암, 결장암, 대장암, 만성 골수증식성 장애, 자궁내막암 (예를 들어, 자궁암), 상의세포종, 식도암, 유잉 계열(Ewing's family) 종양, 안암 (예를 들어, 안내 흑색종 및 망막모세포종), 담낭암, 위암, 위장 카르시노이드 종양, 위장 기질 종양 (GIST), 배세포종, (예를 들어, 두개외, 고환외, 난소), 임신성 융모성 종양, 두경부암, 간세포 (간) 암 (예를 들어, 간암종 및 간세포암), 하인두암, 섬세포 암종 (내분비 체장), 후두암, 후두암, 백혈병 (T-세포 백혈병 제외), 구순 및 구강암, 구강암, 간암, 폐암 (예를 들어, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 폐의 선암종 및 폐의 편평세포 암종), 림프종 (T-세포 림프종 제외), 수모세포종, 흑색종, 중피종, 전이성 편평세포 경부암, 구강암, 다발성 내분비 종양증, 골수이형성증후군, 골수이형성/골수증식성 질환, 비강 및 부비동 암, 비인두암, 신경모세포종, 신경내분비암, 구인두암, 난소암 (예를 들어, 상피성 난소암, 난소 배세포종, 경계성 난소 종양), 체장암, 부갑상선암, 음경암, 복막암, 인두암, 갈색세포종, 송과체모세포종 및 천막상 원시 신경외배엽 종양, 뇌하수체 종양, 흉막폐 모세포종, 원발성 중추 신경계 림프종 (소교세포종), 폐 림프관평활근종, 직장암, 신장 암종, 신우 및 요관암 (이행상피암), 횡문근육종, 침샘암, 피부암 (예를 들어, 비흑색종 (예를 들어, 편평 세포 암종), 흑색종 및 메르켈 세포 암종), 소장암, 편평세포암, 고환암, 인후암, 갑상선암, 결절성 경화증, 요도암, 질암, 외음부암, 빌름스종양(Wilms' tumor), 모반증과 관련된 비정상적 혈관 증식, 부종 (예컨대 뇌종양과 관련된) 및 메이그스 증후군(Meigs' syndrome)이 포함되나, 이에 한정되지 않는다.

[0112] 따라서, 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 개체에서 간세포암종 (HCC)을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 활성화된 T 세포는 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포 (예컨대 수지상 세포)의 집단과 T 세포 집단을 공동 배양함으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, 개체에 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포의 유효량이 사전 투여되었다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 활성화된 T 세포의 투여 전에, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, HCC는 초기 HCC, 비전이성 HCC, 원발성 HCC, 진행성 HCC, 국소 진행성 HCC, 전이성 HCC, 관해기 HCC 또는 재발성 HCC이다. 일부 실시 형태에서, HCC는 국소적으로 절제가능한 것 (즉, 완전한 외과적 절제를 허용하는, 간의 일부에 국한된 종양), 국소적으로 절제불가능한 것 (즉, 중요한 혈관 구조를 포함하거나 간이 손상되어, 국소 종양을 절제불가능할 수 있음) 또는 절제불가능한 것 (즉, 종양이 모든 간엽을 포함하고/거나 다른 장기 (예를 들어, 폐, 림프절, 뼈)로 산재되어 있음). 일부 실시 형태에서, HCC는 TNM 분류에 따라, I기 종양 (혈관 침범이 없는 단일 종양), II기 종양 (혈관 침범이 있는 단일 종양 또는 지름이 5 cm 이하인 다수의 종양), III기 종양 (5 cm 초과인 다발성 종양 또는 간문맥 또는 간정맥의 주요 가지(branch)를 침범한 종양), IV기 종양 (담관 이외의 인접 장기를 직접 침범하거나 내장복막을 침투한 종양), N1 종양 (주위 림프절 전이) 또는 M1 종양 (원격 전이)이다. 일부 실시 형태에서, HCC는 AJCC (미국 암 공동 위원회(American Joint Commission on Cancer)) 병기 기준에 따르면, T1, T2, T3 또는 T4기 HCC이다. 일부 실시 형태에서, HCC는 간세포 암종, HCC의 섬유증판성 변이 및 혼합형 간세포 담관암 중 어느 하나이다. 일부 실시 형태에서, HCC는 B형 간염 바이러스 (HBV) 감염에 의해 유발된다.

[0113] 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 개체에서 폐암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 활성화된 T 세포는 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포 (예컨대 수지상 세포)의 집단과 T 세포의 집단을 (예컨대 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에) 공동 배양함으로써 제조된다.

일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포의 유효량이 개체에 사전 투여되었다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 활성화된 T 세포의 투여 전에, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 폐암은 비소세포 폐암(NSCLC)이다. NSCLC의 예에는 대세포 암종(예를 들어, 대세포 신경내분비 암종, 혼합형 대세포 신경내분비 암종, 기저세포모양 암종, 림프상피종-유사 암종, 투명 세포 암종 및 간상 표현형을 갖는 대세포 암종), 선암종(예를 들어, 선방(acinar), 유두상(예를 들어, 세기관지폐포 암종, 비점액성, 점액성, 점액성과 비점액성 혼합형 및 부정형 세포 유형), 뮤신을 함유한 고형 선암종, 혼합된 아형을 갖는 선암종, 잘 분화된 태아 선암종, 점액성(콜로이드) 선암종, 점액성 낭선암종, 인환 선암종 및 투명 세포 선암종), 신경내분비 폐 종양 및 편평 세포 암종(예를 들어, 유두상, 투명 세포, 소세포 및 기저세포모양)이 포함되나, 이에 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에서, NSCLC는 TNM 분류에 따라, T기 종양(원발성 종양), N기 종양(주위 림프절) 또는 M기 종양(원격 전이)일 수 있다.

[0114] 일부 실시 형태에서, 폐암은 카르시노이드(정형 또는 비정형), 선편평세포 암종, 원주종 또는 침샘의 암종(예를 들어, 선양 낭성 암종 또는 점액표피양 암종)이다. 일부 실시 형태에서, 폐암은 다형성, 육종양 또는 육종성 요소를 갖는 암종(예를 들어, 방추 및/또는 거대 세포를 갖는 암종, 방추 세포 암종, 거대 세포 암종, 암육종 또는 폐 모세포종)이다. 일부 실시 형태에서, 폐암은 소세포 폐암(SCLC; 또한 커리 세포 암종으로 불림)이다. 소세포 폐암은 제한 병기, 진행 병기(extensive stage) 또는 재발성 소세포 폐암일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 개체는 폐암과 관련된 것으로 의심되거나 밝혀진 유전자, 유전적 돌연변이 또는 다형(예를 들어, SASH1, LATS1, IGF2R, PARK2, KRAS, PTEN, Kras2, Krag, Pas1, ERCC1, XPD, IL8RA, EGFR, α_1 -AD, EPHX, MMP1, MMP2, MMP3, MMP12, IL1 β , RAS 및/또는 AKT)을 갖거나, 폐암과 관련된 유전자의 하나 이상의 별도의 카피를 갖는 인간일 수 있다.

[0115] 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 개체에서 자궁경부암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 활성화된 T 세포는 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포(예컨대 수지상 세포)의 집단과 T 세포 집단을(예컨대 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에) 공동 배양함으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포의 유효량이 개체에 사전 투여되었다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 활성화된 T 세포의 투여 전에, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 자궁경부암은 초기 자궁경부암, 비전이성 자궁경부암, 국소 진행성 자궁경부암, 전이성 자궁경부암, 관해기 자궁경부암, 절제불가능한 자궁경부암, 수술후 보조요법에서의 자궁경부암 또는 수술전 보조요법에서의 자궁경부암이다. 일부 실시 형태에서, 자궁경부암은 인유두종 바이러스(HPV) 감염에 의해 유발된다. 일부 실시 형태에서, 자궁경부암은, TNM 분류에 따라, T기 종양(원발성 종양), N기 종양(주위 림프절) 또는 M기 종양(원격 전이)일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 자궁경부암은 0기, I기(Tis, NO, MO), IA기(T1a, NO, MO), IB기(T1b, NO, MO), IIA기(T2a, NO, MO), IIB기(T2b, NO, MO), IIIA기(T3a, NO, MO), IIIB기(T3b, NO, MO 또는 T1-3, N1, MO) IVA기(T4, NO, MO) 또는 IVB기(T1-T3, NO-N1, M1) 자궁경부암 중 어느 하나이다. 일부 실시 형태에서, 자궁경부암은 자궁경부암 편평 세포 암종, 자궁 선암종 또는 선편평세포 암종이다.

[0116] 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 개체에서 유방암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 활성화된 T 세포는 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포(예컨대 수지상 세포)의 집단과 T 세포 집단을(예컨대 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에) 공동 배양함으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포의 유효량이 개체에 사전 투여되었다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 활성화된 T 세포의 투여 전에, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 유방암은 초기 유방암, 비전이성 유방암, 국소 진행성 유방암, 전이성 유방암, 호르몬 수용체 양성 전이성 유방암, 관해기 유방암, 수술후 보조요법에서의 유방암, 유관 상피내암(DCIS), 침윤성 관상 암종(IDC) 또는 수술전 보조요법에서의 유방암이다. 일부 실시 형태에서, 유방암은 호르몬 수용체 양성 전이성 유방암이다. 일부 실시 형태에서, 유방암(HER2 양성 또는 HER2 음성일 수 있음)은 진행성 유방암이다. 일부 실시 형태에서, 유방암은 유관 상피내암이다. 일부 실시 형태에서, 개체는 유방암과 관련된 유전자, 유전적 돌연변이 또는 다형(예를 들어, BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, RAD51, AR, DIRAS3, ERBB2, TP53, AKT, PTEN 및/또는 PI3K)을 갖거나, 유방암과 관련된 유전자의 하나 이상의 별도의 카피(예를 들어, HER2 유전자의 하나 이상의 별도의 카피)를 갖는 인간일 수 있다.

[0117] 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 개체에서 췌장암을 치료하

는 방법이 제공되며, 여기서 활성화된 T 세포는 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포 (예컨대 수지상 세포)의 집단과 T 세포의 집단을 (예컨대 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에) 공동 배양함으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포의 유효량이 개체에 사전 투여되었다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 활성화된 T 세포의 투여 전에, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 췌장암은 장액성 낭선종 (serous microcystic adenoma), 췌관내 유두상 점액 종양, 점액성 낭성 종양, 고형 가유두상 종양, 췌장 선암종, 췌관 암종 또는 췌장모세포종을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에서, 췌장암은 초기 췌장암, 비전이성 췌장암, 원발성 췌장암, 절제된 췌장암, 진행성 췌장암, 국소 진행성 췌장암, 전이성 췌장암, 절제불가능한 췌장암, 관해기 췌장암, 재발성 췌장암, 수술후 보조요법에서의 췌장암 또는 수술전 보조요법에서의 췌장암 중 어느 하나이다.

[0118] 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 개체에서 난소암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 활성화된 T 세포는 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포 (예컨대 수지상 세포)의 집단과 T 세포의 집단을 (예컨대 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에) 공동 배양함으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포의 유효량이 개체에 사전 투여되었다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 활성화된 T 세포의 투여 전에, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 난소암은 상피성 난소암이다. 예시적인 상피성 난소암의 조직학적 분류는 다음을 포함한다: 장액성 낭종 (예를 들어, 장액성 양성 낭선종, 상피 세포의 증식 활성 및 핵 이상을 갖지만 침윤성 파괴적 성장은 없는 장액성 낭선종 또는 장액성 낭선암종), 점액성 낭종 (예를 들어, 점액성 양성 낭선종, 상피 세포의 증식 활성 및 핵 이상을 갖지만 침윤성 파괴적 성장은 없는 점액성 낭선종, 또는 점액성 낭선암종), 자궁내막양 종양 (예를 들어, 자궁내막양 양성 낭종, 상피 세포의 증식 활성 및 핵 이상을 갖지만 침윤성 파괴적 성장은 없는 자궁내막양 종양 또는 자궁내막양 선암종), 투명 세포 (중신양) 종양 (예를 들어, 양성 투명 세포 종양, 상피 세포의 증식 활성 및 핵 이상을 갖지만 침윤성 파괴적 성장은 없는 투명 세포 종양 또는 투명 세포 낭선암종), 상기 그룹 중 하나에 할당될 수 없는 비분류 종양, 또는 다른 악성 종양. 다양한 실시 형태에서, 상피성 난소암은 I기 (예를 들어, IA기, IB 또는 IC), II기 (예를 들어, IIA기, IIB 또는 IIC), III기 (예를 들어, IIIA기, IIIB 또는 IIIC) 또는 IV기이다. 일부 실시 형태에서, 개체는 난소암과 관련된 유전자, 유전적 돌연변이 또는 다형 (예를 들어, BRCA1 또는 BRCA2)을 갖거나, 난소암과 관련된 유전자의 하나 이상의 별도의 카피 (예를 들어, HER2 유전자의 하나 이상의 별도의 카피)를 갖는 인간일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 난소암은 난소 배세포종이다. 예시적인 조직학적 아형에는 미분화배세포종 또는 다른 배세포종 (예를 들어, 내배엽종 종양 예컨대 간세포양 또는 장 종양, 배아성 암종, 다배아종, 융모막암종, 기형종 또는 혼합 형태의 종양)이 포함된다. 예시적인 기형종은 미성숙 기형종, 성숙 기형종, 고형 기형종 및 낭성 기형종 (예를 들어, 유피낭, 예컨대 성숙 낭성 기형종 및 악성 변환을 갖는 유피낭)이다. 일부 기형종은 난소 갑상선종, 카르시노이드, 난소 갑상선종 및 카르시노이드 또는 다른 것 (예를 들어, 악성 신경외배엽 및 상의세포종)과 같은 단배엽성이고 매우 특화된 것이다. 일부 실시 형태에서, 난소 배세포종은 I기 (예를 들어, IA기, IB 또는 IC), II기 (예를 들어, IIA기, IIB 또는 IIC), III기 (예를 들어, IIIA기, IIIB 또는 IIIC) 또는 IV기이다.

[0119] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 MASCT 방법은 T-세포 림프종과 같은 T-세포 기원의 암을 가진 환자에게는 적용가능하지 않다.

[0120] 여러 바이러스가 사람의 암과 관련이 있다. 예를 들어, B형 간염 바이러스 (HBV)는 간의 만성 감염을 일으켜, 개체의 간암 또는 간세포 암종 (HCC)의 발병 가능성을 높일 수 있다. 인유두종 바이러스 (HPV)는 구강, 인후 또는 질과 같은 피부 또는 점막에 감염되어 성장하는 경우, 유두종 또는 사마귀를 일으키는 150개 초과와 관련 바이러스의 그룹이다. 여러 유형의 HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 및 6 타입을 포함)가 자궁경부암을 일으키는 것으로 알려져 있다. HPV는 또한 다른 생식기 암을 유발하거나 일으키는 역할을 하며, 구강 및 인후의 일부 암과 관련이 있다. 엡스타인-바 바이러스 (EBV)는 만성적으로 감염되어 B 림프구에 잠복해 있는 헤르페스 바이러스의 한 유형이다. EBV 감염은 개체의 비인두암종 및 버킷 림프종과 같은 빠르게 성장하는 림프종의 특정 유형의 발병 위험을 증가시킨다. EBV는 또한 호지킨 림프종 및 위암의 일부 경우와 관련이 있다. 암을 유발하거나 암 발병 위험이 증가하는 것 이외에도, HBV, HPV 및 EBV 감염과 같은 바이러스 감염은 조직 또는 기관에 암을 앓고 있는 개체의 질환 부담을 증가시킬 수 있는 손상을 주고, 암 진행에 기여할 수 있다.

[0121] 인체가 HBV, HPV 및 EBV와 같은 여러 암-관련 바이러스 (이들의 다양한 아형을 포함)에 대해 세포독성 T 세포

반응을 포함하는 효과적이고 특이적 면역 반응을 일으키도록 유도될 수 있다는 것이 본 기술 분야에 알려져 있다. 따라서, 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 개체에서 바이러스 관련 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 활성화된 T 세포는 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포 (예컨대 수지상 세포)의 집단과 T 세포 집단을 공동 배양함으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포의 유효량이 개체에 사전 투여되었다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 바이러스는 HBV, HPV 또는 EBV이다. 일부 실시 형태에서, 암은 HBV 관련 간세포 암종, HPV 관련 자궁경부암 또는 EBV 관련 비인두암종이다.

[0122] 본 명세서에 기재된 방법은 하기 목적 중 하나 이상을 위해 사용될 수 있다: 암의 하나 이상의 증상의 완화, 암의 진행 지연, 암 종양 크기의 축소, 암 기질의 붕괴 (예컨대 파괴), 암 종양 성장의 억제, 전체 생존의 연장, 무질환 생존의 연장, 암 질환 진행까지의 시간의 연장, 암 종양 전이의 예방 또는 지연, 기존의 암 종양 전이의 감소 (예컨대 근절), 기존의 암 종양 전이의 발생 또는 부담의 감소, 암 재발의 예방 및/또는 암의 임상 이익의 개선.

[0123] **APC, T 세포 및 종양 항원 펩티드**

[0124] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 방법은 항원 제시 세포 (APC) 및 활성화된 T 세포를 사용한다. APC는 T-세포를 활성화시킬 수 있는 면역계의 세포이다. APC에는 특정 대식세포, B 세포 및 수지상 세포 (DC)가 포함되나, 이에 한정되지 않는다. 수지상 세포는 림프성 또는 비-림프성 조직에서 발견되는 형태학적으로 유사한 세포 유형의 다양한 집단의 구성원이다. 이러한 세포는 이들의 독특한 형태, 및 항원 펩티드를 T 세포에 제시하는 단백질인 표면 클래스 I 및 클래스 II MHC 분자의 높은 발현 수준을 특징으로 한다. DC, 다른 APC 및 T 세포는 말초 혈액으로부터의 유래된 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)와 같이 편리하게는 말초 혈액으로부터 그리고 다수의 조직 공급원으로부터 단리되거나 유래 (예컨대 분화)될 수 있다.

[0125] T 세포 또는 T 림프구는 세포 매개 면역에서 중요한 역할을 한다. 활성화된 T 세포의 각 클론은 APC 및 표적 세포 (예컨대 암 세포)의 MHC 분자에 결합한 항원을 인식하는 역할을 하는 별개의 T-세포 수용체 (TCR)를 표면에 발현한다. T 세포는 각각 표면 단백질의 독특한 조합을 나타내고, 별개의 기능을 갖는 여러 유형으로 세분된다.

[0126] 세포독성 T 세포 (TC)는 종양 세포 및 바이러스 감염된 세포와 같은 다른 감염된 세포에 대한 면역 반응에 참여하여, 이의 파괴에 참여한다. 일반적으로, TC 세포는 APC 또는 임의의 표적 세포 상의 클래스 I MHC가 제시한 항원을 인식함으로써 기능한다. 공동 자극제 (예를 들어, APC 상의 B7에 결합한 T 세포의 CD28 또는 보조 T 세포에 의한 자극)와 함께, TCR을 자극하면 TC 세포가 활성화된다. 이어서, 활성화된 TC 세포는 세포 독소를 증식하고 방출하여, APC 또는 표적 세포 (예컨대 암 세포)를 파괴할 수 있다. 성숙 TC 세포는 일반적으로 표면 단백질 CD3 및 CD8을 발현한다. 세포독성 T 세포는 $CD3^{+}CD8^{+}$ T 세포에 속한다.

[0127] 보조 T 세포 (TH)는, 면역 반응을 조절하거나 억제하고, 세포독성 T 세포를 유도하며, 대식세포의 세포 살생 활성을 극대화할 수 있는 T 세포 사이토카인을 방출하여 다른 면역 세포의 활성을 돕는 T 세포이다. 일반적으로, TH 세포는 APC 상의 클래스 II MHC가 제시한 항원을 인식함으로써 기능한다. 성숙 TH 세포는 표면 단백질 CD3 및 CD4를 발현한다. 보조 T 세포는 $CD3^{+}CD4^{+}$ T 세포에 속한다.

[0128] 자연 살해 (NK) T 세포는 T 세포 및 자연 살해 세포의 특성을 공유하는 T 세포의 이종 집단이다. NK T 세포의 활성화는 전염증성 사이토카인, 케모카인 및 세포 인자를 생성한다. 이들은 자연 살해 세포에서 일반적으로 발현되는 표면 분자인 CD56을 발현한다. NK T 세포는 $CD3^{+}CD56^{+}$ T 세포에 속한다.

[0129] 조절 T 세포 ($T_{조절}$ 세포)는 일반적으로 자가항원에 대한 관용을 촉진함으로써 면역계를 조절하여, 자가면역 활성을 제한한다. 암 면역치료에서, $T_{조절}$ 은 암 세포가 면역 반응을 벗어나는 데 기여한다. $T_{조절}$ 세포는 일반적으로 CD3, CD4, CD7, CD25, CTLA4, GITR, GARP, FOXP3 및/또는 LAP를 발현한다. $CD4^{+}CD25^{+}Foxp3^{+}$ T 세포는 $T_{조절}$ 세포의 한 유형이다.

[0130] 기억 T 세포 (T_m)는 이들의 특이적 항원과 이전에 조우하여 반응한 T 세포 또는 활성화된 T 세포로부터 분화된 T 세포이다. 종양 특이적 T_m 이 총 T 세포 양의 작은 부분을 구성하지만, 이들은 개인의 전체 수명 동안 종양 세포의 감시에 중요한 기능을 수행한다. 종양 특이적 T_m 이 이들의 특정 종양 항원을 발현하는 종양 세포를 조

우하면, T_m은 즉시 활성화되어 클론 확장(clonally expanded)된다. 활성화되고 증식된 T 세포는 이펙터 T 세포로 분화되어, 고효율로 종양 세포를 죽인다. 기억 T 세포는 T 세포의 장기 종양 항원 특이적 반응을 확립하고 유지하는 데 중요하다.

[0131] 전형적으로, T 세포에 대한 항원은 T 세포 수용체 (TCR)에 의해 인식되어 특이적 T 세포 반응을 유도할 수 있는 단백질 분자 또는 단백질 분자의 선형 단편이다. 항원은 바이러스에 의해 암호화되는 단백질과 같은 외부 공급원, 또는 세포내 또는 세포 표면에서 발현되는 단백질과 같은 내인성 공급원으로부터 유래될 수 있다. 특정 TCR과의 상호작용에 직접 관련되는 항원의 최소 단편은 에피토프로 알려져 있다. 단일 항원에 다수의 에피토프가 존재할 수 있으며, 여기서 각 에피토프는 T 세포의 특정 클론에 의해 암호화되는 별개의 TCR에 의해 인식된다.

[0132] TCR에 의해 인식되기 위해, 항원 펩티드 또는 항원 단편은 APC (예컨대 수지상 세포)에 의해 에피토프로 처리된 후, 주조직 적합성 (MHC) 분자 내부에서 확장된 형태로 결합되어, APC (예컨대 수지상 세포)의 표면 상에 MHC-펩티드 복합체를 형성할 수 있다. 인간의 MHC 분자는 또한 인간 백혈구 항원 (HLA)으로 알려져 있다. MHC는 에피토프 내의 독특한 아미노산 잔기의 조합이 TCR과 에피토프 사이의 상호작용의 특이성을 보장하면서, TCR과 에피토프 사이의 강한 결합을 위한 확장된 결합 표면을 제공한다. 인간 MHC 분자는 그들의 구조적 특징, 특히 대응하는 MHC 복합체 내부에서 결합된 에피토프의 길이에 기초하여 2가지 유형 (MHC 클래스 I 및 MHC 클래스 II)으로 분류된다. MHC-I 에피토프는 MHC 클래스 I 분자에 결합하고 이에 의해 제시되는 에피토프이다. MHC-II 에피토프는 MHC 클래스 II 분자에 결합하고 이에 의해 제시되는 에피토프이다. MHC-I 에피토프는 전형적으로 약 8 내지 약 11개의 아미노산 길이인 반면, MHC-II 에피토프는 약 13 내지 약 17개의 아미노산 길이이다. 유전적 다형성으로 인해, MHC 클래스 I 및 MHC 클래스 II 분자 모두에 대한 다양한 아형이 인간 개체군 사이에 존재한다. APC 또는 표적 세포 상의 MHC 클래스 I 또는 MHC 클래스 II 분자에 의해 제시된 특정 항원 펩티드에 대한 T 세포 반응은 MHC-제한 T 세포 반응으로 알려져 있다.

[0133] 종양 항원 펩티드는 암 세포에서 과발현되지만, 정상 세포에서 발현 수준이 거의 없거나 전혀 없는 (예컨대 세포당 약 10, 100, 1000 또는 5000개의 카피 중 어느 하나 미만) 종양 항원 단백질 (본 명세서에 "종양 항원"으로도 지칭됨)로부터 유래된다. 일부 종양 항원 펩티드는 종양 특이적 항원 (TSA), 분화 항원 또는 과발현되는 항원 (종양관련 항원 또는 TAA로도 알려짐)으로부터 유래된다. 일부 종양 항원 펩티드는 암 세포에만 존재하고, 정상 세포에는 존재하지 않는 돌연변이 단백질 항원으로부터 유래된다.

[0134] 수지상 세포의 항원 로딩

[0135] 본 발명은 수지상 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시키는 단계를 포함하는, 개체에서 MHC-제한 T 세포 반응을 유도하는 데 유용한 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 제조하는 방법을 제공한다. 상기 방법에 의해 제조된 수지상 세포는 본 명세서에 기재된 MASCT 방법의 임의의 실시 형태에서, 또는 다음 섹션에서 기재되는 바와 같이 활성화된 T 세포 또는 수지상 세포와 T 세포의 공동 배양물을 제조하는 데 사용될 수 있다.

[0136] 다중-항원 로딩된 수지상 세포를 제조하는 방법의 일부 실시 형태에서, 수지상 세포 집단을 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 25, 30, 40 또는 50종 중 어느 하나 초과와 종양 항원 펩티드와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포 집단을 서열 번호 1 내지 40으로 이루어진 군으로부터 선택되는 에피토프 약 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 또는 40종 중 어느 하나 이상을 포함하는, 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포 집단을 도 2c 및 도 29a의 종양 항원 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택되는 종양 항원 펩티드 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 그 이상의 종 중 어느 하나와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포 집단을 hTERT, p53, 서바이빈, NY-ESO-1, CEA, CCND1, MET, RGS5, MMP7, VEGFR, AFP, GPC3, HBVc, HBVp, CDCA1, KRAS, PARP4, MLL3 및 MTHFR로 이루어진 군으로부터 선택되는 단백질로부터 유래된 종양 항원 펩티드 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 그 이상의 종 중 어느 하나와 접촉시킨다.

[0137] 일부 실시 형태에서, 수지상 세포는 복수의 종양 항원 펩티드 중 하나 이상의 종양 항원 펩티드를 제시하는 성숙 수지상 세포이다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법에 의해 제조되는 성숙 수지상 세포는 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 25, 30, 40 또는 50종의 종양 항원 펩티드 중 어느 하나를 제시할 수 있다. 미접촉(naïve) 수지상 세포 또는 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩되지 않은 수지상 세포와 비교하여, 다중-항원 로딩된 수지상 세포는 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 25, 30, 40 또는 50종의 종양 항원 펩티드 중 어느 하나 초과에 대한 향상된 제

시 수준을 가질 수 있다. 일부 실시 형태에서, 성숙 수지상 세포는 서열 번호 1 내지 40으로 이루어진 군으로부터 선택되는 에피토프 약 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 또는 40종 중 어느 하나 이상에 대한 향상된 제시 수준을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 성숙 수지상 세포는 10종 초과 종양 항원 펩티드에 대한 향상된 제시 수준을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 성숙 수지상 세포는, 도 2c 및 도 29a에 나타난 바와 같이, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14종 또는 그 이상의 종양 항원 펩티드 중 어느 하나에 대한 향상된 제시 수준을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 성숙 수지상 세포는 hTERT, p53, 서바이빈, NY-ESO-1, CEA, CCND1, MET, RGS5, MMP7, VEGFR, AFP, GPC3, HBVc, HBVp, CDCA1, KRAS, PARP4, MLL3 및 MTHFR로 이루어진 군으로부터 선택되는 단백질로부터 유래된 종양 항원 펩티드 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14종 또는 그 이상 중 어느 하나에 대한 향상된 제시 수준을 갖는다.

[0138] 수지상 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉하는 단계의 예시적인 실시 형태는 복수의 종양 항원 펩티드를 수지상 세포 집단, 예컨대 미성숙 수지상 세포, 또는 PBMC에 포함되거나 이로부터 유래된 (예컨대 분화된) 수지상 세포로 펄싱(pulsing)하는 단계를 포함한다. 본 기술 분야에 알려진 바와 같이, 펄싱은 세포, 예컨대 수지상 세포를, 항원 펩티드를 함유하는 용액과 혼합하고, 이어서 임의로 혼합물로부터 항원 펩티드를 제거하는 공정을 지칭한다. 수지상 세포의 집단을 약 30초, 1분, 5분, 10분, 15분, 20분, 30분, 1시간, 5시간, 10시간, 12시간, 14시간, 16시간, 18시간, 20시간, 22시간, 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 1주, 10일 또는 그 이상 중 어느 하나와 같은 초, 분 또는 시간 동안 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킬 수 있다. 접촉 단계에서 사용되는 각 종양 항원 펩티드의 농도는 약 0.1, 0.5, 1, 2, 3, 5 또는 10 $\mu\text{g/mL}$ 중 어느 하나일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 종양 항원 펩티드의 농도는 약 0.1 내지 200 $\mu\text{g/mL}$ 이고, 예를 들어, 약 0.1 내지 0.5, 0.5 내지 1, 1 내지 10, 10 내지 50, 50 내지 100, 100 내지 150 또는 150 내지 200 $\mu\text{g/mL}$ 중 어느 하나를 포함한다.

[0139] 일부 실시 형태에서, 수지상 세포에 의한 복수의 종양 항원 펩티드의 흡수를 촉진하는 조성물의 존재 하에, 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 화합물, 재료 또는 조성물은 복수의 종양 항원 펩티드의 용액에 포함되어, 수지상 세포에 의한 펩티드의 흡수를 촉진할 수 있다. 수지상 세포에 의한 복수의 종양 항원 펩티드의 흡수를 촉진하는 화합물, 재료 또는 조성물에는 다수의 양으로 하전된 아미노산을 포함하는 펩티드 및 지질 분자가 포함되나, 이에 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에서, 약 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 중 어느 하나 초과 종양 항원 펩티드가 수지상 세포의 집단에 의해 흡수된다. 일부 실시 형태에서, 약 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 중 어느 하나 초과 수지상 세포 집단은 적어도 하나의 종양 항원 펩티드를 흡수한다.

[0140] 일부 실시 형태에서, 미성숙 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시키는 단계를 포함하는, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 제조하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 복수의 Toll-유사 수용체 (TLR) 작용제를 사용하여 미성숙 수지상 세포의 집단의 성숙을 유도하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 미성숙 수지상 세포의 집단을 복수의 TLR 작용제 및 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 성숙 수지상 세포의 집단을 얻는 단계를 포함한다. 예시적인 TLR 작용제에는 폴리IC, MALP 및 R848이 포함되나, 이에 한정되지 않는다. 사이토카인 및 다른 적절한 분자가 성숙 단계에서 배양 배지에 추가로 포함될 수 있다. 미성숙 수지상 세포 집단은 TLR 작용제에 의해 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 또는 20일 중 어느 하나 이상 동안 성숙되도록 유도될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 미성숙 수지상 세포의 집단은 약 8일 동안 성숙되도록 유도된다.

[0141] 수지상 세포 (예컨대 미성숙 수지상 세포)는 자가 공급원, 즉 치료를 받는 개체 유래를 포함하는 다양한 공급원 으로부터 얻을 수 있다. 수지상 세포의 편리한 공급원은 말초 혈액 유래의 PBMC이다. 예를 들어, 백혈구의 유형인 단핵구는 PBMC에 풍부하며, 총 PBMC의 약 10 내지 30%를 구성한다. 단핵구는 사이토카인을 사용하여 미성숙 수지상 세포와 같은 수지상 세포로 분화되도록 유도될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 미성숙 수지상 세포는 PBMC 집단을 얻고, PBMC 집단으로부터 단핵구 집단을 얻어, 미성숙 수지상 세포의 집단을 얻기 위해 단핵구 집단을 복수의 사이토카인과 접촉시킴으로써 제조된다. 본 기술 분야에 알려진 조건 (예컨대 농도, 온도, CO_2 수준 등)을 사용하여, 단핵구의 분화를 유도하는 데 사용될 수 있는 예시적인 사이토카인에는 GM-CSF 및 IL-4가 포함되나, 이에 한정되지 않는다. PBMC의 부착성 부분은 PBMC의 대부분의 단핵구를 함유한다. 일부 실시 형태에서, PBMC의 부착성 부분으로부터의 단핵구를 사이토카인과 접촉시켜 미성숙 수지상 세포의 집단을 얻는다. PBMC는 말초 혈액 샘플의 원심분리 또는 성분 채집법을 사용하여 개체로부터 수집하여 편리하게 얻을 수 있다. 일부 실시 형태에서, PBMC 집단을 인간 말초 혈액 샘플의 밀도 구배 원심분리에 의해 얻는다. 일부 실시 형태에서, 샘플은 다중-항원 로딩된 수지상 세포, 활성화된 T 세포 또는 다중-항원 로딩된 수지상 세포를 사용하여 제조된 다른 면역치료 조성물을 수용하는 개체로부터 유래한다.

- [0142] 일부 실시 형태에서, 개체로부터 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 집단을 얻는 단계, PBMC 집단으로부터 단핵구 집단을 얻는 단계, 단핵구 집단으로부터 수지상 세포의 집단을 얻는 단계 및 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻는 단계를 포함하는, 개체에서 MHC-제한 T 세포 반응을 유도하는 데 유용한 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 제조하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 개체 (예컨대 개체)로부터 PBMC 집단을 얻는 단계, PBMC 집단으로부터 단핵구 집단을 얻는 단계, 단핵구 집단을 복수의 사이토카인 (예컨대 GM-CSF 및 IL-4)과 접촉시켜 미성숙 수지상 세포의 집단을 얻는 단계 및 미성숙 수지상 세포의 집단을 복수의 TLR 작용제 및 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻는 단계를 포함하는, 개체에서 MHC-제한 T 세포 반응을 유도하는 데 유용한 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 제조하는 방법이 제공된다.
- [0143] 본 발명은 또한 본 명세서에 기재된 방법의 실시 형태 중 어느 하나에 의해 제조된 단리된 수지상 세포의 집단을 제공한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 수지상 세포의 집단은 생체내 또는 생체외에서 MHC-제한 T 세포 반응을 유도할 수 있다. 일부 실시 형태에서, MHC-제한 T 세포 반응은 MHC 클래스 I 및 MHC 클래스 II 분자 모두에 의해 매개된다. 일부 실시 형태에서, 단리된 수지상 세포의 집단은 종양 항원 특이적 T 세포의 분화 및 증식을 유도할 수 있다.
- [0144] **활성화된 T 세포 제조**
- [0145] 본 발명은 T 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 항원 제시 세포 (예컨대 수지상 세포)의 집단과 공동 배양하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 데 유용한 활성화된 T 세포 집단을 제조하는 방법을 또한 제공한다. 이전 섹션의 다중-항원 로딩된 수지상 세포의 임의의 실시 형태를 사용하여 활성화된 T 세포를 제조할 수 있다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단 및 수지상 세포 집단은 동일한 개체, 예컨대 암을 앓고 있는 개체 (예를 들어 저등급 내지 중간 등급 암)로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단, 수지상 세포 집단 또는 둘 모두는 자가 공급원, 즉, 활성화된 T 세포, 다중-항원 로딩된 수지상 세포 또는 둘 모두를 수용하는 개체로부터 유래된다.
- [0146] 일부 실시 형태에서, T 세포 집단과 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포 집단은 약 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 또는 30일 중 어느 하나 이상 동안 공동 배양된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단과 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포 집단은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 7일 내지 약 10일, 약 10일 내지 약 15일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일, 14일, 16일, 18일 또는 21일) 동안 공동 배양된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단과 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포 집단은 약 10일 동안 공동 배양된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단과 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포 집단은 약 14일 동안 공동 배양된다.
- [0147] 본 명세서에 기재된 방법의 임의의 실시 형태에서 사용되는 T 세포 집단은 다양한 공급원으로부터 유래될 수 있다. T 세포의 편리한 공급원은 인간 말초 혈액의 PBMC로부터 유래된 것이다. T 세포 집단은 PBMC로부터 단리될 수 있거나, 대안적으로 T 세포가 풍부한 PBMC의 집단 (예컨대, T 세포 특이적 항체 및 사이토카인의 첨가에 의한)이 공동 배양에서 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양에서 사용되는 T 세포 집단은 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)의 비부착성 부분으로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, PBMC는 말초 혈액 샘플의 밀도 구배 원심분리에 의해 얻는다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 PBMC의 비부착성 부분을 항-CD3 항체 (예컨대 OKT3)가 있거나 없이, 적어도 하나의 사이토카인 (예컨대 IL-2)과 배양하여 얻는다 (본 명세서에서 "유지 T 세포(maintaining T cells)"로 지칭되는 절차). 일부 실시 형태에서, PBMC의 비부착성 부분은 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에 배양된다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 및 LAG-3으로 이루어진 군으로부터 선택되는 면역 체크포인트 분자의 억제제이다. PBMC의 비부착성 부분은 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14일 또는 그 이상 중 어느 하나 동안 배양될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 집단은 비부착성 PBMC의 집단을 얻어, 비부착성 PBMC 집단과 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 공동 배양함으로써 (예컨대 적어도 하나의 사이토카인 (예컨대 IL-2) 및 임의로 항-CD3 항체 및 임의로 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에) 제조된다.
- [0148] 공동 배양물은 사이토카인 및 다른 화합물을 추가로 포함하여, T 세포의 활성화, 성숙 및/또는 증식을 촉진하고 이후의 기억 T 세포로의 분화를 위해 T 세포를 프라이밍할 수 있다. 이러한 단계에서 사용할 수 있는 예시적인 사이토카인에는 IL-7, IL-15, IL-21 등이 포함되나, 이에 한정되지 않는다. 특정 사이토카인은 공동 배양물에서 활성화된 T 세포 집단 중 T_{조절}의 비율을 억제하는 것을 도울 수 있다. 예를 들어, 일부 실시 형태에서, 고

용량 (예컨대 적어도 약 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1200 또는 1500 U/ml 중 어느 하나)의 사이토카인 (예컨대 IL-2)을 사용하여, T 세포 집단과 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 공동 배양하여 낮은 비율의 T_{조절} 세포를 갖는 활성화된 T 세포 집단을 얻었다.

[0149] 공동 배양물은 또한 하나 이상의 (예컨대 1, 2, 3개 또는 그 이상 중 어느 하나) 면역 체크포인트 억제제를 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제와 접촉시킨다. 예를 들어, T 세포 집단은 단리된 T 세포 또는 PBMC의 비부착성 부분과 같은 세포의 혼합물에 존재하는 T 세포일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 비부착성 PBMC의 집단을 면역 체크포인트 억제제와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단 또는 비부착성 PBMC를 면역 체크포인트 억제제와 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14일 또는 그 이상 중 어느 하나 동안 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단 또는 비부착성 PBMC를 면역 체크포인트 억제제와 약 5일 내지 약 14일 동안 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, PBMC를 면역 체크포인트 억제제와 약 8일 동안 접촉시킨다.

[0150] 일부 실시 형태에서, T 세포의 집단은 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 공동 배양된다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA-4, BLTA, TIM-3 및 LAG-3으로 이루어진 군으로부터 선택되는 억제 체크포인트 분자의 억제제이다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1의 억제제이다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 항-PD-1 항체, 예컨대 니볼루맵(nivolumab) (예를 들어, 옴디보(OPDIVO)[®]), 펌브롤리주맵(Pembrolizumab) (예를 들어, 키트루다(KEYTRUDA)[®]) 또는 SHR-1210이다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-L1의 억제제이다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 항-PD-L1 항체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 CTLA-4의 억제제이다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 항-CTLA-4 항체, 예컨대 이필리무맵(Ipilimumab) (예를 들어, 여보이(YERVOY)[®])이다.

[0151] T 세포 집단은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 DC 집단으로, 예컨대 1, 2, 3회 또는 그 이상 중 어느 하나의 횟수로 자극될 수 있다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 1회 자극된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 적어도 2회 자극된다. 일부 실시 형태에서, 각 자극마다, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 DC 집단이 공동 배양물에 첨가된다. DC 집단은 새롭게 제조되고 복수의 종양 항원 펩티드로 펄싱될 수 있거나, 초기 자극을 위해 제조된 DC 집단의 스톱으로부터 얻을 수 있다.

[0152] 따라서, (a) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 제조하는 단계; 및 (b) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 비부착성 PBMC의 집단과 공동 배양하여 활성화된 T 세포 집단을 얻는 단계를 포함하는, 활성화된 T 세포 집단을 제조하는 방법이 제공되며, 여기서 수지상 세포의 집단 및 비부착성 PBMC의 집단은 개체로부터의 PBMC의 집단으로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양하는 단계는 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합)의 존재 하에 있다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양하는 단계는 항-CD3 항체 (예컨대 OKT3) 및 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합)의 존재 하에 있다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 비부착성 PBMC 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대, PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 개체로부터 PBMC 집단을 얻는 단계를 추가로 포함한다.

[0153] 일부 실시 형태에서, (a) (예컨대 GM-CSF 및 IL-4의 존재 하에) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하는 단계; (b) 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻는 단계; 및 (c) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 비부착성 PBMC의 집단을 공동 배양하여 활성화된 T 세포의 집단을 얻는 단계를 포함하는, 활성화된 T 세포 집단을 제조하는 방법이 제공되며, 여기서 단핵구 집단 및 비부착성 PBMC 집단은 개체로부터의 PBMC 집단으로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 복수의 TLR 작용제와 접촉시켜, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포 집단의 성숙을 유도한다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양하는 단계는 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합)의 존재 하에 있다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양하는 단계는 항-CD3 항체 (예컨대 OKT3) 및 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합)의 존재 하에 있다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 비부착성 PBMC 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대, PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 (i) 개체로부터

PBMC 집단을 얻는 단계; (ii) PBMC 집단으로부터 단핵구 집단을 얻는 단계; 및 (iii) PBMC 집단으로부터 비부작성 PBMC 집단을 얻는 단계 중 어느 하나 또는 이의 조합을 추가로 포함한다.

[0154] 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 집단을 제조하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 개체로부터 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 집단을 얻는 단계, PBMC 집단으로부터 단핵구 집단을 얻는 단계, (예컨대 GM-CSF 및 IL-4의 존재 하에) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하는 단계, 미성숙 수지상 세포 집단을 복수의 Toll-유사 수용체 (TLR) 작용제 및 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 성숙 수지상 세포 집단을 얻는 단계, PBMC 집단으로부터 비부작성 PBMC 집단을 얻는 단계 및 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합), 임의로 항-CD3 항체 (예컨대 OKT3) 및 임의로 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제)의 존재 하에, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 성숙 수지상 세포의 집단을 비부작성 PBMC 집단과 공동 배양하여 활성화된 T 세포 집단을 얻는 단계를 포함한다.

[0155] 본 발명은 또한 본 명세서에 기재된 방법의 임의의 실시 형태에 의해 제조된 활성화된 T 세포의 분리된 집단을 제공한다. 또한 T 세포 집단 및 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 데 유용한 공동 배양물이 본 명세서에 제공된다. 공동 배양물의 일부 실시 형태에서, T 세포 집단 및 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단은 동일한 개체, 예컨대 치료되는 개체로부터 유래된다. 공동 배양물의 일부 실시 형태에서, 다중-항원 로딩된 수지상 세포의 집단은 복수의 종양 항원 펩티드를 수지상 세포 집단으로 펄싱하거나, 수지상 세포에 의한 복수의 종양 항원 펩티드의 흡수를 촉진하는 조성물 (예컨대 다수의 양으로 하전된 아미노산을 포함하는 지질 분자 또는 펩티드)의 존재 하에, 수지상 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시키는 것과 같은 이전 섹션에 기재된 제조 방법의 임의의 실시 형태에 의해 제조된다. 활성화된 T 세포의 분리된 집단 및 이러한 섹션에 기재된 공동 배양물은 MASCT 방법의 임의의 실시 형태에서 사용될 수 있다. 암을 치료하거나, 종양 진행 또는 전이를 예방하거나, 암 면역 회피를 감소하는 데 유용한, 활성화된 T 세포의 분리된 집단 또는 공동 배양물을 포함하는 면역치료 조성물이 본 명세서에 제공된다. 활성화된 T 세포의 분리된 집단 및 공동 배양물은 암을 치료하거나, 종양 진행 또는 전이를 예방하거나, 암 면역 회피를 감소시키기 위한 의학의 제조에 또한 사용될 수 있다.

[0156] 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 제조하거나 활성화된 T 세포 집단을 제조하기 위해 본 명세서에 기재된 임의의 단계 및 파라미터가, 각각의 모든 조합이 개별적으로 기재된 것처럼, MASCT 방법에 대해 본 명세서에 기재된 임의의 단계 및 파라미터와 조합될 수 있는 것으로 의도된다.

[0157] 예를 들어, 일부 실시 형태에서, T 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 공동 배양함으로써 제조된, 활성화된 T 세포의 분리된 집단이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포 집단은 수지상 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킴으로써 제조된다 (예컨대 수지상 세포에 의한 복수의 종양 항원 펩티드의 흡수를 촉진하는 조성물의 존재 하에). 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대, PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 집단 및 T 세포 집단은 동일한 공급원 (예컨대 치료를 위해 활성화된 T 세포를 수용하는 개체)으로부터 유래된다.

[0158] 일부 실시 형태에서, (a) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하고 (예컨대 GM-CSF 및 IL-4의 존재 하에); (b) 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻으며; (c) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 비부작성 PBMC의 집단과 공동 배양함으로써 제조된, 활성화된 T 세포의 분리된 집단이 제공되며, 여기서 단핵구 집단 및 비부작성 PBMC의 집단은 개체로부터의 PBMC의 집단으로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 복수의 TLR 작용제와 접촉시켜, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포 집단의 성숙을 유도한다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양하는 단계는 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합) 및 임의로 항-CD3 항체 (예컨대 OKT3)의 존재 하에 있다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 비부작성 PBMC 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대, PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 (i) 개체로부터 PBMC 집단을 얻는 단계; (ii) PBMC 집단으로부터 단핵구 집단을 얻는 단계; 및 (iii) PBMC 집단으로부터 비부작성 PBMC 집단을 얻는 단계 중 어느 하나 또는 이의 조합을 추가로 포함한다.

[0159] **PBMC 기반 MASCT**

[0160] PBMC 기반 MASCT로 명명된, MASCT 방법의 변형은 개체에서 암을 치료하는 데 사용하기 위해 APC (예컨대 수지상

세포) 또는 T 세포를 분리하거나 유도하지 않고, APC와 T 세포를 포함하는 PBMC를 직접 사용한다.

[0161] 따라서, 일부 실시 형태에서, 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜, 활성화된 PBMC 집단을 얻는 단계 및 활성화된 PBMC의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, PBMC에서 항원 제시 세포 (예컨대 수지상 세포)에 의한 복수의 종양 항원 펩티드의 흡수를 촉진하는 조성물의 존재 하에, PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 및 LAG-3의 억제제의 존재 하에, PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC의 집단을 IL-2와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC의 각 투여 사이의 간격은 약 2주 내지 약 5개월 (예컨대 약 3개월)이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, PBMC의 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다.

[0162] PBMC 기반 MASCT 방법은 이전 섹션에 기재된 바와 같은 MASCT 방법의 다른 실시 형태에 의해 치료할 수 있는 (상이한 유형 또는 병기를 포함하는) 임의의 암을 치료하기에 적합하다. PBMC 기반 MASCT 방법의 일부 실시 형태에서, 상기 암은 간세포 암종, 자궁경부암, 폐암, 대장암, 림프종, 신장암종, 유방암, 췌장암, 위암, 식도암, 난소암, 전립선암, 비인두암종, 흑색종 및 뇌종양으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0163] 일부 실시 형태에서, PBMC는 자가로, 즉, 치료되는 개체로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 개체로부터의 말초 혈액은 적은 수의 수지상 세포 또는 T 세포를 갖는다. 일부 실시 형태에서, PBMC를 IL-2, GM-CSF 등과 같은 사이토카인과 접촉시켜, 접촉 단계와 동시에 또는 후에 PBMC에서 특정 세포 (예컨대 수지상 세포, T 세포 또는 이들의 조합)의 분화, 성숙 또는 증식을 유도한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 접촉 단계 후에 제거된다. 일부 실시 형태에서, PBMC를 적어도 약 10분, 15분, 20분, 30분, 1시간, 5시간, 10시간, 12시간, 14시간, 16시간, 18시간, 20시간, 22시간, 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 1주, 10일 또는 그 이상 중 어느 하나 동안 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, PBMC를 적어도 약 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 또는 30일 중 어느 하나 동안 사이토카인과 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, PBMC를 약 14 내지 21일 동안 사이토카인과 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, PBMC를 약 14일 동안 사이토카인과 접촉시킨다.

[0164] 상기 PBMC 기반 MASCT 방법 중 어느 하나에서, PBMC를 하나 이상의 면역 체크포인트 억제제와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에, PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, PBMC를 적어도 약 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 또는 30일 중 어느 하나 동안 면역 체크포인트 억제제와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, PBMC를 약 14일 내지 약 21일 동안 면역 체크포인트 억제제와 접촉시킨다.

[0165] 면역 체크포인트 억제제와의 병용 요법

[0166] 본 명세서에 기재된 암을 치료하는 방법은 단독요법 및 다른 약제와의 병용 요법에서 사용될 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 임의의 MASCT 방법 (PBMC 기반 MASCT 방법을 포함)은 하나 이상의 (예컨대 임의의 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상 중 어느 하나) 면역 체크포인트 억제제의 투여와 병용될 수 있다.

[0167] 따라서, 일부 실시 형태에서, (a) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (b) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포의 집단을 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; 및 (c) 면역 체크포인트 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포와 면역 체크포인트 억제제는 동일한 조성물에서와 같이 동시에 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포와 면역 체크포인트 억제제는 순차적으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포 집단과 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일 또는 약 10일) 동안 공동 배양된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 집단의 비부착성 부분으로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양하는 단계는 활성화된 T 세포를 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합) 및 임의로 항-CD3 항체와 접촉시키는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에

및/또는 공동 배양 중에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대, PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단은 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킴으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단 및 수지상 세포 집단은 동일한 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단, 수지상 세포 집단, PBMC 집단 또는 이들의 임의의 조합은 치료되는 개체로부터 유래된다.

[0168] 일부 실시 형태에서, (a) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하는 단계; (b) 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻는 단계; (c) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (d) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 비부작성 PBMC의 집단을 공동 배양하여 활성화된 T 세포의 집단을 얻는 단계; (e) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; 및 (f) 면역 체크포인트 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 단핵구 집단 및 비부작성 PBMC의 집단은 PBMC의 집단으로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포와 면역 체크포인트 억제제는 동일한 조성물에서와 같이 동시에 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포와 면역 체크포인트 억제제는 순차적으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥 내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일 또는 약 10일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양하는 단계는 활성화된 T 세포를 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합) 및 임의로 항-CD3 항체와 접촉시키는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 비부작성 PBMC의 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, PBMC의 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다.

[0169] 일부 실시 형태에서, (a) PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 활성화된 PBMC 집단을 얻는 단계; (b) 활성화된 PBMC의 유효량을 개체에 투여하는 단계; 및 (c) 면역 체크포인트 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC와 면역 체크포인트 억제제는 동일한 조성물에서와 같이 동시에 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC와 면역 체크포인트 억제제는 순차적으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, PBMC에서 항원 제시 세포 (예컨대 수지상 세포)에 의한 복수의 종양 항원 펩티드의 흡수를 촉진하는 조성물의 존재 하에, PBMC를 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC의 집단을 IL-2와 추가로 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 및 LAG-3의 억제제의 존재 하에, PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC의 각 투여 사이의 간격은 약 2주 내지 약 5개월 (예컨대 약 3개월)이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, PBMC의 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다.

[0170] 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1의 억제제이다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 항-PD-1 항체이다. 예시적인 항-PD-1 항체에는, 니볼루맙, 펌브롤리주맙, 피딜리주맙(pidilizumab), BMS-936559 및 아테졸리주맙(atezolizumab), 펌브롤리주맙, MK-3475, AMP-224, AMP-514, STI-A1110 및 TSR-042가 포함되나, 이에 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 니볼루맙 (예를 들어, 옴디보®)이다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 펌브롤리주맙 (예를 들어, 키트루다®)이다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 SHR-1210이다.

[0171] 따라서, 일부 실시 형태에서, (a) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (b) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포의 집단을 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; 및 (c) PD-1의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, PD-1의 억제제는 항-PD-1 항체이다. 일부 실시 형태에서, PD-1의 억제제는 니볼루맙, 펌브롤리주맙 및 SHR-1210으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포와 PD-1의 억제제는 동일한 조성물에서와 같이 동시에 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포와 PD-1의 억제제는 순차적으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14

일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포 집단과 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일 또는 약 10일) 동안 공동 배양된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 집단의 비부착성 부분으로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양하는 단계는 활성화된 T 세포를 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합) 및 임의로 항-CD3 항체와 접촉시키는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 T 세포의 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단은 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킴으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단 및 수지상 세포 집단은 동일한 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단, 수지상 세포 집단, PBMC 집단 또는 이들의 임의의 조합은 치료되는 개체로부터 유래된다.

[0172] 일부 실시 형태에서, (a) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하는 단계; (b) 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻는 단계; (c) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (d) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 비부착성 PBMC의 집단을 공동 배양하여 활성화된 T 세포의 집단을 얻는 단계; (e) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; 및 (f) PD-1의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 단핵구 집단 및 비부착성 PBMC의 집단은 PBMC의 집단으로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, PD-1의 억제제는 항-PD-1 항체이다. 일부 실시 형태에서, PD-1의 억제제는 니볼루맙, 펌브롤리주맙 및 SHR-1210으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포와 PD-1의 억제제는 동일한 조성물에서와 같이 동시에 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포와 PD-1의 억제제는 순차적으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일 또는 약 10일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양하는 단계는 활성화된 T 세포를 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합) 및 임의로 항-CD3 항체와 접촉시키는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 비부착성 PBMC의 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, PBMC의 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다.

[0173] 일부 실시 형태에서, (a) PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 활성화된 PBMC 집단을 얻는 단계; (b) 활성화된 PBMC의 유효량을 개체에 투여하는 단계; 및 (c) PD-1의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, PD-1의 억제제는 항-PD-1 항체이다. 일부 실시 형태에서, PD-1의 억제제는 니볼루맙, 펌브롤리주맙 및 SHR-1210으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC와 PD-1의 억제제는 동일한 조성물에서와 같이 동시에 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC와 PD-1의 억제제는 순차적으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, PBMC에서 항원 제시 세포 (예컨대 수지상 세포)에 의한 복수의 종양 항원 펩티드의 흡수를 촉진하는 조성물의 존재 하에, PBMC를 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC의 집단을 IL-2와 추가로 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1의 억제제의 존재 하에, PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC의 각 투여 사이의 간격은 약 2주 내지 약 5개월 (예컨대 약 3개월)이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, PBMC의 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다.

[0174] 일부 실시 형태에서, (a) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (b) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포의 집단을 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; 및 (c) 펌브롤리주맙 (예컨대 키트루다[®])의 유효량을

개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포와 펩브롤리주맵은 동일한 조성물에서와 같이 동시에 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포와 펩브롤리주맵은 순차적으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 펩브롤리주맵은 정맥내 투여된다 (예컨대 약 30분 이상 동안 주입에 의해). 일부 실시 형태에서, 펩브롤리주맵은 약 2 mg/kg으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 펩브롤리주맵은 약 3주마다 한번 투여된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포 집단과 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일 또는 약 10일) 동안 공동 배양된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 집단의 비부착성 부분으로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양하는 단계는 활성화된 T 세포를 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합) 및 임의로 항-CD3 항체와 접촉시키는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 T 세포의 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단은 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킴으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단 및 수지상 세포 집단은 동일한 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단, 수지상 세포 집단, PBMC 집단 또는 이들의 임의의 조합은 치료되는 개체로부터 유래된다.

[0175]

일부 실시 형태에서, (a) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하는 단계; (b) 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻는 단계; (c) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (d) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 비부착성 PBMC의 집단을 공동 배양하여 활성화된 T 세포의 집단을 얻는 단계; (e) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; 및 (f) 펩브롤리주맵 (예컨대, 키트루다[®])의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 단핵구 집단 및 비부착성 PBMC의 집단은 PBMC의 집단으로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포와 펩브롤리주맵은 동일한 조성물에서와 같이 동시에 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포와 펩브롤리주맵은 순차적으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 펩브롤리주맵은 정맥내 투여된다 (예컨대 약 30분 이상 동안 주입에 의해). 일부 실시 형태에서, 펩브롤리주맵은 약 2 mg/kg으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 펩브롤리주맵은 약 3주마다 한번 투여된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일 또는 약 10일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양하는 단계는 활성화된 T 세포를 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합) 및 임의로 항-CD3 항체와 접촉시키는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 비부착성 PBMC의 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, PBMC의 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다.

[0176]

일부 실시 형태에서, (a) PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 활성화된 PBMC 집단을 얻는 단계; (b) 활성화된 PBMC의 유효량을 개체에 투여하는 단계; 및 (c) 펩브롤리주맵 (예컨대 키트루다[®])의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC와 펩브롤리주맵은 동일한 조성물에서와 같이 동시에 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC와 펩브롤리주맵은 순차적으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 펩브롤리주맵은 정맥내 투여된다 (예컨대 약 30분 이상 동안 주입에 의해). 일부 실시 형태에서, 펩브롤리주맵은 약 2 mg/kg으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 펩브롤리주맵은 약 3주마다 한번 투여된다. 일부 실시 형태에서, PBMC에서 항원 제시 세포 (예컨대 수지상 세포)에 의한 복수의 종양 항원 펩티드의 흡수를 촉진하는 조성물의 존재 하에, PBMC를 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC의 집단을 IL-2와 추가로 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1의 억제제의 존재 하에, PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드

와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC의 각 투여 사이의 간격은 약 2주 내지 약 5개월 (예컨대 약 3개월)이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, PBMC의 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다.

[0177] 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-L1의 억제제이다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 항-PD-L1 항체이다. 예시적인 항-PD-L1 항체에는 KY-1003, MCLA-145, RG7446, BMS935559, MPDL3280A, MEDI4736, Avelumab 또는 STI-A1010이 포함되나, 이에 한정되지 않는다.

[0178] 따라서, 일부 실시 형태에서, (a) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (b) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포의 집단을 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; 및 (c) PD-L1의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, PD-L1의 억제제는 항-PD-L1 항체이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포와 PD-L1의 억제제는 동일한 조성물에서와 같이 동시에 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포와 PD-L1의 억제제는 순차적으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포 집단과 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일 또는 약 10일) 동안 공동 배양된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 집단의 비부착성 부분으로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양하는 단계는 활성화된 T 세포를 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합) 및 임의로 항-CD3 항체와 접촉시키는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-L1의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단은 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킴으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단 및 수지상 세포 집단은 동일한 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단, 수지상 세포 집단, PBMC 집단 또는 이들의 임의의 조합은 치료되는 개체로부터 유래된다.

[0179] 일부 실시 형태에서, (a) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하는 단계; (b) 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻는 단계; (c) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (d) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 비부착성 PBMC의 집단을 공동 배양하여 활성화된 T 세포의 집단을 얻는 단계; (e) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; 및 (f) PD-L1의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 단핵구 집단 및 비부착성 PBMC의 집단은 PBMC의 집단으로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, PD-L1의 억제제는 항-PD-L1 항체이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포와 PD-L1의 억제제는 동일한 조성물에서와 같이 동시에 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포와 PD-L1의 억제제는 순차적으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일 또는 약 10일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양하는 단계는 활성화된 T 세포를 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합) 및 임의로 항-CD3 항체와 접촉시키는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 비부착성 PBMC의 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-L1의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, PBMC의 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다.

[0180] 일부 실시 형태에서, (a) PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 활성화된 PBMC 집단을 얻는 단계; (b) 활성화된 PBMC의 유효량을 개체에 투여하는 단계; 및 (c) PD-L1의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, PD-L1의 억제제는 항-PD-L1 항체이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC와 PD-L1의 억제제는 동일한 조성물에서와 같이 동시에 투여된다.

일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC와 PD-L1의 억제제는 순차적으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, PBMC에서 항원 제시 세포 (예컨대 수지상 세포)에 의한 복수의 종양 항원 펩티드의 흡수를 촉진하는 조성물의 존재 하에, PBMC를 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC의 집단을 IL-2와 추가로 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-L1의 억제제의 존재 하에, PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC의 각 투여 사이의 간격은 약 2주 내지 약 5개월 (예컨대 약 3개월)이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, PBMC의 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다.

[0181] 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 CTLA-4의 억제제이다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 항-CTLA-4 항체이다. 예시적인 항-CTLA-4 항체에는 이필리무맙, 트레멜리무맙(Tremelimumab) 및 KHR-102가 포함되나, 이에 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 이필리무맙 (예를 들어, 여보이®)이다.

[0182] 따라서, 일부 실시 형태에서, (a) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (b) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포의 집단을 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; 및 (c) CTLA-4의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, CTLA-4의 억제제는 항-CTLA-4 항체, 예컨대 이필리무맙이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포와 CTLA-4의 억제제는 동일한 조성물에서와 같이 동시에 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포와 CTLA-4의 억제제는 순차적으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포 집단과 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일 또는 약 10일) 동안 공동 배양된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단은 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 집단의 비부착성 부분으로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양하는 단계는 활성화된 T 세포를 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합) 및 임의로 항-CD3 항체와 접촉시키는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단은 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킴으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단 및 수지상 세포 집단은 동일한 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단, 수지상 세포 집단, PBMC 집단 또는 이들의 임의의 조합은 치료되는 개체로부터 유래된다.

[0183] 일부 실시 형태에서, (a) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하는 단계; (b) 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻는 단계; (c) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (d) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 비부착성 PBMC의 집단을 공동 배양하여 활성화된 T 세포의 집단을 얻는 단계; (e) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; 및 (f) CTLA-4의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 단핵구 집단 및 비부착성 PBMC의 집단은 PBMC의 집단으로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, CTLA-4의 억제제는 항-CTLA-4 항체, 예컨대 이필리무맙이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포와 CTLA-4의 억제제는 동일한 조성물에서와 같이 동시에 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포와 CTLA-4의 억제제는 순차적으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일 또는 약 10일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양하는 단계는 활성화된 T 세포를 복수의 사이토카인 (예컨대 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 또는 이들의 임의의 조합) 및 임의로 항-CD3 항체와 접촉시키는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 비부착

성 PBMC의 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, PBMC의 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다.

[0184] 일부 실시 형태에서, (a) PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 활성화된 PBMC 집단을 얻는 단계; (b) 활성화된 PBMC의 유효량을 개체에 투여하는 단계; 및 (c) CTLA-4의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, CTLA-4의 억제제는 항-CTLA-4 항체, 예컨대 이필리무맙이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC와 CTLA-4의 억제제는 동일한 조성물에서와 같이 동시에 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC와 CTLA-4의 억제제는 순차적으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, PBMC에서 항원 제시 세포 (예컨대 수지상 세포)에 의한 복수의 종양 항원 펩티드의 흡수를 촉진하는 조성물의 존재 하에, PBMC를 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC 집단을 IL-2와 추가로 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 CTLA-4의 억제제의 존재 하에, PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC의 각 투여 사이의 간격은 약 2주 내지 약 5개월 (예컨대 약 3개월)이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, PBMC의 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다.

[0185] 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 (또는 활성화된 PBMC)와 면역 체크포인트 억제제는 동시에 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 (또는 활성화된 PBMC)와 면역 체크포인트 억제제는 단일 조성물로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 공동 배양물에 존재한다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 (또는 활성화된 PBMC)와 면역 체크포인트 억제제는 투여 전에 (예컨대 직전에) 혼합된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 (또는 활성화된 PBMC)와 면역 체크포인트 억제제는 별개의 조성물을 통해 동시에 투여된다.

[0186] 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 (또는 활성화된 PBMC)와 면역 체크포인트 억제제는 순차적으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 활성화된 T 세포 (또는 활성화된 PBMC)의 투여 전에 투여된다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 활성화된 T 세포 (또는 활성화된 PBMC)의 투여 후에 투여된다.

[0187] 복수의 종양 항원 펩티드

[0188] 본 명세서에 기재된 모든 MASCT 방법 (PBMC 기반 MASCT 방법을 포함) 및 세포 제조 방법은 복수의 종양 항원 펩티드 (신생항원 펩티드를 포함)를 사용하여, 생체외 및 생체내에서 특이적 T 세포 반응을 유도할 수 있는 APC (예컨대 수지상 세포) 및 활성화된 T 세포 또는 활성화된 PBMC를 제조한다.

[0189] 일부 실시 형태에서, MASCT 방법의 각각의 종양 항원 펩티드는 단일 단백질 항원 (신생항원을 포함)으로부터의 에피토프 약 1, 2, 3, 4, 5 또는 10개 중 어느 하나를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드의 각 종양 항원 펩티드는 T 세포 수용체에 의해 인식되는 적어도 하나의 에피토프를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 단일 단백질 항원으로부터의 적어도 2개의 에피토프를 포함하는 적어도 하나의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 에피토프를 함유하는 단백질 항원으로부터의 천연 유래 펩티드 단편 또는 하나 이상의 천연 에피토프 서열을 함유하는 인공적으로 설계된 펩티드일 수 있으며, 여기서 링커 펩티드는 임의로 인접한 에피토프 서열 사이에 위치할 수 있다. 일부 바람직한 실시 형태에서, 동일한 종양 항원 펩티드에 함유된 에피토프는 동일한 단백질 항원으로부터 유래된다.

[0190] 종양 항원 펩티드 (신생항원 펩티드를 포함)는 적어도 하나의 MHC-I 에피토프, 적어도 하나의 MHC-II 에피토프 또는 MHC-I 에피토프(들)와 MHC-II 에피토프(들) 둘 모두를 함유할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 MHC-I 에피토프를 포함하는 적어도 하나의 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 MHC-II 에피토프를 포함하는 적어도 하나의 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드 중 적어도 하나의 종양 항원 펩티드는 MHC-I 및 MHC-II 에피토프를 포함한다.

[0191] 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포에 대한 면역 반응을 최적화하기 위해 종양 항원 펩티드 (신생항원 펩티드를 포함) 서열에 특수한 설계 전략을 적용할 수 있다. 전형적으로, 정확한 에피토프 펩티드보다 긴 펩티드는 항원 제시 세포 (예컨대 수지상 세포)로의 펩티드의 흡수를 증가시킬 수 있다. 일부 실시 형태에서, MHC-I 또는 MHC-II 에피토프 서열은 연장된 서열을 얻기 위해 에피토프를 보유하는 단백질의 천연 서열에 따라, N 말단, C 말단 또는 양쪽 말단에서 연장되며, 상기 연장된 서열은 클래스 I 및 클래스 II MHC 분자 둘 모두에 의한 제시 및 상이한 개체에서의 상이한 아형의 MHC 분자에 의한 제시에 적합하다. 일부 실시 형태에서, 에피토프 서열은 하나 또는 두 말단에서 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15 또는 20개 중 어느 하나의 아미노산

잔기에 의해 연장되어, 연장된 에피토프를 생성한다. 일부 실시 형태에서, MHC-I 또는 MHC-II 에피토프를 포함하는 펩티드는 N-말단, C-말단 또는 둘 모두에서 에피토프를 플랭킹하는 추가의 아미노산을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드 중 각각의 종양 항원 펩티드는 약 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90 또는 100개 중 어느 하나의 아미노산 길이이다. 복수의 종양 항원 펩티드 중 상이한 종양 항원 펩티드는 동일한 길이 또는 상이한 길이를 가질 수 있다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 각각 약 20 내지 40개의 아미노산 길이이다.

[0192] 일부 실시 형태에서, 본 출원에서 종양 항원 펩티드를 설계하는 데 사용되는 하나 이상의 에피토프 펩티드의 아미노산 서열은 본 기술 분야에 알려지거나 공개된 데이터베이스, 예컨대 펩티드 데이터베이스(Peptide database) (문헌[van der Bruggen P et al. (2013) "Peptide databases: T cell-defined tumor antigens. *Cancer Immunity*. URL: www.cancerimmunity.org/peptide/])에서 이용가능한 서열에 기초한다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 에피토프 펩티드의 아미노산 서열은 서열 번호 1 내지 35로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0193] 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 에피토프 펩티드의 아미노산 서열은 T 세포 에피토프 예측을 위한 생물정보학 도구를 사용하여, 항원 단백질 (신생항원을 포함) 서열에 기초하여 예측된다. T 세포 에피토프 예측을 위한 예시적인 생물정보학 도구가 본 기술 분야에 알려져 있으며, 예를 들어, 문헌[Yang X. and Yu X. (2009) "An introduction to epitope prediction methods and software" *Rev. Med. Virol.* 19(2): 77-96]을 참조한다. 일부 실시 형태에서, 항원 단백질 서열은 본 기술 분야에 알려져 있거나 공개된 데이터베이스에서 이용가능하다. 일부 실시 형태에서, 항원 단백질 (신생항원을 포함) 서열은 치료되는 개체의 샘플 (예컨대 종양 샘플)을 시퀀싱함으로써 측정된다.

[0194] 본 발명은 신생항원 및 네오에피토프를 포함하는 본 기술 분야에 알려진 임의의 종양 항원 및 에피토프로부터 유래되거나, 또는 발명자에 의해 생물정보학 도구를 사용하여 특별히 개발되거나 예측되는 종양 항원 펩티드를 고려한다.

[0195] 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 신생항원 펩티드는 암-유형 특이적 항원 펩티드이다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹으로 구성된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹으로 구성된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 신생항원 펩티드만으로 구성된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹, 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹 및 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다.

[0196] 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹은 상이한 유형의 다양한 암의 표면 상에서 일반적으로 발현되거나 과발현되는 종양 항원으로부터 유래된다. 따라서, 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹은 상이한 유형의 암을 앓는 개체를 치료하기 위해 본 명세서에 기재된 임의의 MASCT 방법 (PBMC 기반 MASCT 방법을 포함)에서, 다른 치료 방법에서 또는 세포 제조 방법에서 사용되는 수지상 세포 또는 활성화된 T 세포를 제조하는 데 유용하다. 예를 들어, 일부 실시 형태에서, 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹은 다양한 암, 예컨대 폐암, 결장암, 위암, 전립선암, 흑색종, 림프종, 췌장암, 난소암, 유방암, 신경교종, 식도암, 비인두암, 자궁경부암, 신장암종 또는 간세포 암종을 치료하기 위해 본 명세서에 기재된 방법에 유용하다. 예시적인 제1 코어 그룹의 종양 항원 펩티드에는 hTERT, p53, 서마비빈, NY-ESO-1, CEA, CCND1, MET, RGS5, MMP7, VEGFR 및 CDCA1로부터 유래된 펩티드가 포함되나, 이에 한정되지 않는다. 제1 코어 그룹은 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 25, 30, 40 또는 50개 중 어느 하나 초과 종양 항원으로부터 유래된 펩티드를 포함할 수 있다. 제1 코어 그룹은 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 25, 30, 40 또는 50개 중 어느 하나의 일반적인 종양 항원 펩티드를 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 제1 코어 그룹은 하나 초과 일반적인 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 제1 코어 그룹은 약 10 내지 약 20개의 일반적인 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 제1 코어 그룹은 서열 번호 1 내지 24로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 초과 에피토프를 갖는 일반적인 종양 항원 펩티드를 포함한다.

[0197] 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹은 하나 또는 제한된 수의 암 유형에서만 발현되거나 과발현되는 종양

항원으로부터 유래된다. 따라서, 제2 그룹의 암-유형 특이적 항원 펩티드는 특정 유형의 암을 앓는 개체를 치료하기 위해 본 명세서에 기재된 임의의 MASCT 방법 또는 기타 치료 방법 또는 세포 제조 방법에서 사용되는 수지상 세포, 활성화된 T 세포를 제조하는 데 유용하다. 간세포 암종 (HCC)을 치료하기 위한 예시적인 암-유형 특이적 항원 펩티드에는 AFP 및 GPC3으로부터 유래된 펩티드가 포함되나, 이에 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 암-특이적 항원 펩티드는 암을 유도할 수 있는 바이러스로부터 유래된 바이러스-특이적 항원 펩티드이거나, 개체가 감염된 경우, 개체에서의 암 발병과 관련된다. 일부 실시 형태에서, 바이러스-특이적 항원 펩티드는 개체가 감염된 바이러스의 아형에 특이적이다. HBV가 동시에 감염된 HCC 환자를 치료하기 위한 예시적인 바이러스-특이적 항원 펩티드에는 HBV 코어 항원으로부터 유래된 펩티드 및 HBV DNA 중합효소가 포함되나, 이에 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에서, 바이러스-특이적 항원 펩티드는 서열 번호 31 내지 35로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 에피토프를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 제2 그룹은 HBV 항원으로부터 유래된 바이러스-특이적 항원 펩티드를 포함하며, 여기서 상기 방법은 개체에서 간세포 암종을 치료하는 것이다. 일부 실시 형태에서, 제2 그룹은 HPV 항원으로부터 유래된 바이러스-특이적 항원 펩티드를 포함하며, 여기서 상기 방법은 개체에서 자궁경부암을 치료하는 것이다. 일부 실시 형태에서, 제2 그룹은 EBV 항원으로부터 유래된 바이러스-특이적 항원 펩티드를 포함하며, 여기서 상기 방법은 개체에서 비인두암종을 치료하는 것이다. 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹은 약 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 25, 30, 40 또는 50개 중 어느 하나 초과와 암-유형 특이적 항원으로부터 유래된 펩티드를 포함할 수 있다. 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹은 약 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 25, 30, 40 또는 50개 중 어느 하나 초과와 암-유형 특이적 항원 펩티드를 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 제2 그룹은 하나 초과 암-유형 특이적 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 제2 그룹은 약 1 내지 약 10개의 암-유형 특이적 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 제2 그룹은 서열 번호 25 내지 35로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 에피토프를 포함하는 암-유형 특이적 항원 펩티드를 포함하며, 여기서 암은 간세포 암종이다. 일부 실시 형태에서, 암-유형 특이적 항원 펩티드에 의해 표적화된 암 유형은 본질적으로 간세포 암종, 자궁경부암, 비인두암종, 유방암 및 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0198] 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 (예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 이상 중 어느 하나) 신생항원 펩티드를 포함한다. 신생항원 펩티드는 신생항원으로부터 유래된다. 신생항원은 개체, 예컨대 암 치료를 받는 개체의 종양 세포에 존재하는, 새롭게 획득되어 발현되는 항원이다. 일부 실시 형태에서, 신생항원은 암 세포에만 존재하고, 정상 세포에는 존재하지 않는 돌연변이 단백질 항원으로부터 유래된다. 신생항원은 암 치료를 받는 개체의 종양 세포 (예컨대 모든 종양 세포 또는 종양 세포의 일부)에 독특하게 존재하거나, 치료되는 개체와 유사한 유형의 암을 앓는 개체에 존재할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 신생항원은 클론 신생항원이다. 일부 실시 형태에서, 신생항원은 아클론(subclonal) 신생항원이다. 일부 실시 형태에서, 신생항원은 적어도 개체의 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 그 이상 중 어느 하나의 종양 세포에 존재한다. 일부 실시 형태에서, 신생항원 펩티드는 MHC-I 제한 네오에피토프를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 신생항원 펩티드는 MHC-II 제한 네오에피토프를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 신생항원 펩티드는, 예를 들어, N-말단 및 C-말단 모두에서 네오에피토프를 연장함으로써 클래스 I 및 클래스 II MHC 분자에 의한 네오에피토프의 제시를 촉진하도록 설계된다. 예시적인 신생항원 펩티드에는 돌연변이 KRAS (예를 들어, KRAS^{G12A}), PARP4 (예를 들어, PARP4^{T1170I}), MLL3 (예를 들어, MLL3^{C988F}) 및 MTHFR (예를 들어, MTHFR^{A222V})로부터 유래된 네오에피토프가 포함되나, 이에 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에서, 신생항원 펩티드는 서열 번호 41 내지 45로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열에 점 돌연변이를 갖는 에피토프를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 신생항원 펩티드는 서열 번호 36 내지 40으로 이루어진 군으로부터 선택되는 에피토프를 포함한다.

[0199] 신생항원 펩티드는 치료되는 개체의 하나 이상의 종양 부위의 유전자 프로파일에 기초하여 선택될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 종양 샘플의 유전자 프로파일은 전체 게놈의 서열 정보를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 종양 샘플의 유전자 프로파일은 엑솜의 서열 정보를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 종양 샘플의 유전자 프로파일은 암-관련 유전자의 서열 정보를 포함한다.

[0200] 본 발명에 사용하기에 적합한 신생항원 펩티드는 종양 세포에서 돌연변이 암-관련 유전자에 의해 암호화되는 것과 같은 임의의 돌연변이 단백질을 유래될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 신생항원 펩티드는 암-관련 유전자로부터 유래된 단일 네오에피토프를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 신생항원 펩티드는 암-관련 유전자로부터 유래된 하나 초과 (예컨대 2, 3개 또는 그 이상)의 네오에피토프를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 신생항

원 펩티드는 하나 초과 (예컨대 2, 3개 또는 그 이상)의 암-관련 유전자로부터 유래된 하나 초과 (예컨대 2, 3개 또는 그 이상)의 네오에피토프를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원은 단일 암-관련 유전자로부터 유래된 복수의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원은 하나 초과 (예컨대 임의의 2, 3, 4, 5개 또는 그 이상 중 어느 하나)의 암-관련 유전자로부터 유래된 복수의 신생항원 펩티드를 포함한다.

[0201] 암-관련 유전자는 과발현되거나 암 세포에서만 발현되지만, 정상 세포에서는 발현되지 않는 유전자이다. 예시적인 암-관련 유전자에는 ABL1, AKT1, AKT2, AKT3, ALK, ALOX12B, APC, AR, ARAF, ARID1A, ARID1B, ARID2, ASXL1, ATM, ATRX, AURKA, AURKB, AXL, B2M, BAP1, BCL2, BCL2L1, BCL2L12, BCL6, BCOR, BCORL1, BLM, BMPR1A, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRD4, BRIP1, BUB1B, CADM2, CARD11, CBL, CBLB, CCND1, CCND2, CCND3, CCNE1, CD274, CD58, CD79B, CDC73, CDH1, CDK1, CDK2, CDK4, CDK5, CDK6, CDK9, CDKN1A, CDKN1B, CDKN1C, CDKN2A, CDKN2B, CDKN2C, CEBPA, CHEK2, CIITA, CREBBP, CRKL, CRLF2, CRTC1, CRTC2, CSF1R, CSF3R, CTNNB1, CUX1, CYLD, DDB2, DDR2, DEPDC5, DICER1, DIS3, DMD, DNMT3A, EED, EGFR, EP300, EPHA3, EPHA5, EPHA7, ERBB2, ERBB3, ERBB4, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, ESR1, ETV1, ETV4, ETV5, ETV6, EWSR1, EXT1, EXT2, EZH2, FAM46C, FANCA, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FAS, FBXW7, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FH, FKBP9, FLCN, FLT1, FLT3, FLT4, FUS, GATA3, GATA4, GATA6, GLI1, GLI2, GLI3, GNA11, GNAQ, GNAS, GNB2L1, GPC3, GSTM5, H3F3A, HNF1A, HRAS, ID3, IDH1, IDH2, IGF1R, IKZF1, IKZF3, INSIG1, JAK2, JAK3, KCNIP1, KDM5C, KDM6A, KDM6B, KDR, KEAP1, 키트, KRAS, LINC00894, LMO1, LMO2, LMO3, MAP2K1, MAP2K4, MAP3K1, MAPK1, MCL1, MDM2, MDM4, MECOM, MEF2B, MEN1, MET, MITF, MLH1, MLL (KMT2A), MLL2 (KTM2D), MPL, MSH2, MSH6, MTOR, MUTYH, MYB, MYBL1, MYC, MYCL1 (MYCL), MYCN, MYD88, NBN, NEGR1, NF1, NF2, NFE2L2, NFKB1A, NFKB1Z, NKX2-1, NOTCH1, NOTCH2, NPM1, NPRL2, NPRL3, NRAS, NTRK1, NTRK2, NTRK3, PALB2, PARK2, PAX5, PBRM1, PDCD1LG2, PDGFRA, PDGFRB, PHF6, PHOX2B, PIK3C2B, PIK3CA, PIK3R1, PIM1, PMS1, PMS2, PNRC1, PRAME, PRDM1, PRF1, PRKAR1A, PRKCI, PRKCZ, PRKDC, PRPF40B, PRPF8, PSMD13, PTCH1, PTEN, PTK2, PTPN11, PTPRD, QKI, RAD21, RAF1, RARA, RB1, RBL2, RECQL4, REL, RET, RFWD2, RHEB, RHPN2, ROS1, RPL26, RUNX1, SBDS, SDHA, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, SETBP1, SETD2, SF1, SF3B1, SH2B3, SLITRK6, SMAD2, SMAD4, SMARCA4, SMARCB1, SMC1A, SMC3, SMO, SOCS1, SOX2, SOX9, SQSTM1, SRC, SRSF2, STAG1, STAG2, STAT3, STAT6, STK11, SUFU, SUZ12, SYK, TCF3, TCF7L1, TCF7L2, TERC, TERT, TET2, TLR4, TNFAIP3, TP53, TSC1, TSC2, U2AF1, VHL, WRN, WT1, XPA, XPC, XPO1, ZNF217, ZNF708 및 ZRSR2가 포함되나, 이에 한정되지 않는다.

[0202] 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 서열 번호 1 내지 40으로 이루어진 군으로부터 선택되는 에피토프를 적어도 하나 (예컨대 적어도 약 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 또는 40개 중 어느 하나) 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 서열 번호 1 내지 24로 이루어진 군으로부터 선택되는 에피토프를 적어도 하나 (예컨대 적어도 약 1, 5, 10, 15, 20 또는 24개 중 어느 하나) 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 서열 번호 25 내지 30으로 이루어진 군으로부터 선택되는 에피토프를 적어도 하나 (예컨대 약 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개 중 어느 하나) 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 서열 번호 31 내지 35로 이루어진 군으로부터 선택되는 에피토프를 적어도 하나 (예컨대 약 1, 2, 3, 4 또는 5개 중 어느 하나) 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 서열 번호 36 내지 40으로 이루어진 군으로부터 선택되는 에피토프를 적어도 하나 (예컨대 약 1, 2, 3, 4 또는 5개 중 어느 하나) 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 도 2b 또는 도 2c의 일반적인 종양 항원 펩티드 중 적어도 하나 (예컨대 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 중 어느 하나)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 도 29a의 신생항원 펩티드 중 적어도 하나 (예컨대 적어도 약 1, 2, 3, 4 또는 5개 중 어느 하나)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 도 2b, 도 2c 또는 도 29a의 종양 항원 펩티드 중 적어도 하나 (예컨대 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14개 또는 그 이상 중 어느 하나)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 각각 hTERT, p53, 서바이빈, NY-ESO-1, CEA, CCND1, MET, RGS5, MMP7, VEGFR, AFP, GPC3, HBVc, HBVp, CDCA, KRAS, PARP4, MLL3 및 MTHFR로 이루어진 군으로부터 선택되는, 암-관련 유전자에 의해 암호화되는 에피토프를 하나 이상 포함하는 종양 항원 펩티드를 적어도 하나 (예컨대 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14개 또는 그 이상 중 어느 하나) 포함한다.

[0203] 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 적어도 10종의 종양 항원 펩티드 각각은 서열 번호 1 내지 40으로 이루어진 군으로부터 선택되는 에피토프를 적어도 하나 포함한다. 일부 실시 형태에서, 적어도 10종의 종양 항원 펩티드 각각은 서열 번호 1 내지 24로 이루어진 군으로부터 선택되는 에피토프를 적어도 하나 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원

펩티드는 도 2b의 종양 항원 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택되는 종양 항원 펩티드를 적어도 10개 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 도 2c의 종양 항원 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택되는 종양 항원 펩티드를 적어도 10개 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 도 29a의 신생항원 펩티드를 적어도 하나 포함한다.

[0204] 일부 실시 형태에서, 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함하는 조성물이 제공되며, 여기서 적어도 10종의 종양 항원 펩티드 각각은 서열 번호 1 내지 40으로 이루어진 군으로부터 선택되는 에피토프를 적어도 하나 포함한다. 일부 실시 형태에서, 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함하는 조성물이 제공되며, 여기서 적어도 10종의 종양 항원 펩티드 각각은 서열 번호 1 내지 24로 이루어진 군으로부터 선택되는 에피토프를 적어도 하나 포함한다. 일부 실시 형태에서, 도 2b의 종양 항원 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함하는 조성물이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 도 2c 및 도 29a의 종양 항원 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택되는 종양 항원 펩티드를 적어도 10개 포함하는 조성물이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 각각 hTERT, p53, 서바이빈, NY-ESO-1, CEA, CCND1, MET, RGS5, MMP7, VEGFR, AFP, GPC3, HBVc, HBVp, CDCA, KRAS, PARP4, MLL3 및 MTHFR로 이루어진 군으로부터 선택되는 암-관련 유전자에 의해 암호화되는 에피토프를 포함하는 종양 항원 펩티드를 적어도 10개 포함하는 조성물이 제공된다.

[0205] 일부 실시 형태에서, 수지상 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킴으로써 제조되는, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 단리된 집단이 제공되며, 여기서 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함하는 종양 항원 펩티드를 적어도 10개 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 적어도 10종의 종양 항원 펩티드 각각은 서열 번호 1 내지 40으로 이루어진 군으로부터 선택되는 에피토프를 적어도 하나 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 도 2c 및 도 29a의 종양 항원 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택되는 종양 항원 펩티드를 적어도 10개 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 각각 hTERT, p53, 서바이빈, NY-ESO-1, CEA, CCND1, MET, RGS5, MMP7, VEGFR, AFP, GPC3, HBVc, HBVp, CDCA, KRAS, PARP4, MLL3 및 MTHFR로 이루어진 군으로부터 선택되는 암-관련 유전자에 의해 암호화되는 하나 이상의 에피토프를 포함하는 종양 항원 펩티드를 적어도 10개 포함한다.

[0206] 일부 실시 형태에서, T 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 공동 배양하는 단계를 포함하는, 활성화된 T 세포 집단을 제조하는 방법이 제공되며, 여기서 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 공동 배양함으로써 제조되는 활성화된 T 세포의 단리된 집단이 제공되며, 여기서 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함하는 종양 항원 펩티드를 적어도 10개 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 적어도 10종의 종양 항원 펩티드 각각은 서열 번호 1 내지 40으로 이루어진 군으로부터 선택되는 에피토프를 적어도 하나 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 도 2c 및 도 29a의 종양 항원 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택되는 종양 항원 펩티드를 적어도 10개 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 각각 hTERT, p53, 서바이빈, NY-ESO-1, CEA, CCND1, MET, RGS5, MMP7, VEGFR, AFP, GPC3, HBVc, HBVp, CDCA, KRAS, PARP4, MLL3 및 MTHFR로 이루어진 군으로부터 선택되는 암-관련 유전자에 의해 암호화되는 하나 이상의 에피토프를 포함하는 종양 항원 펩티드를 적어도 10개 포함한다.

[0207] 일부 실시 형태에서, (a) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하는 단계; (b) 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻는 단계; (c) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 비부착성 PBMC의 집단을 공동 배양하여 활성화된 T 세포의 집단을 얻는 단계를 포함하는, 활성화된 T 세포 집단을 제조하는 방법이 제공되며, 여기서 단핵구 집단 및 비부착성 PBMC 집단은 (예컨대 개체로부터의) PBMC 집단으로부터 얻고, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, (a) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하고; (b) 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻으며; (c) 활성화된 T 세포의 집단을 얻기 위해 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 비부착성 PBMC의 집단을 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 단리된 집단이 제공되며, 여기서 단핵구 집단 및 비부착성 PBMC 집단은 (예컨대 개체로부터의) PBMC 집단으로부터 얻고, 복

수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함하는 종양 항원 펩티드를 적어도 10개 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 적어도 10종의 종양 항원 펩티드 각각은 서열 번호 1 내지 40으로 이루어진 군으로부터 선택되는 에피토프를 적어도 하나 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 도 2c 및 도 29a의 종양 항원 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택되는 종양 항원 펩티드를 적어도 10개 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 각각 hTERT, p53, 서바이빈, NY-ESO-1, CEA, CCND1, MET, RGS5, MMP7, VEGFR, AFP, GPC3, HBVc, HBVp, CDCA, KRAS, PARP4, MLL3 및 MTHFR로 이루어진 군으로부터 선택되는 암-관련 유전자에 의해 암호화되는 하나 이상의 에피토프를 포함하는 종양 항원 펩티드를 적어도 10개 포함한다.

[0208] 일부 실시 형태에서, PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 활성화된 PBMC 집단을 얻는 단계 및 활성화된 PBMC의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 및 LAG-3의 억제제의 존재 하에, PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC의 각 투여 사이의 간격은 약 2주 내지 약 5개월 (예컨대 약 3개월)이다. 일부 실시 형태에서, PBMC의 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함하는 종양 항원 펩티드를 적어도 10개 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 적어도 10종의 종양 항원 펩티드 각각은 서열 번호 1 내지 40으로 이루어진 군으로부터 선택되는 에피토프를 적어도 하나 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 도 2c 및 도 29a의 종양 항원 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택되는 종양 항원 펩티드를 적어도 10개 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 각각 hTERT, p53, 서바이빈, NY-ESO-1, CEA, CCND1, MET, RGS5, MMP7, VEGFR, AFP, GPC3, HBVc, HBVp, CDCA, KRAS, PARP4, MLL3 및 MTHFR로 이루어진 군으로부터 선택되는 암-관련 유전자에 의해 암호화되는 하나 이상의 에피토프를 포함하는 종양 항원 펩티드를 적어도 10개 포함한다.

[0209] 일부 실시 형태에서, 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계 및 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 활성화된 T 세포는 (예컨대 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에) T 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 공동 배양함으로써 제조되고, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단은 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킴으로써 제조된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단 및 수지상 세포 집단은 동일한 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 집단, 수지상 세포 집단, PBMC 집단 또는 이들의 임의의 조합은 치료되는 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함하는 종양 항원 펩티드를 적어도 10개 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 적어도 10종의 종양 항원 펩티드 각각은 서열 번호 1 내지 40으로 이루어진 군으로부터 선택되는 에피토프를 적어도 하나 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 도 2c 및 도 29a의 종양 항원 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택되는 종양 항원 펩티드를 적어도 10개 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 각각 hTERT, p53, 서바이빈, NY-ESO-1, CEA, CCND1, MET, RGS5, MMP7, VEGFR, AFP, GPC3, HBVc, HBVp, CDCA, KRAS, PARP4, MLL3 및 MTHFR로 이루어진 군으로부터 선택되는 암-관련 유전자에 의해 암호화되는 하나 이상의 에피토프를 포함하는 종양 항원 펩티드를 적어도 10개 포함한다.

[0210] 일부 실시 형태에서, (a) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하는 단계; (b) 수지상 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻는 단계; (c) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (d) 복수의 종양

항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 비부착성 PBMC 집단을 공동 배양하여 활성화된 T 세포 집단을 얻는 단계; 및 (e) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 단핵구 집단 및 비부착성 PBMC 집단은 (예컨대 개체로부터의) PBMC 집단으로부터 얻고, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 비부착성 PBMC의 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함하는 종양 항원 펩티드를 적어도 10개 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 적어도 10종의 종양 항원 펩티드 각각은 서열 번호 1 내지 40으로 이루어진 군으로부터 선택되는 에피토프를 적어도 하나 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 도 2c 및 도 29a의 종양 항원 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택되는 종양 항원 펩티드를 적어도 10개 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 각각 hTERT, p53, 서바이빈, NY-ESO-1, CEA, CCND1, MET, RGS5, MMP7, VEGFR, AFP, GPC3, HBVc, HBVp, CDCA, KRAS, PARP4, MLL3 및 MTHFR로 이루어진 군으로부터 선택되는 암-관련 유전자에 의해 암호화되는 하나 이상의 에피토프를 포함하는 종양 항원 펩티드를 적어도 10개 포함한다.

[0211] **정밀 MASCT**

[0212] 개체의 유전 특징 및 치료 반응에 기초하여 치료되는 개체에 맞춤형 정밀 MASCT 방법이 본 명세서에 추가로 제공된다. 상기 기재된 임의의 MASCT 방법은 정밀 MASCT 방법을 제공하도록 맞춤화될 수 있다.

[0213] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 MASCT 방법은 암 (예컨대 암 세포의 모두 또는 서브세트)에서 (예컨대 MHC 유전자에) 낮은 돌연변이 부하를 갖는 개체 및/또는 하나 이상의 신생항원을 갖는 개체와 같은 특정 개체군에 특히 적합하다.

[0214] **돌연변이 부하**

[0215] 일부 실시 형태에서, MASCT 방법은 개체의 암에서 낮은 총 돌연변이 부하를 갖는 개체에 특히 적합하다. 일부 실시 형태에서, MASCT 방법은 개체의 암의 암-관련 유전자에서 낮은 돌연변이 부하를 갖는 개체에 특히 적합하다. 일부 실시 형태에서, MASCT 방법은 개체의 암의 T 세포 반응에 관련된 면역 유전자에서 낮은 돌연변이 부하를 갖는 개체에 특히 적합하다. 일부 실시 형태에서, MASCT 방법은 개체의 암의 MHC 유전자에서 낮은 돌연변이 부하를 갖는 개체에 특히 적합하다. 돌연변이 부하는 원발성 또는 전이성 종양 부위, 예를 들어, 종양 생검 샘플의 세포와 같은 모든 암 세포 또는 암 세포의 서브세트의 돌연변이 부하일 수 있다.

[0216] 따라서, 일부 실시 형태에서, : (a) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 투여하는 단계; 및 (b) T 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 개체는 암에서 낮은 돌연변이 부하를 갖는다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포 집단 및 T 세포 집단은 동일한 개체, 예컨대 치료되는 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 돌연변이 부하는 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써 측정된다. 일부 실시 형태에서, 개체는 암에서 하나 이상의 MHC 유전자 (예컨대 MHC-I 유전자)에서 낮은 돌연변이 부하 (예컨대 약 10개 이하의 돌연변이, B2M에 돌연변이 부재 및/또는 기

능성 영역에 돌연변이 부재)를 갖는다.

[0217] 일부 실시 형태에서: (a) 암에서의 돌연변이 부하에 기초하여 상기 방법에 적합한 개체를 선택하는 단계; (b) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 투여하는 단계; 및 (c) T 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포 집단 및 T 세포 집단은 동일한 개체, 예컨대 치료되는 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 돌연변이 부하는 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써 측정된다. 일부 실시 형태에서, 개체는 암에서 하나 이상의 MHC 유전자 (예컨대 MHC-I 유전자)에서 낮은 돌연변이 부하 (예컨대 약 10개 이하의 돌연변이, B2M에 돌연변이 부재 및/또는 기능성 영역에 돌연변이 부재)를 갖는다.

[0218] 일부 실시 형태에서, (a) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 투여하는 단계; 및 (b) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포의 집단을 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 암에서 낮은 돌연변이 부하를 갖는 것에 기초하여 치료에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포 집단 및 T 세포 집단은 동일한 개체, 예컨대 치료되는 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 돌연변이 부하는 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써 측정된다. 일부 실시 형태에서, 개체는 암에서 하나 이상의 MHC 유전자 (예컨대 MHC-I 유전자)에서 낮은 돌연변이 부하 (예컨대 약 10개 이하의 돌연변이, B2M에 돌연변이 부재 및/또는 기능성 영역에 돌연변이 부재)를 갖는다.

[0219] 일부 실시 형태에서, (a) (예컨대 GM-CSF 및 IL-4의 존재 하에) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하는 단계; (b) (예컨대 복수의 Toll-유사 수용체 (TLR) 작용제의 존재 하에) 수지상 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻는 단계; (c) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (d) (예컨대 복수의 사이토카인 및 임의로 항-CD3 항체의 존재 하에) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 비부착성 PBMC 집단과 공동 배양하여 활성화된 T 세포 집단을 얻는 단계; 및 (e) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 단핵구 집단 및 비부착성 PBMC 집단은 (예컨대 개체로부터의) PBMC 집단으로부터 얻고, 개체는 암에서 낮은 돌연변이 부하를 갖는다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일

내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 비부착성 PBMC의 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 돌연변이 부하는 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써 측정된다. 일부 실시 형태에서, 개체는 암에서 하나 이상의 MHC 유전자 (예컨대 MHC-I 유전자)에서 낮은 돌연변이 부하 (예컨대 약 10개 이하의 돌연변이, B2M에 돌연변이 부재 및/또는 기능성 영역에 돌연변이 부재)를 갖는다.

[0220] 일부 실시 형태에서, (a) 암에서의 돌연변이 부하에 기초하여 상기 방법에 적합한 개체를 선택하는 단계; (b) (예컨대 GM-CSF 및 IL-4의 존재 하에) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하는 단계; (c) (예컨대 복수의 Toll-유사 수용체 (TLR) 작용제의 존재 하에) 수지상 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻는 단계; (d) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (e) (예컨대 복수의 사이토카인 및 임의로 항-CD3 항체의 존재 하에) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 비부착성 PBMC 집단과 공동 배양하여 활성화된 T 세포 집단을 얻는 단계; 및 (f) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 단핵구 집단 및 비부착성 PBMC 집단은 (예컨대 개체로부터의) PBMC 집단으로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 비부착성 PBMC의 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 돌연변이 부하는 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써 측정된다. 일부 실시 형태에서, 개체는 암에서 하나 이상의 MHC 유전자 (예컨대 MHC-I 유전자)에서 낮은 돌연변이 부하 (예컨대 약 10개 이하의 돌연변이, B2M에 돌연변이 부재 및/또는 기능성 영역에 돌연변이 부재)를 갖는다.

[0221] 일부 실시 형태에서, (a) (예컨대 GM-CSF 및 IL-4의 존재 하에) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하는 단계; (b) (예컨대 복수의 Toll-유사 수용체 (TLR) 작용제의 존재 하에) 수지상 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻는 단계; (c) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (d) (예컨대 복수의 사이토카인 및 임의로 항-CD3 항체의 존재 하에) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 비부착성 PBMC 집단과 공동 배양하여 활성화된 T 세포 집단을 얻는 단계; 및 (e) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 단핵구 집단 및 비부착성 PBMC 집단은 (예컨대 개체로부터의) PBMC 집단으로부터 얻고, 암에서 낮은 돌연변이 부하를 갖는 것에 기초하여 치료에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 비부착성 PBMC의 집단을 면역 체크포인트

트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 돌연변이 부하는 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써 측정된다. 일부 실시 형태에서, 개체는 암에서 하나 이상의 MHC 유전자 (예컨대 MHC-I 유전자)에서 낮은 돌연변이 부하 (예컨대 약 10개 이하의 돌연변이, B2M에 돌연변이 부재 및/또는 기능성 영역에 돌연변이 부재)를 갖는다.

[0222] 일부 실시 형태에서, (a) (예컨대 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에) PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 활성화된 PBMC 집단을 얻는 단계; 및 (b) 활성화된 PBMC의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 개체는 암에서 낮은 돌연변이 부하를 갖는다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC의 각 투여 사이의 간격은 약 2주 내지 약 5개월 (예컨대 약 3개월)이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, PBMC의 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 돌연변이 부하는 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써 측정된다. 일부 실시 형태에서, 개체는 암에서 하나 이상의 MHC 유전자 (예컨대 MHC-I 유전자)에서 낮은 돌연변이 부하 (예컨대 약 10개 이하의 돌연변이, B2M에 돌연변이 부재 및/또는 기능성 영역에 돌연변이 부재)를 갖는다.

[0223] 일부 실시 형태에서, (a) 암에서의 돌연변이 부하에 기초하여 상기 방법에 적합한 개체를 선택하는 단계; (b) (예컨대 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에) PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 활성화된 PBMC 집단을 얻는 단계; 및 (c) 활성화된 PBMC의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC의 각 투여 사이의 간격은 약 2주 내지 약 5개월 (예컨대 약 3개월)이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, PBMC의 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 돌연변이 부하는 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써 측정된다. 일부 실시 형태에서, 개체는 암에서 하나 이상의 MHC 유전자 (예컨대 MHC-I 유전자)에서 낮은 돌연변이 부하 (예컨대 약 10개 이하의 돌연변이, B2M에 돌연변이 부재 및/또는 기능성 영역에 돌연변이 부재)를 갖는다.

[0224] 일부 실시 형태에서, (a) (예컨대 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에) PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 활성화된 PBMC 집단을 얻는 단계; 및 (b) 활성화된 PBMC의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 암에서 낮은 돌연변이 부하를 갖는 것에 기초하여 치료에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC의 각 투여 사이의 간격은 약 2주 내지 약 5개월 (예컨대 약 3개월)이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, PBMC의 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1,

CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 돌연변이 부하는 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써 측정된다. 일부 실시 형태에서, 개체는 암에서 하나 이상의 MHC 유전자 (예컨대 MHC-I 유전자)에서 낮은 돌연변이 부하 (예컨대 약 10 개 이하의 돌연변이, B2M에 돌연변이 부재 및/또는 기능성 영역에 돌연변이 부재)를 갖는다.

[0225] 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 유전자의 낮은 돌연변이 부하는 하나 이상의 유전자 상에 축적된 돌연변이의 수가 적다. 일부 실시 형태에서, 약 500, 400, 300, 200, 100, 50, 40, 30, 20, 10, 5개 또는 그 이하 중 어느 하나 보다 적은 돌연변이의 총 수는 낮은 돌연변이 부하를 나타낸다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 MHC 유전자에서 약 50, 40, 30, 25, 20, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개 중 어느 하나 보다 적은 돌연변이는 하나 이상의 MHC 유전자의 낮은 돌연변이 부하를 나타낸다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 유전자의 낮은 돌연변이 부하는 하나 이상의 유전자 (예컨대 MHC 유전자) 상에 축적된 돌연변이 수와 선택된 유전자 세트 (예컨대 암-관련 유전자) 또는 전체 게놈에서의 돌연변이의 총 수 사이의 낮은 비율이다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 MHC 유전자에서의 돌연변이의 수와 실시예 5에 기재된 333개의 암-관련 유전자에서의 총 수 사이의 약 1:10, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30, 1:40, 1:50, 1:60, 1:70, 1:80, 1:90, 1:100, 1:200 또는 또는 그 이하 중 어느 하나보다 작은 비율은 하나 이상의 MHC 유전자의 낮은 돌연변이 부하를 나타낸다.

[0226] 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 MHC 유전자는 MHC 클래스 I 유전자 (또는 유전자좌)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 MHC 유전자는 MHC 클래스 II 유전자 (또는 유전자좌)를 포함한다. 개체가 인간 개체인 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 MHC 유전자는 HLA-A, HLA-B, HLA-C 및 B2M으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0227] 예시적인 돌연변이에는 결실, 프레임시프트, 삽입, 삽입-결실, 미스센스 돌연변이, 넌센스 돌연변이, 점 돌연변이, 복제수 변이, 단일 뉴클레오타이드 변이 (SNV), 침묵 돌연변이, 스플라이스 부위 돌연변이, 스플라이스 변이, 유전자 융합 및 전좌가 포함되나, 이에 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에서, MHC 유전자의 복제수 변이는 염색체 또는 이의 단편의 결실, 중복, 역위 및 전좌를 포함하는 게놈의 구조적 재배열에 의해 유발된다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 MHC 유전자에서의 돌연변이는 점 돌연변이, 프레임시프트 돌연변이, 유전자 융합 및 복제수 변이로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, 돌연변이는 MHC 유전자의 단백질-암호화 영역에 존재한다. 일부 실시 형태에서, 돌연변이는 비동의성(nonsynonymous) 돌연변이이다. 일부 실시 형태에서, 돌연변이는 다형성이 아니다. 일부 실시 형태에서, 돌연변이는 개체의 정상 세포에 존재한다. 일부 실시 형태에서, 돌연변이는 개체의 정상 세포에 존재하지 않는다. 일부 실시 형태에서, 돌연변이는 영향을 받은 유전자에 의해 암호화되는 MHC 분자의 안정성 또는 결합 친화력과 같은 물리화학적 또는 기능적 특성에 영향을 준다. 일부 실시 형태에서, 돌연변이는 MHC 분자에서 비가역적 결합을 초래한다. 일부 실시 형태에서, 돌연변이는 T 세포 에피토프 및/또는 T 세포 수용체에 대한 MHC 분자의 결합 친화력 감소시킨다. 일부 실시 형태에서, 돌연변이는 기능 상실 돌연변이이다. 일부 실시 형태에서, 돌연변이는 MHC 분자에 가역적 결합을 초래한다. 일부 실시 형태에서, 돌연변이는 T 세포 에피토프 및/또는 T 세포 수용체에 대한 MHC 분자의 결합 친화력에 영향을 주지 않는다. 일부 실시 형태에서, 돌연변이는 체성 돌연변이이다. 일부 실시 형태에서, 돌연변이는 배선(germline) 돌연변이이다.

[0228] 돌연변이 부하로 계산되는 돌연변이는 모든 암 세포 또는 암 세포의 서브세트에 존재할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 돌연변이는 개체의 모든 암세포에 존재한다. 일부 실시 형태에서, 돌연변이는 종양 부위의 모든 암 세포에 존재한다. 일부 실시 형태에서, 돌연변이는 클론성이다. 일부 실시 형태에서, 돌연변이는 아클론성이다. 일부 실시 형태에서, 돌연변이는 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 그 이상 중 어느 하나 이상의 개체의 암 세포에 존재한다.

[0229] 특정 MHC 유전자 및/또는 하나 이상의 MHC 유전자의 특정 도메인 또는 위치에서의 돌연변이는 본 명세서에 기재된 MASCT 방법에 대한 개체의 임상 반응에 더 큰 영향을 줄 수 있다. 예를 들어, 기능 상실 돌연변이는 HLA 분자의 리더 펩티드 서열, (T 세포의 CD8 공수용체에 결합하는) a3 도메인, a1 펩티드 결합 도메인 또는 a2 펩티드 결합 도메인에서 발생할 수 있으며; 예를 들어, 본 명세서에 참고로 포함되는 문헌 [Shukla S. *et al. Nature Biotechnology* 33, 1152-1158 (2015)]을 참조한다. B2M (β 2-마크로글로불린) 유전자에서의 돌연변이는 또한 종양 도피(tumor escape) 표현형을 촉진할 수 있다. 예를 들어, 문헌[Monica B *et al. Cancer Immunol. Immun.*, (2012) 61: 1359-1371]을 참조한다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 MHC 유전자의 기능성 영역, 예컨대 리더 펩티드 서열, a1 도메인, a2 도메인 또는 a3 도메인에서의 임의의 수 (예컨대 1, 2, 3, 4, 5 또는 그 이상)의 돌연변이의 존재는 높은 돌연변이 부하를 나타낸다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 MHC 유전자 (예컨대 인간 개체에서 HLA-A, HLA-B 또는 HLA-C 유전자)에서의 임의의 수 (예컨대 1, 2, 3, 4, 5 또는

그 이상)의 기능 상실 돌연변이의 존재는 높은 돌연변이 부하를 나타낸다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 MHC 유전자에서의 낮은 돌연변이 부하는 리더 펩티드 서열, a1 도메인 (예를 들어, CD8 공수용체와 직접 접촉하는 잔기), a2 도메인 및 a3 도메인 (예를 들어, 에피토프와 직접 접촉하는 잔기)을 포함하는, 하나 이상의 MHC 유전자 (예컨대 HLA-A, HLA-B 또는 HLA-C 유전자)의 기능성 영역에 돌연변이를 포함하지 않는다. 일부 실시 형태에서, B2M 유전자에서의 임의의 수의 돌연변이 (예컨대 기능 상실 돌연변이)의 존재는 높은 돌연변이 부하를 나타낸다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 MHC 유전자에서의 낮은 돌연변이 부하는 B2M 유전자에 돌연변이를 포함하지 않는다.

[0230] 하나 이상의 유전자 (예컨대 MHC 유전자)의 돌연변이 부하는 게놈 DNA 시퀀싱, 엑솜 시퀀싱 또는 생어(Sanger) 시퀀싱 또는 차세대 시퀀싱 플랫폼을 사용하는 다른 DNA 시퀀싱 기반 방법; 중합효소 연쇄 반응 분석; 원위치 혼성화 분석; 및 DNA 마이크로어레이를 포함하나, 이에 한정되지 않는 본 기술 분야에 알려진 임의의 방법에 의해 측정될 수 있다.

[0231] 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 MHC 유전자의 돌연변이 부하는 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써 측정된다. 일부 실시 형태에서, 상기 시퀀싱은 차세대 시퀀싱이다. 일부 실시 형태에서, 상기 시퀀싱은 전체 게놈 시퀀싱이다. 일부 실시 형태에서, 상기 시퀀싱은 엑솜 시퀀싱이다. 일부 실시 형태에서, 상기 시퀀싱은 후보 유전자, 예컨대 암-관련 유전자 + HLA 유전자를 표적화한 시퀀싱이다. 예를 들어, HLA 유전자와 및 암-관련 유전자를 높은 시퀀싱 배수(depth)로 시퀀싱하기 위해 온코지손(ONCOGXONE)TM 플러스 (애드머라 헬스(Admera Health))를 이용할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 동일한 시퀀싱 데이터를 사용하여 하나 이상의 MHC 유전자의 돌연변이 부하를 측정하고 개체의 신생항원을 확인할 수 있다.

[0232] 일부 실시 형태에서, 종양 샘플은 조직 샘플이다. 일부 실시 형태에서, 종양 샘플은 종양 생검 샘플, 예컨대 종양 세포의 세침흡인 또는 복강경 검사로 얻은 종양 세포 (예컨대 종양 기질을 포함함)이다. 일부 실시 형태에서, 종양 샘플은 새로 수득된다. 일부 실시 형태에서, 종양 샘플은 동결된다. 일부 실시 형태에서, 종양 샘플은 포름알데히드 고정-과라핀 포매 (FFPE) 샘플이다. 일부 실시 형태에서, 종양 샘플은 세포 샘플이다. 일부 실시 형태에서, 종양 샘플은 순환 전이성 암 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 종양 샘플은 혈액으로부터 순환 종양 세포 (CTC)를 분류함으로써 수득된다. 일부 실시 형태에서, 핵산 (예컨대 DNA 및/또는 RNA)은 시퀀싱 분석을 위해 종양 샘플로부터 추출된다. 일부 실시 형태에서, 종양 샘플의 시퀀싱 데이터를, 동일 개체의 건강한 조직의 샘플 또는 건강한 개체의 샘플과 같은 참조 샘플의 시퀀싱 데이터와 비교하여 종양 세포에서 돌연변이를 확인하고 돌연변이 부하를 측정한다. 일부 실시 형태에서, 종양 샘플의 시퀀싱 데이터를 게놈 데이터베이스로부터의 참조 서열과 비교하여 종양 세포에서 돌연변이를 확인하고 돌연변이 부하를 측정한다.

[0233] 신생항원 펩티드

[0234] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 MASCT 방법은 하나 이상의 신생항원을 갖는 개체를 치료하는 데 특히 적합하다. 복수의 종양 항원 펩티드에서 하나 이상의 신생항원 펩티드를 사용하는, 본 명세서에 기재된 임의의 MASCT 방법은 개체에 하나 이상 (예컨대 적어도 5종)의 신생항원을 갖는 것에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택하는 단계 및/또는 (i) 개체에서 신생항원을 동정하는 단계; 및 (ii) MASCT 방법에서 사용하기 위한 복수의 종양 항원 펩티드에 신생항원으로부터 유래된 신생항원 펩티드를 혼입하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0235] 따라서, 일부 실시 형태에서, (a) 개체의 신생항원을 동정하는 단계; (b) 신생항원에 네오에피토프를 포함하는 신생항원 펩티드를 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입하는 단계; (c) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 제조하는 단계; (d) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 투여하는 단계; (e) T 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 공동 배양하는 단계; 및 (f) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 개체는 하나 이상의 신생항원을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포 집단 및 T 세포 집단은 동

일한 개체, 예컨대 치료되는 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 복수의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 (예컨대 하나 이상의 MHC 유전자의) 낮은 돌연변이 부하에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다.

[0236]

일부 실시 형태에서, (a) 개체에 하나 이상 (예컨대 적어도 5종)의 신생항원을 갖는 것에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택하는 단계; (b) 개체의 신생항원을 동정하는 단계; (c) 신생항원에 네오에피토프를 포함하는 신생항원 펩티드를 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입하는 단계; (d) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 제조하는 단계; (e) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 투여하는 단계; (f) T 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 공동 배양하는 단계; 및 (g) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포 집단 및 T 세포 집단은 동일한 개체, 예컨대 치료되는 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 복수의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 (예컨대 하나 이상의 MHC 유전자의) 낮은 돌연변이 부하에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다.

[0237]

일부 실시 형태에서, (a) 개체의 신생항원을 동정하는 단계; (b) 신생항원에 네오에피토프를 포함하는 신생항원 펩티드를 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입하는 단계; (c) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 제조하는 단계; (d) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 투여하는 단계; (e) T 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 공동 배양하는 단계; 및 (f) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 하나 이상 (예컨대 적어도 5종)의 신생항원을 갖는 것에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포 집단 및 T 세포 집단은 동일한 개체, 예컨대 치료되는 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 복수의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 (예컨대 하나 이상의 MHC 유전자의) 낮은 돌연변이 부하에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다.

[0238]

일부 실시 형태에서, (a) 개체의 신생항원을 동정하는 단계; (b) 신생항원에 네오에피토프를 포함하는 신생항원

펩티드를 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입하는 단계; (c) (예컨대 GM-CSF 및 IL-4의 존재 하에) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하는 단계; (d) (예컨대 복수의 Toll-유사 수용체 (TLR) 작용제의 존재 하에) 수지상 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻는 단계; (e) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (f) (예컨대 복수의 사이토카인 및 임의로 항-CD3 항체의 존재 하에) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 비부작성 PBMC 집단과 공동 배양하여 활성화된 T 세포 집단을 얻는 단계; 및 (g) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 단핵구 집단 및 비부작성 PBMC 집단은 (예컨대 개체로부터의) PBMC 집단으로부터 얻고, 개체는 하나 이상의 신생항원을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 비부작성 PBMC의 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 개체의 복수의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 (예컨대 하나 이상의 MHC 유전자의) 낮은 돌연변이 부하에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다.

[0239]

일부 실시 형태에서, (a) 개체에 하나 이상 (예컨대 적어도 5종)의 신생항원을 갖는 것에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택하는 단계; (b) 개체의 신생항원을 동정하는 단계; (c) 신생항원에 네오에피토프를 포함하는 신생항원 펩티드를 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입하는 단계; (d) (예컨대 GM-CSF 및 IL-4의 존재 하에) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하는 단계; (e) (예컨대 복수의 Toll-유사 수용체 (TLR) 작용제의 존재 하에) 수지상 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻는 단계; (f) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (g) (예컨대 복수의 사이토카인 및 임의로 항-CD3 항체의 존재 하에) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 비부작성 PBMC 집단과 공동 배양하여 활성화된 T 세포 집단을 얻는 단계; 및 (h) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 단핵구 집단 및 비부작성 PBMC 집단은 (예컨대 개체로부터의) PBMC 집단으로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 비부작성 PBMC의 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 개체의 복수의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 (예컨대 하나 이상의 MHC 유전자의) 낮은 돌연변이 부하에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다.

[0240]

일부 실시 형태에서, (a) 개체의 신생항원을 동정하는 단계; (b) 신생항원에 네오에피토프를 포함하는 신생항원 펩티드를 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입하는 단계; (c) (예컨대 GM-CSF 및 IL-4의 존재 하에) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하는 단계; (d) (예컨대 복수의 Toll-유사 수용체 (TLR) 작용제의 존재 하에) 수지상 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의

집단을 얻는 단계; (e) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (f) (예컨대 복수의 사이토카인 및 임의로 항-CD3 항체의 존재 하에) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 비부작성 PBMC 집단과 공동 배양하여 활성화된 T 세포 집단을 얻는 단계; 및 (g) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 단핵구 집단 및 비부작성 PBMC 집단은 (예컨대 개체로부터의) PBMC 집단으로부터 얻고, 하나 이상 (예컨대 적어도 5종)의 신생항원을 갖는 것에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 비부작성 PBMC의 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 개체의 복수의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 (예컨대 하나 이상의 MHC 유전자의) 낮은 돌연변이 부하에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다.

[0241] 일부 실시 형태에서, (a) 개체의 신생항원을 동정하는 단계; (b) 신생항원에 네오에피토프를 포함하는 신생항원 펩티드를 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입하는 단계; (c) (예컨대 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에) PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 활성화된 PBMC 집단을 얻는 단계; 및 (d) 활성화된 PBMC의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 개체는 하나 이상의 신생항원을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC의 각 투여 사이의 간격은 약 2주 내지 약 5개월 (예컨대 약 3개월)이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, PBMC의 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 복수의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 (예컨대 하나 이상의 MHC 유전자의) 낮은 돌연변이 부하에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다.

[0242] 일부 실시 형태에서, (a) 개체에 하나 이상 (예컨대 적어도 5종)의 신생항원을 갖는 것에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택하는 단계; (b) 개체의 신생항원을 동정하는 단계; (c) 신생항원에 네오에피토프를 포함하는 신생항원 펩티드를 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입하는 단계; (d) (예컨대 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에) PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 활성화된 PBMC 집단을 얻는 단계; 및 (e) 활성화된 PBMC의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC의 각 투여 사이의 간격은 약 2주 내지 약 5개월 (예컨대 약 3개월)이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, PBMC 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 복수의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 (예컨대 하나 이상의 MHC 유전자의) 낮은 돌연변이 부하에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다.

[0243] 일부 실시 형태에서, (a) 개체의 신생항원을 동정하는 단계; (b) 신생항원에 네오에피토프를 포함하는 신생항원 펩티드를 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입하는 단계; (c) (예컨대 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에) PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 활성화된 PBMC 집단을 얻는 단계; 및 (d) 활성화된 PBMC의 유효량

을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 하나 이상 (예컨대 적어도 5종)의 신생항원을 갖는 것에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC의 각 투여 사이의 간격은 약 2주 내지 약 5개월 (예컨대 약 3개월)이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, PBMC 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 복수의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 (예컨대 하나 이상의 MHC 유전자의) 낮은 돌연변이 부하에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다.

[0244] 개체는 신생항원 펩티드를 포함하는 복수의 종양 항원 펩티드를 사용하는 MASCT 방법의 이점을 얻기 위해 임의의 수 (예컨대 적어도 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 50, 100개 또는 그 이상 중 어느 하나)의 신생항원을 가질 수 있다. 일부 실시 형태에서, MASCT 방법은 적어도 약 4, 5, 6, 7, 8, 10, 15, 20, 50, 100개 또는 그 이상 중 어느 하나의 신생항원을 갖는 개체에 특히 적합하다. 일부 실시 형태에서, 신생항원은 하나 이상의 네오에피토프를 포함한다. 일부 실시 형태에서, MASCT 방법은 적어도 약 4, 5, 6, 7, 8, 10, 15, 20, 50, 100개 또는 그 이상 중 어느 하나의 네오에피토프를 갖는 개체에 특히 적합하다. 일부 실시 형태에서, T 세포 에피토프는 MHC-I 제한 에피토프이다. 일부 실시 형태에서, 네오에피토프는 대응하는 야생형 T 세포 에피토프보다 개체의 MHC 분자에 대해 더 높은 친화력을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 네오에피토프는 대응하는 야생형 T 세포 에피토프보다 모델 T 세포 수용체에 대해 더 높은 친화력을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 신생항원 (또는 네오에피토프)은 클론 신생항원이다. 일부 실시 형태에서, 신생항원 (또는 네오에피토프)은 아클론 신생항원이다. 일부 실시 형태에서, 신생항원 (또는 네오에피토프)은 적어도 개체의 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 그 이상 중 어느 하나의 종양 세포에 존재한다.

[0245] 신생항원의 수를 다른 바이오마커 또는 선택 기준과 함께 조합하여 본 명세서에 기재된 임의의 MASCT 방법에 적합한 개체를 선택할 수 있다. 일부 실시 형태에서, MASCT 방법은 암 세포에서 (예컨대 하나 이상의 MHC 유전자에서) 낮은 돌연변이 부하 및 적어도 약 4, 5, 6, 7, 8, 10개 또는 그 이상 중 어느 하나의 신생항원 (예컨대 높은 친화력 MHC-I 제한 네오에피토프를 갖는 신생항원)을 갖는 개체에 특히 적합하다.

[0246] 일부 실시 형태에서, 개체의 암에서의 돌연변이 부하 및/또는 개체의 신생항원의 수에 기초하여 개체의 예후를 제공하는 방법이 제공되며, 여기서 예후는 본 명세서에 기재된 임의의 MASCT 방법에 대한 개체의 임상 반응을 예측한다. 일부 실시 형태에서, 개체는 예후에 기초하여 하기 3가지 범주 중 하나로 분류된다: (1) MHC-제한 개입 (예컨대 MASCT 치료)으로부터의 이점을 얻음; (2) MHC-제한 개입 (예컨대 MASCT 치료)으로부터의 잠재적 이점을 얻음; 및 (3) MHC-제한 개입 (예컨대 MASCT 치료)으로부터의 이점이 없음. 일부 실시 형태에서, 개체의 B2M 유전자에 돌연변이가 없는 경우, MHC 유전자의 기능성 영역 (예컨대 리더 펩티드 서열, a1 도메인, a2 도메인 또는 a3 도메인)에 돌연변이가 없는 경우, MHC-I 유전자 (예컨대 HLA-I A, B 및/또는 C 유전자)에 2개 이하의 돌연변이가 있는 경우 및/또는 5개 초과 돌연변이가 있는 경우, 개체는 MHC-제한 개입 (예컨대 MASCT 치료)으로부터 이점을 얻을 것으로 예측된다. 일부 실시 형태에서, 개체의 B2M 유전자에 돌연변이가 없는 경우, MHC 유전자의 기능성 영역 (예컨대 리더 펩티드 서열, a1 도메인, a2 도메인 또는 a3 도메인)에 돌연변이가 없는 경우, MHC-I 유전자 (예컨대 HLA-I A, B 및/또는 C 유전자)에 약 10개 이하의 돌연변이가 있는 경우 및/또는 5개 이하의 돌연변이가 있는 경우, 개체는 MHC-제한 개입 (예컨대 MASCT 치료)으로부터 잠재적으로 이점을 얻을 것으로 예측된다. 일부 실시 형태에서, 개체의 B2M에 돌연변이가 있는 경우 또는 MHC 유전자 (예컨대 MHC-I 유전자)에 높은 돌연변이 부하 (예컨대 적어도 10개의 돌연변이)를 가지는 경우, 개체는 MHC-제한 개입 (예컨대 MASCT 치료)로 인한 이점을 얻지 못할 것으로 예측된다. 일부 실시 형태에서, 개체가 MHC-제한 개입 (예컨대 MASCT 치료)으로부터 이익을 얻거나 잠재적으로 이익을 얻을 것으로 예측되는 경우, 개체가 MASCT 방법을 위해 선택된다.

[0247] 본 명세서에 기재된 임의의 MASCT 방법에서 사용하기 위해, 임의의 수 (예컨대 임의의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 이상 중 어느 하나)의 신생항원 펩티드가 개체의 신생항원에 기초하여 설계되어 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 단일 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 복수의 신생항원 펩티드를 포함한다. 각각의 신생항원 펩티드는 개체의 신생항원으로부터의 하나 이상의 네오에피토프를 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 네오

에피토프는 T 세포 에피토프이다. 신생항원에 기초하여 신생항원 펩티드를 설계하는 방법이 "복수의 종양 항원 펩티드" 섹션에 기재되어 있다.

- [0248] 본 기술 분야에 알려진 임의의 방법을 사용하여 개체의 신생항원을 동정할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 신생항원을 개체로부터의 종양 샘플의 유전자 프로파일에 기초하여 동정한다. 각각의 신생항원은 하나 이상의 네오에피토프를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 신생항원의 하나 이상의 네오에피토프는 종양 샘플의 유전자 프로파일에 기초하여 동정된다. 임의의 알려진 유전자 프로파일링 방법, 예컨대 차세대 시퀀싱 (NGS) 방법, 마이크로어레이 또는 단백질체학적(proteomic) 방법을 사용하여, 종양 샘플의 유전자 프로파일을 제공할 수 있다.
- [0249] 일부 실시 형태에서, 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써 신생항원을 동정한다. 일부 실시 형태에서, 상기 시퀀싱은 차세대 시퀀싱이다. 일부 실시 형태에서, 상기 시퀀싱은 전체 게놈 시퀀싱이다. 일부 실시 형태에서, 상기 시퀀싱은 엑솜 시퀀싱이다. 일부 실시 형태에서, 상기 시퀀싱은 후보 유전자, 예컨대 암-관련 유전자를 표적화한 시퀀싱이다. 암-관련 유전자를 높은 시퀀싱 배수로 시퀀싱하기 위해 많은 상업적 NGS 암 패널(cancer panel), 예를 들어, 온코지스TM 플러스 (애드머라 헬스)를 이용할 수 있다.
- [0250] 일부 실시 형태에서, 종양 샘플은 조직 샘플이다. 일부 실시 형태에서, 종양 샘플은 종양 생검 샘플, 예컨대 종양 세포의 세침흡인 또는 복강경 검사로 얻은 종양 세포 (예컨대 종양 기질을 포함함)이다. 일부 실시 형태에서, 종양 샘플은 새로 수득된다. 일부 실시 형태에서, 종양 샘플은 동결된다. 일부 실시 형태에서, 종양 샘플은 포르말라데히드 고정-파라핀 포매 (FFPE) 샘플이다. 일부 실시 형태에서, 종양 샘플은 세포 샘플이다. 일부 실시 형태에서, 종양 샘플은 순환 전이성 암 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 종양 샘플은 혈액으로부터 순환 종양 세포 (CTC)를 분류함으로써 수득된다. 일부 실시 형태에서, 핵산 (예컨대 DNA 및/또는 RNA)은 시퀀싱 분석을 위해 종양 샘플로부터 추출된다. 일부 실시 형태에서, 단백질은 시퀀싱 분석을 위해 종양 샘플로부터 추출된다.
- [0251] 일부 실시 형태에서, 종양 샘플의 유전자 프로파일을 동일 개체의 건강한 조직의 샘플 또는 건강한 개체의 샘플과 같은 참조 샘플의 유전자 프로파일과 비교하여 종양 세포의 후보 돌연변이 유전자를 동정한다. 일부 실시 형태에서, 종양 샘플의 유전자 프로파일을 게놈 데이터베이스로부터의 참조 서열과 비교하여 종양 세포에서 후보 돌연변이 유전자를 동정한다. 일부 실시 형태에서, 후보 돌연변이 유전자는 암-관련 유전자이다. 일부 실시 형태에서, 각각의 후보 돌연변이 유전자는 신생항원을 생성할 수 있는 하나 이상의 돌연변이, 예컨대 비동의성 치환, 삽입-결실 (삽입 또는 결실) 또는 유전자 융합을 포함한다. 공통 단일 염기 다형성 (SNP)은 후보 돌연변이에서 제외된다.
- [0252] 일부 실시 형태에서, 신생항원의 네오에피토프는 후보 돌연변이 단백질로부터 동정된다. 일부 실시 형태에서, 네오에피토프는 컴퓨터 모의실험(in silico)으로 예측된다. T 세포 에피토프 예측을 위한 예시적인 생물정보학 도구가 본 기술 분야에 알려져 있으며, 예를 들어, 문헌[Yang X. and Yu X. (2009) "An introduction to epitope prediction methods and software" *Rev. Med. Virol.* 19(2): 77-96]을 참조한다. T 세포 에피토프 예측 알고리즘에서 고려되는 인자에는 개체의 MHC 아형, T 세포 에피토프의 서열-유도된 물리화학적 특성, MHC 결합 모티프, 프로테아좀에 의한 절단 패턴(proteasomal cleavage pattern), 항원 처리 관련 운반체 (TAP)의 운반 효율, MHC 결합 친화력, 펩티드-MHC 안정성 및 T-세포 수용체 결합 친화력이 포함되나, 이에 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에서, 네오에피토프는 MHC-I 제한 에피토프이다. 일부 실시 형태에서, 네오에피토프는 MHC-II 제한 에피토프이다.
- [0253] 일부 실시 형태에서, 네오에피토프는 개체의 MHC 분자에 대해 높은 친화력을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은, 예를 들어, 시퀀싱 데이터로부터 개체의 MHC 아형을 결정하여, 개체의 하나 이상의 MHC 분자를 확인하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 MHC 분자, 예컨대 MHC 클래스 I 분자에 대한 네오에피토프의 친화력을 측정하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 개체의 하나 이상의 MHC (예컨대 MHC 클래스 I) 분자에 대한 네오에피토프의 친화력을 측정하는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 개체의 하나 이상의 MHC 분자에 대한 네오에피토프의 친화력을 개체의 하나 이상의 MHC 분자에 대한 대응하는 야생형 에피토프의 친화력과 비교한다. 일부 실시 형태에서, 네오에피토프는 개체의 하나 이상의 MHC 분자 (예컨대 MHC-I 분자)에 대해 대응하는 야생형 에피토프보다 더 높은 (예컨대 적어도 약 1.5, 2, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 100배 또는 그 이상 중 어느 하나) 친화력을 갖는 것으로 선택된다. 일부 실시 형태에서, MHC 결합 친화력은 본 기술 분야에 알려진 임의의 도구 또는 방법을 사용하는 컴퓨터 모의실험으로 예측된다. 일부 실시 형태에서, MHC 결합 친화력을, 예를 들어, 시험관 내 결합 검정을 사용하여 실험적으로 측정한다.
- [0254] 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 네오에피토프 및 MHC 분자 (예컨대 개체의 MHC 클래스 I 분자)를 포함하는 복

합체의 T 세포 수용체에 대한 친화력을 측정하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 네오에피토프 및 MHC 분자를 포함하는 복합체의 T 세포 수용체에 대한 친화력을 대응하는 야생형 에피토프 및 MHC 분자를 포함하는 복합체와 비교한다. 일부 실시 형태에서, MHC 분자는 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, T 세포 수용체는 개체의 하나 이상의 T 세포의 표면 상에 존재한다. 일부 실시 형태에서, 네오에피토프는 네오에피토프 및 MHC 분자를 포함하는 복합체에서 대응하는 야생형 에피토프보다 T 세포 수용체 모델에 대해 더 높은 (예컨대 적어도 약 1.5, 2, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 100배 또는 그 이상 중 어느 하나) 친화력을 갖는 것으로 선택된다. 일부 실시 형태에서, TCR 결합 친화력을 본 기술 분야에 알려진 임의의 도구 또는 방법을 사용하는 컴퓨터 모의실험으로 예측한다. 일부 실시 형태에서, TCR 결합 친화력을, 예를 들어, 네오에피토프에 대한 T 세포 반응을 측정함으로써 실험적으로 측정한다.

[0255] 일부 실시 형태에서, 신생항원 (또는 네오에피토프)은 종양 샘플에서의 신생항원 (또는 네오에피토프)의 발현 수준에 기초하여 추가로 동정된다. 신생항원 (또는 네오에피토프)의 발현 수준은 RT-PCR, 항체 기반 분석, 질량 분석과 같은 본 기술 분야에 알려진 mRNA 또는 단백질의 수준을 정량화하는 임의의 방법을 사용하여 측정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 신생항원 (또는 네오에피토프)의 발현 수준은 종양 샘플의 시퀀싱 데이터로부터 측정된다. 일부 실시 형태에서, 신생항원 (또는 네오에피토프)은 종양 세포에서 세포당 적어도 약 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000, 5000, 10^4 개 또는 그 이상 중 어느 하나의 카피 수준으로 발현된다. 일부 실시 형태에서, 신생항원 (또는 네오에피토프)은 종양 세포에서 대응하는 야생형 단백질 (또는 대응하는 야생형 에피토프)보다 약 1.5, 2, 5, 10, 20, 50, 100배 또는 그 이상 중 어느 하나보다 큰 수준으로 발현된다.

[0256] 일부 실시 형태에서, (a) 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱하여 신생항원을 동정하는 단계; (b) 신생항원의 네오에피토프를 동정하는 단계; 임의로 (c) (예를 들어, 시퀀싱 데이터를 사용하여) 개체의 MHC 아형을 결정하여 개체의 MHC 분자를 동정하는 단계; 임의로 (d) 개체의 MHC 분자에 대한 네오에피토프의 친화력을 측정하는 단계; 임의로 (e) T 세포 수용체에 대한 네오에피토프 및 MHC 분자를 포함하는 복합체의 친화력을 측정하는 단계; 및 (f) 네오에피토프를 포함하는 펩티드를 얻어 신생항원 펩티드를 제공하는 단계를 포함하는, 단계에 의해 신생항원 펩티드를 선택하거나 동정한다. 일부 실시 형태에서, 네오에피토프는 대응하는 야생형 T 세포 에피토프 및 MHC 분자를 포함하는 복합체와 비교하여, 개체의 MHC 분자 (예컨대 MHC-I 분자)에 대해 더 높은 친화력 및/또는 네오에피토프와 MHC 분자를 포함하는 복합체에서 TCR에 대해 더 높은 친화력을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 네오에피토프는 연장된 서열을 얻기 위해 에피토프를 보유하는 신생항원의 천연 서열에 따라, N 말단, C 말단 또는 양쪽 말단에서 연장되며, 상기 연장된 서열은 클래스 I 및 클래스 II MHC 분자 둘 모두에 의한 제시에 적합하다. 하나 이상의 신생항원 펩티드를 사용하는 본 명세서에 기재된 임의의 MASCT 방법은 하나 이상의 신생항원 선택/동정 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0257] 따라서, 일부 실시 형태에서, (a) 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱하여 신생항원을 동정하는 단계; (b) 신생항원의 네오에피토프를 동정하는 단계; 임의로 (c) (예를 들어, 시퀀싱 데이터를 사용하여) 개체의 MHC 아형을 결정하여 개체의 MHC 분자를 동정하는 단계; 임의로 (d) 개체의 MHC 분자에 대한 네오에피토프의 친화력을 측정하는 단계; 임의로 (e) T 세포 수용체에 대한 네오에피토프 및 MHC 분자를 포함하는 복합체의 친화력을 측정하는 단계; (f) 네오에피토프를 포함하는 신생항원 펩티드를 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입하는 단계; (g) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 제조하는 단계; (h) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 투여하는 단계; (i) T 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 공동 배양하는 단계; 및 (j) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포 집단 및 T 세포 집단은 동일한 개체, 예컨대 치료되는 개체로부터 유래한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 복수의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트

억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 (예컨대 하나 이상의 MHC 유전자의) 낮은 돌연변이 부하에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 개체에 하나 이상 (예컨대 적어도 5종)의 신생항원을 갖는 것에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택하는 단계를 추가로 포함한다.

[0258]

일부 실시 형태에서, (a) 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱하여 신생항원을 동정하는 단계; (b) 신생항원의 네오에피토프를 동정하는 단계; 임의로 (c) (예를 들어, 시퀀싱 데이터를 사용하여) 개체의 MHC 아형을 결정하여 개체의 MHC 분자를 동정하는 단계; 임의로 (d) 개체의 MHC 분자에 대한 네오에피토프의 친화력을 측정하는 단계; 임의로 (e) T 세포 수용체에 대한 네오에피토프 및 MHC 분자를 포함하는 복합체의 친화력을 측정하는 단계; (f) 네오에피토프를 포함하는 신생항원 펩티드를 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입하는 단계; (g) (예컨대 GM-CSF 및 IL-4의 존재 하에) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하는 단계; (h) (예컨대 복수의 Toll-유사 수용체 (TLR) 작용제의 존재 하에) 수지상 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻는 단계; (i) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (j) (예컨대 복수의 사이토카인 및 임의로 항-CD3 항체의 존재 하에) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 비부착성 PBMC 집단과 공동 배양하여 활성화된 T 세포 집단을 얻는 단계; 및 (k) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 단핵구 집단 및 비부착성 PBMC 집단은 (예컨대 개체로부터의) PBMC 집단으로부터 얻고, 개체는 하나 이상의 신생항원을 갖는다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 비부착성 PBMC의 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 개체의 복수의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 (예컨대 하나 이상의 MHC 유전자의) 낮은 돌연변이 부하에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 개체에 하나 이상 (예컨대 적어도 5종)의 신생항원을 갖는 것에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택하는 단계를 추가로 포함한다.

[0259]

일부 실시 형태에서, (a) 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱하여 신생항원을 동정하는 단계; (b) 신생항원의 네오에피토프를 동정하는 단계; 임의로 (c) (예를 들어, 시퀀싱 데이터를 사용하여) 개체의 MHC 아형을 결정하여 개체의 MHC 분자를 동정하는 단계; 임의로 (d) 개체의 MHC 분자에 대한 네오에피토프의 친화력을 측정하는 단계; 임의로 (e) T 세포 수용체에 대한 네오에피토프 및 MHC 분자를 포함하는 복합체의 친화력을 측정하는 단계; (f) 네오에피토프를 포함하는 신생항원 펩티드를 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입하는 단계; (g) (예컨대 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에) PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 활성화된 PBMC 집단을 얻는 단계; 및 (h) 활성화된 PBMC의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC의 각 투여 사이의 간격은 약 2주 내지 약 5개월 (예컨대 약 3개월)이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, PBMC 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 복수의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 (예컨대 하나 이상의 MHC 유전자의) 낮은 돌연변이 부하에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다.

[0260] **MASCT 후 모니터링**

[0261] 본 명세서에 기재된 임의의 MASCT 방법은 개체가 MASCT를 받은 후 모니터링 단계를 추가로 포함할 수 있다. 치료 후 모니터링은 치료 결과를 최적화하기 위해 개체의 치료 계획을 조정하는데 유익할 수 있다.

[0262] 예를 들어, 본 명세서에 기재된 복수의 종양 항원 펩티드는 복수의 맞춤형 종양 항원 펩티드를 제공하도록 복수의 종양 항원 펩티드 각각에 대한 개체의 특이적 면역 반응 및/또는 활성화된 T 세포 또는 활성화된 PBMC에 대한 개체의 임상 반응에 기초하여 조정되거나 맞춤화될 수 있으며, 이는 반복되는 MASCT 치료(들)에 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 강력한 특이적 면역 반응을 유도하지 않는 종양 항원 펩티드는 펄싱된 DC, 활성화된 T 세포 또는 활성화된 PBMC의 이후의 제조를 위해서 항원 펩티드 풀에서 제거될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 개체가 하나의 항원 펩티드 풀을 사용하는 MASCT 치료에 반응하지 않는 경우 (예컨대 질환 진행, 전이 등의 증후가 있는 경우), 항원 펩티드 풀을 조정하거나, MASCT 치료의 제2 사이클에 사용하기 위해 신생항원을 항원 펩티드 풀에 혼입할 수 있다.

[0263] 따라서, 일부 실시 형태에서, (a) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (b) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포의 집단을 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; 및 (c) 활성화된 T 세포의 투여 후에 개체를 모니터링하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포 집단 및 T 세포 집단은 동일한 개체, 예컨대 치료되는 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 (예컨대 하나 이상의 MHC 유전자의) 낮은 돌연변이 부하에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 개체에 하나 이상 (예컨대 적어도 5종)의 신생항원을 갖는 것에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 개체의 신생항원을 동정하는 단계 (예컨대 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써) 및 신생항원에 네오에피토프를 포함하는 신생항원 펩티드를 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 활성화된 T 세포의 투여 후에 개체를 모니터링하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 모니터링하는 단계는 개체에서 순환 종양 세포 (CTC)의 수를 측정하는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 모니터링하는 단계는 개체에서 복수의 종양 항원 펩티드에 대한 특이적 면역 반응을 검출하는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 복수의 맞춤형 종양 항원 펩티드를 제공하기 위해 특이적 면역 반응에 기초하여 조정된다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 복수의 맞춤형 종양 항원 펩티드를 사용하여 반복된다.

[0264] 일부 실시 형태에서, 개체에서 순환 종양 세포 (CTC)의 수를 측정하는 단계 및/또는 개체에서 복수의 종양 항원 펩티드 각각에 대한 특이적 면역 반응을 검출하는 단계를 포함하는, 암에 걸린 개체에서 활성화된 T 세포를 사용하는 치료를 모니터링하는 방법이 제공되며, 여기서 활성화된 T 세포는 T 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 공동 배양함으로써 얻어지고, 상기 치료는 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계 및 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 임의로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드

가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포 집단 및 T 세포 집단은 동일한 개체, 예컨대 치료되는 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 (예컨대 하나 이상의 MHC 유전자의) 낮은 돌연변이 부하에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 개체에 하나 이상 (예컨대 적어도 5종)의 신생항원을 갖는 것에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 개체의 신생항원을 동정하는 단계 (예컨대 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써), 신생항원에 기초하여 신생항원 펩티드를 제공하는 단계 및 신생항원 펩티드를 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 복수의 맞춤형 종양 항원 펩티드를 제공하기 위해 특이적 면역 반응에 기초하여 조정된다. 일부 실시 형태에서, 상기 치료는 복수의 맞춤형 종양 항원 펩티드를 사용하여 반복된다.

[0265]

일부 실시 형태에서, (a) (예컨대 GM-CSF 및 IL-4의 존재 하에) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하는 단계; (b) (예컨대 복수의 Toll-유사 수용체 (TLR) 작용제의 존재 하에) 수지상 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻는 단계; (c) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (d) (예컨대 복수의 사이토카인 및 임의로 항-CD3 항체의 존재 하에) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 비부착성 PBMC 집단과 공동 배양하여 활성화된 T 세포 집단을 얻는 단계; (e) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; 및 (f) 활성화된 T 세포의 투여 후에 개체를 모니터링하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 단핵구 집단 및 비부착성 PBMC 집단은 (예컨대 개체로부터의) PBMC 집단으로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 비부착성 PBMC의 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, PBMC 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 (예컨대 하나 이상의 MHC 유전자의) 낮은 돌연변이 부하에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 개체에 하나 이상 (예컨대 적어도 5종)의 신생항원을 갖는 것에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 개체의 신생항원을 동정하는 단계 (예컨대 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써) 및 신생항원에 네오에피토프를 포함하는 신생항원 펩티드를 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 활성화된 T 세포의 투여 후에 개체를 모니터링하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 모니터링하는 단계는 개체에서 순환 종양 세포 (CTC)의 수를 측정하는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 모니터링하는 단계는 개체에서 복수의 종양 항원 펩티드에 대한 특이적 면역 반응을 검출하는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 복수의 맞춤형 종양 항원 펩티드를 제공하기 위해 특이적 면역 반응에 기초하여 조정된다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 복수의 맞춤형 종양 항원 펩티드를 사용하여 반복된다.

[0266]

일부 실시 형태에서, 개체에서 순환 종양 세포 (CTC)의 수를 측정하는 단계 및/또는 개체에서 복수의 종양 항원 펩티드 각각에 대한 특이적 면역 반응을 검출하는 단계를 포함하는, 암에 걸린 개체에서 활성화된 T 세포를 사용하는 치료를 모니터링하는 방법이 제공되며, 여기서 활성화된 T 세포는 (a) (예컨대 GM-CSF 및 IL-4의 존재 하에) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하는 단계; (b) (예컨대 복수의 Toll-유사 수용체

(TLR) 작용제의 존재 하에) 수지상 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻는 단계; 및 (c) (예컨대 복수의 사이토카인 및 임의로 항-CD3 항체의 존재 하에) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 비부작성 PBMC 집단과 공동 배양하여 활성화된 T 세포 집단을 얻는 단계를 포함하는 단계에 의해 얻어지고, 단핵구 집단 및 비부작성 PBMC 집단은 (예컨대 개체로부터) PBMC 집단으로부터 얻으며; 상기 치료는 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계 및 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 비부작성 PBMC의 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, PBMC 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 (예컨대 하나 이상의 MHC 유전자의) 낮은 돌연변이 부하에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 개체에 하나 이상 (예컨대 적어도 5종)의 신생항원을 갖는 것에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 개체의 신생항원을 동정하는 단계 (예컨대 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써), 신생항원에 기초하여 신생항원 펩티드를 제공하는 단계 및 신생항원 펩티드를 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 복수의 맞춤형 종양 항원 펩티드를 제공하기 위해 특이적 면역 반응에 기초하여 조정된다. 일부 실시 형태에서, 상기 치료는 복수의 맞춤형 종양 항원 펩티드를 사용하여 반복된다.

[0267]

일부 실시 형태에서, (a) (예컨대 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에) PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 활성화된 PBMC 집단을 얻는 단계; (b) 활성화된 PBMC의 유효량을 개체에 투여하는 단계; 및 (c) 활성화된 PBMC의 투여 후에 개체를 모니터링하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC의 각 투여 사이의 간격은 약 2주 내지 약 5개월 (예컨대 약 3개월)이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, PBMC 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 (예컨대 하나 이상의 MHC 유전자의) 낮은 돌연변이 부하에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 개체에 하나 이상 (예컨대 적어도 5종)의 신생항원을 갖는 것에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 개체의 신생항원을 동정하는 단계 (예컨대 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써) 및 신생항원에 네오에피토프를 포함하는 신생항원 펩티드를 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 활성화된 PBMC의 투여 후에 개체를 모니터링하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 모니터링하는 단계는 개체에서 순환 종양 세포 (CTC)의 수를 측정하는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 모니터링하는 단계는 개체에서 복수의 종양 항원 펩티드에 대한 특이적 면역 반응을 검출하는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 복수의 맞춤형 종양 항원 펩티드를 제공하기 위해 특이적 면역 반응에 기초하여 조정된다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 복수의 맞춤형 종양 항원 펩티드를 사용하여 반복된다.

[0268]

일부 실시 형태에서, 개체에서 순환 종양 세포 (CTC)의 수를 측정하는 단계 및/또는 개체에서 복수의 종양 항원 펩티드 각각에 대한 특이적 면역 반응을 검출하는 단계를 포함하는, 암에 걸린 개체에서 활성화된 PBMC를 사용하는 치료를 모니터링하는 방법이 제공되며, 여기서 상기 활성화된 PBMC는 (예컨대 면역 체크포인트 억제제의

존재 하에) PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킴으로써 얻어지고, 상기 치료는 활성화된 PBMC의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC의 각 투여 사이의 간격은 약 2주 내지 약 5개월 (예컨대 약 3개월)이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, PBMC 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 (예컨대 하나 이상의 MHC 유전자의) 낮은 돌연변이 부하에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 개체에 하나 이상 (예컨대 적어도 5종)의 신생항원을 갖는 것에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 개체의 신생항원을 동정하는 단계 (예컨대 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써), 신생항원에 기초하여 신생항원 펩티드를 제공하는 단계 및 신생항원 펩티드를 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 복수의 맞춤형 종양 항원 펩티드를 제공하기 위해 특이적 면역 반응에 기초하여 조정된다. 일부 실시 형태에서, 상기 치료는 복수의 맞춤형 종양 항원 펩티드를 사용하여 반복된다.

[0269] 각각의 종양 항원 펩티드에 대한 특이적 면역 반응은 본 기술 분야에 알려진 임의의 방법을 사용하여, 예를 들어, 각각의 종양 항원 펩티드에 의한 자극 후 T 세포 (또는 PBMC)로부터의 세포독성 인자 (예컨대 퍼포린 또는 그랜자임 B) 또는 사이토카인 방출 (예컨대 IFN γ 또는 TNF α) 수준을 측정함으로써 측정될 수 있다. ELISPOT와 같은 항체 기반 분석을 사용하여, 세포독성 인자 또는 사이토카인 (예컨대 IFN γ) 수준을 정량화할 수 있다. ELISPOT 분석의 예시적인 실시 형태가 실시예에 기재되어 있다. 일부 실시 형태에서, 종양 항원 펩티드에 반응하는 T 세포 (또는 PBMC)의 사이토카인 (예컨대 IFN γ) 방출 수준을 기준, 예컨대 기준선 사이토카인 방출 수준 또는 무관한 펩티드에 반응하는 T 세포 (또는 PBMC)의 비특이적 사이토카인 방출 수준에 대하여 정규화하여, 사이토카인 (예컨대 IFN γ) 배수 변화 값을 얻는다. 일부 실시 형태에서, ELISPOT 분석에서 약 1.2, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 8, 10 또는 그 이상 중 어느 하나보다 큰 사이토카인 (예컨대 IFN γ) 배수 변화 값은 종양 항원 펩티드에 대한 강한 특이적 면역 반응을 나타낸다. 일부 실시 형태에서, ELISPOT 분석에서 약 10, 8, 6, 5, 4, 3, 2.5, 2, 1.5, 1.2 또는 그 이하 중 어느 하나보다 작은 사이토카인 (예컨대 IFN γ) 배수 변화 값을 갖는 종양 항원 펩티드를 복수의 종양 항원 펩티드로부터 제거하여, 이후의 MASCT를 위한 복수의 맞춤형 종양 항원 펩티드를 얻는다.

[0270] 의사는 MASCT 방법에 대한 개체의 임상 반응을 영상화 방법(imaging method), 혈액 검사, 바이오마커 평가 및 생검과 같은 본 기술 분야에 알려진 방법에 의해 평가할 수 있다 일부 실시 형태에서, 임상 반응은 MASCT를 받기 전후에 개체에서 순환 종양 세포 (CTC)의 수를 측정함으로써 모니터링된다. 일부 실시 형태에서, CTC는 원발성 종양으로부터 분리되어 체액에서 순환한다. 일부 실시 형태에서, CTC는 원발성 종양으로부터 분리되어 혈류에서 순환한다. 일부 실시 형태에서, CTC는 전이의 지표이다. CTC 수는 셀서치(CellSearch) 방법, 에픽 사이언스(Epic Science) 방법, 아이소플럭스(isoflux) 및 메인트랙(maintrac)을 포함하나, 이에 한정되지 않는 본 기술 분야에 알려진 다양한 방법에 의해 측정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 개체의 혈액 샘플에서 CTC의 특정 아형을 포함하는 단일 CTC의 수가 측정된다. 일부 실시 형태에서, MASCT를 받은 후 개체의 혈액 샘플(mL) 당 약 10, 20, 50, 100, 150, 200, 300 또는 그 이상 중 어느 하나보다 큰 단일 CTC의 수는 전이 위험의 증가 및/또는 MASCT에 대한 약한 임상 반응을 나타낸다. 일부 실시 형태에서, MASCT를 받기 전과 비교하여 MASCT를 받은 후 개체의 단일 CTC 수의 증가 (예컨대 적어도 약 1.5, 2, 3, 4, 5, 10 또는 그 이상 중 어느 하나의 배수 증가)는 MASCT에 대한 약한 임상 반응을 나타낸다. 일부 실시 형태에서, 개체의 혈액 샘플에서 CTC 클러스터의 수가 측정된다. 일부 실시 형태에서, MASCT를 받은 후 개체의 혈액 샘플에서 적어도 약 1, 5, 10, 50, 100 또는 그 이상 중 어느 하나의 CTC 클러스터의 검출은 전이 위험의 증가 및/또는 MASCT에 대한 약한 임상 반응을 나타낸다. 일부 실시 형태에서, MASCT를 받기 전과 비교하여 MASCT를 받은 후 개체의 CTC 클러스터 수의 증가 (예컨대 적어도 약 1.5, 2, 3, 4, 5, 10 또는 그 이상 중 어느 하나의 배수 증가)는 MASCT에 대한 약한 임상 반응을 나타낸다.

[0271] **투여 및 투여 방법**

[0272] 일반적으로, 활성화된 T 세포, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단 및 활성화된 PBMC의 투여

량, 스케줄 및 투여 경로는 개체의 크기 및 조건에 따라, 그리고 표준 약제학적 관행에 따라 결정될 수 있다. 예시적인 투여 경로는 정맥내, 동맥내, 복강내, 폐내, 혈관내, 근육내, 기관내, 피하, 안내, 척수강내 또는 경피를 포함한다. MASCT 방법의 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. MASCT 방법의 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. PBMC 기반 MASCT 방법의 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 정맥내 투여된다.

[0273] 개체에 투여되는 세포의 용량은, 예를 들어, 투여되는 세포의 특정 유형, 투여 경로 및 치료되는 암의 특정 유형과 병기에 따라 달라질 수 있다. 상기 양은 심한 독성 또는 유해 사례없이, 암에 대한 치료 반응과 같은 원하는 반응을 가져오기 충분해야 한다. 일부 실시 형태에서, 투여될 활성화된 T 세포 또는 수지상 세포의 양은 치료적 유효량이다. 일부 실시 형태에서, 세포 (예컨대 다중-항원 로딩된 수지상 세포, 활성화된 T 세포 또는 활성화된 PBMC)의 양은 치료 전의 동일한 개체에서의 상응하는 종양 크기, 암 세포의 수 또는 종양 성장 속도와 비교하여, 또는 치료를 받지 않은 다른 개체에서의 상응하는 활성과 비교하여 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 100% 중 어느 하나만큼 종양 크기를 감소시키거나, 암 세포의 수를 감소시키거나, 종양의 성장 속도를 감소시키기 충분한 양이다. 정제된 효소를 사용한 시험관내 검증, 세포 기반 검증, 동물 모델 또는 인체 실험과 같은 표준 방법을 사용하여 효과의 규모를 측정할 수 있다.

[0274] 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단은 적어도 약 1×10^5 , 5×10^5 , 1×10^6 , 2×10^6 , 3×10^6 , 4×10^6 , 5×10^6 , 6×10^6 , 7×10^6 , 8×10^6 , 9×10^6 , 1×10^7 또는 5×10^7 개 중 어느 하나의 세포/개체의 투여량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단은 약 1×10^5 - 5×10^5 , 5×10^5 - 1×10^6 , 1×10^6 - 2×10^6 , 2×10^6 - 3×10^6 , 3×10^6 - 4×10^6 , 4×10^6 - 5×10^6 , 5×10^6 - 6×10^6 , 6×10^6 - 7×10^6 , 7×10^6 - 8×10^6 , 8×10^6 - 1×10^8 , 1×10^6 - 3×10^6 , 3×10^6 - 5×10^6 , 5×10^6 - 7×10^6 , 2×10^6 - 4×10^6 , 1×10^6 - 5×10^6 또는 5×10^6 - 1×10^7 개 중 어느 하나의 세포/개체의 투여량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 약 1×10^6 개의 세포/개체의 투여량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 약 1×10^6 내지 약 5×10^6 개의 세포/개체의 투여량으로 투여된다.

[0275] 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단은 적어도 약 1×10^4 , 5×10^4 , 1×10^5 , 2×10^5 , 4×10^5 , 6×10^5 , 8×10^5 , 1×10^6 , 2×10^6 또는 1×10^7 개 중 어느 하나의 세포/kg 투여량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단은 약 1×10^4 - 5×10^4 , 5×10^4 - 1×10^5 , 1×10^5 - 2×10^5 , 2×10^5 - 4×10^5 , 4×10^5 - 6×10^5 , 6×10^5 - 8×10^5 , 8×10^5 - 1×10^6 , 1×10^6 - 2×10^6 , 2×10^6 - 1×10^7 , 1×10^4 - 1×10^5 , 1×10^5 - 1×10^6 , 1×10^6 - 1×10^7 , 1×10^4 - 1×10^6 또는 1×10^5 - 1×10^7 개 중 어느 하나의 세포/kg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 약 2×10^5 개의 세포/kg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 약 2×10^5 내지 약 1×10^6 개의 세포/kg의 투여량으로 투여된다.

[0276] 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 약 1×10^8 , 5×10^8 , 1×10^9 , 2×10^9 , 3×10^9 , 4×10^9 , 5×10^9 , 6×10^9 , 7×10^9 , 8×10^9 , 9×10^9 , 1×10^{10} , 1.5×10^{10} , 2×10^{10} 또는 5×10^{10} 개 중 어느 하나의 세포/개체의 투여량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 약 1×10^8 내지 약 5×10^8 , 약 5×10^8 내지 약 9×10^8 , 약 9×10^8 내지 약 1×10^9 , 약 1×10^9 내지 약 2×10^9 , 약 2×10^9 내지 약 3×10^9 , 약 3×10^9 내지 약 4×10^9 , 약 4×10^9 내지 약 5×10^9 , 약 5×10^9 내지 약 6×10^9 , 약 6×10^9 내지 약 1×10^{10} , 약 1×10^9 내지 약 3×10^9 , 약 3×10^9 내지 약 5×10^9 , 약 5×10^9 내지 약 7×10^9 , 약 7×10^9 내지 약 1×10^{10} , 약 1×10^9 내지 약 5×10^9 , 약 5×10^9 내지 약 1×10^{10} , 약 3×10^9 내지 약 7×10^9 , 약 1×10^{10} 내지 약 1.5×10^{10} , 약 1×10^{10} 내지 약 2×10^{10} 또는 약 1×10^9 내지 약 1×10^{10} 개 중 어느 하나의 세포/개체의 투여량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서,

활성화된 T 세포는 적어도 약 3×10^9 개의 세포/개체의 투여량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 약 1×10^9 내지 약 1×10^{10} 개의 세포/개체의 투여량으로 투여된다.

[0277]

일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 약 1×10^7 , 1×10^8 , 2×10^8 , 4×10^8 , 6×10^8 , 8×10^8 , 1×10^9 , 2×10^9 , 4×10^9 , 6×10^9 , 8×10^9 , 1×10^{10} 개 중 어느 하나의 세포/kg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 약 1×10^7 내지 약 1×10^8 , 약 1×10^8 내지 약 2×10^8 , 약 2×10^8 내지 약 4×10^8 , 약 4×10^8 내지 약 6×10^8 , 약 6×10^8 내지 약 8×10^8 , 약 8×10^8 내지 약 1×10^9 , 약 1×10^9 내지 약 2×10^9 , 약 2×10^9 내지 약 4×10^9 , 약 4×10^9 내지 약 1×10^{10} , 약 2×10^8 내지 약 6×10^8 , 약 6×10^8 내지 약 1×10^9 , 약 1×10^8 내지 약 2×10^8 , 약 2×10^8 내지 약 2×10^9 , 약 1×10^7 내지 약 1×10^8 , 약 1×10^8 내지 약 1×10^9 , 약 1×10^9 내지 약 1×10^{10} 또는 약 1×10^7 내지 약 1×10^9 개 중 어느 하나의 세포/kg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 약 6×10^8 개의 세포/kg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 약 2×10^8 내지 약 2×10^9 개의 세포/kg의 투여량으로 투여된다.

[0278]

일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 적어도 약 1×10^8 , 5×10^8 , 1×10^9 , 2×10^9 , 3×10^9 , 4×10^9 , 5×10^9 , 6×10^9 , 7×10^9 , 8×10^9 , 9×10^9 , 1×10^{10} , 1.5×10^{10} , 2×10^{10} 또는 5×10^{10} 개 중 어느 하나의 세포/개체의 투여량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 약 1×10^8 내지 약 5×10^8 , 약 5×10^8 내지 약 9×10^8 , 약 9×10^8 내지 약 1×10^9 , 약 1×10^9 내지 약 2×10^9 , 약 2×10^9 내지 약 3×10^9 , 약 3×10^9 내지 약 4×10^9 , 약 4×10^9 내지 약 5×10^9 , 약 5×10^9 내지 약 6×10^9 , 약 6×10^9 내지 약 1×10^{10} , 약 1×10^9 내지 약 3×10^9 , 약 3×10^9 내지 약 5×10^9 , 약 5×10^9 내지 약 7×10^9 , 약 7×10^9 내지 약 1×10^{10} , 약 1×10^9 내지 약 5×10^9 , 약 5×10^9 내지 약 1×10^{10} , 약 3×10^9 내지 약 7×10^9 , 약 1×10^{10} 내지 약 1.5×10^{10} , 약 1×10^{10} 내지 약 2×10^{10} 또는 약 1×10^9 내지 약 1×10^{10} 개 중 어느 하나의 세포/개체의 투여량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 적어도 약 1×10^9 개의 세포/개체의 투여량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 약 1×10^9 내지 약 1×10^{10} 개의 세포/개체의 투여량으로 투여된다.

[0279]

일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 적어도 약 1×10^7 , 1×10^8 , 2×10^8 , 4×10^8 , 6×10^8 , 8×10^8 , 1×10^9 , 2×10^9 , 4×10^9 , 6×10^9 , 8×10^9 , 1×10^{10} 개 중 어느 하나의 세포/kg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 약 1×10^7 내지 약 1×10^8 , 약 1×10^8 내지 약 2×10^8 , 약 2×10^8 내지 약 4×10^8 , 약 4×10^8 내지 약 6×10^8 , 약 6×10^8 내지 약 8×10^8 , 약 8×10^8 내지 약 1×10^9 , 약 1×10^9 내지 약 2×10^9 , 약 2×10^9 내지 약 4×10^9 , 약 4×10^9 내지 약 1×10^{10} , 약 2×10^8 내지 약 6×10^8 , 약 6×10^8 내지 약 1×10^9 , 약 1×10^8 내지 약 2×10^8 , 약 2×10^8 내지 약 2×10^9 , 약 1×10^7 내지 약 1×10^8 , 약 1×10^8 내지 약 1×10^9 , 약 1×10^9 내지 약 1×10^{10} 또는 약 1×10^7 내지 약 1×10^9 개 중 어느 하나의 세포/kg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 약 2×10^8 내지 약 2×10^9 개의 세포/kg의 투여량으로 투여된다.

[0280]

일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단 및/또는 활성화된 PBMC 세포 투여시 인간 알부민과 같은 안정화제 또는 부형제가 함께 사용된다.

[0281]

MASCT 방법 (PBMC 기반 MASCT 방법을 포함)에서 세포의 투여량 및 투여 스케줄은 투여하는 의사의 판단에 기초하여 치료 과정에 걸쳐 조정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포가 투여되고 약 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일, 10일, 11일, 12일, 13일,

14일, 15일, 16일, 17일, 18일, 19일, 20일, 21일 또는 1개월 후에 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 수지상 세포와 동시에 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 수지상 세포가 투여되고 약 14 내지 21일 후에 투여된다. 일부 예시적인 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 수지상 세포가 투여되고 약 14 일 후에 투여된다. MASCT 방법의 예시적인 실시 형태가 예시적인 투여 스케줄과 함께 도 1 및 도 2a에 도시되어 있다.

[0282] MASCT 방법 (PBMC 기반 MASCT 방법 및 정밀 MASCT 방법을 포함)은 단일 치료 또는 반복 치료를 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10회 초과로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10회 초과로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. PBMC 기반 MASCT 방법의 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10회 초과로 투여된다. PBMC 기반 MASCT 방법의 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 세포 (예컨대 항원-로딩된 수지상 세포 또는 활성화된 T 세포) 제조 단계가 수지상 세포, 활성화된 T 세포 또는 둘 모두의 반복 투여 전에 반복된다. 일부 실시 형태에서, MASCT 방법 (PBMC 기반 MASCT 방법 및 정밀 MASCT 방법을 포함)은 1주일에 한번, 2주에 한번, 3주에 한번, 4주에 한번, 1개월에 한번, 2개월에 한번, 3개월에 한번, 4개월에 한번, 5개월에 한번, 6개월에 한번, 7개월에 한번, 8개월에 한번, 9개월에 한번 또는 1년에 한번 반복된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포, 활성화된 T 세포 또는 PBMC의 각 투여 사이의 간격은 약 1주 내지 2주, 2주 내지 1개월, 2주 내지 2개월, 1개월 내지 2개월, 1개월 내지 3개월, 3개월 내지 6개월 또는 6개월 내지 1년이다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포, 활성화된 T 세포 또는 PBMC의 각 투여 사이의 간격은 약 0.5 내지 약 5개월 예컨대 약 2주 내지 약 2개월 또는 약 2개월 내지 약 5개월이다. 일부 예시적인 실시 형태에서, MASCT 방법 (PBMC 기반 MASCT 방법 및 정밀 MASCT 방법을 포함)의 모든 단계(들)는 치료의 첫 6개월 동안은 1개월에 한번, 다음 6개월 동안은 2개월에 한번 그리고 개체의 질환이 안정적인 경우 첫 12개월의 치료 후에는 반년마다 반복된다. 본 명세서에 기재된 MASCT 방법 (PBMC 기반 MASCT 방법 및 정밀 MASCT 방법을 포함)의 임의의 실시 형태는 반복 치료 전 과정 동안 MASCT 방법 (PBMC 기반 MASCT 방법 및 정밀 MASCT 방법을 포함)의 임의의 다른 실시 형태와 병용될 수 있다.

[0283] 본 명세서에 제공된 MASCT 방법 (PBMC 기반 MASCT 방법 및 정밀 MASCT 방법을 포함)은 제1 요법, 제2 요법, 제3 요법 또는 화학요법, 수술, 방사선 치료, 유전자 치료, 면역치료, 골수 이식, 줄기세포 이식, 표적 치료, 냉동요법, 초음파 치료, 광역동 치료, 고주파열치료 등과 같은 본 기술 분야에 알려진 다른 유형의 암 치료법과의 병용 요법으로서 수술후 보조요법에서 또는 수술전 보조요법에서 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 본 발명은 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 제1 요법을 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공되며, 여기서 T 세포는 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 공동 배양함으로써 활성화된다. 제1 요법으로 사용되는 방법의 일부 실시 형태에서, 개체에 대한 다른 승인된 항암 요법은 존재하지 않는다. 일부 실시 형태에서, MASCT 방법 (PBMC 기반 MASCT 방법 및 정밀 MASCT 방법을 포함)은 제2 요법으로서 사용되며, 여기서 개체는 이전에 절제술, 고주파열치료, 화학요법, 방사선 치료 또는 다른 유형의 암 치료를 받았다. 일부 실시 형태에서, 개체는 표준 항암 치료를 진행 중이거나 이를 견디지 못한다. 일부 실시 형태에서, 개체는 MASCT 치료(들) 전에, 동시에 또는 후에 다른 유형의 암 치료를 받는다. 예를 들어, MASCT 방법 (PBMC 기반 MASCT 방법 및 정밀 MASCT 방법을 포함)은 분, 일, 주 내지 개월 범위의 간격으로 다른 암 치료 (예컨대 화학요법, 방사선 치료, 수술 또는 이들의 조합) 전이나 후에 수행될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 제1 요법과 제2 요법 사이의 간격은 MASCT 방법 (PBMC 기반 MASCT 방법 및 정밀 MASCT 방법을 포함)의 활성화된 T 세포 및 다른 암 치료 (예컨대 화학요법, 방사선 치료, 수술 또는 이들의 조합)가 개체에 유리한 병용 효과를 발휘할 수 있도록 한다. 일부 실시 형태에서, MASCT 방법 (PBMC 기반 MASCT 방법 및 정밀 MASCT 방법을 포함)은 다른 암 치료 (예컨대 화학요법, 방사선 치료, 수술 또는 이들의 조합)와 함께 사용되어 개체에서 암을 치료한다. 본 명세서에 기재된 병용 요법 방법은 단독으로 또는 다른 요법, 예컨대 수술, 방사선 치료, 유전자 치료, 면역치료, 골수 이식, 줄기세포 이식, 호르몬 요법, 표적 치료, 냉동요법, 초음파 치료, 광역동 치료, 화학요법 등과 함께 수행될 수 있다. 추가로, 증식성 질환이 발병할 위험이 더 큰 사람은 질환의 발병을 억제 및/또는 지연하기 위한 치료를 받을 수 있다.

[0284] 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포의 집단을 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암 세포 증식 (예컨대 종양 성장)을 억제하는 방법을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계 및 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포의 집단을 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계

를 포함하는, 개체에서 암 세포 증식 (예컨대 종양 성장)을 억제하는 방법을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 활성화된 PBMC 집단을 얻는 단계 및 활성화된 PBMC의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암 세포 증식 (예컨대 종양 성장)을 억제하는 방법을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 또는 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 적어도 약 10% (예를 들어, 적어도 약 20%, 30%, 40%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 100% 중 어느 하나를 포함)의 세포 증식이 억제된다.

[0285] 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포 집단을 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 종양 전이를 억제하는 방법을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계 및 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포 집단을 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 종양 전이를 억제하는 방법을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 활성화된 PBMC 집단을 얻는 단계 및 활성화된 PBMC의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 종양 전이를 억제하는 방법을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 또는 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 적어도 약 10% (예를 들어, 적어도 약 20%, 30%, 40%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 100% 중 어느 하나를 포함)의 전이가 억제된다. 일부 실시 형태에서, 림프절로의 전이를 억제하는 방법이 제공된다.

[0286] 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포의 집단을 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 종양 크기를 감소시키는 방법을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계 및 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포의 집단을 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 종양 크기를 감소시키는 방법을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 활성화된 PBMC 집단을 얻는 단계 및 활성화된 PBMC의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 종양 크기를 감소시키는 방법을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 또는 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 종양 크기는 적어도 약 10% (예를 들어, 적어도 약 20%, 30%, 40%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 100% 중 어느 하나를 포함) 감소된다.

[0287] 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포 집단을 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암의 무진행 생존을 연장하는 방법을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계 및 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포 집단을 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암의 무진행 생존을 연장하는 방법을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 활성화된 PBMC 집단을 얻는 단계 및 활성화된 PBMC의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암의 무진행 생존을 연장하는 방법을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 또는 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 질환 진행까지의 시간을 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12주 중 어느 하나만큼 연장한다.

[0288] 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포 집단을 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 암에 걸린 개체의 생존을 연장하는 방법을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계 및 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포 집단을 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 암에 걸린 개체의 생존을 연장하는 방법을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티

드와 접촉시켜 활성화된 PBMC 집단을 얻는 단계 및 활성화된 PBMC의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 암에 걸린 개체의 생존을 연장하는 방법을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 또는 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 질환 진행까지의 시간을 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12 주 중 어느 하나만큼 연장한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 개체의 생존을 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18 또는 24개월 중 어느 하나만큼 연장한다.

[0289] 임의의 방법의 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포 집단을 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 암에 걸린 개체에서 AE 및 SAE를 감소시키는 방법을 포함한다. 임의의 방법의 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계 및 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포 집단을 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 암에 걸린 개체에서 AE 및 SAE를 감소시키는 방법을 포함한다. 임의의 방법의 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 활성화된 PBMC 집단을 얻는 단계 및 활성화된 PBMC의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 암에 걸린 개체에서 AE 및 SAE를 감소시키는 방법을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 또는 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다.

[0290] 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 목적 반응 (예컨대 부분 반응 또는 완전 반응)을 예측하고/거나 야기한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 개선된 삶의 질을 예측하고/거나 야기한다.

[0291] 일부 암 면역치료는 일반적으로 다른 암 치료와 관련된 일반적인 유해 사례에 더하여 면역 관련 유해 사례(irAE)와 관련된다. IrAE는 일반적으로 종양 이외의 표적에 작용(on-target off-tumor effect)이라 불리는 정상 비-종양 조직에서 발현되는 표적 항원에 대해 표적화된 T-세포 독성 또는 자가-관용의 파괴 또는 에피토프 교차 반응과 같은 비표적 효과(off-target effect)와 기전적으로 관련된다. IrAE는 피부, 위장, 내분비, 간, 안구, 신경 및 다른 조직 또는 기관에 심각한 증상 및 상태를 유발할 수 있다. 본 기술 분야에 알려진 암 면역 치료 방법에서 보고된 전형적인 IrAE는 치명적인 면역 매개 피부염, 폐렴, 대장염, 림프구성 뇌하수체염, 췌장염, 임파선염, 내분비 장애, CNS 독성 등을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 MASCT 방법(PBMC 기반 MASCT 방법을 포함하는)은 IrAE와 같은 유해 사례의 낮은 발생률과 관련된다. 일부 실시 형태에서, 약 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2% 또는 1% 미만의 개체가 IrAE, 예컨대 등급 2 내지 5의 IrAE를 경험한다.

[0292] 면역 체크포인트 억제제

[0293] 일부 실시 형태에서, MASCT 방법은, 예를 들어, 활성화된 T 세포 또는 PBMC의 제조 (예컨대 공동 배양 단계 전에 및/또는 공동 배양 중에) 및/또는 병용 요법에서 면역 체크포인트 억제제를 사용한다. 이 섹션에 기재된 면역 체크포인트 억제제를 포함하나, 이에 한정되지 않는 모든 알려진 면역 체크포인트 억제제가 사용될 수 있다.

[0294] 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는, 예를 들어, CTLA-4의 리간드 (예를 들어, B7.1, B7.2), TIM-3의 리간드 (예를 들어, 갈렉틴-9), A2a 수용체의 리간드 (예를 들어, 아데노신, 레가데노손(Regadenoson)), LAG-3의 리간드 (예를 들어, MHC 클래스 I 또는 MHC 클래스 II 분자), BTLA의 리간드 (예를 들어, HVEM, B7-H4), KIR의 리간드 (예를 들어, MHC 클래스 I 또는 MHC 클래스 II 분자), PD-1의 리간드 (예를 들어, PD-L1, PD-L2), IDO의 리간드 (예를 들어, NKTR-218, 인독시모드(Indoximod), NLG919) 및 CD47의 리간드 (예를 들어, SIRP-알파 수용체)를 포함하는 억제 면역 체크포인트 분자의 천연 또는 유전자 조작된 리간드이다.

[0295] 면역 체크포인트 억제제는 소분자, 핵산 (예컨대 DNA, RNAi 또는 앵타머), 펩티드 또는 단백질 (예컨대 항체)을 포함하나, 이에 한정되지 않는 임의의 적합한 분자 형태일 수 있다.

[0296] 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 항-CTLA-4 (예를 들어, 이필리무맙, 트레멜리무맙, KAH-102), 항-TIM-3 (예를 들어, F38-2E2, ENUM005), 항-LAG-3 (예를 들어, BMS-986016, IMP701, IMP321, C9B7W), 항-KIR (예를 들어, 리릴루맙(Lirilumab) 및 IPH2101), 항-PD-1 (예를 들어, 니볼루맙, 피딜리주맙, 캄브롤리주맙, BMS-936559, 아테졸리주맙, 캄브롤리주맙, MK-3475, AMP-224, AMP-514, STI-A1110, TSR-042), 항-PD-L1 (예를 들어, KY-1003 (EP20120194977), MCLA-145, RG7446, BMS-936559, MEDI-4736, MSB0010718C, AUR-012, STI-

A1010, PCT/US2001/020964, MPDL3280A, AMP-224, 다피롤리주맙 페골(Dapirolizumab pegol) (CDP-7657), MEDI-4920), 항-CD73 (예를 들어, AR-42 (OSU-HDAC42,HDAC-42,AR42,AR 42,OSU-HDAC 42,OSU-HDAC-42,NSC D736012,HDAC-42,HDAC 42,HDAC42,NSCD736012,NSC-D736012), MEDI-9447), 항-B7-H3 (예를 들어, MGA271, DS-5573a, 8H9), 항-CD47 (예를 들어, CC-90002, TTI-621, VLST-007), 항-BTLA, 항-VISTA, 항-A2aR, 항-B7-1, 항-B7-H4, 항-CD52 (예컨대 알렘투주맙(alemtuzumab)), 항-IL-10, 항-IL-35 및 항-TGF- β (예컨대 프레솔리무맙(Fresolimumab))로 이루어진 군으로부터 선택되는 억제 면역 체크포인트 단백질을 표적으로하는 항체 (예컨대 길항제 항체)이다. 일부 실시 형태에서, 항체는 단일클론성 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항체는 전장 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항체는 Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, scFv, BiTE, 나노바디(nanobody) 및 다른 전장 항체의 항원-결합 하위서열(subsequence) 또는 이들의 유전자 조합된 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 항원-결합 단편이다. 일부 실시 형태에서, 항체는 인간 항체, 인간화 항체 또는 키메라 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항체는 이중특이성 또는 다중특이성 항체이다.

[0297] 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1의 억제제이다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 항-PD-1 항체이다. 예시적인 항-PD-1 항체에는, 니볼루맙, 펌브롤리주맙, 피딜리주맙(pidilizumab), BMS-936559 및 아테졸리주맙(atezolizumab), 펌브롤리주맙, MK-3475, AMP-224, AMP-514, STI-A1110 및 TSR-042가 포함되나, 이에 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 니볼루맙 (예를 들어, 옴디보[®])이다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 펌브롤리주맙 (예를 들어, 키트루다[®])이다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 SHR-1210이다.

[0298] 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-L1의 억제제이다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 항-PD-L1 항체이다. 예시적인 항-PD-L1 항체에는 KY-1003, MCLA-145, RG7446, BMS935559, MPDL3280A, MEDI4736, Avelumab 또는 STI-A1010이 포함되나, 이에 한정되지 않는다.

[0299] 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 CTLA-4의 억제제이다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 항-CTLA-4 항체이다. 예시적인 항-CTLA-4 항체에는 이필리무맙, 트레멜리무맙(Tremelimumab) 및 KAHN-102가 포함되나, 이에 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 이필리무맙 (예를 들어, 여보이[®])이다.

[0300] 배양 배지 중의 면역 체크포인트 억제제의 적합한 농도는 적어도 약 1 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$, 15 $\mu\text{g/mL}$, 25 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$, 200 $\mu\text{g/mL}$, 500 $\mu\text{g/mL}$ 또는 1 mg/mL 중 어느 하나를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에서, 배양 배지 중의 면역 체크포인트 억제제의 농도는 약 1 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 10 $\mu\text{g/mL}$, 약 10 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 25 $\mu\text{g/mL}$, 약 25 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 50 $\mu\text{g/mL}$, 약 50 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 100 $\mu\text{g/mL}$, 약 100 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 200 $\mu\text{g/mL}$, 약 200 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 500 $\mu\text{g/mL}$, 약 100 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 1 mg/mL, 약 10 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 100 $\mu\text{g/mL}$ 또는 약 1 $\mu\text{g/mL}$ 내지 약 100 $\mu\text{g/mL}$ 중 어느 하나이다.

[0301] 임의의 상기 MASCT 방법 (PMBC 기반 MASCT 방법 및 정밀 MASCT 방법을 포함)을 하나 이상의 면역 체크포인트 억제제의 투여와 함께 적용할 수 있다. 면역 체크포인트 억제제의 예시적인 투여 경로는 종양내, 방광내, 근육내, 복강내, 정맥내, 동맥내, 두개내, 흉막내, 피하 및 상피 경로가 포함되나 이에 한정되지 않고, 살아있는 암 세포를 함유하는 것으로 알려진 림프절, 신체 공간, 기관 또는 조직으로 전달될 수도 있다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 주입에 의해 투여된다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 적어도 약 10분, 30분, 1시간, 2시간, 4시간, 6시간 또는 그 이상 중 어느 하나에 걸쳐서 주입된다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 활성화된 T 세포 또는 활성화된 PBMC와 동일한 투여 경로를 통해 투여된다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 활성화된 T 세포 또는 활성화된 PBMC와 상이한 투여 경로를 통해 투여된다.

[0302] 면역 체크포인트 억제제의 적합한 투여량은 약 1 mg/m^2 , 5 mg/m^2 , 10 mg/m^2 , 20 mg/m^2 , 50 mg/m^2 , 100 mg/m^2 , 200 mg/m^2 , 300 mg/m^2 , 400 mg/m^2 , 500 mg/m^2 , 750 mg/m^2 , 1000 mg/m^2 또는 그 이상을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제의 투여량은 약 1 내지 약 5 mg/m^2 , 약 5 내지 약 10 mg/m^2 , 약 10 내지 약 20 mg/m^2 , 약 20 내지 약 50 mg/m^2 , 약 50 내지 약 100 mg/m^2 , 약 100 mg/m^2 내지 약 200 mg/m^2 , 약 200 내지 약 300 mg/m^2 , 약 300 내지 약 400 mg/m^2 , 약 400 내지 약 500 mg/m^2 , 약 500 내지 약 750 mg/m^2 또는 약 750 내지 약 1000 mg/m^2 이다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제의 투여량은 약 1 μg

/kg, 2 μ g/kg, 5 μ g/kg, 10 μ g/kg, 20 μ g/kg, 50 μ g/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg, 0.3 mg/kg, 0.4 mg/kg, 0.5 mg/kg, 1 mg/kg, 2 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg 또는 그 이상이다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제의 투여량은 약 1 μ g/kg 내지 약 5 μ g/kg, 약 5 μ g/kg 내지 약 10 μ g/kg, 약 10 μ g/kg 내지 약 50 μ g/kg, 약 50 μ g/kg 내지 약 0.1 mg/kg, 약 0.1 mg/kg 내지 약 0.2 mg/kg, 약 0.2 mg/kg 내지 약 0.3 mg/kg, 약 0.3 mg/kg 내지 약 0.4 mg/kg, 약 0.4 mg/kg 내지 약 0.5 mg/kg, 약 0.5 mg/kg 내지 약 1 mg/kg, 약 1 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 5 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 10 mg/kg 내지 약 20 mg/kg, 약 20 mg/kg 내지 약 50 mg/kg, 약 50 mg/kg 내지 약 100 mg/kg 또는 약 1 mg/kg 내지 약 100 mg/kg이다.

[0303] 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 매일 투여된다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 1주에 적어도 약 1회, 2회, 3회, 4회, 5회, 6회 또는 7회 (즉, 매일) 투여된다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 매주 투여된다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 휴식기 없이 매주; 3주 중 2주 동안 매주; 4주 중 3주 동안 매주; 2주마다 1회; 3주마다 1회; 4주마다 1회; 6주마다 1회; 8주마다 1회, 매월 또는 2내지 12개월마다 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 각각의 투여 사이의 간격은 약 6개월, 3개월, 1개월, 20일, 15일, 12일, 10일, 9일, 8일, 7일, 6일, 5일, 4일, 3일, 2일 또는 1일 미만이다. 일부 실시 형태에서, 각각의 투여 사이의 간격은 약 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 8개월 또는 12개월 초과이다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 3개월마다 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 투여 스케줄에 휴식기가 없다. 일부 실시 형태에서, 각각의 투여 사이의 간격은 약 1주 이내이다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 활성화된 T 세포 또는 활성화된 PBMC와 동일한 투여 스케줄로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 활성화된 T 세포 또는 활성화된 PBMC와 상이한 투여 스케줄로 투여된다.

[0304] 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 MASCT 치료 사이클마다 투여된다. 예를 들어, MASCT 치료 사이클마다 약 1, 2, 3, 4, 5, 6회 또는 그 이상 중 어느 하나의 면역 체크포인트 억제제가 투여될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 MASCT 치료 사이클마다 투여되지는 않는다. 예를 들어, 면역 체크포인트 억제제는 약 1, 2, 3, 4, 5회 또는 그 이상의 MASCT 치료 사이클마다 1회 투여될 수 있다.

[0305] 면역 체크포인트 억제제의 투여는 약 1개월 내지 약 7년과 같은 연장된 기간에 걸쳐 투여될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 60, 72 또는 84개월의 기간에 걸쳐 투여된다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 단일 시간동안 투여된다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 반복적으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 질환 진행까지 반복적으로 투여된다.

[0306] **T 세포 수용체 (TCR)**

[0307] 본 발명의 일 측면은 본 명세서에 기재된 임의의 MASCT 방법 (PBMC 기반 MASCT 및 정밀 MASCT를 포함)으로 치료한 개체로부터의 종양 특이적 T 세포 수용체를 복제하는 방법을 추가로 제공한다.

[0308] 따라서, 일부 실시 형태에서, (a) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 암에 걸린 개체에 투여하는 단계, (b) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포 집단과 T 세포 집단을 공동 배양함으로써 제조되는, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (c) 복수의 종양 항원 펩티드에서 종양 항원 펩티드를 특이적으로 인식하는 T 세포를 개체로부터 분리하는 단계; 및 (d) T 세포 수용체를 T 세포로부터 복제하여 종양 특이적 T 세포 수용체를 제공하는 단계를 포함하는, 종양 특이적 T 세포 수용체를 복제하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포 집단 및 T 세포 집단은 동일한 개체, 예컨대 치료되는 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포

함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 (예컨대 하나 이상의 MHC 유전자의) 낮은 돌연변이 부하에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 개체에 하나 이상 (예컨대 적어도 5종)의 신생항원을 갖는 것에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 개체의 신생항원을 동정하는 단계 (예컨대 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써) 및 신생항원에 네오에피토프를 포함하는 신생항원 펩티드를 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 활성화된 T 세포의 투여 후에 개체를 모니터링하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 모니터링하는 단계는 개체에서 순환 종양 세포 (CTC)의 수를 측정하는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 모니터링하는 단계는 개체에서 복수의 종양 항원 펩티드에 대한 특이적 면역 반응을 검출하는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 복수의 맞춤형 종양 항원 펩티드를 제공하기 위해 특이적 면역 반응에 기초하여 조정된다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 복수의 맞춤형 종양 항원 펩티드를 사용하여 반복된다.

[0309] 일부 실시 형태에서, (a) (예컨대 GM-CSF 및 IL-4의 존재 하에) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하는 단계; (b) (예컨대 복수의 Toll-유사 수용체 (TLR) 작용제의 존재 하에) 수지상 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포 집단을 얻는 단계; (c) 임의로 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (d) (예컨대 복수의 사이토카인 및 임의로 항-CD3 항체의 존재 하에) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포 집단을 비부작성 PBMC 집단과 공동 배양하여 활성화된 T 세포 집단을 얻는 단계; (e) 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계; (f) 복수의 종양 항원 펩티드에서 종양 항원 펩티드를 특이적으로 인식하는 T 세포를 개체로부터 분리하는 단계; 및 (g) T 세포 수용체를 T 세포로부터 복제하여 종양 특이적 T 세포 수용체를 제공하는 단계를 포함하는, 종양 특이적 T 세포 수용체를 복제하는 방법이 제공되며, 여기서, 단핵구 집단 및 비부작성 PBMC 집단은 (예컨대 개체로부터) PBMC 집단으로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 수지상 세포의 투여와 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일, 약 14일 내지 약 21일, 약 10일 또는 약 14일)이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양은 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 동안이다. 일부 실시 형태에서, 공동 배양 전에 및/또는 공동 배양 중에 비부작성 PBMC의 집단을 면역 체크포인트 억제제 (예컨대 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4의 억제제)와 접촉시킨다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, PBMC 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 (예컨대 하나 이상의 MHC 유전자의) 낮은 돌연변이 부하에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 개체에 하나 이상 (예컨대 적어도 5종)의 신생항원을 갖는 것에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 개체의 신생항원을 동정하는 단계 (예컨대 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써) 및 신생항원에 네오에피토프를 포함하는 신생항원 펩티드를 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 활성화된 T 세포의 투여 후에 개체를 모니터링하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 모니터링하는 단계는 개체에서 순환 종양 세포 (CTC)의 수를 측정하는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 모니터링하는 단계는 개체에서 복수의 종양 항원 펩티드에 대한 특이적 면역 반응을 검출하는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 복수의 맞춤형 종양 항원 펩티드를 제공하기 위해 특이적 면역 반응에 기초하여 조정된다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 복수의 맞춤형 종양 항원 펩티드를 사용하여 반복된다.

[0310] 일부 실시 형태에서, (a) (예컨대 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에) PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 활성화된 PBMC 집단을 얻는 단계, (b) PBMC의 유효량을 암에 걸린 개체에게 투여하는 단계; (c) 복수의 종양 항원 펩티드에서 종양 항원 펩티드를 특이적으로 인식하는 T 세포를 개체로부터 분리하는 단계; 및 (d) T 세포 수용체를 T 세포로부터 복제하여 종양 특이적 T 세포 수용체를 제공하는 단계를 포함하는, 종양 특이적 T 세포 수용체를 복제하는 방법이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 적어도 3회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC의 각 투여 사이의 간격은 약 2주 내지 약 5개월 (예컨대 약 3개월)이다.

일부 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 정맥내 투여된다. 일부 실시 형태에서, PBMC 집단은 치료되는 개체로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 임의로 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 하나 이상의 신생항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 PD-1, PD-L1, CTLA-4, IDO, TIM-3, BTLA, VISTA 또는 LAG-3의 억제제의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 암의 (예컨대 하나 이상의 MHC 유전자의) 낮은 돌연변이 부하에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 개체에 하나 이상 (예컨대 적어도 5종)의 신생항원을 갖는 것에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 개체의 신생항원을 동정하는 단계 (예컨대 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써) 및 신생항원에 네오에피토프를 포함하는 신생항원 펩티드를 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 활성화된 PBMC의 투여 후에 개체를 모니터링하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 모니터링하는 단계는 개체에서 순환 종양 세포 (CTC)의 수를 측정하는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 모니터링하는 단계는 개체에서 복수의 종양 항원 펩티드에 대한 특이적 면역 반응을 검출하는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 복수의 맞춤형 종양 항원 펩티드를 제공하기 위해 특이적 면역 반응에 기초하여 조정된다. 일부 실시 형태에서, 상기 방법은 복수의 맞춤형 종양 항원 펩티드를 사용하여 반복된다.

[0311] 일부 실시 형태에서, TCR은 MASCT 방법에 반응하는 개체, 예를 들어, MASCT 후 CTC 수가 감소되거나 CTC 수가 낮은 개체, 임상 평가가 안정적인 질환 (SD), 완전 반응 (CR) 또는 부분 반응 (PR)인 개체로부터 복제된다. 일부 실시 형태에서, TCR은 MASCT 방법에 반응하지 않는 개체로부터 복제된다. 일부 실시 형태에서, 개체는 종양 항원 펩티드에 대한 강한 특이적 면역 반응을 갖는다. 각각의 종양 항원 펩티드에 대한 특이적 면역 반응은 본 기술 분야에 알려진 임의의 방법을 사용하여, 예를 들어, 각각의 종양 항원 펩티드에 의한 자극 후 T 세포 (또는 PBMC)로부터의 세포독성 인자 (예컨대 퍼포린 또는 그랜자임 B) 또는 사이토카인 방출 (예컨대 IFN γ 또는 TNF α) 수준을 측정함으로써 측정될 수 있다. ELISPOT와 같은 항체 기반 분석을 사용하여, 세포독성 인자 또는 사이토카인 (예컨대 IFN γ) 수준을 정량화할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 종양 항원 펩티드에 반응하는 T 세포 (또는 PBMC)의 사이토카인 (예컨대 IFN γ) 방출 수준을 기준, 예컨대 기준선 사이토카인 방출 수준 또는 무관한 펩티드에 반응하는 T 세포 (또는 PBMC)의 비특이적 사이토카인 방출 수준에 대하여 정규화하여, 사이토카인 (예컨대 IFN γ) 배수 변화 값을 얻는다. 일부 실시 형태에서, ELISPOT 분석에서 약 1.2, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 8, 10 또는 그 이상 중 어느 하나보다 큰 사이토카인 (예컨대 IFN γ) 배수 변화 값은 종양 항원 펩티드에 대한 강한 특이적 면역 반응을 나타낸다. 일부 실시 형태에서, TCR을 복제하는 방법은 개체에서, 예컨대 개체의 PBMC 샘플에서 복수의 종양 항원 펩티드 각각의 특이적 면역 반응을 측정하는 단계를 추가로 포함한다.

[0312] T 세포는 MASCT를 받은 후 개체의 생물학적 샘플로부터 단리될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 생물학적 샘플은 1 사이클의 MASCT 후 개체로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 생물학적 샘플은 2, 3, 4, 5 또는 그 이상 중 어느 하나의 사이클의 MASCT 후 개체로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 생물학적 샘플은 MASCT를 받은 후 적어도 약 1주, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 2개월 또는 3개월 중 어느 하나의 기간 후에 개체로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 생물학적 샘플은 MASCT를 받은 후 약 6개월, 3개월, 2개월, 1개월 또는 그 이하 중 어느 하나보다 적은 기간 후에 개체로부터 얻는다. 일부 실시 형태에서, 생물학적 샘플은 혈액 샘플이다. 일부 실시 형태에서, 생물학적 샘플은 PBMC 샘플이다. 일부 실시 형태에서, 생물학적 샘플은 T 세포 샘플이다. 일부 실시 형태에서, 생물학적 샘플은 CTL을 함유한 종양 샘플이다. T 세포는 본 기술 분야에 알려진 임의의 방법을 사용하여, 예를 들어, 유세포 분석법 또는 원심분리 방법으로 생물학적 샘플로부터 단리될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 생물학적 샘플로부터 얻은 복수의 T 세포는, 예를 들어, 다량체 (예컨대 오량체 또는 텍스트라머 (dextramer))로 염색하거나, 세포에 의한 세포독성 인자 (예컨대 퍼포린 또는 그랜자임 B) 또는 사이토카인 방출 (예컨대 IFN γ 또는 TNF α) 수준을 측정하여 복수의 종양 항원 펩티드에 대한 이들의 특이적 면역 반응에 대해 스크리닝된다.

[0313] T 세포가 특이적으로 인식하는 종양 항원 펩티드는 종양 항원 펩티드 풀 중 어느 하나일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 종양 항원 펩티드는 MHC-I 제한 에피토프를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 종양 항원 펩티드는 MHC-II 제한 에피토프를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 종양 항원 펩티드는 일반적인 암 종양 항원 펩티드이다. 일부 실시 형태에서, 종양 항원 펩티드는 암-유형 특이적 종양 항원 펩티드이다. 일부 실시 형태에서, 종양 항원 펩티드는 신생항원 펩티드이다. 일부 실시 형태에서, 종양 항원 펩티드는 CEA 또는 hTERT로부터 유래된 에피토프를 포함한다.

- [0314] TCR은 알려진 TCR 가변 도메인에 대해 특이적으로 어닐링하는 프라이머를 사용하는 PCR 방법을 포함하나, 이에 한정되지 않는, 본 기술 분야에 알려진 임의의 방법을 사용하여 T 세포로부터 복제될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 앰플리콘 레스큐드 멀티플렉스 PCR(amplicon rescued multiplex PCR 또는 arm-PCR)을 사용하여 종양 특이적 TCR을 복제한다. 예를 들어, 미국 특허 제7,999,092호를 참조한다. 단일 T 세포로부터 종양 항원 특이적 TCR을 복제하는 방법을 사용하여 또한 TCR을 복제할 수 있다. 예를 들어, 문헌[E. Kobayashi *et al.* Nature Medicine 19.11 (2013): 1542-1546]을 참조한다. 일부 실시 형태에서, T 세포를 시퀀싱하여 TCR 유전자 서열을 알아냄으로써, TCR 복제가 가능하다.
- [0315] 일부 실시 형태에서, 복제된 TCR은 발현 벡터에 추가로 혼입된다. 일부 실시 형태에서, 복제된 TCR은 (예컨대 바이러스 벡터에 의해 또는 물리적 또는 화학적 방법으로) 숙주 세포 (예컨대 T 세포)로 추가로 형질도입되어 TCR을 발현한다. 일부 실시 형태에서, 숙주 세포는 T 세포이다. 일부 실시 형태에서, TCR을 발현하는 숙주 세포를 유효성 확인을 위해 종양 항원 펩티드에 대한 특이적 면역 반응에 대하여 분석한다. 일부 실시 형태에서, 숙주 세포는 세포주로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 숙주 세포는 1차 세포이다. 일부 실시 형태에서, 숙주 세포는 T 세포이다. 일부 실시 형태에서, 숙주 세포는 암 환자로부터 유래된다.
- [0316] 본 명세서에 기재된 임의의 방법을 사용하여 복제된 종양-특이적 TCR이 본 명세서에 추가로 제공된다. 일부 실시 형태에서, 종양 특이적 TCR을 추가로 유전자 조작하여 TCR의 물리적/화학적 특성 및/또는 기능을 개선한다. 예를 들어, 유전자 조작된 종양 특이적 TCR은 향상된 발현 수준, 개선된 안정성, MHC-종양 특이적 항원 펩티드 복합체에 대한 향상된 결합 친화력 및/또는 향상된 신호전달을 가질 수 있다. 일부 실시 형태에서, 종양 특이적 TCR은 종양 특이적 TCR을 사용하는 면역요법 치료를 받은 개체의 MHC 아형에 기초하여 유전자 조작된다. 일부 실시 형태에서, 유전자 조작 단계는 복제된 종양 특이적 TCR의 가변 영역의 하나 이상의 위치에 돌연변이를 일으키는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 유전자 조작 단계는 복제된 종양 특이적 TCR의 하나 이상의 도메인 또는 단편을 포함하는 융합 단백질을 제공하는 단계를 포함한다.
- [0317] 일부 실시 형태에서, 종양 특이적 TCR 또는 이의 성분 또는 유도체 (예컨대 TCR α 사슬, TCR β 사슬 또는 유전자 조작된 종양 특이적 TCR)를 암호화하는 단리된 핵산이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 종양 특이적 TCR 또는 이의 성분 또는 유도체 (예컨대 TCR α 사슬, TCR β 사슬 또는 유전자 조작된 종양 특이적 TCR)를 암호화하는 발현 벡터가 제공된다. 일부 실시 형태에서, 종양 특이적 TCR 또는 이의 성분 또는 유도체 (예컨대 TCR α 사슬, TCR β 사슬 또는 유전자 조작된 종양 특이적 TCR)를 발현하는 단리된 숙주 세포가 제공된다.
- [0318] 일부 실시 형태에서, 종양 특이적 TCR 또는 이의 성분 또는 유도체 (예컨대 TCR α 사슬, TCR β 사슬 또는 유전자 조작된 종양 특이적 TCR)를 포함하는 단리된 T 세포가 제공된다. 일부 실시 형태에서, 단리된 T 세포의 내인성 TCR은 녹아웃(knock out)된다. 일부 실시 형태에서, 단리된 T 세포는 TCR-T 세포이다. 일부 실시 형태에서, 단리된 T 세포 및 약제학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다. 일부 실시 형태에서, 단리된 T 세포는 암에 걸린 개체로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 단리된 T 세포는 단리된 T 세포 또는 이의 약제학적 조성물을 사용하여 치료되는 개체로부터 유래된다.
- [0319] 단리된 T 세포 또는 이의 약제학적 조성물은 종양 특이적 TCR이 복제된 개체, 또는 동종이계(allogenic) 개체 또는 암 세포 상에 동일한 MHC 유전자형을 갖고/거나 동일한 에피토프를 발현하는 개체와 같은 다른 개체를 치료하는 데 유용할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 임의의 단리된 T 세포 또는 이의 약제학적 조성물의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 복제된 종양 특이적 TCR을 포함하는 단리된 T 세포를 사용하는 면역치료를 단독으로, 또는 면역 체크포인트 억제제, MASCT (PBMC 기반 MASCT 및 정밀 MASCT를 포함), 화학요법, 방사선 치료, 수술, 표적 치료 등과 같은 다른 치료와 병용하여 사용하여, 원하는 임상 결과를 얻을 수 있다.
- [0320] **활성화된 T 세포**
- [0321] 본 발명은 활성화된 T 세포를 포함하는 단리된 세포 집단을 또한 제공하며, 여기서 활성화된 T 세포의 약 1% 미만이 조절 T (T_{조절}) 세포이다. 본 명세서에 기재된 단리된 세포 집단은 이전 섹션에서 기재된 활성화된 T 세포 집단을 제조하는 방법 중 어느 하나에 의해 제조될 수 있다. 본 명세서에 기재된 단리된 세포 집단은 개체에서 암을 치료하거나, 종양 진행을 예방하거나, 면역 회피를 감소시키는 데 유용하다.
- [0322] 본 명세서에 기재된 단리된 세포 집단은 주로 활성화된 T 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단의 약 90% 이상이 활성화된 T 세포이다. 일부 실시 형태에서, 약 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 중 어느 하나 이상의 세포 집단은 활성화된 T 세포이다. 일부 실시 형태에서, 약 50 내지 60%, 60 내지

70%, 70 내지 80%, 80 내지 90%, 90 내지 95%, 95 내지 98%, 50 내지 70%, 60 내지 80%, 90 내지 99%, 50 내지 80%, 80 내지 99%, 50 내지 90%, 60 내지 90%, 70 내지 99% 또는 50 내지 99% 중 어느 하나의 단리된 세포 집단은 활성화된 T 세포이다.

[0323] 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 10%, 5%, 3%, 1%, 0.9%, 0.8%, 0.7%, 0.6%, 0.5%, 0.4%, 0.3%, 0.2%, 0.1% 또는 0.01% 중 어느 하나 미만의 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 5 내지 10%, 3 내지 5%, 1 내지 3%, 0.9 내지 1%, 0.8 내지 0.9%, 0.7 내지 0.8%, 0.6 내지 0.7%, 0.5 내지 0.6%, 0.4 내지 0.5%, 0.3 내지 0.4%, 0.2 내지 0.3%, 0.1 내지 0.2%, 0.1 내지 0.5%, 0.5 내지 1%, 0.2 내지 0.6%, 0.4 내지 0.8%, 0.3 내지 0.7% 또는 0.3 내지 0.5% 중 어느 하나 미만의 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 0.3% 내지 약 0.5%의 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ 세포를 포함한다.

[0324] 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 조절 T 세포 ($T_{조절}$)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 10%, 5%, 3%, 1%, 0.9%, 0.8%, 0.7%, 0.6%, 0.5%, 0.4%, 0.3%, 0.2%, 0.1% 또는 0.01% 중 어느 하나 미만의 $T_{조절}$ 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 5 내지 10%, 3 내지 5%, 1 내지 3%, 0.9 내지 1%, 0.8 내지 0.9%, 0.7 내지 0.8%, 0.6 내지 0.7%, 0.5 내지 0.6%, 0.4 내지 0.5%, 0.3 내지 0.4%, 0.2 내지 0.3%, 0.1 내지 0.2%, 0.1 내지 0.5%, 0.5 내지 1%, 0.2 내지 0.6%, 0.4 내지 0.8%, 0.3 내지 0.7% 또는 0.3 내지 0.5% 중 어느 하나 미만의 $T_{조절}$ 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 0.3% 내지 약 0.5%의 $T_{조절}$ 세포를 포함한다.

[0325] 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 $CD3^+CD8^+$ 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% 또는 80% 중 어느 하나의 $CD3^+CD8^+$ 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 50 내지 60%, 60 내지 65%, 65 내지 70%, 70 내지 75%, 75 내지 80%, 50 내지 65%, 65 내지 80%, 65 내지 70% 또는 65 내지 75% 중 어느 하나보다 적은 $CD3^+CD8^+$ 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 65% 내지 약 75%의 $CD3^+CD8^+$ 세포를 포함한다.

[0326] 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 세포독성 T 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% 또는 80% 중 어느 하나의 세포독성 T 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 50 내지 60%, 60 내지 65%, 65 내지 70%, 70 내지 75%, 75 내지 80%, 50 내지 65%, 65 내지 80%, 65 내지 70% 또는 65 내지 75% 중 어느 하나보다 적은 세포독성 T 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 65% 내지 약 75%의 세포독성 T 세포를 포함한다.

[0327] 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 $CD3^+CD4^+$ 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 10%, 13%, 16%, 18%, 20%, 22%, 25% 또는 30% 중 어느 하나의 $CD3^+CD4^+$ 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 10 내지 13%, 13 내지 16%, 16 내지 18%, 18 내지 20%, 20 내지 22%, 22 내지 25%, 25 내지 30%, 16 내지 20%, 18 내지 22% 또는 16 내지 22% 중 어느 하나보다 적은 $CD3^+CD4^+$ 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 16% 내지 약 22%의 $CD3^+CD4^+$ 세포를 포함한다.

[0328] 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 보조 T 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 10%, 13%, 16%, 18%, 20%, 22%, 25% 또는 30% 중 어느 하나의 보조 T 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 10 내지 13%, 13 내지 16%, 16 내지 18%, 18 내지 20%, 20 내지 22%, 22 내지 25%, 25 내지 30%, 16 내지 20%, 18 내지 22% 또는 16 내지 22% 중 어느 하나보다 적은 보조 T 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 16% 내지 약 22%의 보조 T 세포를 포함한다.

[0329] 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 $CD3^+CD56^+$ 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 10%, 12%, 13%, 13.5%, 14%, 14.5%, 15% 또는 20% 중 어느 하나의 $CD3^+CD56^+$ 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 10 내지 12%, 12 내지 13%, 13 내지 13.5%, 13.5 내지 14%, 14 내지 14.5%, 14.5 내지 15%, 15 내지 20%, 13 내지 14%, 14 내지 15%, 13.5 내지 14.5% 또는 13 내지 15% 중 어느 하나보다

적은 $CD3^+CD56^+$ 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 13% 내지 약 15%의 $CD3^+CD56^+$ 세포를 포함한다.

[0330] 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 자연 살해 (NK) T 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 10%, 12%, 13%, 13.5%, 14%, 14.5%, 15% 또는 20% 중 어느 하나의 NK T 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 10 내지 12%, 12 내지 13%, 13 내지 13.5%, 13.5 내지 14%, 14 내지 14.5%, 14.5 내지 15%, 15 내지 20%, 13 내지 14%, 14 내지 15%, 13.5 내지 14.5% 또는 13 내지 15% 중 어느 하나보다 적은 NK T 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 13% 내지 약 15%의 NK T 세포를 포함한다.

[0331] 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 0.3% 내지 약 0.5%의 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ 세포, 약 65% 내지 약 75%의 $CD3^+CD8^+$ 세포 및 약 16% 내지 약 22%의 $CD3^+CD4^+$ 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 약 0.3% 내지 약 0.5%의 $T_{조절}$ 세포, 약 65% 내지 약 75%의 세포독성 T 세포 및 약 16% 내지 약 22%의 보조 T 세포를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 기억 T 세포를 또한 포함한다.

[0332] 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단의 임의의 실시 형태에서 활성화된 T 세포는 생체내 또는 생체외에서 복수의 중앙 항원 펩티드에 대한 특이적 면역 반응을 유도할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 인간 개체에서 하나 초과인 중앙 항원 펩티드에 대한 세포독성 T 세포 활성을 증가시킬 수 있다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 전염증성 신호 분자의 높은 발현 또는 분비 수준 및 면역억제 사이토카인의 낮은 발현 또는 분비 수준을 특징으로 한다. 일부 실시 형태에서, 상기 발현 또는 분비 수준은 활성화된 T 세포의 분자 (예컨대 전염증성 신호 분자 또는 면역억제 사이토카인)의 발현 또는 분비 수준을 대조 발현 또는 분비 수준과 비교함으로써 측정된다. 일부 실시 형태에서, 분자의 대조 발현 또는 분비 수준은 동일한 분석 조건 하에서 측정된 T 세포의 대조군 집단에서의 분자의 발현 또는 분비 수준이다. 일부 실시 형태에서, T 세포의 대조군 집단은 복수의 무관한 펩티드 (예컨대 T 세포 수용체 항원에 상응하지 않는 펩티드 또는 랜덤 펩티드)에 의해 유도된 T 세포의 집단이다. 일부 실시 형태에서, 분자의 대조 발현 또는 분비 수준은 복수의 T 세포의 대조군 집단에서의 분자의 평균 또는 중앙값 발현 또는 분비 수준이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포에서 분자의 높은 수준의 발현 또는 분비는 대조 발현 또는 분비 수준의 적어도 약 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 10, 20, 50, 100, 1000배 또는 그 이상 중 어느 하나이다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포에서 분자의 낮은 수준의 발현 또는 분비는 대조 발현 또는 분비 수준의 0.001, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.75 또는 0.8배 중 어느 하나 미만이다.

[0333] 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 복수의 전염증성 분자, 예컨대 $IFN\gamma$, $TNF\alpha$, 그랜자임 B, 퍼포린 또는 이들의 임의의 조합을 발현한다. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 면역억제 사이토카인, 예컨대 IL-10 및/또는 IL-4의 발현이 없거나 낮다. 일부 실시 형태에서, 면역-억제 분자, 예컨대 PD-1을 발현하는 활성화된 T 세포 (예컨대 $CD3^+CD4^+$ 세포 또는 $CD3^+CD8^+$ 세포)의 빈도는 낮다. 일부 실시 형태에서, PD-1을 발현하는 활성화된 T 세포의 빈도는 약 10%, 5%, 3%, 2% 또는 1% 중 어느 하나 미만이다. 일부 실시 형태에서, 약 5% 미만의 활성화된 T 세포가 면역-억제 분자인 PD-1을 발현한다.

[0334] 본 명세서에 기재된 단리된 세포 집단은 개체에 투여되는 경우 개체에서 특이적 면역 기억을 생성하도록 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 개체는 단리된 세포 집단의 투여 후 약 2주, 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 6개월, 12개월 또는 그 이상 중 어느 하나의 기간 후에 복수의 중앙 항원 펩티드에 대한 특이적인 T 세포 반응을 유도할 수 있는 기억 T 세포를 갖는다.

[0335] 본 명세서에 기재된 단리된 세포 집단은 또한 생체내 면역-억제 신호를 변경하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 개체에 투여되는 경우, 개체의 T 세포 (예컨대 세포독성 T 세포 또는 보조 T 세포)에서 면역-억제 분자 (예컨대 PD-1) 발현 빈도를 감소시킨다. 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 집단은 개체에서 암 세포의 면역 관용 또는 면역 회피를 감소시킨다. 따라서, 본 명세서에 기재된 임의의 실시 형태의 단리된 세포 집단의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체의 T 세포에서 PD-1과 같은 면역-억제 분자의 발현 빈도를 감소시키는 방법이 제공된다. 또한 임의의 실시 형태의 활성화된 T 세포를 포함하는 단리된 세포 집단을 포함하는 면역치료 조성물 및 개체에서 암을 치료하기 위한 의학의 제조에 있어서의 임의의 실시 형태의 단리된 세포 집단의 용도가 본 명세서에 제공된다.

[0336] **조성물, 키트 및 제품**

- [0337] 본 발명은 또한 본 명세서에 기재된 MASCT 방법 (PBMC 기반 MASCT 방법 및 정밀 MASCT를 포함) 또는 세포 (예컨대 항원-로딩된 DC, 활성화된 T 세포 또는 활성화된 PBMC) 제조 방법의 임의의 실시 형태에서 사용하기 위한 종양 항원 펩티드의 키트, 조성물 (예컨대 약제학적 조성물) 및 시판용 배치를 제공한다.
- [0338] 일부 실시 형태에서, 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함하는, 암 면역치료에 유용한 키트가 제공된다. 일부 실시 형태에서, 키트는 약 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 또는 50개 중 어느 하나 초과 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹 및 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 제1 코어 그룹은 약 10 내지 약 20개의 일반적인 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 제1 코어 그룹은 1개 초과 일반적인 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 제1 코어 그룹은 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 25, 30, 40 또는 50개 중 어느 하나 초과 일반적인 종양 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 제2 그룹은 약 1 내지 약 10개의 암-유형 특이적 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 제2 그룹은 약 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 25, 30, 40 또는 50개 중 어느 하나 초과 암-유형 특이적 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 제2 그룹은 약 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 25, 30, 40 또는 50개 중 어느 하나 초과 바이러스-특이적 항원 펩티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 키트는 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 25, 30, 40 또는 50개 중 어느 하나의 신생항원 펩티드를 추가로 포함한다.
- [0339] 일부 실시 형태에서, 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함하는 암 면역치료에 유용한 키트가 제공되며, 여기서 적어도 10종의 종양 항원 펩티드 각각은 서열 번호 1 내지 40으로 이루어진 군으로부터 선택되는 에피토프를 적어도 하나 포함한다. 일부 실시 형태에서, 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함하는 암 면역치료에 유용한 키트가 제공되며, 여기서 적어도 10종의 종양 항원 펩티드 각각은 서열 번호 1 내지 24로 이루어진 군으로부터 선택되는 에피토프를 적어도 하나 포함한다. 일부 실시 형태에서, 도 2b의 종양 항원 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함하는, 암 면역치료에 유용한 키트가 제공된다. 일부 실시 형태에서, 도 2c 및 도 29a의 종양 항원 펩티드로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함하는 암 면역치료에 유용한 키트가 제공된다. 일부 실시 형태에서, hTERT, p53, 서바이빈, NY-ESO-1, CEA, CCND1, MET, RGS5, MMP7, VEGFR, AFP, GPC3, HBVc, HBVp, CDCA1, KRAS, PARP4, MLL3 및 MTHFR로 이루어진 군으로부터 선택되는 단백질로부터 유래된 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함하는, 암 면역치료에 유용한 키트가 제공된다.
- [0340] 당업자는 제1 코어 그룹의 종양 항원 펩티드의 임의의 조합 및 임의로 제2 그룹의 암-유형 특이적 항원 펩티드의 임의의 조합 및/또는 신생항원 펩티드를 사용하여, 수지상 세포의 집단에 로딩할 수 있으며, 이는 개체에서 암을 치료하는 데 유용한 활성화된 T 세포를 제조하는 데 또한 사용될 수 있다. 키트는 또한 PBMC 기반 MASCT 방법, 정밀 MASCT 방법 또는 MASCT를 받는 개체로부터 종양 특이적 TCR을 복제하는 데 유용할 수 있다.
- [0341] 키트는 용기, 시약, 배양 배지, 사이토카인, 완충액, 항체 등과 같은 추가의 성분을 함유하여, MASCT 방법 (PBMC 기반 MASCT 방법 및 정밀 MASCT 방법을 포함), 또는 MASCT를 받는 개체로부터 종양 특이적 TCR을 복제하는 방법의 임의의 실시 형태의 수행을 촉진할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시 형태에서, 키트는 개체의 말초 혈액을 수집하는 데 사용될 수 있는 말초 혈액 수집 및 저장 장치를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 키트는 인간 말초 혈액 샘플로부터 PBMC를 분리하는 데 사용될 수 있는, 말초 혈액의 밀도 구배 원심분리를 위한 용기 및 시약을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 키트는 말초 혈액으로부터 수지상 세포를 얻기 위해 배양 배지, 사이토카인 또는 완충액을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 키트는 제1 코어 그룹 및 임의로 제2 그룹을 수지상 세포로 로딩하여, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포를 얻기 위해 배양 배지, TLR 작용제, 시약 및 완충액을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 키트는 말초 혈액으로부터 얻은 T 세포를 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포와 공동 배양하기 위해 사이토카인, 항-CD3 항체, 완충액, 면역 체크포인트 억제제 또는 배양 배지를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 키트는 암 세포에서 (예컨대 하나 이상의 MHC 유전자에서) 돌연변이 부하를 측정하기 위해 시약을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 키트는 MASCT와의 병용 요법을 위한 면역 체크포인트 억제제를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 키트는 종양 샘플에서 신생항원을 (예컨대 시퀀싱하여) 동정하기 위한 시약을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 키트는 복수의 종양 항원 펩티드에 대한 특이적 면역 반응을 평가하기 위한 ELISPOT 분석기를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 키트는 종양 특이적 TCR을 복제하기 위한 시약을 추가로 포함한다.

- [0342] 본 발명의 키트는 적합한 포장물 내에 존재한다. 적합한 포장물에는 바이알, 보틀, 병, 신축성 포장물 (예를 들어, 마일라(Mylar) 또는 플라스틱 백) 등이 포함되나, 이에 한정되지 않는다. 키트는 임의로 추가의 성분, 예컨대 완충액 및 설명적 정보를 포함할 수 있다. 따라서, 본 출원은 바이알 (예컨대 밀봉된 바이알), 보틀, 병, 신축성 포장물 등을 포함하는 제품을 또한 제공한다.
- [0343] 설명서는 또한 종양 항원 펩티드 (및 임의로 상기 기재된 추가의 성분)의 사용과 관련된 설명서를 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 키트는 MASCT 방법 (PBMC 기반 MASCT 방법 및 정밀 MASCT 방법을 포함)의 실시 형태, 본 명세서에 기재된 세포 제조 방법의 실시 형태 또는 종양 특이적 TCR의 복제 방법의 실시 형태의 프로토콜을 설명하는 매뉴얼과 같은 설명서를 추가로 포함한다. 설명서는 또한 의도된 치료를 위해 키트를 사용하여 제조된 항원 제시 세포 (예컨대 수지상 세포), 활성화된 T 세포 및/또는 활성화된 PBMC의 투여량, 투여 스케줄 및 투여 경로에 대한 정보를 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 키트는 MASCT 방법에 적합한 개체의 선택에 관한 설명서를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 키트는 개체에서 암 세포의 돌연변이 부하를 측정하고/거나 신생항원의 수를 측정에 관한 설명서를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 키트는, 예를 들어, 면역 체크포인트 억제제의 투여량, 투여 스케줄 및 투여 경로에 대한 정보를 포함하는 MASCT와 면역 체크포인트 억제제의 병용 투여에 관한 설명서를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 키트는 종양 샘플에서 신생항원을 (예컨대 시퀀싱하여) 동정에 관한 설명서를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 키트는 MASCT를 받은 후 개체의 모니터링에 관한 설명서를 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 키트는 종양 특이적 TCR의 복제에 관한 설명서를 추가로 포함한다.
- [0344] 용기는 단위 용량, 벌크 패키지 (예를 들어, 다회-용량(multi-dose) 패키지) 또는 하위-단위 용량일 수 있다. 예를 들어, 3주, 6주, 9주, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 8개월, 9개월, 1년 또는 그 이상 중 어느 하나와 같은 연장된 기간 동안 개체의 효과적인 치료를 제공하기에 충분한 활성화된 T 세포 및/또는 항원-로딩된 수지상 세포 (예컨대 수지상 세포)를 제조하기 위해 본 명세서에 개시된 바와 같은 충분한 종양 항원 펩티드를 함유하는 키트가 제공될 수 있다.
- [0345] 키트는 또한 약국, 예를 들어, 병원 약국 및 조제 약국에서 보관 및 사용하기에 충분한 양으로 포장된 다회 단위 용량의 종양 항원 펩티드 및 사용 설명서를 포함할 수 있다.
- [0346] 일부 실시 형태에서, 종양 항원 펩티드 집단의 시판용 배치 또는 본 명세서에 기재된 바와 같은 키트가 제공된다. 본 명세서에서 사용된 "시판용 배치"는 적어도 약 10 mg인 배치 크기를 지칭한다. 일부 실시 형태에서, 배치 크기는 적어도 약 10, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000, 5000 또는 10000 mg 중 어느 하나이다. 일부 실시 형태에서, 시판용 배치는 본 명세서에 기재된 바와 같은 임의의 조성물 (예컨대 종양 항원 펩티드 집단 또는 키트)을 포함하는 복수의 바이알을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 시판용 배치는 적어도 약 5, 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 200, 300, 400, 500, 1000, 2000, 5000 또는 10000개 중 어느 하나의 바이알을 포함한다. 예를 들어, 각각의 바이알은 적어도 약 0.1 mg의 종양 항원 펩티드를 함유한다. 일부 실시 형태에서, 종양 항원 펩티드는 액체 현탁액 중에 존재한다. 일부 실시 형태에서, 종양 항원 펩티드는 분말 형태, 예컨대 동결 건조된 분말 중에 존재한다.
- [0347] 본 명세서에 기재된 키트, 임의의 단리된 세포 집단 (예컨대 종양 특이적 TCR을 포함하는 수지상 세포, 활성화된 T 세포, 활성화된 PBMC 또는 단리된 T 세포)의 조성물 (예컨대 약제학적 조성물) 및 시판용 배치가 추가로 제공된다.
- [0348] 본 명세서에 기재된 단리된 세포 집단은, 기재된 단리된 세포 집단을 본 명세서에 기재된 치료 방법, 투여 방법 및 투여 계획에 사용하기 위해 본 기술 분야에 알려진 약제학적으로 허용가능한 담체, 부형제, 안정화제 및/또는 다른 제제와 배합함으로써, 약제학적 조성물 또는 제제에서 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 인간 알부민은 약제학적으로 허용가능한 담체로서 사용된다.
- [0349] 적절한 약제학적 담체로는 멸균수; 생리식염수, 텍스트로스; 물 또는 생리식염수 중의 텍스트로스; 피마자유 1 몰 당 에틸렌 옥사이드 약 30 내지 약 35 몰이 배합된 피마자유와 에틸렌 옥사이드의 축합 생성물; 액체산; 저급 알칸올; 오일, 예컨대 옥수수유; 낙화생유, 참기름 등(유화제, 예컨대 지방산의 모노글리세라이드 또는 다이글리세라이드, 또는 포스파타이드, 예를 들어, 레시틴 등을 함유함); 글리콜; 폴리알킬렌 글리콜; 현탁화제, 예를 들어, 나트륨 카르복시메틸셀룰로스의 존재 하에서의 수성 매질; 알긴산나트륨; 폴리(비닐피롤리돈) 등 단독, 또는 적절한 분산제, 예컨대 레시틴; 폴리옥시에틸렌 스테아레이트 등을 함유한 것 등을 포함한다. 담체는 또한 침투 증강제와 함께 보조제(adjuvant), 예컨대 보존제, 안정제, 습윤제, 유화제 등을 함유할 수 있다. 최종 형태는 무균 상태일 수 있으며, 또한 주사 기구, 예컨대 중공 침을 용이하게 통과할 수 있다. 적절한 점

도는 용매 또는 부형제의 적절한 선택에 의해 달성되어 유지될 수 있다.

[0350] 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물은 조성물의 특성을 개선시키기 위해 다른 제제, 부형제 또는 안정화제를 포함할 수 있다. 적절한 부형제 및 희석제의 예로는 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 소르비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 검, 인산칼슘, 알긴산염, 트래거캔스 고무, 젤라틴, 규산칼슘, 미결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 식염수, 시럽, 메틸셀룰로스, 메틸- 및 프로필하이드록시벤조에이트, 탭크, 스테아르산마그네슘 및 광유를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에서, 약제학적 조성물은, 예를 들어, 약 5.0 내지 약 8.0, 약 6.5 내지 약 7.5, 또는 약 6.5 내지 약 7.0의 pH 범위를 포함하는 약 4.5 내지 약 9.0의 범위의 pH 를 갖도록 제형화된다. 일부 실시 형태에서, 약제학적 조성물은 또한 적절한 긴장성 변형제(tonicity modifier), 예컨대 글리세롤을 첨가하여 혈액과 등장성이 되도록 제조될 수 있다.

[0351] 일부 실시 형태에서, 단리된 세포 조성물 (예컨대 약제학적 조성물)은 인간에게 투여하기에 적합하다. 일부 실시 형태에서, 조성물 (예컨대 약제학적 조성물)은 비경구 투여에 의해 인간에게 투여하기에 적합하다. 비경구 투여용으로 적합한 제제로는 제제를 대상으로 하는 수용자의 혈액에 적합하게 하는, 산화방지제, 완충제, 정균제 및 용질을 함유할 수 있는 수성 및 비수성 등장성 멸균 주사액, 및 현탁화제, 가용화제, 증점제, 안정화제 및 보존제를 포함할 수 있는 수성 및 비수성 멸균 현탁액이 포함된다. 제제는 단위 용량 또는 다회 용량 밀봉 용기, 예컨대 앰플 및 바이알로 제공될 수 있으며, 본 명세서에 기재된 치료 방법, 투여 방법 및 투여 계획에 사용하기 위해 사용 직전에 주사용 멸균액 부형제 (즉, 물)의 첨가 만을 필요로 하는 상태로 보관될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 조성물 (예컨대 약제학적 조성물)은 일회용 바이알 예컨대 일회용 밀봉 바이알에 포함된다. 일부 실시 형태에서, 각각의 일회용 바이알은 약 10^9 개의 활성화된 T 세포를 함유한다. 일부 실시 형태에서, 각각의 일회용 바이알은 약 10^9 개의 활성화된 T 세포로 증식되기 충분한 활성화된 T 세포를 함유한다. 일부 실시 형태에서, 조성물 (예컨대 약제학적 조성물)은 다회 사용 바이알에 포함된다. 일부 실시 형태에서, 조성물 (예컨대 약제학적 조성물)은 용기 내에 벌크로 포함된다.

[0352] 본 명세서에 기재된 단리된 세포 조성물 (예컨대 약제학적 조성물) 및 제제를 포함하는 단위 투여 형태가 또한 제공된다. 이러한 단위 투여 형태는 단일 또는 다회 단위 용량으로 적합한 포장물 내에 저장될 수 있고, 또한 추가로 멸균되어 밀봉될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 조성물 (예컨대 약제학적 조성물)은 암을 치료하는 데 유용한 하나 이상의 다른 화합물 (또는 이들의 약제학적으로 허용가능한 염)을 또한 포함한다. 다양한 변형예에서, 약제학적 조성물 내의 활성화된 T 세포의 수는 다음 범위 중 하나에 포함된다: 약 1×10^8 내지 약 5×10^8 , 약 5×10^8 내지 약 9×10^8 , 약 9×10^8 내지 약 1×10^9 , 약 1×10^9 내지 약 2×10^9 , 약 2×10^9 내지 약 3×10^9 , 약 3×10^9 내지 약 4×10^9 , 약 4×10^9 내지 약 5×10^9 , 약 5×10^9 내지 약 6×10^9 , 약 6×10^9 내지 약 1×10^{10} , 약 1×10^9 내지 약 3×10^9 , 약 3×10^9 내지 약 5×10^9 , 약 5×10^9 내지 약 7×10^9 , 약 7×10^9 내지 약 1×10^{10} , 약 1×10^9 내지 약 5×10^9 , 약 5×10^9 내지 약 1×10^{10} , 약 3×10^9 내지 약 7×10^9 , 약 1×10^{10} 내지 약 1.5×10^{10} , 약 1×10^{10} 내지 약 2×10^{10} 또는 약 1×10^9 내지 약 1×10^{10} 개의 세포. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 조성물 내에 포함된 암의 치료를 위한 유일한 약제학적 활성제이다.

[0353] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 단리된 세포 조성물 (예컨대 약제학적 조성물) 중 어느 하나를 포함하는 암의 치료를 위한 투여 형태 (예를 들어, 단위 투여 형태)가 제공된다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 조성물 (예컨대 약제학적 조성물), 제제 및 단위 용량을 포함하는 제품이 본 명세서에 기재된 치료 방법, 투여 방법 및 투여 계획에 사용하기 적합한 포장물 내에 제공된다. 본 명세서에 기재된 조성물 (예컨대 약제학적 조성물)에 적합한 포장물이 본 기술 분야에 알려져 있으며, 예를 들어, 바이알 (예컨대 밀봉 바이알), 저장용기(vessel) (예컨대 밀봉 저장용기), 앰플, 보틀, 병, 신축성 포장물 (예를 들어, 밀봉 마일라 또는 플라 스틱 백) 등을 포함한다. 이러한 제품은 추가로 멸균 및/또는 밀봉될 수 있다.

[0354] 본 출원은 본 명세서에 기재된 치료 방법, 투여 방법 및 투여 계획에 사용하기 위한 본 명세서에 기재된 임의의 단리된 세포 집단, 조성물 (예컨대 약제학적 조성물), 제제, 단위 용량 및 제품을 포함하는 키트를 추가로 제공한다. 본 명세서에 기재된 키트는 활성화된 T 세포를 포함하는 하나 이상의 용기를 포함한다.

[0355] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 활성화된 T 세포의 시판용 배치가 제공된다. 본 명세서에서 사용된 "시판용 배치"는 적어도 약 1×10^9 개의 활성화된 T 세포인 배치 크기를 지칭한다. 일부 실시 형태에서, 배

치 크기는 적어도 약 1×10^9 , 2×10^9 , 3×10^9 , 4×10^9 , 5×10^9 , 6×10^9 , 7×10^9 , 8×10^9 , 9×10^9 , 1×10^{10} , 2×10^{10} , 5×10^{10} 또는 1×10^{11} 개 중 어느 하나의 세포이다. 일부 실시 형태에서, 시판용 배치는 본 명세서에 기재된 임의의 조성물 (예컨대 약제학적 조성물)을 포함하는 복수의 바이알을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 시판용 배치는 약 5, 10, 15, 20, 25, 50, 75 또는 100개 중 어느 하나 이상의 바이알을 포함한다. 예를 들어, 각각의 바이알은 적어도 약 1×10^9 개의 활성화된 T 세포를 함유한다.

[0356] 하기 실시예 및 예시적인 실시 형태는 본 발명을 단지 예시하고자 하는 것이므로, 본 발명을 어떤 식으로든 제한하는 것으로 간주되어서는 안된다. 하기 실시예 및 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용은 제한하는 것이 아니라 예시하기 위해 제공된다.

[0357] 예시적인 실시 형태

[0358] 실시 형태 1. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 활성화된 T 세포는 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 T 세포 집단을 공동 배양함으로써 제조된다.

[0359] 실시 형태 2. 실시 형태 1의 일부 추가의 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량이 개체에 사전 투여되었다.

[0360] 실시 형태 3. 실시 형태 1의 일부 추가의 실시 형태에서, 상기 방법은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다.

[0361] 실시 형태 4. 실시 형태 3의 일부 추가의 실시 형태에서, 수지상 세포는 활성화된 T 세포의 투여 전에 투여된다.

[0362] 실시 형태 5. 실시 형태 4의 일부 추가의 실시 형태에서, 수지상 세포는 활성화된 T 세포의 투여 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일) 전에 투여된다.

[0363] 실시 형태 6. 실시 형태 1 내지 실시 형태 5 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 상기 방법은 T 세포 집단과 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 공동 배양함으로써 활성화된 T 세포를 제조하는 단계를 추가로 포함한다.

[0364] 실시 형태 7. 실시 형태 6의 일부 추가의 실시 형태에서, T 세포의 집단은 수지상 세포의 집단과 약 7일 내지 약 21일 (예컨대 약 7일 내지 약 14일 또는 약 14일 내지 약 21일)일 동안 공동 배양된다.

[0365] 실시 형태 8. 실시 형태 1 내지 실시 형태 7 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 공동 배양 전에 T 세포 집단을 면역 체크포인트 억제제와 접촉시킨다.

[0366] 실시 형태 9. 실시 형태 1 내지 실시 형태 8 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, T 세포 집단은 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 공동 배양된다.

[0367] 실시 형태 10. 실시 형태 8 또는 실시 형태 9의 일부 추가의 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1, PD-L1 및 CTLA-4로 이루어진 군으로부터 선택되는 면역 체크포인트 분자의 억제제이다.

[0368] 실시 형태 11. 실시 형태 1 내지 실시 형태 10 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 상기 방법은 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 제조하는 단계를 추가로 포함한다.

[0369] 실시 형태 12. 실시 형태 11의 일부 추가의 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단은 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킴으로써 제조된다.

[0370] 실시 형태 13. 실시 형태 12의 일부 추가의 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단은 수지상 세포에 의한 복수의 종양 항원 펩티드의 흡수를 촉진하는 조성물의 존재 하에 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시킴으로써 제조된다.

[0371] 실시 형태 14. 실시 형태 1 내지 실시 형태 13 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, T 세포 집단 및 수지상 세포 집단은 동일한 개체로부터 유래된다.

[0372] 실시 형태 15. 실시 형태 14의 일부 추가의 실시 형태에서, T 세포 집단 및 수지상 세포 집단은 치료되는 개체로부터 유래된다.

- [0373] 실시 형태 16. 일부 실시 형태에서, a) 단핵구 집단의 수지상 세포 집단으로의 분화를 유도하는 단계; b) 수지상 세포의 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 얻는 단계; 및 c) 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 비부착성 PBMC의 집단을 공동 배양하여 활성화된 T 세포 집단을 얻는 단계를 포함하는, 활성화된 T 세포 집단을 제조하는 방법이 제공되며, 여기서 단핵구 집단 및 비부착성 PBMC 집단은 개체로부터의 PBMC 집단으로부터 얻는다.
- [0374] 실시 형태 17. 실시 형태 16의 일부 추가의 실시 형태에서, 단계 b)는 수지상 세포에 의한 복수의 종양 항원 펩티드의 흡수를 촉진하는 조성물의 존재 하에, 수지상 세포 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시키는 단계를 포함한다.
- [0375] 실시 형태 18. 실시 형태 16 또는 실시 형태 17의 일부 추가의 실시 형태에서, 단계 d)는 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단을 복수의 Toll-유사 수용체 (TLR) 작용제와 접촉시켜, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단의 성숙을 유도하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0376] 실시 형태 19. 실시 형태 16 내지 실시 형태 18 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 단계 f)는 활성화된 T 세포 집단을 복수의 사이토카인과 접촉시켜, 활성화된 T 세포 집단의 증식 및 분화를 유도하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0377] 실시 형태 20. 실시 형태 19의 일부 추가의 실시 형태에서, 복수의 사이토카인은 IL-2, IL-7, IL-15 또는 IL-21을 포함한다.
- [0378] 실시 형태 21. 실시 형태 16 내지 실시 형태 20 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 공동 배양 전에 비부착성 PBMC 집단을 면역 체크포인트 억제제와 접촉시킨다.
- [0379] 실시 형태 22. 실시 형태 16 내지 실시 형태 21 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 단계 c)는 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포의 집단과 비부착성 PBMC 집단을 공동 배양하는 단계를 포함한다.
- [0380] 실시 형태 23. 실시 형태 21 또는 실시 형태 22의 일부 추가의 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1, PD-L1 및 CTLA-4로 이루어진 군으로부터 선택되는 면역 체크포인트 분자의 억제제이다.
- [0381] 실시 형태 24. 일부 실시 형태에서, 실시 형태 16 내지 실시 형태 23에 기재된 방법 중 어느 하나에 의해 제조되는 활성화된 T 세포의 집단의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다.
- [0382] 실시 형태 25. 실시 형태 24의 일부 추가의 실시 형태에서, PBMC 집단을 치료되는 개체로부터 얻는다.
- [0383] 실시 형태 26. 실시 형태 1 내지 실시 형태 15 및 실시 형태 24 내지 실시 형태 25 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 개체에 적어도 3회 투여된다.
- [0384] 실시 형태 27. 실시 형태 26의 일부 추가의 실시 형태에서, 각 활성화된 T 세포의 투여 사이의 간격은 약 0.5개월 내지 약 5개월이다.
- [0385] 실시 형태 28. 실시 형태 1 내지 실시 형태 15 및 실시 형태 24 내지 실시 형태 27 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 활성화된 T 세포 정맥내 투여된다.
- [0386] 실시 형태 29. 실시 형태 1 내지 실시 형태 15 및 실시 형태 24 내지 실시 형태 28 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 적어도 약 3×10^9 개의 세포/개체의 투여량으로 투여된다.
- [0387] 실시 형태 30. 실시 형태 29의 일부 추가의 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 약 1×10^9 내지 약 1×10^{10} 개의 세포/개체로 투여된다.
- [0388] 실시 형태 31. 실시 형태 2 내지 실시 형태 15 및 실시 형태 24 내지 실시 형태 30 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 적어도 3회 투여된다.
- [0389] 실시 형태 32. 실시 형태 31의 일부 추가의 실시 형태에서, 각 수지상 세포의 투여 사이의 간격은 약 0.5개월 내지 약 5개월이다.
- [0390] 실시 형태 33. 실시 형태 2 내지 실시 형태 15 및 실시 형태 24 내지 실시 형태 32 중 어느 하나의 일부 추가

의 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드가 로딩된 수지상 세포는 피하 투여된다.

- [0391] 실시 형태 34. 실시 형태 2 내지 실시 형태 15 및 실시 형태 24 내지 실시 형태 33 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 수지상 세포는 약 1×10^6 내지 약 5×10^6 개의 세포/개체의 투여량으로 투여된다.
- [0392] 실시 형태 35. 일부 실시 형태에서, a) PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시켜 활성화된 PBMC 집단을 얻는 단계 및 b) 활성화된 PBMC의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다.
- [0393] 실시 형태 36. 실시 형태 35의 일부 추가의 실시 형태에서, 단계 (a)는 면역 체크포인트 억제제의 존재 하에 PBMC 집단을 복수의 종양 항원 펩티드와 접촉시키는 단계를 포함한다.
- [0394] 실시 형태 37. 실시 형태 36의 일부 추가의 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1, PD-L1 및 CTLA-4로 이루어진 군으로부터 선택되는 면역 체크포인트 분자의 억제제이다.
- [0395] 실시 형태 38. 실시 형태 35 내지 실시 형태 37 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 적어도 3회 투여된다.
- [0396] 실시 형태 39. 실시 형태 38의 일부 추가의 실시 형태에서, 각 활성화된 PBMC의 투여 사이의 간격은 약 0.5개월 내지 약 5개월이다.
- [0397] 실시 형태 40. 실시 형태 35 내지 실시 형태 39 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 정맥내 투여된다.
- [0398] 실시 형태 41. 실시 형태 35 내지 실시 형태 40 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 활성화된 PBMC는 약 1×10^9 내지 약 1×10^{10} 개의 세포/개체의 투여량으로 투여된다.
- [0399] 실시 형태 42. 실시 형태 1 내지 실시 형태 41 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 각각 약 20 내지 약 40개의 아미노산 길이이다.
- [0400] 실시 형태 43. 실시 형태 1 내지 실시 형태 42 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 MHC-I 에피토프를 포함하는 적어도 하나의 펩티드를 포함한다.
- [0401] 실시 형태 44. 실시 형태 1 내지 실시 형태 43 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 MHC-II 에피토프를 포함하는 적어도 하나의 펩티드를 포함한다.
- [0402] 실시 형태 45. 실시 형태 43 또는 실시 형태 44의 일부 추가의 실시 형태에서, MHC-I 에피토프 또는 MHC-II 에피토프를 포함하는 적어도 하나의 펩티드는 N-말단, C-말단 또는 둘 모두에서 에피토프를 플랭킹하는 추가의 아미노산을 추가로 포함한다.
- [0403] 실시 형태 46. 실시 형태 1 내지 실시 형태 45 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 일반적인 종양 항원 펩티드의 제1 코어 그룹을 포함한다.
- [0404] 실시 형태 47. 실시 형태 46의 일부 추가의 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 암-유형 특이적 항원 펩티드의 제2 그룹을 추가로 포함한다.
- [0405] 실시 형태 48. 실시 형태 46 또는 실시 형태 47의 일부 추가의 실시 형태에서, 제1 코어 그룹은 약 10 내지 약 20개의 일반적인 종양 항원 펩티드를 포함한다.
- [0406] 실시 형태 49. 실시 형태 47 또는 실시 형태 48의 일부 추가의 실시 형태에서, 제2 그룹은 약 1 내지 약 10개의 암-유형 특이적 항원 펩티드를 포함한다.
- [0407] 실시 형태 50. 실시 형태 1 내지 실시 형태 49 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 신생항원 펩티드를 포함한다.
- [0408] 실시 형태 51. 실시 형태 50의 일부 추가의 실시 형태에서, 신생항원 펩티드는 개체로부터의 종양 샘플의 유전자 프로파일에 기초하여 선택된다.
- [0409] 실시 형태 52. 실시 형태 1 내지 실시 형태 15 및 실시 형태 24 내지 실시 형태 51 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 암은 간세포 암종, 자궁경부암, 폐암, 대장암, 림프종, 신장암, 유방암, 췌장암, 위암, 식도암, 난소암, 전립선암, 비인두암, 흑색종 및 뇌종양으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

- [0410] 실시 형태 53. 실시 형태 1 내지 실시 형태 15 및 실시 형태 24 내지 실시 형태 52 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 방법은 개체에 면역 체크포인트 억제제의 유효량을 투여하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0411] 실시 형태 54. 실시 형태 53의 일부 추가의 실시 형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1, PD-L1 및 CTLA-4로 이루어진 군으로부터 선택되는 면역 체크포인트 분자의 억제제이다.
- [0412] 실시 형태 55. 실시 형태 1 내지 실시 형태 15 및 실시 형태 24 내지 실시 형태 54 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 암의 돌연변이 부하에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다.
- [0413] 실시 형태 56. 실시 형태 1 내지 실시 형태 15 및 실시 형태 24 내지 실시 형태 55 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 개체는 암에서 낮은 돌연변이 부하를 갖는다.
- [0414] 실시 형태 57. 실시 형태 56의 일부 추가의 실시 형태에서, 개체는 하나 이상의 MHC 유전자에 낮은 돌연변이 부하를 갖는다.
- [0415] 실시 형태 58. 실시 형태 57의 일부 추가의 실시 형태에서, 개체는 하나 이상의 MHC 유전자에 약 10개 이하의 돌연변이를 갖는다.
- [0416] 실시 형태 59. 실시 형태 57 또는 실시 형태 58의 일부 추가의 실시 형태에서, 개체는 B2M에 돌연변이가 없다.
- [0417] 실시 형태 60. 실시 형태 57 내지 실시 형태 59 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 개체는 하나 이상의 MHC 유전자의 기능성 영역에 돌연변이가 없다.
- [0418] 실시 형태 61. 실시 형태 55 내지 실시 형태 60 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 암의 돌연변이 부하는 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써 측정된다.
- [0419] 실시 형태 62. 실시 형태 1 내지 실시 형태 15 및 실시 형태 24 내지 실시 형태 61 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 하나 이상의 신생항원을 갖는 것에 기초하여 치료 방법에 적합한 개체를 선택한다.
- [0420] 실시 형태 63. 실시 형태 1 내지 실시 형태 15 및 실시 형태 24 내지 실시 형태 62 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 개체는 적어도 5개의 신생항원을 갖는다.
- [0421] 실시 형태 64. 실시 형태 62 또는 실시 형태 63의 일부 추가의 실시 형태에서, 방법은 암의 신생항원을 동정하는 단계 및 신생항원 펩티드를 복수의 종양 항원 펩티드에 혼입하는 단계를 추가로 포함하며, 여기서 신생항원 펩티드는 신생항원에 네오에피토프를 포함한다.
- [0422] 실시 형태 65. 실시 형태 62 내지 실시 형태 64 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 개체로부터의 종양 샘플을 시퀀싱함으로써 신생항원을 동정한다.
- [0423] 실시 형태 66. 실시 형태 65의 일부 추가의 실시 형태에서, 상기 시퀀싱은 암-관련 유전자의 표적 시퀀싱이다.
- [0424] 실시 형태 67. 실시 형태 64 내지 실시 형태 66 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 방법은 MHC 분자에 대한 네오에피토프의 친화력을 측정하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0425] 실시 형태 68. 실시 형태 64 내지 실시 형태 67 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 방법은 네오에피토프 및 MHC 분자를 포함하는 복합체의 T 세포 수용체에 대한 친화력을 측정하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0426] 실시 형태 69. 실시 형태 67 또는 실시 형태 68의 일부 추가의 실시 형태에서, MHC 분자는 MHC 클래스 I 분자이다.
- [0427] 실시 형태 70. 실시 형태 67 내지 실시 형태 69 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, MHC 분자는 개체로부터 유래된다.
- [0428] 실시 형태 71. 실시 형태 1 내지 실시 형태 15 및 실시 형태 24 내지 실시 형태 70 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 방법은 활성화된 T 세포 또는 활성화된 PBMC의 투여 후에 개체를 모니터링하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0429] 실시 형태 72. 실시 형태 71의 일부 추가의 실시 형태에서, 모니터링하는 단계는 개체에서 순환 종양 세포(CTC)의 수를 측정하는 단계를 포함한다.
- [0430] 실시 형태 73. 실시 형태 71 또는 실시 형태 72의 일부 추가의 실시 형태에서, 모니터링하는 단계는 개체에서 복수의 종양 항원 펩티드에 대한 특이적 면역 반응을 검출하는 단계를 포함한다.

- [0431] 실시 형태 74. 실시 형태 73의 일부 추가의 실시 형태에서, 복수의 종양 항원 펩티드는 복수의 맞춤형 종양 항원 펩티드를 제공하기 위해 특이적 면역 반응에 기초하여 조정된다.
- [0432] 실시 형태 75. 실시 형태 74의 일부 추가의 실시 형태에서, 치료 방법은 복수의 맞춤형 종양 항원 펩티드를 사용하여 반복된다.
- [0433] 실시 형태 76. 실시 형태 1 내지 실시 형태 15 및 실시 형태 24 내지 실시 형태 75 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 개체는 인간 개체이다.
- [0434] 실시 형태 77. 일부 실시 형태에서, (a) 실시 형태 1 내지 실시 형태 15 및 실시 형태 24 내지 실시 형태 76 중 어느 하나의 방법으로 개체를 치료하는 단계; (b) 복수의 종양 항원 펩티드에서 종양 항원 펩티드를 특이적으로 인식하는 T 세포를 개체로부터 분리하는 단계; 및 (c) T 세포 수용체를 T 세포로부터 복제하여 종양 특이적 T 세포 수용체를 제공하는 단계를 포함하는, 종양 특이적 T 세포 수용체를 복제하는 방법이 제공된다.
- [0435] 실시 형태 78. 실시 형태 77의 일부 추가의 실시 형태에서, 개체는 종양 항원 펩티드에 대한 강한 특이적 면역 반응을 갖는다.
- [0436] 실시 형태 79. 실시 형태 77 또는 실시 형태 78의 일부 추가의 실시 형태에서, T 세포는 개체의 PBMC 샘플로부터 분리된다.
- [0437] 실시 형태 80. 실시 형태 77 내지 실시 형태 79 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 종양 항원 펩티드는 신생항원 펩티드이다.
- [0438] 실시 형태 81. 일부 실시 형태에서, 실시 형태 77 내지 실시 형태 80 중 어느 하나의 방법을 사용하여 복제된 종양 특이적 T 세포 수용체가 제공된다.
- [0439] 실시 형태 82. 일부 실시 형태에서, 실시 형태 81의 종양 특이적 T 세포 수용체를 포함하는 분리된 T 세포가 제공된다.
- [0440] 실시 형태 83. 일부 실시 형태에서, 실시 형태 82의 분리된 T 세포의 유효량을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다.
- [0441] 실시 형태 84. 일부 실시 형태에서, 실시 형태 16 내지 실시 형태 23 및 실시 형태 42 내지 실시 형태 51 중 어느 하나의 방법에 의해 제조된 분리된 세포 집단이 제공된다.
- [0442] 실시 형태 85. 일부 실시 형태에서, 활성화된 T 세포를 포함하는 분리된 세포 집단이 제공되며, 여기서 약 1% 미만의 활성화된 T 세포는 조절 T (T_{reg}) 세포이다.
- [0443] 실시 형태 86. 실시 형태 84 또는 실시 형태 85의 일부 추가의 실시 형태에서, 분리된 세포 집단은 약 0.3% 내지 약 0.5%의 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ 세포를 포함한다.
- [0444] 실시 형태 87. 실시 형태 84 내지 실시 형태 86 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 분리된 세포 집단은 약 65% 내지 약 75%의 $CD3^+CD8^+$ 세포를 포함한다.
- [0445] 실시 형태 88. 실시 형태 84 내지 실시 형태 87 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 분리된 세포 집단은 약 16% 내지 약 22%의 $CD3^+CD4^+$ 세포를 포함한다.
- [0446] 실시 형태 89. 실시 형태 84 내지 실시 형태 88 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 분리된 세포 집단은 약 13% 내지 약 15%의 $CD3^+CD56^+$ 세포를 포함한다.
- [0447] 실시 형태 90. 실시 형태 84 내지 실시 형태 89 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 생체내 또는 생체외에서 복수의 종양 항원 펩티드에 특이적 반응을 유도할 수 있다.
- [0448] 실시 형태 91. 실시 형태 90의 일부 추가의 실시 형태에서, 활성화된 T 세포는 복수의 전염증성 분자를 발현한다.
- [0449] 실시 형태 92. 실시 형태 91의 일부 추가의 실시 형태에서, 복수의 전염증성 분자는 $IFN\ \gamma$, $TNF\ \alpha$, 그랜자임 B 또는 퍼포린을 포함한다.
- [0450] 실시 형태 93. 실시 형태 84 내지 실시 형태 92 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 활성화된 T 세포

는 복수의 면역억제 사이토카인의 발현이 없거나 낮다.

- [0451] 실시 형태 94. 실시 형태 93의 일부 추가의 실시 형태에서, 복수의 면역억제 사이토카인은 IL-10 또는 IL-4를 포함한다.
- [0452] 실시 형태 95. 실시 형태 84 내지 실시 형태 94 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 약 5% 미만의 활성화된 T 세포가 면역-억제 분자인 PD-1을 발현한다.
- [0453] 실시 형태 96. 실시 형태 84 내지 실시 형태 95 중 어느 하나의 일부 추가의 실시 형태에서, 단리된 세포 집단의 적어도 약 90%의 세포는 활성화된 T 세포이다.
- [0454] 실시 형태 97. 일부 실시 형태에서, 적어도 10종의 종양 항원 펩티드를 포함하는 조성물이 제공되며, 여기서 적어도 10종의 종양 항원 펩티드 각각은 서열 번호 1 내지 40으로 이루어진 군으로부터 선택되는 에피토프를 적어도 하나 포함한다.
- [0455] 실시 형태 98. 실시 형태 56의 일부 추가의 실시 형태에서, 적어도 10종의 종양 항원 펩티드 각각은 hTERT, p53, 서바이빈, NY-ESO-1, CEA, CCND1, MET, RGS5, MMP7, VEGFR, AFP, GPC3, HBVc, HBVp, CDCA, KRAS, PARP4, MLL3 및 MTHFR로 이루어진 군으로부터 선택되는 암-관련 유전자에 의해 암호화되는 하나 이상의 에피토프를 포함한다.
- [0456] 실시예
- [0457] 본 명세서에 기재된 실시예는 다음의 실험이 행해진 모든 실험이나 유일한 실험을 나타내는 것으로 의도되지 않는다. 사용된 수치(예를 들어, 양, 온도 등)에 관하여 정확성을 기하기 위해 노력해왔으나, 일부 실험 오차 및 편차가 설명되어야 한다. 달리 명시되지 않는 한, 부는 중량부이고, 분자량은 중량평균 분자량이며, 온도는 섭씨온도이고, 압력은 대기압 또는 그 부근이다.
- [0458] **실시예 1 — HCC 치료에서의 MASCT에 대한 임상 및 기전적 연구**
- [0459] 서론
- [0460] 간세포 암종 (HCC)은 사망률이 높은 암 중 하나이며, 만성 B형 간염 바이러스 (HBV) 감염이 있는 중국인 환자에서 자주 발생한다. 절제술, 간 이식, 간동맥 화학색전술 (TACE)과 같은 현재의 표준 치료법 (SOC)이 환자의 생존율을 개선할 수 있지만, HCC는 거의 치료되지 않고, 재발 및 전이의 위험이 높다. 여기서, 본 발명자는 HCC를 앓고 HBV에 공동 감염된 중국인 환자 그룹에 MASCT 방법을 적용하였다.
- [0461] 자가 T 세포가 MASCT 방법의 실시 형태에 따라 환자의 PBMC로부터 생체외에서 제조된 다수의 종양 항원에 의해 활성화되고, 주입에 의해 환자에게 투여되었다. MASCT 전략을 사용하여, 본 발명자는 관련 종양 항원 펩티드를 가진 환자의 자가 T 세포 레퍼토리(repertoire)로부터 종양 항원 특이적 T 세포를 선택적으로 활성화시키고 증폭시켰다. 이는, 숙주에 해로운, 강력한 자가 반응성 T 세포가 모두 제거되는, 흉선에서의 중추성 선택 (central selection)으로부터 이러한 T 세포가 생존했기 때문에, 결과로서 얻어진 세포가 건강한 조직에 대한 교차-반응성 없이 종양 세포를 특이적으로 인식할 수 있음을 보장한다. 본 발명자는, 활성화된 T 세포가 생체 내에서 이펙터 및 기억 T 세포를 모두 포함하는 HCC-특이적 T 세포의 증식을 야기하여, HCC 환자에서 무진행 결과를 개선한다는 것을 발견하였다
- [0462] 결과
- [0463] *MASCT의 제조 과정 및 특징*
- [0464] MASCT 세포 요법의 세포 제조 과정이 도 2a에 도시되어 있다. 간단히 말하면, 환자의 PBMC로부터 단리된 단핵구로부터 분화된 미성숙 수지상 세포 (iDC)는 종양 항원 펩티드 풀로 펠싱되어, TLR 작용제의 보조 하에 성숙 DC (mDC)가 되었다. 동일한 공급원의 PBMC로부터의 자가 T 세포를 사이토카인에서 유지한 후, 상기 기재된 바와 같이 제조된 mDC와 추가로 7 내지 10일 동안 공동 배양하였다. 항원 펩티드 풀은 HCC 환자의 암성 간세포에서 과발현되는 다수의 종양 관련 항원으로 이루어진다. 그들 중 일부는 임상 시험에서 이미 사용되었다 (도 2b)(1-15). HCC 항원 펩티드 풀은 HCC를 포함하는 많은 종류의 종양 세포에서 과발현되는, 10개의 종양-관련 항원 (TAA), 예컨대 서바이빈, NY-ESO-1, 암배아항원 (CEA) 등; 및 HCC 환자의 암성 간세포에서 일반적으로 발현되는, 알파 태아단백질 (AFP) 및 글리피칸-3 (GPC3)으로 명명된 2개의 HCC 특이적 항원을 포함하였다. 중국의 HCC 환자의 대부분이 만성 B형 간염 바이러스 (HBV) 감염과 관련이 있기 때문에, HBV 관련 항원 중 HBV 코어 항원 및 HBV DNA 중합효소로 명명된 2가지가 펩티드 풀에 또한 포함된다. 또한, 각각의 펩티드를 20 내지 40개

의 아미노산 길이를 합성하였고, 클래스 I 및 클래스 II HLA 분자 모두에 대해 이미 확인된 여러 개의 T 세포 인식 에피토프 (도 2c)를 함유하였다. 상기 펩티드를 GMP 조건 하에 화학적으로 합성하였다.

[0465] 실험은 펩티드가 iDC에 의해 효과적으로 내재화되고, 주로 세포질 (도3)에 국한되었음을 나타내었으며, 이는 결과적으로 MHC I 분자에 의한 교차-제시를 촉진시킬 것이다. toll-유사 수용체 (TLR) 리간드로 자극한 후, mDC는 완전한 면역 기능성 특성, 특히 IL12의 높은 분비 수준을 나타내었다 (도4a 및 도 4b).

[0466] 공동 배양 후, 결과로서 얻어진 T 세포가 중앙값 8.9×10^7 개의 세포 (범위, 5×10^7 내지 1.6×10^8 개의 세포)에서 중앙값 6.2×10^9 개의 세포 (범위, 4.1×10^9 내지 9×10^9 개의 세포; 도 5a)로 적어도 45배 이상 증식하였다. 결과로서 얻어진 세포는 거의 독점적으로 주요 표현형이 $CD3^+CD8^+$ ($70\% \pm 5\%$)이고 작은 부분이 $CD3^+CD4^+$ ($19\% \pm 3\%$) 및 $CD3^+CD56^+$ ($14\% \pm 1\%$)인 $CD3^+$ T 세포 ($95\% \pm 1\%$)이었지만, $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ 조절 T 세포 ($T_{조절}$, $0.4\% \pm 0.1\%$)는 거의 없었다 (도 5b).

[0467] 결과로서 얻어진 T 세포의 면역 기능

[0468] 결과로서 얻어진 T 세포의 서브세트 분석은 환자로부터 단리된 비-활성화된 T 세포와 비교하여 (도 5e), $CD3^+CD8^+$ 세포독성 T 세포의 주요 서브세트 뿐만 아니라 $CD3^+CD4^+$ 보조 T 세포 및 $CD3^+CD56^+$ NKT 세포 (16)의 작은(minor) 서브세트에서도 IFN γ , TNF α 및 그랜자임 B (도 5c, 도 5d)의 공동 발현을 특징으로 하는, 다기능성 특성을 나타냈다. IFN γ 및 TNF α 와 같은 전염증성 사이토카인이 결과로서 얻어진 세포의 상청액에서도 발견되었지만, IL10 및 IL4와 같은 면역억제 사이토카인은 거의 검출되지 않았다 (도 6a). 다른 사람 (17, 18) 및 본 발명자는 건강한 공여자와 비교하여 HCC 환자로부터 표면 상에서 면역 억제 분자 PD-1을 발현하는 T 세포의 $CD3^+CD8^+$ 및 $CD3^+CD4^+$ 서브세트의 더 높은 빈도를 검출하였는데, 이는 HCC 환자에서 T 세포 고갈을 시사한다(도 6b 및 도 6c). 그러나, T 세포의 이러한 면역 관용 상태는 다수의 종양 항원으로 펠싱된 DC의 자극에 의해 $CD3^+CD8^+$ T 세포 서브세트 ($n=7$, $p=0.02$) 및 $CD3^+CD4^+$ T 세포 서브세트 ($n=7$, $p<0.01$)에서 상당히 뒤바뀔 수 있다 (도 6d 및 도 6e). 또한, HLA-A2⁺ 환자로부터 생성된, 활성화된 T 세포는 HLA-A2⁺ HCC 세포주 HepG2에 대해 HLA-A2⁻Huh-7 세포보다 우수한 세포독성 활성을 나타내었는데, 이는 HLA-제한 살생을 시사한다. HLA-A2⁻ 환자 ($n=7$)로부터 생성된 결과로서 얻어진 T 세포가 HLA-A2⁺ 및 HLA-A2⁻ HCC 세포주에 대해 유사한 세포독성 활성을 나타내지만, 이는 $CD3^+CD56^+$ NKT 세포에 의해 수행되는 비특이적 살생에 (도 6f) 기여할 수 있다.

[0469] HCC 환자에서 MASCT-유도된 항원 특이적 면역 반응

[0470] MASCT 치료가 HCC 환자에서 면역 환경을 개선시킬 수 있는지를 조사하기 위해, 본 발명자는 환자의 PBMC에서 $T_{조절}$ 의 빈도를 측정하였고, MASCT의 3회 적용 후 이러한 세포의 유의한 하향 조절을 발견하였다 (도 11a). 본 발명자는 또한 무관한 펩티드를 사용한 자극과 비교하여 펩티드 풀을 사용한 자극 후, 환자의 PBMC에서 종양 항원에 대한 특이적 T 세포의 증식 (도 11b) 및 IFN γ 생성 (도 11c)을 검출하였다. 본 발명자는 무관한 펩티드로 자극한 PBMC와 비교하여 HCC-항원 펩티드 풀로 자극한 후에 HCC 환자의 PBMC에서 ($n=6$) 유의하게 증가된 반응을 관찰하였다 (항원 특이적 증식: $p=0.027$; 항원 특이적 IFN γ 생성: $p=0.024$, 도 11b 및 도 11c). HCC 특이적 $CD8^+$ T 세포를 생성하는 IFN γ 는 또한 $CD27$ 및 $CD28$ 을 이들의 표면 상에서 공동 발현하였는데 (도 11d), 이는 면역 기억 표현형(19, 20)을 획득할 수 있는 높은 잠재력을 시사한다. 또한, MASCT 치료 동안 HCC 항원 특이적 T 세포 증식 및 IFN γ 생성이 유도되거나 향상되었는지를 조사하기 위해, 본 발명자는 MASCT 치료 3회 전후로 이러한 환자의 PBMC의 면역 반응을 비교하였다. 결과는 이러한 HCC 특이적 T 세포 증식 및 IFN γ 생성이 강하고, 다회의 MASCT 치료 후 환자에서 점차적으로 누적되는 면역 반응이 검출되었음을 나타낸다 (도 11e 및 11f). 따라서, MASCT 치료 환자에서, $T_{조절}$ 의 하향 조절 및 종양 특이적 T 세포의 상향 조절이 검출되었는데, 이는 MASCT 치료 후 HCC 환자에서 면역 환경의 개선을 나타낸다.

[0471] 풀의 각 항원 펩티드에 대한 MASCT-유도된 면역 반응

[0472] 풀의 종양 항원 펩티드의 각 종류에 대한 특이적 반응을 추가로 조사하기 위해, MASCT 세포 요법으로 다회 치료한 후 6명의 HCC 환자 (모두 HBV⁺임)의 PBMC를 단리하여 개개의 항원 펩티드로 자극하였다. IFN γ 의 생성을 ELISPOT 분석으로 측정하였다. 6명의 환자 (HBV⁺) 모두에서 종양 항원 펩티드에 대한 특이적 반응이 명백하게

상승한 반면에, 각각의 항원 펩티드에 대한 특이적 면역 반응 패턴은 뚜렷이 달랐다. 대부분의 환자가 CEA (5/6), HBV 코어 항원 (5/6) 서바이빈 (4/6), VEGFR (4/6), AFP (4/6), GPC3 (4/6) 및 HBV DNA 중합효소 (4/6)에 반응하였다. 그러나 보다 소수의 환자가 p53 (2/6), CCDN1 (2/6) 및 MET (1/6) (도 12a)에 반응하였는데, 이는 상이한 환자에서 종양의 항원 발현의 다양성 및 면역 환경의 가변성으로 인한 것일 수 있다. 그러나, MASCT 세포 요법 없이는 이러한 종양 항원에 대한 면역 반응이 환자 (n=5)에서 매우 적은 수가 관찰되었다 (도 12b). 또한, 본 발명자는 MASCT 세포 요법의 치료 동안 2명의 HCC 환자 (B기)에서 면역 반응의 동적 변화를 종단적으로 연구하여, 2명 환자의 종양 항원 펩티드에 대한 특이적 면역 반응이 점차적으로 증가하였으며 면역 반응 패턴이 상이하였음을 발견하였다 (도 12c, 도 12d). 본 발명자는 마지막 MASCT 치료 4개월 초과 후 (데이터가 도시되지 않음) 환자에서 T 세포의 종양 항원 특이적 반응을 검출할 수 있었는데, 이는 기억 T 세포에 의한 장기 면역 반응의 형성을 시사한다. 종양 항원 특이적 T 세포의 상승 수준 및 T_{조절}의 감소 수준은 환자의 더 나은 임상 결과로 이어질 수 있다.

[0473] MASCT의 임상적 이점에 대한 중간 분석

[0474] MASCT 세포 요법의 임상적 이점을 조사하기 위해, 본 발명자는 HCC 환자의 암 진행 경과를 후향적으로 연구하였다. 2012년부터 현재까지, 100명의 환자가 HCC B기로 진단되었다 (도 7a). 모든 환자 중 33명이 적어도 1년 동안 지속적으로 치료를 받았기 때문에, 이들을 추가로 분석하였다. 그 중 15명은 HCC에 대한 통상적인 치료, 예컨대 절제술, TACE 및 RFA만을 받았다 (도 8a). 다른 16명의 환자는 표준 치료법에 추가하여 MASCT 세포 치료를 받았다. 그 중 13명의 환자가 1 내지 3개월마다 통상적인 치료와 병용하여 반복 MASCT 세포 치료 (≥ 3)를 받았고 (도 9a); 단일 MASCT 세포 치료만 받은 3명의 환자는 반복 치료 프로토콜을 따르지 않았기 때문에 추가로 분석하지 않았다. 각각의 치료 동안, $2-5 \times 10^7$ 개의 세포/kg 체중 (또는 적어도 1인당 1×10^9 개)가 주입되었다. 명확한 독성은 관찰되지 않았다. 종양이 컴퓨터 단층촬영 (CT) 스캔에 의해 재발, 성장 또는 전이로 검출되는 경우, 환자를 PD (진행성 질환)로 평가하였다. 진단에서부터 질환 진행에 이르는 시간과 받은 치료를 나타내었다. 종양이 진행성이 아닌 경우, 진단 후 1년이 된 시점의 환자에 대한 평가 및 1년 동안 전체적으로 받은 치료를 나타내었다. 1명의 환자는 1년의 평가가 부족하고 다른 환자는 질환이 진행될 때까지 어떠한 치료도 받지 않았기 때문에, 2명의 환자가 분석에서 제외되었다. 1명의 환자 (n=13, PD: 7.69%)만 진행성 질환을 앓았으므로 다회의 MASCT 세포 요법 치료를 받은 환자의 질환 진행 발생율은 유의하게 감소하였다 ($p < 0.0001$) (표 1). 본 발명자는 각 환자가 받은 평균 치료 수가 상대적으로 더 높은데도 불구하고 (11개월, 표 1 및 도 10a), 통상적인 치료만을 받은 환자의 질환 진행까지의 평균 시간이 더 짧았다는 (중앙값: 6개월) 것을 발견하였다. 또한, 단일 MASCT 세포 치료법은 이러한 환자 코호트(cohort)에서 어떠한 무진행 결과를 개선할 수 없었으며 (데이터가 도시되지 않음), 이는 HCC 환자에서 다회의 MASCT 세포 치료로 인한 더 나은 임상 결과의 원인적 요인을 시사하고, 이는 주입된, 활성화된 T 세포의 총량과 관련있을 수 있다.

[0475] [표 1]

진단 후 1년 동안 다회의 MASCT 세포 요법 치료를 받거나 받지 않은 간세포 암종 (B기) 환자 간의 RECIST 평가의 비교

	다회의 MASCT n=13	MASCT 없음 n=15	p-값
전체 반응, 수 (%)	2 (15.4)	1 (6.7)	0.583 ^a
완전 반응 (CR)	1 (7.7)	1 (6.7)	1 ^a
부분 반응 (PR)	1 (7.7)	0 (NA)	0.464 ^a
안정적인 질환 (SD), 수 (%)	10 (76.9)	1 (6.7)	<0.0005 ^b
진행성 질환 (PD), 수 (%)	1 (7.69)	13 (86.7)	<0.0001 ^b
PD까지의 시간, 중앙값 (개월)	11	6	NT

NA: 해당 없음; NT: 시험되지 않음; ^a: 피어의 정확검정(양측)에 의해 분석됨; ^b: 피어슨 카이제곱 검정(Pearson Chi-Square) (양측)에 의해 분석됨

[0476]

[0477] 본 연구는 처음으로 종양 항원에 대한 T 세포의 특이적 반응이 생체내에서 강하게 상승할 수 있음을 입증하였고, MASCT 세포 치료가 면역 기능 및 HCC 환자의 임상 결과를 향상시키는 안전하고 실현가능한 면역치료법을 제안한다.

[0478] MASCT의 임상적 이점에 대한 두 번째 분석

[0479] 본 발명자는 2012년 이후에 진단되어 지속적으로 치료를 받은 (MASCT를 받거나 받지 않은), B기 HCC 환자의 질환 조절율 (DCR)을 후향적으로 연구하고, 1년 이상 정기적으로 추적하였다 (도 7b 및 표 2). 의료 기록의 검토를 통해, 본 발명자는 17명의 환자가 통상적인 치료 (통상 군), 예컨대 절제술, TACE 및 RFA (고주파열치료)를

받았음을 발견하였다 (도 8b). 한편, 15명의 환자가 통상적인 치료에 추가하여 2 내지 3개월마다 MASCT 치료 (≥ 3)를 반복적으로 받았다 (통상+MASCT 군, 도 9b). 이러한 15명의 환자의 경우, 본 발명자는 치료 전후에 일반(routine) 혈액 검사 및 혈액 화학적 검사(biochemistry test)를 수행하였다. 피부 발진, 피로, 발열, 설사, 빈혈, 혈소판 감소증 또는 임의의 다른 부작용이 보고되지 않았으며, 이는 MASCT가 내성이 좋음을 나타낸다. 진단 후 1년째, 통상+MASCT 군의 DCR은 80% (15 중 12)이었으며, 4명의 환자는 전체 반응 (1명의 환자는 CR이고 3명의 환자는 PR)을 보였고, 8명의 환자는 안정적인 질환 (SD)을 보였다. 이러한 DCR은 통상군의 DCR (17.65%) 보다 유의하게 우수 ($p < 0.0001$)하였으며, 여기서 17명 중 3명의 환자만이 제어된 질환 (표 2 및 도 9b)을 보였다. 또한, 본 발명자는 두 군 모두에서 PD로 평가된 환자에서 질환 진행까지의 중앙값 시간을 비교하여, 통상+MASCT 군의 환자 (11개월)가 통상군의 환자 (6개월)보다 시간이 더 길다는 것을 발견하였다. 통상+MASCT 군의 각 환자가 받는 통상적인 치료의 평균 수는 통상군의 평균수인 3.71과 비교하여 2.6이었다 (도 10b). 이러한 데이터는 MASCT 치료가 B기 HCC 환자에게 임상적 이점을 가져다 줌을 명백하게 보여주었다.

[표 2]

진단 후 1년 동안 다회의 MASCT 세포 요법 치료와 병용하거나 (통상+MASCT 군) 병용하지 않은 (통상군) 통상적인 치료를 받은, B기 HCC 환자 간의 질환 조절율 (DCR)의 비교

	통상+MASCT (n=15):	통상 (n=17):	p-값
질환 조절율 (DCR), 수 (%)	12 (80%)	3 (17.65%)	$<0.0001^b$
- 전체 반응율 (ORR)	4 (26.67%)	1 (5.88%)	0.161^a
• 완전 반응 (CR)	1 (6.67%)	1 (5.88%)	0.726^a
• 부분 반응 (PR)	3 (20%)	0	0.092^a
- 안정적인 질환 (SD), 수	8 (53.33%)	2 (11.76%)	0.021^a
진행성 질환 (PD), 수 (%)	3 (20%)	14 (82.35%)	$<0.0001^b$
PD까지의 시간, 중앙값 (개월)	11	6.5	

^a: 피서의 정확검정에 의해 분석됨 (양측); ^b: 피어슨 카이제곱 검정에 의해 분석됨 (양측)

재료 및 방법

환자

중국 남부 의대 난팡 병원(Nanfang Hospital of Southern Medical University) 간 질환과의, MASCT 세포 요법을 받는 HCC 환자는 치료 전에 환자의 사전 동의서에 서명해야 한다. 이러한 환자는 모두 1 내지 3개월마다 $5-10 \times 10^7$ 개의 세포/kg 체중으로 결과로서 얻어진 T 세포를 주입 받았다. 적격성 기준에는 다음이 포함된다: 25 내지 80세 사이의 나이, 2 이하의 미국 동부 종양학 협회(Eastern Cooperative Oncology Group: ECOG) 신체 활동 능력 평가 지수(performance status score), 3개월 초과 기대 수명 및 중증 심혈관 질환, 자가면역 질환 또는 임신 증상이 없음.

중간 분석 연구 설계

중국 남부 의대 난팡 병원 간 질환과의 전산화된 데이터베이스에서 HCC 환자의 의료 기록을 검토하였다. 이러한 데이터베이스는 이러한 나이, 성별, 종양 특징, BCLC 병기, 치료 및 결과에 대한 세부사항을 포함하는 환자의 임상 병리학적 정보를 기록하였다. 2012년 이후에 학과에서 100명의 B기 HCC 환자가 진단받았다. 그 중 적어도 1년 동안 본과에서 지속적으로 치료받은 33명의 환자가 본 연구에 등록하였다. 그 중 MASCT 세포 치료를 한번만 받은 3명의 환자는 반복 치료의 프로토콜을 따르지 않았기 때문에 추가로 분석하지 않았다. 나머지 환자 (n=30)를 환자의 선호에 따라 두 치료군 중 하나로 배정하였다: 1군의 환자는 표준 치료만 받은 반면, 2군의 환자는 다회의 MASCT 세포 요법 치료와 병용하여 표준 치료를 받았다. 1년의 평가가 부족하여 1군의 환자 한명이 제외되었다 (n=13). 질환이 진행될 때까지 어떠한 치료도 받지 않아서 2군의 또 다른 환자가 제외되었다 (n=15). 이들 두 군의 환자의 특징이 도 8a 및 도 9a에 도시되어 있다. 1차 평가변수(endpoint)는 일년 안의 진행성 질환 (PD)을 갖는 환자의 비율 및 PD까지의 시간을 조사하기 위한 것이었다. 본 연구를 중국 남부 의대 난팡 병원의 윤리 위원회가 승인하였다.

중간 분석의 안전성 평가변수

본 발명자는 다회의 MASCT 세포 치료를 받은 15명의 환자에 대한 일반 혈액 검사 및 혈액 화학적 검사를 MASCT 세포 요법 치료 전후에 각각 수행하였다. 백혈구 수, 호중구 수 및 림프구 수와 같은 염증 관련 지표에 있어서 유의미한 차이가 발견되지 않았다. AST, ALT 및 총 빌리루빈과 같은 간 기능 관련 지표의 명확한 다양성도 발견되지 않았다. 또한, 피부 발진, 피로, 발열, 설사, 빈혈 및 혈소판 감소증이 관찰되지 않았다.

[0489] 두 번째 후향성 분석

[0490] 두 번째 후향성 분석 동안, 환자의 의료 기록은 중국 남부 의대 난팡 병원의 간 질환 센터의 전산화된 데이터베이스에서 사용하였다. 이러한 데이터베이스는 나이, 성별, 종양 특징, 병기, 치료 및 RECIST 평가를 포함하는 모든 환자의 임상 병리학적 정보를 기록하였다. 본 발명자는 2012년 이후에 B기 HCC로 진단받고 지속적으로 치료받은 환자의 DCR을 분석하였고, 이러한 센터에서 적어도 1년 동안 정기적으로 추적하였다 (도 7b). 기준에 일치하는 환자가 총 53명이었다. 그 중 17명의 환자는 MASCT없이 SOC를 받았으며, 통상군으로 분류되었다. 다른 36명의 B기 HCC 환자는 통상적인 치료에 추가하여 MASCT를 받았다. 그러나, 그 중 21명이 일년 내에 MASCT 반복 치료의 요건 (≥ 3)을 완료하지 못했기 때문에 제외되었다. 나머지 15명의 환자는 통상+MASCT 군으로 분류되었다. 이들 두 군의 환자의 특징이 도 8b 및 도 9b에 도시되어 있다. 고형 종양에서의 반응 평가 기준 (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors; RECIST v1.1)에 따르면, 환자는 컴퓨터 단층촬영 (CT) 스캔에 따라 완전 반응 (CR), 부분 반응 (PR), 안정적인 질환 (SD) 또는 진행성 질환 (PD)을 갖는 것으로 결정되었다. 주요 목적은 진단 1년 후 B기 HCC 환자의 질환 조절율을 조사하기 위한 것이다. 본 연구를 중국 남부 의대 난팡 병원의 윤리 위원회가 승인하였다.

[0491] 세포 제조

[0492] HCC 환자로부터 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)를 림포프렙(Lymphoprep) (노르웨이 오슬로 소재의 나이코메드 파마 (Nycomed Pharma)) 상의 밀도 구배 원심분리에 의해 얻었다. 부착성 단핵구를 1000 U/mL GM-CSF 및 500 U/mL IL-4를 함유하는 AIM-V 배지에서 계속 배양하여, 미성숙 수지상 세포 (DC)로 분화시켰다. 결과로서 얻어진 미성숙 DC를 다중 종양 항원 펩티드 풀 ($1 \mu\text{g/mL}$ /펩티드), 이어서 TLR 작용제로 펄싱하여, 성숙 DC로 분화시켰다. 한편, 비부착성 PBMC를 항-CD3 (미국 캘리포니아주 샌디에고 소재의 e바이오사이언스(eBioscience)) 및 인터루킨-2 (rIL-2; 미국 미네소타주 미니애폴리스 소재의 R&D 시스템즈(Systems))를 함유하는 AIM-V 배지에서 유지한 후, 사이토카인의 존재 하에 7 내지 14일 동안 (예컨대 7 내지 10일 또는 9 내지 13일) 성숙 DC와 공동 배양하였다. 환자는 1 내지 3개월마다 $5-10 \times 10^7$ 개의 세포/kg 체중으로 결과로서 얻어진 T 세포를 주입 받았다.

[0493] 면역 형광 검사

[0494] 수지상 세포 (DC)를 챔버 슬라이드(Chamber slide) (미국 소재의 써모 사이언티픽(Thermo Scientific))에서 배양하고, 리포솜 캡슐화를 하거나 하지 않고 FITC 표지된 펩티드로 펄싱하였다. 2시간 후, DC를 DAPI (분자량 프로브즈(Molecular Probes)) 및 리소트랙커(LYSOTRACKER)TM (분자량 프로브즈)로 표지하여, 핵 및 리소좀을 각각 확인하였다. 형광 이미지를 공초점 주사 레이저 현미경 (독일 에른스트-라이츠-스트라세 소재의 라이카, TCS SP5II)을 사용하여 기록하였다.

[0495] 유세포 분석법

[0496] 세포 표면 염색을 위한 항체를 BD 바이오사이언시즈(Biosciences)로부터 얻었다 (항-인간 CD3-PE, CD3-FITC, CD8-PerCP, CD8-APC, CD56-PE, NKG2D-APC, CD4-FITC, CD4-PerCP, CD107a-FITC, CD25-APC, CD45RO-FITC, CD27-PerCP-CY5.5, CD57-APC, CCR7-PE, PD-1-PE). 단핵구 및 수지상 세포 표면 염색을 위한 항체를 또한 BD 바이오사이언시즈로부터 얻었다 (항-인간 CD14-APC, CD80-PE, CD83-APC, CD86-FITC, HLA-DR-FITC). 세포내 사이토카인 염색을 위한 항체를 BD 바이오사이언시즈로부터 얻었다 (항-인간 IFN- γ -APC, TNF- α -PECY7, 그랜자임B-FITC, FoxP3-PE). 세포내 사이토카인 염색을 사이토픽스(cytofix)/사이토펜(cytoperm) (BD 바이오사이언시즈)으로 세포를 고정하고 투과화함으로써 수행하였다. 유세포 분석법을 FACS 칸토(Canto)II (BD 바이오사이언시즈) 유세포 분석기를 사용하여 수행하고, 데이터를 플로우조(Flowjo) 프로그램으로 분석하였다.

[0497] 사이토카인 검출을 위한 ELISA

[0498] 성숙 DC 또는 배양된 T 세포의 상청액을 원심분리하여 미립자 잔해물을 제거하고 사용 전까지 -80°C 에서 보관하였다. IL-12p70 및 IL-10을 특정 ELISA 키트 (e바이오사이언스)로 제조업자의 프로토콜에 따라 측정하였다. IFN- γ , TNF- α 및 IL-4를 프로카타 플렉스 멀티플렉스 면역분석 (아피메트릭스(Affymetrix))에 의해 검출하였다.

[0499] 기능성 및 세포독성 연구

[0500] HepG2 또는 Huh7을 10% 불활성화 소 태아 혈청, 100 U/mL 페니실린, 100 $\mu\text{g/mL}$ 스트렙토마이신, 글루타맥스 (Glutamax), MEM NEAA, (캘리포니아주 칼스배드 소재의 기코)로 보충된 DMEM에서 배양하였다. 세포독성 분석을

제조업자의 메뉴얼에서와 같이 수행하였다. HepG2 또는 Huh7세포를 D-PBS (인비트로젠)로 세정하고, 환자의 이펙터 T 세포와 40:1의 이펙터: 표적 (E: T) 비로 96-웰 둥근 바닥 플레이트에서 AIM-V에서 삼중으로 4시간 동안 공동 배양하였다. 세포독성을 용해 후 방출된 최대 LDH의 백분율로 나타내고, 사이토독스 96 분석 키트 (Cytotox 96 Assay kit) (캐나다 소재의 프로메가(Promega) G1780)로 측정하였다.

[0501] 항원 특이적 T 세포의 증식 분석 및 $IFN\gamma$ 생성

[0502] 50 U/mL IL-2를 함유하는 AIM-V 배지에 환자의 PBMC를 플레이팅하고 (1×10^6 개의 세포/웰), 3일 동안 10 μ g/mL 펩티드 풀로 자극하였다. 특이적 T 세포의 증식율을 측정하기 위해, FACS 분석을 클릭-iT Edu 알렉사 플루오르(Click-iT Edu Alexa Fluor) 488 유세포 분석 검정 키트 (인비트로젠)에 기재된 바와 같이 수행하였다. 특이적 T 세포의 $IFN\gamma$ 생성을 또한 세포내 사이토카인 염색 및 FACS 분석으로 검출하였다. 10 μ g/mL 무관한 펩티드와 인큐베이션한 PBMC를 음성 대조군으로 사용하였다. 결과를 특정 펩티드 그룹: 무관한 펩티드 그룹으로 계산되는 폴드 지수(fold index)로 나타내었다.

[0503] ELISPOT 분석

[0504] 환자의 PBMC를 세포 배양 플레이트 상에 어떠한 사이토카인도 없는 AIM-V 배지에 플레이팅하고 (1×10^6 개의 세포/웰), 무관한 펩티드, MASCT 항원 펩티드 풀 및 개개의 항원 펩티드로 각각 48시간 동안 추가로 자극하였다. 이어서 PBMC를 $IFN\gamma$ 검출을 위해 96-웰 ELISPOT 분석 플레이트 (U-사이테크(CyTech) 바이오사이언시즈)에 옮겼다. PBMC를 펩티드로 추가로 16시간 동안 추가로 자극하였다. 제조업자의 설명서에 따라 ELISPOT 분석을 수행하고 분석하였다. 스폿-형성 단위의 수를 컴퓨터 보조 영상 분석 소프트웨어 (챔프스팟 (ChampSpot); 사이즈(Saizhi))로 측정하였다. 반응은 10⁵개의 PBMC/웰 당 스폿-형성 단위로 나타났다. 결과를 특정 펩티드 자극: 무관한 펩티드 자극의 비로 계산된 $IFN\gamma$ -생성 폴드 지표로 나타내었다.

[0505] 논의

[0506] 양자 세포 치료(ACT)는 최근 암 환자, 특히 통상적인 암 치료, 예컨대 수술, 방사선 치료 및 화학요법으로 치료하지 못한 환자를 치료하는 데 효과적인 대체 요법으로 잘 받아들여지고 있다. 종양 특이적 TIL이 50% 초과인 전체 반응 [21]을 갖는 전이성 흑색종 환자를 성공적으로 치료하고, 항-CD19 CAR-변형된 T 세포가 만성 림프구성 백혈병 (CLL) 및 급성 림프구성 백혈병 (ALL) [22, 23] 모두에서 이례적인 임상적 이점을 나타냈지만, 종양 특이적 T 세포를 사용하는 ACT는 여전히 큰 어려움에 직면해 있다. 종양 환경에서, 이들의 표면 상에 특정 종양 항원을 발현하고 제시하는 종양 세포는 특정 종양 항원의 에피토프를 특이적으로 인식하는 종양 침윤 T 세포에 의해 표적화될 수 있다. 인식 후, T 세포는 퍼포린 및 그랜자임 B와 같은 세포독성 인자 뿐만 아니라, $IFN\gamma$ 및 $TNF\alpha$ 와 같은 기능성 사이토카인을 방출하여 종양 세포를 용해시킬 수 있다. 그러나, 이러한 면역 감시의 메커니즘은 암 환자에서 중단될 가능성이 높다. 종양 세포에서 많은 수의 억제제 세포, 예컨대 T_{조절}, 종양 특이적 TIL의 부족 및 종양 항원 발현의 상실이 모두 실패에 기여할 수 있다.

[0507] 여기서, 본 발명자는 환자의 PBMC에서 다수의 종양 항원 활성화된 T 림프구를 생체의 제조함으로써 신규하고 실용적인 전략인 MASCT를 제시하였다. MASCT 전략에서, 본 발명자는 종양 항원 단백질 또는 종양 용해물 대신에 긴 항원 펩티드를 사용하였다. 본 발명자는 동시에 다수의 종양 항원 에피토프를 포함하는 T 세포의 자극을 보여주었는데, 이는 특정 종양 항원 발현의 상실로 인한 종양 세포의 면역 회피를 더욱 효과적으로 예방할 수 있다. 본 연구에서, 다수의 MASCT 치료 후에 상이한 HCC 환자에서 각 종류의 종양 항원에 대한 특이적 T 세포 반응의 특이적인 패턴이 관찰되었다. 이는 항원 발현 및 제시의 다양성 뿐만 아니라 종양 미세환경의 가변성 때문일 수 있다. 이러한 현상은 또한 종양 세포를 표적으로 하기 위해 단일 종양 항원 대신에 다수의 항원을 사용할 필요가 있음을 제시한다. 또한, 각각의 종양 항원 펩티드가 20 내지 40개의 아미노산을 함유하도록 설계하였는데, 이는 상이한 종류의 HLA 아형을 가진 환자의 DC에 클래스 I 및 클래스 II HLA 분자를 모두 제시할 수 있다. 실제로, 본 발명자는 다수의 MASCT 치료 후에 상이한 HCC 환자에서 T 세포 증식 분석 및 $IFN\gamma$ 자극 분석에 의한 종양 항원에 대한 특이적 면역 반응, 및 환자의 PBMC에서 T_{조절}의 감소를 관찰하였다. 다수의 MASCT 치료 동안 이러한 면역 반응은 점차적으로 향상되었는데, 이는 반복 치료가 더 나은 임상 결과와 관련있을 수 있음을 나타낸다.

[0508] 전세계적으로 2억 4천만명 (중국에 있는 1/10을 포함)이 HBV에 만성적으로 감염된 것으로 보고되어 왔는데, 이들은 이후에 HCC를 발병할 위험이 높다. 효과적인 통상 치료법이 거의 없기 때문에, 중국에서 HCC는 질병률과 사망률이 높은 종류의 암이다. 이러한 문제를 해결하기 위해, 본 발명자는 MASCT와 통상적인 치료법을 병용하

여 환자의 임상 결과를 개선하고자 HCC 환자에서 MASCT를 적용하여, 종양 항원 및 HBV 관련 항원에 대한 특이적 T 세포 반응을 자극하였다. 후향성 분석을 통해, 본 발명자는 다회의 MASCT 치료를 받은 후에 B기 HCC 환자의 임상 효과를 조사하였다. 대조군과 비교하여, 통상적인 치료와 병용하여 2 내지 3개월마다 MASCT로 치료받은 환자군 (통상+MASCT 군)에서 1년 DCR이 유의하게 증가하였다 (80% 대 17.65%). 본 발명자는 통상+MASCT 군에서 첫 해에 질환 조절을 보인 12명의 환자의 진단 2년 후의 DCR을 추가로 분석하였다. 질환 경과가 2년 미만인 2명의 환자를 제외하고, 10명 중 9명의 환자가 여전히 질환 조절을 나타내었다 (데이터가 도시되지 않음).

[0509] 처음으로, 본 연구는 종양 항원에 대한 T 세포의 특이적 반응이 MASCT에 의해 생체내에서 강하게 유도되고 증가될 수 있으며, MASCT 치료가 HCC 환자의 면역 기능 및 질환 조절을 모두 개선하는 내성이 좋은 면역치료임을 입증하였다. 동일한 원리 및 방법이 HCC 환자 (NCT02026362)에 대한 전향적 무작위 임상 시험에 적용되며, 다른 종양에 대해서도 연구 중이다. 또한, 항-PD1 항체 요법이 상이한 종류의 암 환자 (평균 20%)에게 임상적 이점만을 가져다 준다는 점을 고려하여, MASCT 치료가 면역 체크포인트 차단 요법, 예컨대 항-PD1 항체와 병용될 수 있다고 추측한다. 반응하지 않는 환자 (80%)는 MASCT 치료에 의해 복구(rescued)될 수 있는 기존 종양 특이적 T 세포가 충분하지 않다고 생각된다.

[0510] 참고문헌

- [0511] 1.A. J. Gehring et al., Gastroenterology 137, 682 (2009).
- [0512] 2.E. Mizukoshi et al., Hepatology 43, 1284 (2006).
- [0513] 3.V. R. Cicinnati et al., Int J Cancer 119, 2851 (2006).
- [0514] 4.S. Idenoue et al., Clin Cancer Res 11, 1474 (2005)
- [0515] 5.T. Ito et al., Hepatology 31, 1080 (2000).
- [0516] 6.J. L. Chen et al., J Immunol 165, 948 (2000).
- [0517] 7.J. L. Marshall et al., J Clin Oncol 23, 720 (2005).
- [0518] 8.S. Walter et al., Nat Med 18, 1254 (2012).
- [0519] 9.N. Nishida et al., Cancer Res 54, 3107 (1994).
- [0520] 10.K. Schag et al., Clin Cancer Res 10, 3658 (2004).
- [0521] 11.C. N. Boss et al., Clin Cancer Res 13, 3347 (2007).
- [0522] 12.H. Suzuki et al., J Transl Med 11, 97 (2013).
- [0523] 13.L. H. Butterfield et al., Clin Cancer Res 12, 2817 (2006).
- [0524] 14.H. Komori et al., Clin Cancer Res 12, 2689 (2006).
- [0525] 15.A. J. Gehring et al., J Hepatol 55, 103 (2011).
- [0526] 16.J. Yuan et al., Proc Natl Acad Sci U S A 105, 20410 (2008).
- [0527] 17.B. Martin et al., J Hepatol (2014).
- [0528] 18.A. Schurich et al., Hepatology 53, 1494 (2011).
- [0529] 19.A. G. Chapuis et al., Proc Natl Acad Sci U S A 109, 4592 (Mar 20, 2012).
- [0530] 20.D. J. Powell, Jr., M. E. Dudley, P. F. Robbins, S. A. Rosenberg, Blood 105, 241 (2005).
- [0531] 21. Restifo NP, Dudley ME, Rosenberg SA. Adoptive immunotherapy for cancer: harnessing the T cell response. Nature reviews Immunology 2012;12:269-281.
- [0532] 22. Porter DL, Levine BL, Kalos M, Bagg A, June CH. Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. N Engl J Med 2011;365:725-733.
- [0533] 23. Grupp SA, Kalos M, Barrett D, Aplenc R, Porter DL, Rheingold SR, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia. N Engl J Med 2013;368:1509-1518.

[0534] 실시예 2 - MASCT 및 종양 특이적 T 세포 수용체의 복제로 치료한 전이성 자궁경부암 환자의 사례 연구

[0535] 자궁경부암은 두 번째로 흔한 부인과 악성 종양으로 인간 유두종 바이러스 (HPV) 감염 환자에서 자주 발생한다. 자궁경부암의 효과적인 치료 (수술 및 병행 화학방사선 치료를 포함)는 초기 질환 (I기 및 II기)이 있는 여성의 80%에서 치료법을 제공할 수 있다. 그러나, 혈관 침범 및 불안전 림프절절제술은 초기 자궁경부암에서 좋지 않은 예후를 예측하는 가장 흔한 요인이다. 병리학적 표본에 의해 확인된 혈관 침범이 있는 환자는 수술 후 가까운 미래에 전이성 질환을 일으킬 가능성이 더 크다. 여기서 본 발명자는 HPV+ 전이성 자궁경부암 환자를 다수의 종양 항원 펩시드된 수지상 세포 (DC) 및 상기 DC에 의해 자극되는 T 림프구로 치료하는, MASCT(다중 항원 자극 세포 요법(Multiple Antigen Stimulating Cellular Therapy))로 명명된 면역치료를 제시한다.

[0536] 여성 환자 WJ는 41세에 혈관 침범을 동반한 자궁경부암으로 진단을 받았고, 인간 유두종 바이러스 (HPV) DNA 검사에서 양성으로 판정되었다. 그녀는 근치적(curative) 절제술 및 5개월의 화학 방사선 치료를 받았다. 두 번째 HPV DNA 검사 결과, 환자는 혈청 HPV DNA에서 음성으로 판정되었다.

[0537] 근치 절제술 및 화학 방사선 치료 약 2년 후, 환자는 자기 공명 영상 (MRI) 및 방출 컴퓨터 단층촬영(Emission Computed Tomography; ECT)에 따라 우측 천장골관절(sacroiliac joint bone)에 전이 종양이 진단되었다 (도 13a). 이어서, 환자는 국소 방사선 치료 10회, 이어서 (1개월 당 1회 투여되는) MASCT 치료 3회를 받았다. MASCT 치료는 환자 자신의 말초 혈액의 PBMC를 사용하여 12종의 종양관련 항원 펩티드로 이루어진 코어 그룹뿐만 아니라, HPV 바이러스 단백질로부터 유래된 6종의 항원 펩티드로 이루어진 자궁경부암-특이적 그룹을 포함하는, 18종의 항원 펩티드 풀로 펩시드된 수지상 세포를 제조하였다. 간단히 말하면, 환자의 PBMC 유래 단핵구를 미성숙 DC로 분화시킨 후, 종양관련 항원 및 HPV 항원을 포함하는 다중 합성 펩티드 항원으로 펩시하였다. 반성숙(semi-mature) DC를 TLR 리간드로 추가로 자극하여, 성숙 DC (mDC)로 분화시켰다. mDC의 절반을 환자에게 피하 주사하였다. 유지 T 세포를 비부착성 PBMC를 항-CD3 항체 (예를 들어, OKT3) 및 IL2와 배양함으로써 제조하였다. 주입 전에, mDC의 또 다른 절반을 유지 T 세포와 추가로 7 내지 9일 동안 공동 배양하였다. 환자가 HLA-A2 혈청형 (HLA-A0201⁺)을 가지는 것으로 확인되었다.

[0538] 3회의 MASCT 치료 후, 환자의 ECT 결과는 우측 천장골관절 전이가 감소되고 새로운 전이가 검출되지 않았음을 보여주었고(도 13b), 이는 MASCT의 긍정적인 치료 결과를 나타낸다. 환자는 약 1개월 또는 2개월 간격으로 투여되는 4회의 MASCT 치료를 추가로 받았다. 총 6회의 MASCT 치료 후, 환자의 PBMC 샘플을 얻어 ELISPOT 분석으로 시험하여, 환자가 항원 펩티드 풀 및 풀 내의 각각의 항원 펩티드에 대해 치료적으로 유효한 MHC-제한 T 세포 반응을 갖는지 여부를 알아보았다. ELISPOT 결과 (도 13e)는 종양 특이적 항원 펩티드 (예컨대 hTERT, p53, CEA 및 RGS5)으로 이루어진 코어 그룹 및 종양 항원 펩티드 (예컨대 HPV-3 및 HPV-5)로 이루어진 자궁경부암-특이적 그룹 중의 자궁경부암종 항원 펩티드 풀 및 개개의 항원 펩티드에 대한 향상된 T-세포 반응을 보여주었다. 총 7회의 MASCT 후 환자의 ECT는 우측 천장골관절 전이가 더 감소되었고 새로운 전이 부위 없음을 (도 13c) 보여주었는데, 이는 MASCT 치료 계획이 환자의 종양 부하(burden)를 줄이고 종양 진행 및 추가의 전이를 예방하는데 성공적임을 나타낸다.

[0539] 환자의 특이적 면역 반응에 기초하여 항원 펩티드 풀을 맞춤형하여, 특이적 반응을 유도한 반응성 펩티드를 복구하고(saving), 특이적 반응을 유도하지 않는 무반응성 펩티드를 제거함으로써 환자-특이적 항원 펩티드 풀을 얻었다. 환자를 환자-특이적 항원 펩티드 풀을 사용하여 제조되는 3회의 MASCT 사이클 (본 명세서에서 "정밀 MASCT"로 지칭됨)로 추가로 치료하였다. 3회의 정밀 MASCT 후, 환자의 ECT는 우측 천장골관절 전이가 진행되지 않았고 새로운 전이 부위가 없음을 보여주었다 (도 13d). 환자는 안정적인 질환 (SD)으로 평가되었다. ELISPOT 분석은 환자-특이적 항원 펩티드 풀이 특이적 반응을 추가로 증폭시킴을 보여주었다 (도 13f). 특히, 여러가지 hTERT 펩티드, p53-1 펩티드, CEA 펩티드 및 RGS5 펩티드가 가장 강한 특이적 반응을 야기하였다. 본 발명자는 이러한 환자로부터 CEA 및 텔로머라제 특이적 TCR을 복제하는 과정에 있다.

[0540] 항원 펩티드 풀을 환자의 특이적 면역 반응에 기초하여 추가로 조정하고, 환자를 추가로 조정된 펩티드 항원 풀을 사용한 두 번째 정밀 MASCT로 치료하였다.

[0541] 환자의 치료 이력의 요약이 도 14에 도시되어 있다.

[0542] 본 연구는 자궁경부암 환자의 전이를 감소시키는 안전한 치료법으로 MASCT를 제공한다. MASCT 치료 후, 자궁경부암 환자에서 종양 항원 특이적 T 세포 반응이 강하게 상승되고, 환자-특이적 항원 선택 후에는 더욱 더 증폭될 수 있다. 추가로, 본 연구는 환자-특이적 항원을 사용한 면역치료 후 향상된 면역 반응 및 임상적 이점을 보이는 암 환자로부터 종양 특이적 TCR을 복제하는 유망한 방법을 제공한다.

[0543] 실시예 3 - 1/2 상 MASCT 임상 시험 연구 프로토콜에 대한 간단한 설명

[0544] 명칭이 "근치 절제술 또는 고주파열치료 (RFA) 후 간세포 암종 (HCC) 환자를 위한 다중 항원 특이적 세포 치료법(MASCT)"인 1/2 상 MASCT 임상 시험 연구는 2013년 6월에 시작되어, 식별번호 NCT02026362로 온라인 데이터베이스 ClinicalTrials.gov에 등록되어 있다. 연구의 일부 측면에 대한 설명은 본 명세서에 참고로 포함되는 <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02026362>에서 찾을 수 있다. 이러한 임상 연구가 진행 중이다.

[0545] 1/2 상 MASCT 연구는 항-HCC 치료로 근치 절제술, 예컨대 절제술 또는 RFA를 이미 받은 간세포 암종 (HCC) 환자의 치료에서 MASCT 방법의 실시 형태의 안전성 및 효능을 조사하기 위한 1:1 무작위, 공개형, 다기관 연구이다. 본 연구는 중국 남부 의대 난팡 병원 (광저우, PRC), 중산 대학(Sun Yat-Sen University)의 제3 협력 병원 (광저우, PRC), 중산 대학의 암센터 (광저우, PRC), 중국의 PLA 302 병원 (베이징, PRC) 및 푸젠 암 병원(Fujian Cancer Hospital) (푸저우, PRC)을 포함하는 중국의 다수의 장소에서 수행되었다. 환자를 나이, 성별, 이전 치료 계획 및 임상적 전신 활동 능력과 같은 표준 예후 인자에 기초하여 대조군 및 시험군 (두 군의 환자수는 1:1)으로 무작위로 계층화하였다. 대조군의 환자는 뉴클레오시드 유사체 계열 약물을 사용하는 간-보호 치료 및 B형 간염 바이러스 (HBV)에 대한 항-바이러스 치료를 포함하는 현재의 의료 관행에 따른 표준 치료법 (SOC)을 받는다. 중국에서, HCC는 HBV 감염과 밀접한 관련이 있다. 시험군의 환자는 동일한 SOC 치료에 더하여 MASCT 치료를 받는데, 이는 hTERT, 서바이빈, p53 및 CEA를 포함하는 총 14종의 항원이 로딩된 수지상 세포 및 수지상 세포에 의해 유도되는 활성화된 T 세포의 투여를 포함한다. MASCT 치료는 3주마다 총 3회 반복된다. 환자가 질환 진행 또는 허용불가능한 독성을 경험하지 않는 한, 두 연구군의 각 환자는 약 9주 동안 치료를 받을 것이다. 환자가 9주 후에 진전을 보이지 않는 경우, 연구원의 재량으로 치료를 계속할 수 있다. 환자를 약 2.5년 동안, 또는 모든 환자의 사망이나 질환 진행 중 빠른 시점까지 추적할 것이다.

[0546] 약 100명의 환자가 연구에 등록하여 치료를 받고 평가될 예정이다. 환자는 연구에 들어가기에 적합하려면 다음 기준을 모두 충족해야 한다.

[0547] 1. 환자는 간세포 암종(HCC)으로 진단된다;

[0548] 2. 환자는 등록 전 8주 이내에 HCC의 근치적 수술을 받았다;

[0549] 3. 종양의 수가 2개 이하이다;

[0550] 4. 주요 간문맥, 간관의 제1 분지, 간정맥 제1 분지 또는 하대 정맥에 암 색전이 없다;

[0551] 5. 문맥(portal) 림프절 전이가 없다;

[0552] 6. 간의 전이가 없다;

[0553] 7. 근치적 수술 후 4주 이내의 (4주를 포함) 증강(enhanced) CT 또는 MRI 영상에 의해 수술 절제면에 잔여 종양이 없는 것으로 확인된 완전한 종양 절제;

[0554] 8. 근치적 수술 전에 환자의 혈청 AFP 수준의 증가가 검출된 경우, AFP 수준은 8주 이내에 정상으로 회복되어야 한다;

[0555] 9. 차일드-퍼(Child-Pugh) 점수 ≤ 9 ;

[0556] 10. ECOG 전신 활동 능력 (ECOG-PS) ≤ 2 ;

[0557] 11. 예상 생존 기간이 2년 초과;

[0558] 12. 혈액, 간 및 신장 검사가 다음의 기준을 충족한다:

[0559] a. $WBC > 3 \times 10^9 / L$

[0560] b. 호중구 수 $> 1.5 \times 10^9 / L$

[0561] c. 헤모글로빈 $\geq 85 \text{ g/L}$

[0562] d. 혈소판 수 $\geq 50 \times 10^9 / L$

[0563] E. PT가 정상이거나 연장 시간이 < 3 초임

- [0564] f. BUN ≤ 상한치의 1.5배,
- [0565] g. 혈청 크레아티닌 ≤ 상한치의 1.5배
- [0566] 13. 현지 연구 기관 및/또는 대학의 임상 시험 위원회 요건(Human Experimentation Committee requirement) 및/또는 중앙 임상연구심의위원회(Institutional Review Board; IRB) 또는 다른 적절한 것에 따라 환자의 동의를 얻고 서명을 받았다.
- [0567] 다음 기준 중 하나를 충족하는 환자는 연구에 들어가기 적합하지 않다:
- [0568] 1. 임신 중이거나, 수유중이거나 2년 내에 임신할 계획인 여성;
- [0569] 2. 간의 전이 또는 간의 잔여 종양;
- [0570] 3. 주간문맥, 간관의 제1 분지, 간정맥의 제1 분지 또는 하대 정맥에서의 암 색전;
- [0571] 4. 등록 6개월 전: 면역조절제 (예컨대 인터페론, 티모신, 전통적인 중국 약품)의 전신 및 지속 사용 기간이 3개월 초과;
- [0572] 5. 등록 6개월 전: 면역억제 약물 (예컨대 코르티코스테로이드류 약물)의 전신 및 지속 사용 기간이 1개월 초과;
- [0573] 6. 등록 6개월 전에 임의의 세포 치료 (NK, CIK, DC, CTL, 줄기 세포 요법을 포함)를 받았다;
- [0574] 7. HIV 항체 또는 HCV 항체에 양성;
- [0575] 8. 면역결핍 질환 또는 자가면역 질환 (예컨대 류마티스 관절염, 버거씨 병(Buerger's disease), 다발성 경화증 또는 제1형 당뇨병) 병력이 있다;
- [0576] 9. 등록 전 5년 이내에 다른 악성 종양을 앓은 환자 (피부암, 국소 전립선암 또는 자궁경부암 제외);
- [0577] 10. 장기 부전이 있는 환자;
- [0578] 11. 심각한 정신 질환을 앓는 환자;
- [0579] 12. 등록 전 1년 이내에 알코올 중독을 포함하는 약물 중독;
- [0580] 13. 스크리닝 전 3개월 이내에 다른 임상 시험에 참여;
- [0581] 14. 연구자가 연구에 적합하지 않다고 여기는 다른 이유.
- [0582] 본 연구의 주요 목적은 MASCT + SOC 치료가 (1) 효능의 척도로서 2년 이내에 종양 재발 또는 전이가 발생한 환자 수; (2) 효능의 척도로서 2년 이내에 수술부터 종양 재발 또는 전이에 걸리는 시간; (3) 안전성 및 내약성의 척도로서 2년 이내에 유해 사례가 있는 환자 수의 관점에서 기초 치료 단독보다 우수하다는 것을 입증하는 것이다. 본 연구의 두 번째 목적은 MASCT + 기초 치료와 기초 치료 단독을 (1) HBeAg를 포함하는 HBV 마커; (2) 혈청 HBV DNA 부하; 및 (3) 환자의 삶의 질에 대한 이들의 효과를 비교하는 것이다. 두 환자 그룹의 전체 반응을 (RR), 완전 반응 (CR), 부분 반응 (PR) 및 안정적인 질환율 (SDR)과 같은 추가적인 임상 평가변수를 비교할 것이다. RECIST 기준 (v1.1)을 사용하여 종양 반응 및 진행을 평가할 것이다. 안전성을 NCI CTCAE 버전 4.02 (2009년 10월 15일)에 따라 등급이 매겨진 활력 징후, 임상 실험 결과 및 유해 사례에 기초하여 평가할 것이다.
- [0583] HCC의 1/2 상 MASCT 임상 시험과 유사한, MASCT 방법의 실시 형태의 임상 효능 및 독성을 조사하는 다른 임상 시험이 간암, 폐암, 결장암, 자궁경부암, 림프종, 신장암종, 유방암, 췌장암, 위암, 식도암, 난소암 및 뇌종양을 앓는 환자를 치료하기 위해 수행될 것이다.
- [0584] **실시예 4 - T 세포 활성화 프로토콜**
- [0585] 본 실시예는 T 세포 공동 배양의 상이한 지속 기간과 사이클, 및 공동 배양 동안 항-PD-1 단일클론성 항체와 같은 면역 체크포인트 억제제의 존재 또는 부재를 포함하는 다양한 예시적인 T 세포 활성화 프로토콜을 사용하여 제조된 세포독성 T 세포의 시험관 내 특이성 및 기능을 비교한다.
- [0586] 항-PD-1 항체의 사용
- [0587] 도 15는 활성화된 T 세포를 제조하기 위한 실험 구성의 개략도이다. 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)를 HBV 양성이었던 HCC 환자로부터 0일 제에 림포프랩 (노르웨이 오슬로 소재의 나이코메드 파마) 상의 밀도 구배 원심분리에

의해 얻었다. 부작성 단핵구를 1000 U/mL GM-CSF 및 500 U/mL IL-4를 함유하는 AIM-V 배지에서 계속 배양하여, 미성숙 수지상 세포 (DC)로 분화시켰다. 미성숙 DC를 HBV 코어 항원 펩티드 (5 μ g/mL) 및 TLR 작용제로 펄싱하여 성숙 DC로 분화시켰다. PBMC의 부분도 동일한 항원 펩티드로 펄싱하고, 고정시켰다. 한편, 비부작성 PBMC를 항-CD3 (미국 캘리포니아주 샌디에고 소재의 e바이오사이언스) 및 인터루킨-2 (rIL-2; 미국 미네소타주 미니애폴리스 소재의 R&D 시스템즈)를 포함하는 AIM-V 배지에서 8일 쯤까지 유지하여, 유지 T 세포를 얻었다. 이어서, 유지 T 세포를 9일째부터 13일째까지 사이토카인의 존재 하에 성숙 DC 단독으로, 또는 항-PD-1 항체 (니볼루맵 또는 SHR-1210) 또는 음성 대조군 IgG4와 함께 공동 배양하여, 활성화된 T 세포 (즉, 세포독성 T 림프구 또는 CTL)를 얻었다. 14일 쯤에, 고정되고 펩티드-펄싱된 PBMC를 CTL에 첨가하고, T 세포 자극의 제2 사이클을 위해 5일 동안 공동 배양하였다. 대안적으로, T 세포 자극의 제2 사이클을 위해 고정되고 펩티드-펄싱된 PBMC 대신에 펩티드-펄싱된 성숙 DC의 제2 배치를 사용하할 수 있다.

[0588] 펩티드-펄싱된 성숙 DC 및 T 세포를 8일 쯤에 FACS를 사용하여 분석하여, 각각 PD-L1 또는 PD-1을 발현하는 아집단을 정량화하였다. 활성화된 T 세포 샘플을 13일 및 18일 쯤에 공동 배양물로부터 얻어, 오량체로 염색한 후 FACS 분석에 의해 분석하였다. 오량체 및 다른 다량체 (예컨대 텍스트라머)를 사용한 염색은 MHC-펩티드 복합체를 특이적으로 인식하는, 활성화된 T 세포 상의 TCR의 존재를 나타내어, 활성화된 T 세포의 특이성의 척도를 제공한다. 13일 및 18일 쯤의 활성화된 T 세포를 또한 중앙 항원 펩티드 풀로 자극하고, 활성화된 T 세포에 의한 IFN γ 생성을 세포내 사이토카인 염색 후 FACS 분석에 의해 측정하였다. IFN γ 는 중앙 항원 펩티드에 의해 특이적으로 활성화된 T 세포에 의해 생성되고, IFN γ 생성 분석은 펩티드-특이적 T 세포의 세포독성 기능의 척도를 제공한다.

[0589] 도 16a에 도시된 바와 같이, 약 89.1%의 펩티드-펄싱된 성숙 DC가 PD-L1을 발현하였다. 도 16b는 8일 쯤까지 4명의 독립적인 공여자의 PBMC에서 모든 CD3⁺ T 세포 중에 PD1⁺ T 세포 백분율의 유의한 증가를 보여준다.

[0590] 항-PD1 항체를 T 세포와 DC의 공동 배양물에 도입할 경우, 시험관 내 활성화된 T 세포의 특이성 및 기능이 항-PD-1 항체없이 또는 음성 대조군 IgG4로 제조된 활성화된 T 세포와 비교하여 유의하게 증가하였다 (도 17a 내지 도 17d). 특히, SHR-1210 (흥루이 제약(Hengrui Medicine))은 니볼루맵과 비교하여 활성화된 T 세포에 의한 시험관 내 IFN γ 생성을 향상시켰다 (도 17d).

[0591] 자극의 지속 기간 및 횟수

[0592] 도 18는 활성화된 T 세포를 제조하기 위한 실험 구성의 개략도이다. 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)를 EBV 양성이었던 건강한 공여자로부터 0일 쯤에 림포프랩 (노르웨이 오슬로 소재의 나이코메드 파마) 상의 밀도 구배 원심분리에 의해 얻었다. 부작성 단핵구를 1000 U/mL GM-CSF 및 500 U/mL IL-4를 함유하는 AIM-V 배지에서 계속 배양하여, 미성숙 수지상 세포 (DC)로 분화시켰다. 미성숙 DC를 다수의 중앙 항원 펩티드 풀 (1 μ g/mL/펩티드) 및 TLR 작용제에 의해 펄싱하여, 성숙 DC로 분화시켰다. PBMC의 부분도 동일한 중앙 항원 펩티드 풀로 펄싱하고, 고정시켰다. 한편, 비부작성 PBMC를 IL2, IL7, IL15 및 IL21을 함유하는 AIM-V 배지에서 8일째까지 유지하여, 유지 T 세포를 얻었다. 이어서, 유지 T 세포를 9일째부터 18일째까지 사이토카인의 존재 하에 성숙 DC 단독으로, 또는 항-PD-1 항체 (니볼루맵 또는 SHR-1210) 또는 음성 대조군 IgG4와 함께 공동 배양하여, 활성화된 T 세포 (즉, 세포독성 T 림프구 또는 CTL)를 얻었다. 14일째에, 활성화된 T 세포 부분을 고정되고 펩티드-펄싱된 PBMC와 혼합하고, T 세포 자극의 제2 사이클을 위해 5일 동안 배양하였다. 대안적으로, T 세포 자극의 제2 사이클을 위해 고정되고 펩티드-펄싱된 PBMC 대신에 펩티드-펄싱된 성숙 DC의 제2 배치를 사용하할 수 있다.

[0593] 활성화된 T 세포 샘플을 13일 및 18일 쯤에 공동 배양물로부터 얻어, 오량체 또는 텍스트라머로 염색한 후 FACS 분석에 의해 분석하였다. 13일 및 18일 쯤의 활성화된 T 세포를 또한 중앙 항원 펩티드 풀로 자극하고, 활성화된 T 세포에 의한 IFN γ 생성을 세포내 사이토카인 염색 후 FACS 분석에 의해 측정하였다.

[0594] 도 19a에 도시된 바와 같이, 5일간의 자극과 비교하여 10일간의 자극 후에 더 높은 백분율의 펩티드-특이적 T 세포가 공동 배양물에 존재한다. 시험된 모든 배양 조건 중에서, 항-PD1 항체의 존재 하에 한 번 자극하여 10일간 공동 배양한 결과 다량체 염색 (도 19b) 및 IFN γ 생성 (도 19c)에 의해 측정된 CD8⁺ T 세포의 특이성 및 세포독성 기능이 가장 높았다.

[0595] 1회 자극된 공동 배양물에서 8일, 10일, 13일 및 15일째에 채취한 샘플에서 T 세포의 총 수를 2명의 상이한 공여자의 PBMC를 사용한 2개의 제제에 대해 정량화하였다. 도 20a 및 도 20b에 도시된 바와 같이, 시험한 모든 샘플 중에서, SHR-1210 항-PD1 항체의 존재 하에 15일째에 취해진 공동 배양물에서 총 T 세포의 최대 수가 발견

되었다.

[0596] 추가로, PD-1 표면 발현을 0일 전에 항-PD1 항체 (니볼루맵 또는 SHR-1210) 또는 음성 대조군 IgG4 및 PMA로 처리한 비부착성 PBMC 세포에서 정량화하였다. 항-PD1 항체로 처리한 PBMC는 세포 표면에서 PD-1 발현 수준을 감소시켰는데, 이는 항-PD1 항체가 표면 PD1을 내재화할 수 있는 경우 예상될 수 있는 것이다 (도 21a 및 도 21b).

[0597] 다양한 제조 프로토콜을 사용하여 활성화된 T 세포의 상기 시험관 내 특성화를 요약하면, PBMC 배양물에서 항-PD1 단일클론성 항체의 사용은 활성화된 세포독성 T 세포의 특이성 및 기능을 개선시켰다. 항-PD1 단일클론성 항체는 시험관 내 T 세포의 일반적인 증식을 향상시키고, 보통 T 세포의 표면 상에서 발현하는 PD1 분자의 내재화를 촉진하는 것으로 보여졌다. 니볼루맵과 비교하여, SHR-1210 항-PD1 항체는 더 높은 특이성 및 기능의 활성화된 T 세포를 생성하였다. 항-PD1 항체 대신에 다른 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 항-PD-L1 항체 또는 항-CTLA-4 항체가 향상된 특이성 및 세포독성 기능의 활성화된 T 세포를 제조하는 데 사용될 수 있다.

[0598] 실시예 5 - 암 정밀 면역치료 임상 시험 사례 분석

[0599] 본 실시예는 차세대 시퀀싱 (NGS)을 사용하여 암 세포를 유발하는 돌연변이 및 인간 백혈구 항원 (HLA) 클래스 I 유전자 돌연변이 부하를 평가함으로써 PD-1 억제제 또는 다중 항원 특이적 암 요법 (MASCT)과 같은 구조적 적합성 복합체 (MHC) 클래스 I 제한 면역치료의 반응을 및 효과를 예측하는 것을 목적으로 하는 연구를 설명한다.

[0600] 333개의 암 관련 유전자의 차세대 시퀀싱 (NGS) 및 분류를 위한 R스튜디오(RStudio) 소프트웨어의 디리클레 다항 혼합 패키지(Dirichlet Multinomial Mixture package)를 사용하여, 35개의 암 샘플을 두 개의 아집단으로 분류하였다. HLA-I 유전자의 돌연변이 부하를 각각의 샘플로부터 평가하고, 신생항원을 비동의성 점 돌연변이로부터 예측하였다. 조합한 돌연변이 정보를 사용하여 MHC-I 제한 면역치료에 대한 35명의 암 환자의 반응을 예측하였다. 샘플을 시퀀싱하고 분석한 35명의 환자 중에서, 5명의 환자가 PD-1 억제제 단독요법, MASCT 단독요법 또는 병용 요법을 받았다. HLA-I 유전자 돌연변이 부하가 높은 (비-반응자로 예측되는), 2명의 환자가 PD-1 억제제 (키트루다[®])와 MASCT 병용 요법 또는 MASCT 단독요법을 3회 초과로 받았다. 이들 2명의 환자를 임상적으로 진행성 질환 (PD)으로 평가하였다. HLA-I 유전자 돌연변이 부하가 낮고 신생항원이 더 많은 (반응자로 예측되는) 3명의 환자가 PD-1 억제제 (키트루다[®])와 MASCT 병용 요법 또는 MASCT 단독요법을 4회 초과로 받았다. 3명 중 2명의 환자가 임상적으로 부분 반응 (PR)으로 평가되었고, 1명의 환자가 안정적인 질환 (SD)을 갖는 것으로 평가되었다.

[0601] 본 실시예에 기재된 암 관련 유전자 내 돌연변이의 NGS 분석은 MASCT 단독요법 또는 MASCT와 PD-1 억제제의 병용 요법을 받은 환자에서 MHC-I 제한 면역치료에 대한 임상 반응을 성공적으로 예측하였다. 예측 방법은 개개의 암 환자에 대한 개선된 효율 및 정밀 면역치료를 가능하게 할 수 있다.

[0602] 서론

[0603] 차세대 시퀀싱 (NGS)은 종양 조직을 신속하고 고효율 방식으로 시퀀싱하여, 대량의 종양 조직의 돌연변이 데이터를 얻을 수 있다. 돌연변이 데이터에 생물정보학적 방법을 적용하여 임상적으로 유의한 돌연변이를 얻음으로써, 다음의 분야에서 암 환자에게 유용한 정보를 얻었다: 1. 임상 및 분자 계층화; 2. 적합한 약물 표적의 선택; 및 3. MHC-I 제한 면역치료의 유효성 예측. 이러한 정보는 각각의 환자에게 정밀 개입을 제공하고, 암 면역치료를 정밀 의료의 시대로 가져올 수 있다. 정밀 면역 세포 요법, 정밀 면역 약물 요법과 같은 암 정밀 면역치료는 환자의 삶의 질을 크게 향상시키고, 환자의 생존 기간을 연장하는 암 정밀 요법에서 중요한 약인이 될 것이다 (예를 들어, 문헌[Qian Qijun, Mengchao Wu. Precision cancer immunotherapy: From theory to practice [J]. Chin J Cancer Biother, 2015, 22(2):151-158]을 참조한다).

[0604] 재료 및 방법

[0605] 샘플 출처

[0606] 35명의 환자의 종양 샘플을 시퀀싱하였다. 환자 중에서, 평균 나이가 56인 27 내지 88세의 남성 18명과 여성 17명이었다. 종양 샘플을 환자로부터 얻어, 333개의 온코지손[™] 암-관련 유전자 및 HLA-I 유전자에 초점을 둔 시퀀싱 분석에 사용하였다. 333개의 암-관련 유전자에 초점을 맞춘 차세대 시퀀싱 (NGS)을 수행하여, 종양 조직에서 점 돌연변이, 삽입-결실, 융합, 복제수 변이 등과 같은 유전자 돌연변이 정보를 얻었다. 35명 중 5명의 환자를 PD-1 억제제 (키트루다) 단독요법, MASCT 단독요법 또는 병용 요법으로 추가로 치료하였다 (도 22). 모

든 임상 시험에 대한 사전 동의서를 환자로부터 얻었다.

[0607] **HLA-I 아형**

[0608] 미가공 시퀀싱 데이터에서 낮은 품질의 리드(read) 및 어댑터 서열을 제거한 후, 폴리솔버(Polysolver) 분석 도구 (예를 들어, 문헌[Shukla SA, Rooney MS, Rajasagi M, et al. Comprehensive analysis of cancer-associated somatic mutations in class I HLA genes. Nature Biotechnology, 2015,33:1152-1158]을 참조한다)를 사용하여 HLA-I 아형 예측에 사용하였다.

[0609] **신생항원 예측**

[0610] 각 환자의 HLA-I 아형 결과에 기초한, NetMHC 3.4를 포함하는 다수의 알고리즘을 사용하여, 종양 조직으로부터의 333개의 암-관련 유전자의 점 돌연변이 유전자좌의 아미노산 서열을 분석하였다. 환자의 대응하는 HLA-I 분자에 대한 돌연변이화된 아미노산의 친화력을 예측하고, 야생형과 돌연변이 항원 펩티드 사이의 친화력 차이를 비교하여, 야생형보다 친화력이 높은 돌연변이 항원 펩티드를 선택하였다. 이어서, 상기 HLA-I 분자에 대한 친화력이 높은 돌연변이 항원 펩티드를 사용하여 T-세포 수용체 (TCR) 결합 친화력을 예측하고, 야생형과 돌연변이 항원 펩티드 사이의 TCR 결합 친화력 차이를 비교하였다. TCR에 대해 야생형 항원보다 높은 결합 친화력의 돌연변이 항원 펩티드를 면역 반응을 유도할 수 있는 것으로 예측되는 신생항원으로 선택하였다. 이러한 예측된 신생항원 서열을 건강한 개체의 전체 인간 게놈에 매핑하여(mapped), 임상 시험에서 부작용을 피하기 위해 잠재적 교차 반응 서열을 함유하는 신생항원을 풀에서 제거하였다.

[0611] **통계**

[0612] 1.1 공개 소프트웨어 R스튜디오 버전 0.99.473을 사용하여 점 돌연변이 유전자좌 수, 점 돌연변이 유전자 수, 삽입-결실 유전자좌 수, 삽입-결실 유전자 수, 융합 유전자 수, 복제수 변이 유전자 수 및 돌연변이화된 유전자좌 및 유전자의 총 수에 대한 분석을 수행하였다. 디리클레 다항 혼합 (DMM) 모델을 사용한 35개의 종양 샘플의 계층화된 분석을 위해 이러한 돌연변이 유발 특성을 사용하였다 (예를 들어, 문헌[Holmes IK, Quince C.Harris. Dirichlet Multinomial Mixtures: Generative Models for Microbial Metagenomics [J]. PLoS ONE,2012, 7(2):e30126]을 참조한다).

[0613] 1.2 "p히트맵(heatmap)" 패키지를 사용하여 각각의 333개의 암-관련 유전자의 돌연변이 부하에 기초한 35종의 종양 조직 샘플에 대한 클러스터링 플롯을 생성하였다. 임상 시험 그룹화 정보, DNA 미스매치-수복 (MMR) 결핍 여부에 대한 그룹화 정보 및 DMM 그룹화 정보와 같은 각각의 종양 샘플의 특성 정보를 클러스터 플롯에 추가하였다.

[0614] 1.3 R스튜디오 소프트웨어에 기초한 각 DMM 그룹에서 HLA-I 유전자 돌연변이 수의 통계적 차이를 만-휘트니 (Mann-Whitney) 순위합 검정을 사용하여 시험하였고, $p < 0.05$ 가 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

[0615] **결과**

[0616] **333개의 암-관련 유전자의 계층화된 클러스터 분석**

[0617] 돌연변이 유발 특성 데이터를 점 돌연변이 유전자좌 수, 점 돌연변이 유전자 수, 삽입-결실 유전자좌 수, 삽입-결실 유전자 수, 융합 유전자 수, 복제수 변이 유전자 수 및 돌연변이화된 유전자좌 및 유전자의 총 수를 포함하는 각 종양 샘플의 333개의 암-관련 유전자에 대해 통계적으로 분석하여, 이러한 데이터를 35종의 종양 조직 샘플에 대한 DMM 계층화된 분석에 사용하였다. 도 23a에 도시된 바와 같이, 35개의 샘플 중 최고의 클러스터는 두 군이었다. 각 샘플의 표지된 분류화가 최소 이격 거리 (MDS1)에 기초한 두 군의 구성원의 효과적인 분리를 도모하는 도 23b에 도시되어 있다: 14개의 종양 샘플을 DMM 1군으로 분류하고, 21개의 종양 샘플을 DMM 0군으로 분류하였다.

[0618] 각 종양 샘플의 333개의 암-관련 유전자 각각에 대해 검출된 점 돌연변이 수, 삽입-결실 유전자좌 수 및 복제수 변이 유전자좌 수에 기초하여 35종의 종양 샘플에 대한 히트맵을 생성하고, 샘플 및 유전자에 대한 클러스터 분석을 수행하였다. 도 24a에 도시된 바와 같이, 35개의 종양 샘플에 대한 두 개의 주요 클러스터링 분지가 관찰되었다. 각각의 샘플에 대한 임상 또는 분자 표지를 추가한 후, 클러스터 결과가 암 임상 유형과 일치하지 않는 것으로 나타났다: 동일한 암 임상 유형의 종양 샘플은 상이한 돌연변이 유발 스펙트럼을 가지는 반면에, 상이한 암 임상 유형의 일부 종양 샘플은 유사한 돌연변이를 공유한다. 본 연구에서 관찰된 암 분자 분류와 임상 유형 사이의 차이는 다른 보고와 일치한다 (예를 들어, 문헌[Golub TR, Slonim DK, Tamayo P, et al. Molecular classification of cancer : class discovery and class prediction by gene expression

monitoring [J]. Science, 1999, 286(5439):531-537]을 참조한다). MMR 결핍 유형에 기초한 클러스터링은 또한 히트맵에 도시된 클러스터링 결과와 일치하지 않는다. 그러나, DMM 그룹이 클러스터링 결과와 유사한 분류를 가지며, 하나의 샘플만이 DMM 분류와 클러스터링 사이의 불일치를 나타내었다 (도 24a).

[0619] 각 종양 샘플에서 검출한 HLA-A, HLA-B 및 HLA-C 유전자좌에서의 총 돌연변이 수를 측정하고, 히트맵에 나타난 종양 조직 클러스터링 결과와 비교하여, 두 DMM 그룹 사이의 HLA-I 유전자 돌연변이 부하의 유의한 차이를 관찰하였다 (도 24b).

[0620] **총 돌연변이 수에서 HLA-I 유전자 돌연변이의 백분율**

[0621] HLA-I 유전자 돌연변이 수의 추가 분석은 두 DMM 그룹 사이에서 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다. DMM 그룹 1 (적색)의 14개의 종양 샘플의 HLA-I 유전자 돌연변이 부하는 DMM 그룹 0 (녹색)의 21개의 종양 샘플보다 유의하게 높았으며, 이때 p-값은 1.076e-5이었다 (도 25a). 또한, HLA-I 유전자 돌연변이 부하 대 DMM 그룹 1의 총 돌연변이 부하의 비율은 DMM 그룹 0보다 유의하게 높았는데 (도 25a), 이는 HLA-I 유전자 돌연변이가 DMM 그룹 1의 암 세포의 중요한 내부 돌연변이일 수 있음을 시사한다. HLA-I 유전자의 높은 돌연변이 부하는 면역 감시로부터 암 세포의 회피를 용이하게 할 수 있어, MHC-I 제한 면역치료의 무효과를 초래할 수 있다.

[0622] 35명 중 5명의 암 환자가 PD-1 억제제 (키트루다[®]) 단독요법, MASCT 단독요법 또는 이들의 병용 요법을 받았다 (도 22, 도 25b). HLA-I 유전자 (DMM 그룹 1)에 돌연변이 부하가 높은 2명의 환자가 MHC-I 제한 면역치료를 반응하지 않을 것으로 예측되었다. PD-1 억제제 (키트루다[®])와 MASCT의 병용 요법 또는 MASCT 단독요법으로 적어도 3 사이클 치료한 후, 이들 2명의 환자는 예측한 바와 같이, 임상적으로 진행성 질환 (PD) 또는 효과가 없는 임상 이점 반응 (CBR)을 갖는 것으로 평가되었다. HLA-I 유전자 (DMM 그룹 0)에 돌연변이 부하가 낮은 3명의 환자는 MHC-I 제한 면역치료를 반응할 것으로 예측되었다. 이들 3명 중 2명의 환자는 PD-1 억제제 (키트루다) 단독요법 또는 (키트루다)와 MASCT 병용 요법을 5 사이클로 치료를 받았고, 임상적으로 부분 반응 (PR) 또는 명백한 CBR을 갖는 것으로 평가되었다; 3명 중 1명의 환자는 MASCT로 4 사이클 치료를 받았고, 예측한 바와 같이, 임상적으로 안정적인 질환으로 평가되었다.

[0623] **전형적인 환자 사례 분석**

[0624] 환자 ID 1-LQL

[0625] 환자 ID 1-LQL은 폐 선암종 환자이며, 클러스터링 분석에 기초하여 DMM 그룹 1에 포함되는 것으로 예측되었다. HLA-I 유전자 유전자좌에서 55개의 돌연변이가 검출되어, HLA-I 돌연변이 부하가 높은 것으로 분류되었다 (도 22). MHC-I 제한 면역치료가 임상적으로 효과적이지 않은 것으로 예측되었다.

[0626] 3 사이클의 PD-1 억제제 (키트루다[®]) 치료 및 4 사이클의 MASCT 치료를 받은 후, 환자는 호흡 부전을 경험하였고, 효과적이지 않은 질환 조절 및 흉막 삼출로 사망하였다. 이 환자는 예측한 바와 같이, 클러스터링 분석에 의해 임상적으로 진행성 질환 (PD)으로 평가되었다.

[0627] 환자 ID 2-SJS

[0628] 환자 ID 2-SJS는 식도암 환자이며, 클러스터링 분석에 기초하여 DMM 그룹 1에 포함되는 것으로 예측되었다. HLA-I 유전자 유전자좌에서 8개의 돌연변이가 검출되어, HLA-I 돌연변이 부하가 높은 것으로 분류되며 (도 22), 이는 MHC-I 제한 면역치료가 효과가 없음을 시사한다.

[0629] 3 사이클의 MASCT 단독요법을 받은 후, 이 환자는 예측한 바와 같이, 클러스터링 분석에 의해 임상적으로 진행성 질환 (PD)으로 평가되었다.

[0630] 환자 ID 3-HJL

[0631] 환자 ID 3-HJL은 좌측 신우에 이행상피암종을 앓는 73세 여성으로, 좌측 부신, 좌상 쇄골 및 종격동 림프절 및 두 폐로 다발성 전이를 보였다. 차세대 시퀀싱 (NGS) 결과에 기초하여 이 환자를 DMM 그룹 0으로 분류하고, HLA-I 유전자 유전자좌에서 2개의 돌연변이가 검출되어 HLA-I 돌연변이 부하가 낮은 것으로 분류되었다. 6개의 신생항원이 환자의 HLA-I 아형에 기초하여 예측되었다. 따라서, MHC-I 제한 면역치료가 이 환자에게 효과적인 CBR을 제공할 것으로 예측하였다.

[0632] 이 환자는 좌측 신우의 이행상피암종을 갖는 것으로 진단 받아 근치적 수술을 받았다. 2년 후에 좌측 부신에서 전이가 발견되었기 때문에 고주파열치료 (RFA)를 적용하였다. RFA 후 PET-CT 스캔은 좌상 쇄골과 종격동 림프

절 및 두 폐에 다발성 전이를 나타내었으며, 이때 가장 큰 종양의 크기가 직경 약 2 cm여서 환자는 화학요법을 받기 시작하였다. 4 번째 화학요법 후, CT 재검사는 화학요법에 의한 암 조절이 효과가 없음을 나타내었다 (도 26a 내지 도 26c). 이어서, 환자를 PD-1 억제제 (키트루다[®])와 MASCT 병용 요법으로 치료하였다. 3 사이클의 병용 요법 후, CT 스캔은 종양 크기가 약 50% 수축됨을 보여주었다 (도 26d). 5 사이클의 PD-1 억제제 (키트루다[®])와 MASCT 병용 요법 후, CT 스캔은 폐 종양의 소멸, 종격동 림프절에서 안정적인 질환 및 부풀어 오른 좌상 쇄골 림프절의 소멸을 시사하였다. 질환 상태는 임상적으로 부분 반응 (PR, 도 26e)으로 평가되었다. 임상 결과는 예측한 바와 같았다.

[0633] 환자 ID 4-LKS

[0634] 환자 ID 4-LKS는 61세 남성으로 근치적 수술 후 중증도의 분화된 좌폐 선암종 IV기와 뇌와 종격동 림프절에 전이를 경험하였다. 이 환자를 NGS 결과에 기초하여 DMM 그룹 0으로 분류하며, HLA-I 유전자좌에서 2개의 돌연변이가 검출되어 HLA-I 돌연변이 부하가 낮은 것으로 분류하였다. 6개의 신생항원이 환자의 HLA-I 아형에 기초하여 예측되었다. 따라서, MHC-I 제한 면역치료가 이 환자에게 효과적인 CBR을 제공할 것으로 예측하였다.

[0635] 이 환자는 13년 전에 좌폐 종양의 근치적 수술, 이어서 4 사이클의 수술후 보조 화학요법 및 종격동 CT 스캔을 받았다. 재검 동안 두개내 전이가 검출되었는데, 우측 편측마비를 동반한 종양 크기는 약 3 cm이었다 (도 27a). 20 사이클의 표적 방사선 치료 (선량 정보 없음) 후, 종양 크기가 수축하였다 (도 27b). 이어서, 환자는 PD-1 억제제 (키트루다[®]) 단독요법을 받았다. 2 사이클의 치료 후, CT 재검은 두개내 종양의 추가 수축을 나타내었고 (도 27c), 임상 증상은 편측마비된 측의 근력이 점차 회복됨을 보여주었다. 6 사이클의 PD-1 억제제 (키트루다[®]) 단독요법을 받는 후, CT 재검은 두개내 종양 및 부종 상태가 추가로 개선됨을 시사하였고 (도 27d), 임상 증상은 편측마비된 측의 근력 및 미세 운동 수행 능력이 점차 회복되었음을 나타내었다. 방사선 치료 및 6개월의 PD-1 억제제 (키트루다[®]) 단독요법을 마친 후, 환자는 임상적으로 부분 반응 (PR)으로 평가되었다. 이러한 임상 결과는 본 발명자의 시퀀싱 분석에서 예측한 바와 같았다.

[0636] 논의

[0637] "가역적 HLA-I 결핍" 환자에서, 양자 T 세포 면역치료 후, T 세포는 IFN- γ 를 국소적으로 분비하고, HLA-I 분자의 발현을 상향조절할 수 있다. 따라서, 양자 T 세포 면역치료 전에 환자가 "비가역적 HLA-I 결핍"이 있는지 여부를 평가하는 것이 임상적으로 훨씬 중요할 것이다.

[0638] 상기 논의된 5개의 종양 조직 샘플을 기반으로 한 시퀀싱 결과는 CBR과 HLA-I 유전자 돌연변이 부하 사이와 비교하여, PD-1 억제제 (키트루다[®]) 및/또는 MASCT를 받은 후 CBR과 DNA MMR 결핍 상태 (MLH1, MSH2, MSH6 및 PMS2 유전자좌에서 검출된 돌연변이) 사이의 상관관계가 더 약함을 시사하였다. MMR 결핍은 암 세포에서 돌연변이율을 상승시킬 수 있고, 이는 이론적으로 더 많은 신생항원을 유발할 수 있다. 그러나, 이러한 암 세포가 HLA-I 분자의 발현이 낮거나 없는 경우, 신생항원은 인식 및 면역 세포에 의한 세포독성 효과를 유발을 위해 효과적으로 제시될 수 없다. 따라서, 암 세포에서 효과적인 신생항원 제시를 위한 HLA-I 분자의 이용가능성은 효과적인 MHC-I 제한 면역치료를 위한 요건중 하나이다. 환자 사례 1.LQL은 이러한 가설을 뒷받침하였다: 종양 조직에서 많은 돌연변이가 검출되었지만 (총 3243개의 돌연변이가 검출됨), HLA-I 유전자 돌연변이 부하가 또한 꽤 높았기 때문에, PD-1 억제제 (키트루다[®]) 요법 또는 MASCT가 유의한 임상 효과를 보이지 않았다.

[0639] HLA-I 유전자가 매우 다형성이기 때문에, 종양 조직의 HLA-I 유전자 돌연변이 정보를 얻은 후, 특정 유전자좌에서의 아미노산 돌연변이가 HLA-I 분자에 의한 항원 제시에 영향을 주는지 여부와 그 정도를 측정하기 위한 추가의 시험이 필요하다. 본 연구에서, 통계적 분석을 실시하여 암 환자에 대한 계층화된 분석을 수행하고, 각 환자의 종양 조직의 HLA-I 유전자 돌연변이 부하에 기초하여 MHC-I 제한 면역치료를 위한 하나의 반응성 그룹 및 하나의 무반응성 그룹으로 그들을 분류하여, 임상 반응과 HLA-I 유전자 돌연변이 부하 사이의 상관관계를 측정할 수 있었다. 5가지 사례 연구에 따르면, HLA-I 돌연변이 부하가 낮은 3명의 환자는 MHC-I 제한 면역치료를 위한 효과적인 CBR을 보인 반면에, HLA-I 돌연변이 부하가 높은 2명의 환자는 이러한 치료에 효과적인 CBR을 보이지 않았다. 이 실시예는 신생항원의 수 및 HLA-I 유전자 돌연변이 부하에 기초한 환자 샘플에 NGS 데이터에 대한 생물정보학적 분석을 수행하여 암 면역치료 (예컨대 PD-1 억제제 키트루다[®]를 사용) 및 양자 T 세포 요법 (예컨대 MASCT)의 예후를 제공함으로써, 환자에게 정밀 면역치료를 제공하는 최초의 임상 발견을 보고한다. 이러한 발견을 보장하기 위해 더 큰 샘플 크기를 사용한 임상 연구가 진행 중이다.

[0640] 실시예 6 - 신생항원-MASCT로 치료한 대장암 환자의 사례 연구

[0641] 환자 XMZ는 58세 남성으로 결장암 진단을 받고, 결장 절제술을 받았다. 병리학적 분석은 결장암 II기를 나타내었다. 결장 절제술 3년 후, 환자는 CTC 모니터링을 받았고, 이는 CTC 양이 194개의 세포/10 mL임을 나타내었다. 도 28에 약술된 바와 같이 환자는 3 사이클의 정밀 MASCT 치료를 받았다.

[0642] 간단히 말하면, 첫 번째 단계로서, 환자의 종양 생검 샘플을 시퀀싱하고, 온코지손™ 암-관련 유전자 + HLA 패널 (애드머라 헬스)을 사용하여 분석하였다. 온코지손™ + HLA 패널은 일루미나(Illumina) MiSeq 또는 HiSeq 시퀀싱 플랫폼을 사용하여, HLA 유전자좌를 포함하는 암 유형 특이적인 약 150 내지 400개의 유전자를 시퀀싱하였다. 애질런트 슈어셀렉트(Agilent SURESELECT)™ 표적 농축 키트를 사용하여 샘플의 표적 서열을 농축시켰다. 모든 엑손, UTR 및 관련 인트론 영역을 포함하는 표적 서열 영역은 약 2 내지 5.4 Mb의 각 유전자 유전자좌에 걸쳐있다. 평균 커버리지 배수(coverage depth)는 약 100배이다. 시퀀싱 데이터에 기초한 점 돌연변이, 삽입-결실, 재배열 및 복제수 변이 (CNV)를 포함하는 게놈 변이를 측정하였다.

[0643] 환자 샘플에 대한 온코지손™ + HLA 분석은 환자가 EGFR에 대한 단일클론성 항체, 예컨대 세툽시맙 또는 파니투무맙을 사용한 치료에 대한 환자의 감수성을 감소시킬 수 있는 KRAS 유전자에 G12A 점 돌연변이가 있음을 밝혀냈다. 환자는 XRCC1 유전자의 잔기 Q399에 점 돌연변이가 있으며, 이는 백금 기반 화학요법 약물에 대한 잠재적인 반응 향상을 시사한다. 환자는 MTHFR 및 TYMS에 돌연변이가 있으며, 이는 5-FU에 대한 잠재적 반응 향상을 시사한다. 환자는 CYP2D6에 돌연변이가 있으며, 이는 타목시펜 또는 아편계 진통제에 대한 잠재적 반응 감소를 시사한다. 시퀀싱 결과에 기초하여 예상되는 잠재적으로 유익한 약물에는 항-PD-1 항체 (예컨대 옵디보® 또는 키트루다®), PD-0332991 (팔보시클립) 및 트라메티닙 (예컨대 맥키니스트(MEKINIST)®)가 포함된다.

[0644] 추가로, 시퀀싱 결과에 기초한 HLA 아형 및 돌연변이 분석에서 환자는 HLA-A 유전자좌에 1개 및 HLA-C 유전자좌에 1개를 포함하여 HLA-I 유전자에 2개의 결실 돌연변이가 있음이 밝혀졌다. 환자의 종양 샘플의 HLA-I 아형 및 돌연변이 부하 결과가 하기 표 3 및 표 4에 나타나 있다. 환자의 HLA 유전자좌의 기능적 분석은 MHC-I 제한요법, 예컨대 T 세포 기반 요법이 환자에게 효과적일 수 있음을 시사한다.

[0645] [표 3]

HLA-I 아형 결과		
유전자좌	A1	A2
A	0206	2402
B	1502	5101
C	0302	0801

[0646]

[0647] [표 4]

HLA-I 클래스 유전자의 돌연변이						
유전자	염색체	위치	WT	돌연변이	빈도	유형
HLA-A	chr6	29912028	AG	A	0.1783	결실
HLA-C	chr6	31236715	CG	C	0.9429	결실
						245

[0648]

[0649] 시퀀싱 분석에 기초하여, 4개의 후보 신생항원 발견되었다 (도 29a). 각각 신생항원 MTHR-A222V 및 MLL3-C988F에 기초하여 2개의 새로운 항원 펩티드를 설계하였다. 또한, 신생항원 펩티드 KRAS_G12V를 본 발명의 항원 펩티드 라이브러리에서 선택하였다. 합하여, 16개의 항원 펩티드 (hTERT, p53, 서바이빈, NY-ESO-1, MET, MUC1, Kras-3, 신생항원 1+2를 포함)가 환자의 S상 결장 종양에 특이적인 MASCT 치료를 위한 항원 펩티드 풀에 포함되었다.

[0650] 신생항원 펩티드를 포함하는 항원 펩티드 풀을 사용한 3 사이클의 정밀 MASCT 치료 후, 환자의 순환 종양 세포 (CTC) 수가 감소하였다 (도 29b). 환자의 PBMC 샘플을 ELISPOT에 의해 분석하여 항원 특이적 T 세포 반응을 평가하였다. ELISPOT 결과 (도 29c)는 환자의 PBMC가 MUC1 및 신생항원 (신생항원 1+1, Kras-3)에 대한 강력한 특이적 반응을 보이는 T 림프구를 가지는 반면, hTERT, p53, 서바이빈, NY-ESO-1 및 MET에 대한 특이적 반응 또한 상당함을 밝혀냈다. 종양 신생항원 및 종양 관련 항원에 대해 특이적인 T 세포가 환자의 PBMC에 존재하며, MASCT 치료 과정에서 증식하였다. 3 사이클의 MASCT 치료를 받은 후, 환자는 기력(vigor) 및 체력의 개선뿐만 아니라 신체적 외모 (예컨대 모발 및 수염이 검은색이 됨)의 변화를 보고하였다.

[0651] 실시예 7 - MASCT 치료에 대한 환자의 예후 및 계층화

[0652] 본 실시예는 환자에서 신생항원 수 (즉, 신생항원 부하) 및 HLA 분자의 돌연변이 부하에 기초한 MHC-제한 치료, 예컨대 MASCT 치료 (정밀 MASCT를 포함)를 받은 환자의 예후 및 계층화를 제공하는 예시적인 모델을 제시한다.

[0653] 실시예 5에서 기재된 방법을 사용하여, 40명의 암 환자의 종양 샘플에서 HLA 분자의 돌연변이 부하 및 신생항원을 측정하고 분석하였다. 환자는 다음과 같은 경우에 MHC-제한 치료로부터 이점을 얻을 것으로 예측된다: (1) B2M에 돌연변이가 없는 경우; (2) HLA 유전자의 기능성 영역 (예컨대 리더 펩티드 서열, a1 도메인, a2 도메인 또는 a3 도메인)에 돌연변이가 없는 경우; (3) HLA-I A, B 또는 C 유전자에 2개 미만의 돌연변이가 있는 경우; 및 (4) 5개 초과와 신생항원이 있는 경우. 환자는 다음과 같은 경우에 MHC-제한 치료로부터 잠재적으로 이점을 얻을 것으로 예측된다: (1) B2M에 돌연변이가 없는 경우; (2) HLA 유전자의 기능성 영역 (예컨대 리더 펩티드 서열, a1 도메인, a2 도메인 또는 a3 도메인)에 돌연변이가 없는 경우; (3) HLA-I A, B 또는 C 유전자에 2개 이상, 10개 미만의 돌연변이가 있는 경우; 및 (4) 5개 미만의 신생항원이 있는 경우. 환자는 다음과 같은 경우에 MHC-제한 치료로 인한 이점이 없을 것으로 예측된다: (1) B2M에 하나 이상의 돌연변이가 있는 경우; 또는 (2) HLA-I A, B 또는 C 유전자에 10개 이상의 돌연변이가 있는 경우. 9명의 환자가 MASCT 및/또는 면역 체크포인트 차단 치료를 포함하는 MHC-제한 치료를 받았다. 하기 표 5는 3개의 예후군의 환자의 임상 반응을 나타낸다.

[0654] [표 5]

MHC-제한 치료에 대한 환자의 예후

예후군	이점	잠재적 이점	이점 없음
수 (총=40)	17 (42.5%)	21 (52.5%)	2 (5%)
MHC-제한 치료를 받음	5	3	1
MHC-제한 치료에 반응함	4	2	0
MHC-제한 치료에 반응하지 않음	1	1	1
반응률	80%	66%	0%
예후의 성공률	80%	NA	100%

[0655]

[0656] 실시예 8 - 간세포 암종 환자에서 MASCT 안전성

[0657] 45명의 간세포 암종 환자를 MASCT로 치료하고, 임상 반응, 간 및 신장 기능, 일반 혈액 검사 결과 및 이상 반응을 포함하는 이들의 임상 데이터를 수집하여 후향적으로 분석하였다. 환자는 다른 면역치료를 받지 않았으며, MASCT를 받기 전 이들의 가장 최근 치료 (수술, 방사요법, 화학요법)는 MASCT 적어도 1개월 또는 그 이상 전에 완료되었다. 도 30a는 45명의 환자의 임상 특징을 나타낸다.

[0658] 실시예 1에 기재된 방법에 따라 MASCT를 위한 세포를 제조하였다. 간단히 말하면, PBMC를 각 환자로부터 1일째에 분리하고, 부작성 세포를 DC로 유도하였다. DC에 14 종류의 다중 항원 펩티드로 로딩하여 성숙 DC (mDC)를 제조하였다. 8일째에 mDC의 작은 부분을 환자에게 피하 주사하였다. PBMC 샘플의 비부작성 세포를 7일째부터 나머지 mDC와 공동 배양하여, 26일째에 정맥내 주입되는 세포독성 T 세포 (CTL)로 유도하였다. mDC 및 CTL은 품질 관리를 보장하기 위해 특징지어졌다. mDC에서, CD80⁺ 세포의 백분율은 98.5±5%이고, CD83⁺ 세포의 백분율은 88±10%이며, CD86⁺ 세포의 백분율은 98.4±3%이고, HLA-DR⁺ 세포의 백분율은 98.8±2%이었다. mDC는 높은 수준의 IL-12 (985±312 pg/mL) 및 낮은 수준의 IL-10 (53±10 pg/mL)을 분비하였다. CTL에서, CD3⁺CD8⁺ 세포의 백분율은 83±10%이고 CD3⁺CD56⁺ 세포의 백분율은 24±5%이었다. CTL은 높은 수준의 IFN- γ (1222 ± 650 pg/mL) 및 낮은 수준의 IL-10 (6.8 ± 5.0 pg/mL)을 분비하였다.

[0659] MASCT 치료를 받은 후 45명의 환자 모두의 임상 조건이 다양한 정도로 개선되었다. 대부분의 환자가 기력, 식욕, 수면 및 체력의 개선을 보고하였다. 활성 면역세포의 주입 후 주요 유해 사례는 중등도의 발열이었다 (2건, 4.44%). 발열은 CTL 주입 약 1시간 후에 발생하였으며, 두 건 모두에서 38.5°C 이하이었다. 환자는 휴식, 수분 섭취 및 물리적 냉각 후 체온은 원래로 돌아갔다. 다른 심각한 유해 사례는 관찰되지 않았다.

[0660] 도 30b는 MASCT 치료 전과 마지막 MASCT 치료 후 45명의 환자의 일반 혈액 검사의 결과를 보여준다. 모든 환자의 일반 혈액 검사 결과에는 이상이 없었다. 백혈구 (WBC) 수 (P=0.0411) 및 호중구 (Neu) 수 (P=0.0015)는 MASCT 치료 전후에 유의한 변화를 보여주었으나, 정상 범위 내에 있으므로 유의한 임상 효과를 유도하지 않는다. 헤모글로빈 (HB) 및 혈소판 (PLT) 수는 통계적으로 유의한 변화를 보이지 않았다. SPSS 19.0 소프트웨어를 사용하는 t 검정을 사용하여 통계적 분석을 수행하였다.

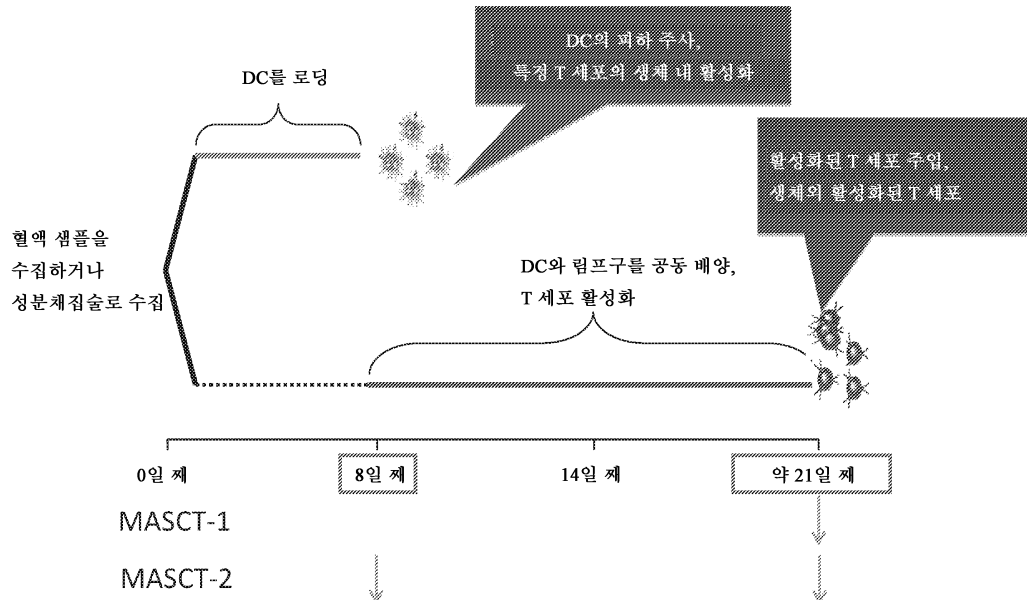
[0661] 도 30c는 MASCT 치료 전과 마지막 MASCT 치료 후 45명의 환자에서 ALT, AST, TBIL, CR 및 BUN 수준을 나타낸다. 모든 환자의 간 또는 신장 기능에는 이상이 없었다. MASCT 치료 전에 2명의 환자의 데이터는 이용할 수 없었다. AST ($p=0.0198$) 및 TBIL ($p=0.0177$) 수준은 MASCT 치료 후 통계적으로 유의한 변화를 보여주었으며, ALT 또한 증가하는 경향을 보였는데, 이는 임상적 의의가 있다. CR 및 BUN 수준은 MASCT 치료 후에 통계적 유의한 변화가 없었다.

[0662] 4 내지 6회의 MASCT 치료 후, 6회의 방문(visit) 동안의 간 기능 데이터를 이용할 수 있었다 (기준선 수준에서 5회의 MASCT 치료 후까지). 도 30d는 5회의 MASCT 치료 과정에 걸쳐 10명의 환자에서 ALT 및 AST 수준의 변화를 보여준다. 6번째 방문시 간 이식을 받아 ALT 수준이 288 IU/L로 증가한 환자 1명; 및 6번째 방문시 TACE 치료를 받아 수준이 572 IU/L로 증가한 또 다른 환자 1명을 포함하여 수준에 큰 변동이 있는 2명의 환자는 제외되었다. 시간 경과에 따라 환자에서 ALT 및 AST 수준을 비교하였더니, 통계적으로 유의한 변화가 없었다.

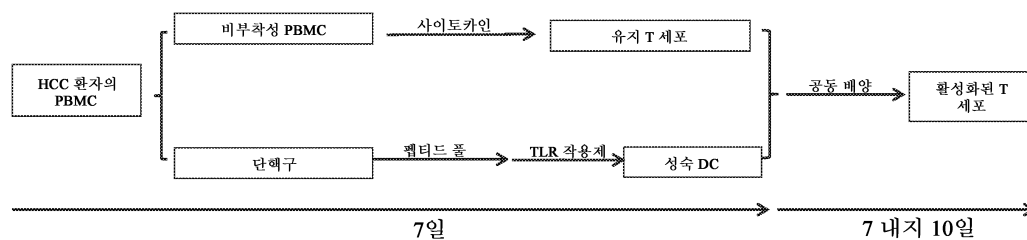
[0663] 이러한 결과는 MASCT 치료가 HCC 환자에게 안전함을 입증한다.

도면

도면1



도면2a



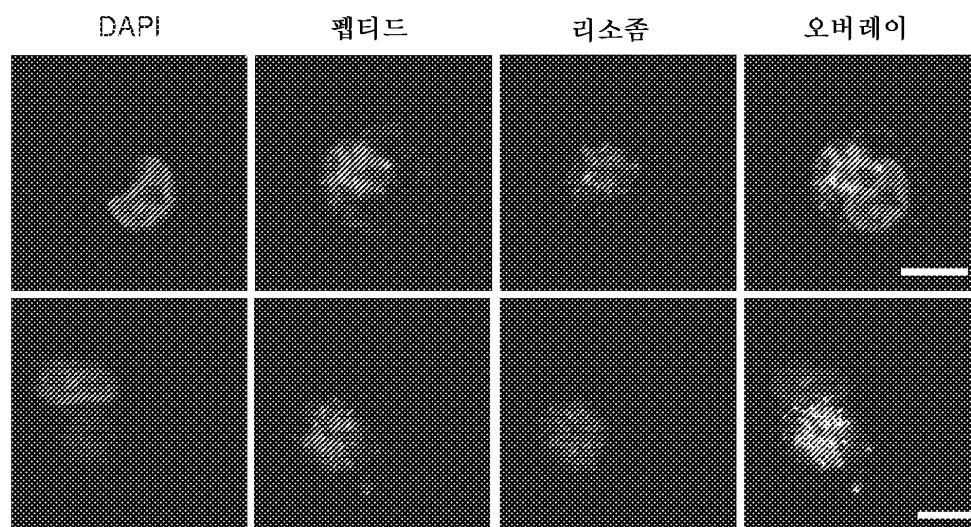
도면2b

번호	종양 항원 펩티드	HCC에서 과발현	임상 시험	참고문헌
1	hTERT	+	OC, BC, PC, 흑색종	1, 2
2	p53	+ (기능 상실)	LC, BC, OC, 흑색종	3
3	서마이빈	+	OC, PC, RCC, 흑색종	4, 5
4	NY-ESO-1	+	HCC	1, 6
5	CEA	+	HCC	7
6	CCND1	+	RCC	8, 9
7	MET	+	RCC	8, 10
8	RGS5	+	RCC	8, 11
9	MMP7	+	RCC	8
10	VEGFR	+	HCC	12
11	AFP	+	HCC	1, 13
12	GPC3	+	-	14
13	HBV 코어 항원	+(HBV+인 경우)	-	13, 15
14	HBV DNA 중합효소	+(HBV+인 경우)	-	1, 13

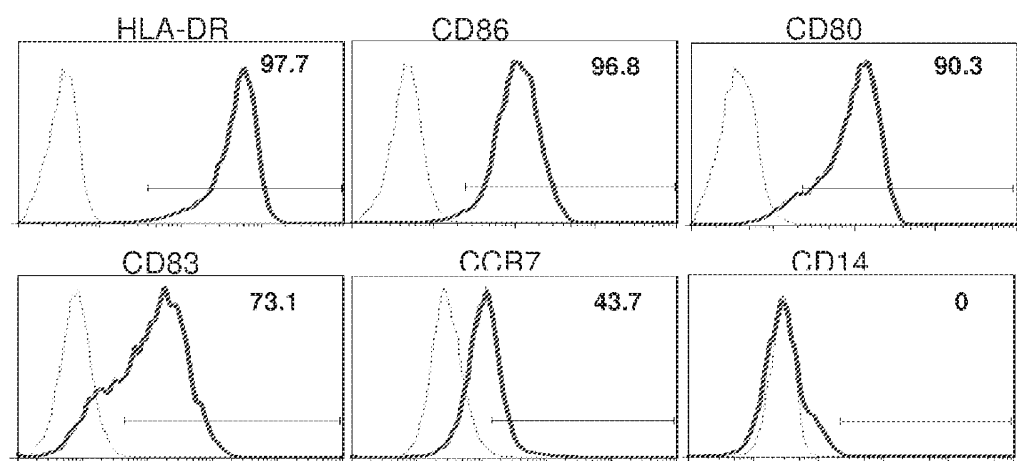
도면2c

번호	종양 항원 펩티드	설명	함유하는 에피토프
1	hTERT	인간 텔로머라제 역전사효소	VYAETKHFL (서열 번호 1), VYGFVRACL (서열 번호 2), ILAKFLHWL (서열 번호 3), LTDLQPYMR (서열 번호 4), DLQVNSLQTV (서열 번호 5)
2	p53	종양 억제 항원	STPPPGTRV (서열 번호 6), AIYKQSQHM (서열 번호 7), EYLDDRNTE (서열 번호 8), LLGRNSFEVRV (서열 번호 9)
3	서마이빈	아포토시스 억제제	RISTFKNWPFL (서열 번호 10), DLAQCFFCFK (서열 번호 11), ELTLGEFLKL (서열 번호 12)
4	NY-ESO-1	종양-정소 항원	YLAMPFATPM (서열 번호 13), SLLMWITQC (서열 번호 14)
5	CEA	암배아항원	YLSGANLNL (서열 번호 15), TYACFVSNL (서열 번호 16)
6	CCND1	사이클린 D1	LLGATCMFV (서열 번호 17)
7	MET	HGF-간세포 성장 인자 수용체	YVDPVITSI (서열 번호 18)
8	RGS5	RGS(G 단백질 신호전달 조절자) 5	LAALPHSCL (서열 번호 19)
9	MMP7	MMP(기질 금속단백질분해효소) 7	SQDDIKGIQK (서열 번호 20)
10	VEGFR	혈관 표피 성장 인자 수용체	TLFWLLTL (서열 번호 21), SYGVLLWEI (서열 번호 22), RFVDPGNRI (서열 번호 23), SYMISYAGM (서열 번호 24), PLFQVPEPV (서열 번호 25), FMNKFIVEI (서열 번호 26), GLSPNLRNF (서열 번호 27), GVALQTMKQ (서열 번호 28)
11	AFP	알파 태아단백질	FVGEFFTD (서열 번호 29), EYLSLEEL (서열 번호 30)
12	GPC3	글리피칸-3	FLPSDFFPS (서열 번호 31), YVNVNMGLK (서열 번호 32)
13	HBVc	HBV 코어 항원	GLSRYVARL (서열 번호 33), FLLSLGIHL (서열 번호 34), RKYTSFPWLL (서열 번호 35)
14	HBVp	HBV DNA 중합효소	

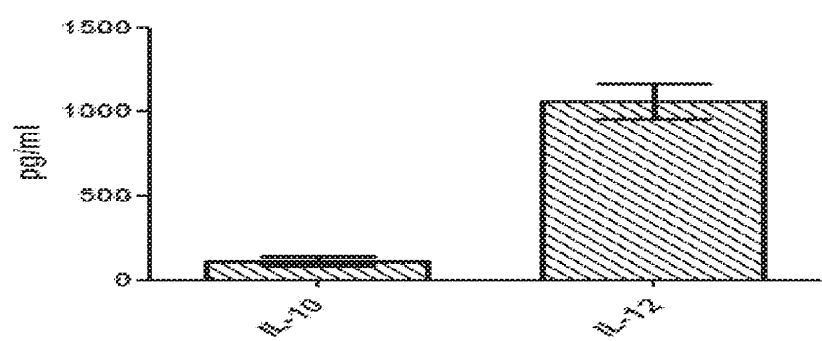
도면3



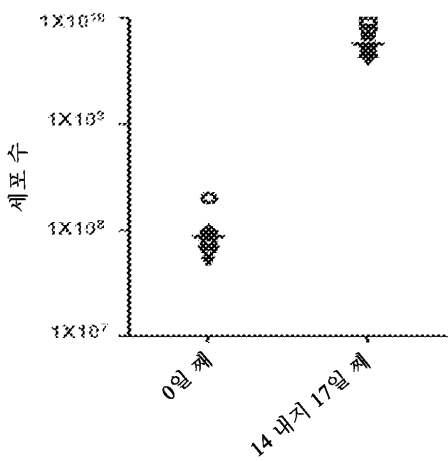
도면4a



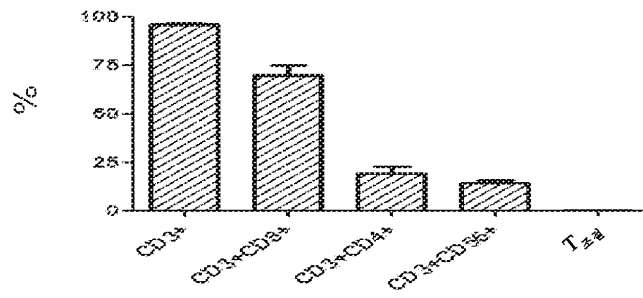
도면4b



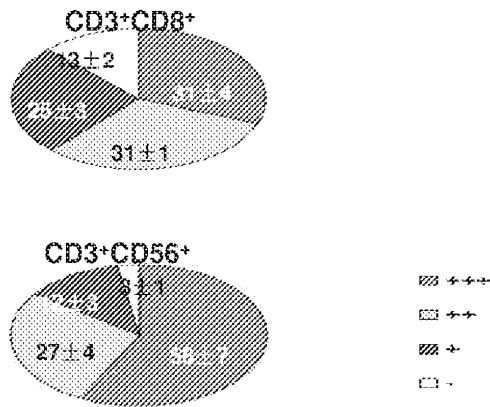
도면5a



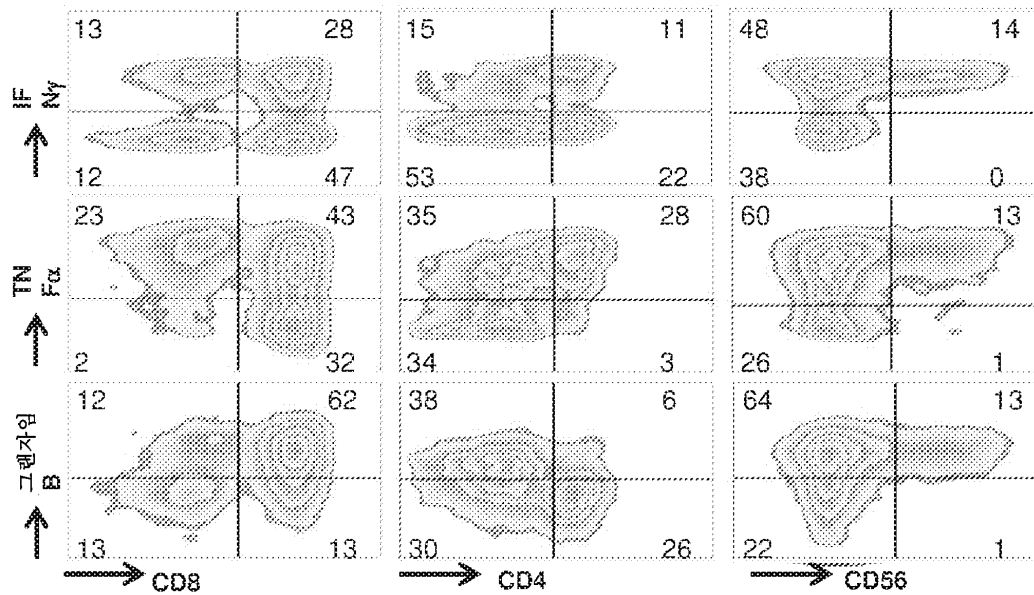
도면5b



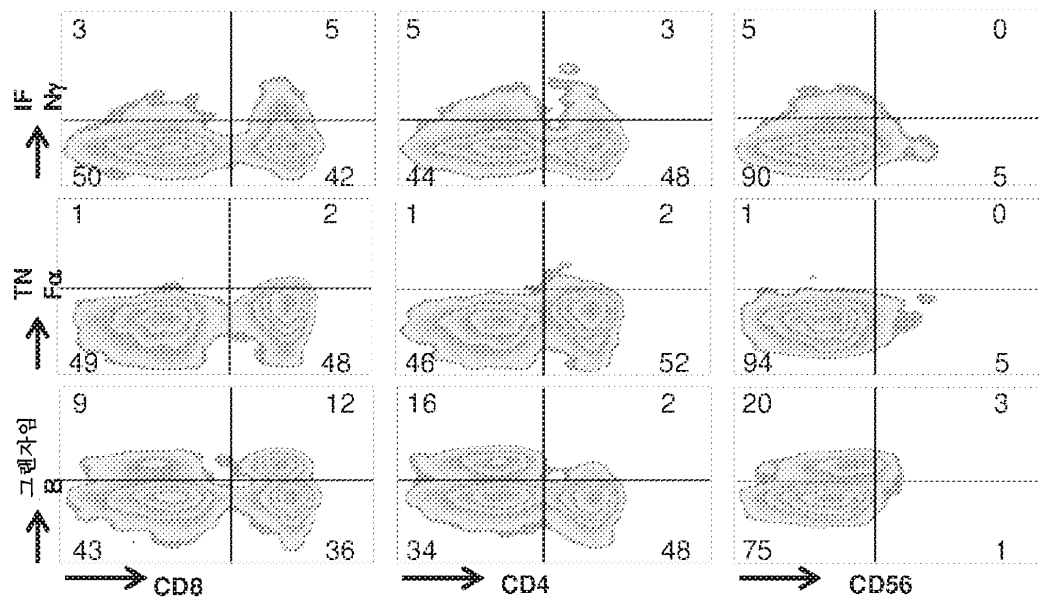
도면5c



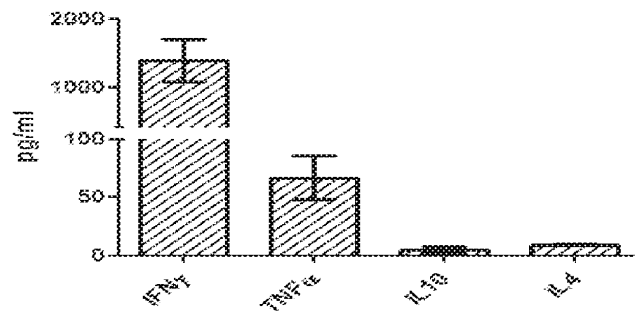
도면5d



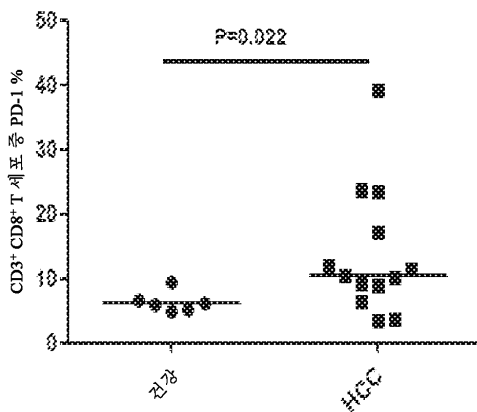
도면5e



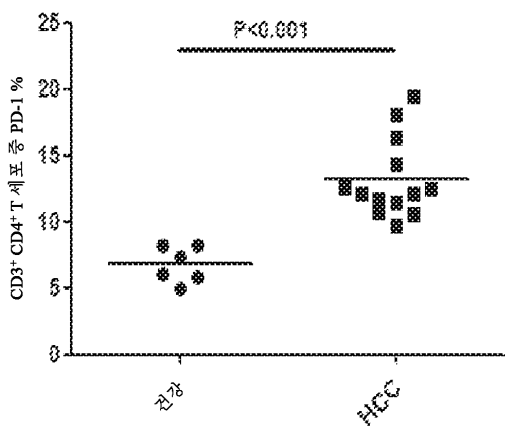
도면6a



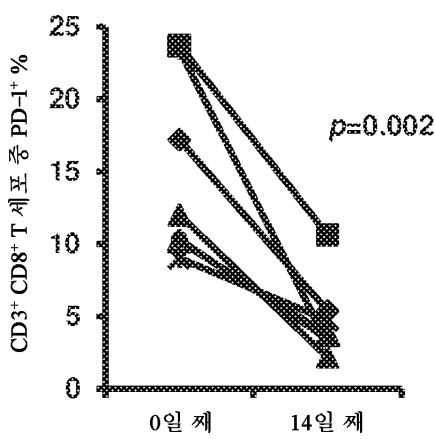
도면6b



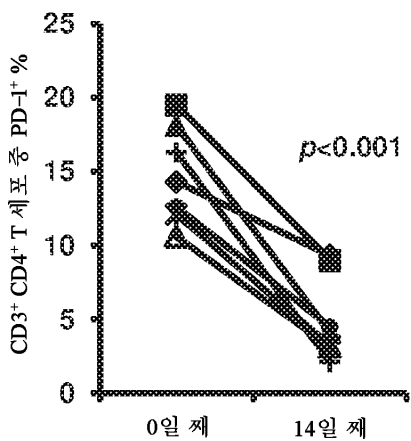
도면6c



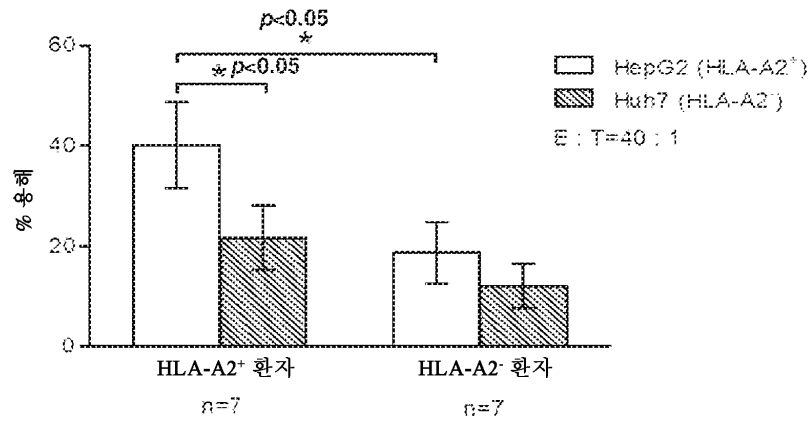
도면6d



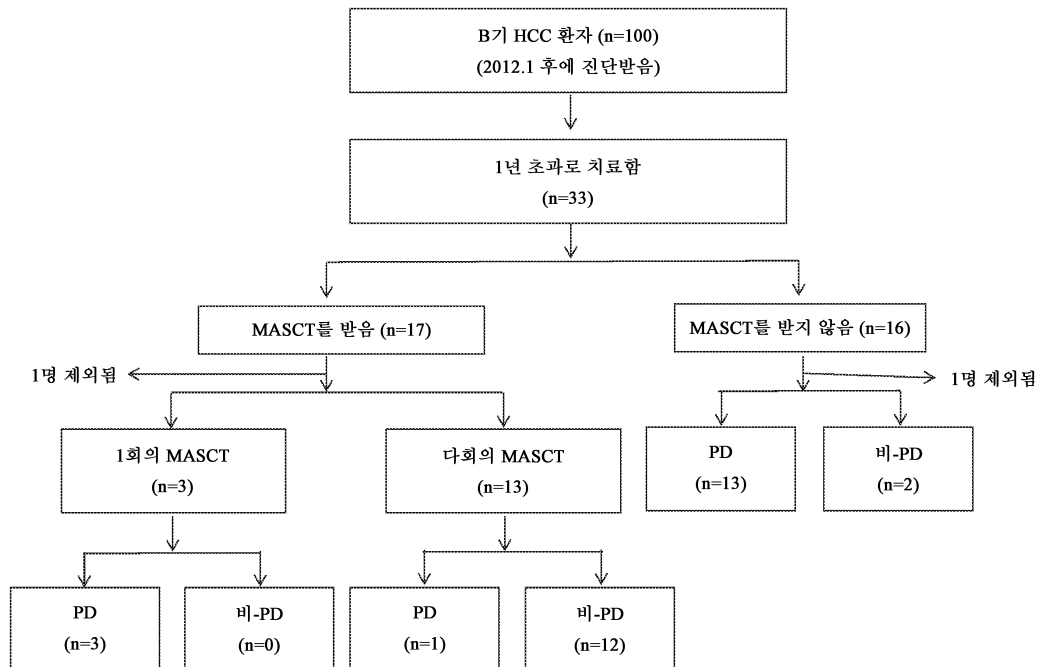
도면6e



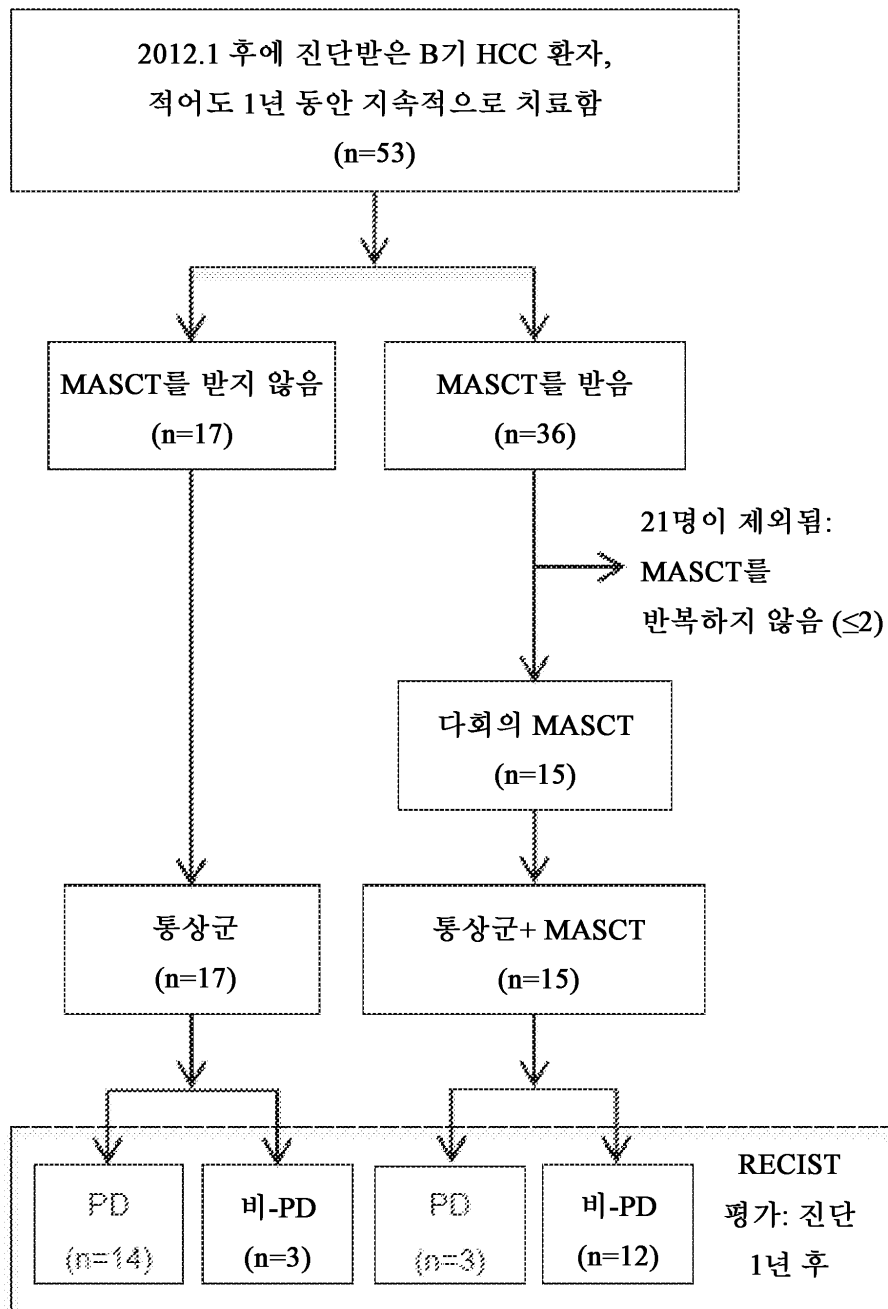
도면6f



도면7a



도면 7b



도면8a

진단 후 1년 동안 MASCT 세포 치료를 받지 않은 간세포 암종 (B기) 환자의 특징, 치료 및 RECIST 평가 (n=15)

환자 번호	나이	성별	진단	HBV	항-HBV 요법	PD/1년까지의 치료	RECIST 평가*	PD까지의 시간
1-1	39	M	2012.1	+	+	절제술 (1), TACE (3)	PD	6개월
1-2	60	M	2012.2	+	-	TACE (2), RFA (1)	CR	-
1-3	42	M	2012.6	+	+	TACE (3), 방사요법 (2)	PD	12개월
1-4	53	M	2012.6	+	-	TACE (3)	PD	6개월
1-5	54	M	2012.6	+	-	TACE (3)	PD	4개월
1-6	65	M	2012.7	+	+	TACE (1)	PD	9개월
1-7	30	F	2012.7	+	-	TACE (4)	PD	6개월
1-8	54	M	2012.9	+	-	TACE (4)	SD	-
1-9	57	M	2012.11	+	+	TACE (3), 소라페닙(Sorafenib)	PD	9개월
1-10	44	M	2012.12	+	-	TACE (2), RFA (2)	PD	6개월
1-11	40	M	2012.12	+	-	TACE (3), 냉각제거술 (1)	PD	7개월
1-12	76	M	2013.1	+	+	TACE (2)	PD	10개월
1-13	53	M	2013.3	+	+	TACE (3)	PD	8개월
1-14	65	M	2013.6	+	+	절제술 (1), TACE (1)	PD	3개월
1-15	66	M	2013.6	+	+	TACE (3)	PD	5개월

M: 남성; F: 여성; HBV: B형 간염 바이러스; TACE: 간동맥 화학색전술; RFA: 고주파열치료; PD: 진행성 질환; SD: 안정적인 질환; CR: 완전 반응

치료 횟수가 ()에 표시되어 있다.

* 환자가 PD로 평가되지 않는 경우, 진단 후 1년이된 시점에 RECIST 평가가 표시되어 있다.

도면8b

환자 번호	나이	성별	진단 시간	HBsAg	항-HBV 요법	PD/1년까지의 치료	RECIST 평가*	PD까지의 시간
1-1	37	M	2012.1	+	LAM	절제술 (1), TACE (3)	PD	6 m
1-2	58	M	2012.2	+	-	TACE (2), RFA (1)	CR	-
1-3	40	M	2012.6	+	LAM/ETV	TACE (3), 방사요법 (2)	PD	12 m
1-4	41	M	2012.6	+	LAM	TACE (3)	PD	6 m
1-5	53	M	2012.6	+	-	TACE (3)	PD	4 m
1-6	63	M	2012.7	+	NA	TACE (1)	PD	9 m
1-7	37	F	2012.7	+	-	TACE (4)	PD	6 m
1-8	52	M	2012.9	+	-	TACE (4)	SD	-
1-9	55	M	2012.11	+	+	TACE (3), 소라페닙	PD	2 m
1-10	42	M	2012.12	+	-	TACE (2), RFA (2)	PD	6 m
1-11	38	M	2012.12	+	+	TACE (3), 냉각제거술 (1)	PD	7 m
1-12	75	M	2013.1	+	ETV, LAM	TACE (2)	PD	10 m
1-13	52	M	2013.3	+	LAM	TACE (3)	PD	8 m
1-14	64	M	2013.6	+	ETV	절제술 (1), TACE (1)	PD	3 m
1-15	65	M	2013.6	+	ETV	TACE (3)	PD	5 m
1-16	52	F	2013.12	+	ETV	TACE (2), 냉각제거술 (1), PEI (5)	SD	-
1-17	46	M	2014.1	+	NA	TACE (5), RFA (1)	PD	10 m

M: 남성; F: 여성; HBV: B형 간염 바이러스; TACE: 간동맥 화학색전술; RFA: 고주파열치료; PEI:경피 에탄올 주사 ;

PD: 진행성 질환; SD: 안정적인 질환; CR: 완전 반응; NA: 해당 없음; LAM: 라미부딘(Lamivudine);

ETV: 엔테카비르정(Entecavir Tablet); m:개월;

치료 횟수가 ()에 표시되어 있다.

* 환자가 PD로 평가되지 않는 경우, 진단 후 1년이된 시점에 RECIST 평가가 표시되어 있다.

도면9a

진단 후 1년 동안 다회의 MASCT 세로 치료를 받은 간세포 암종 (B기) 환자의 특징, 치료 및 RECIST 평가 (n=13)

환자 번호	나이	성별	진단 시간	HBV	항-HBV 요법	첫 3개월 동안의 치료	PD/1년까지의 후속 치료	RECIST 평가*
2-1	67	M	2012.1	+	-	TACE (1), 냉각제거술 (1), MASCT (1)	MASCT (3)	SD
2-2	63	F	2012.2	+	+	TACE (1), 냉각제거술 (1)	MASCT (3)	SD
2-3	60	M	2012.3	+	-	TACE (1), 냉각제거술 (1), MASCT (1)	MASCT (3)	SD
2-4	34	M	2012.4	+	-	RFA (1)	MASCT (5)	SD
2-5	55	F	2012.5	+	-	TACE (3)	MASCT (3)	PD <11개월>
2-6	56	M	2012.7	+	+	TACE (3), MASCT (3)	TACE (2), 냉각제거술 (1), MASCT (5)	SD
2-7	63	M	2012.9	+	+	TACE (2), 냉각제거술 (2), MASCT (3)	MASCT (4)	SD
2-8	46	M	2012.10	+	+	TACE (1), 냉각제거술 (1), MASCT (1)	MASCT (5), RFA (1)	SD
2-9	37	M	2013.1	+	-	TACE (2), RFA (1)	MASCT (5)	PR
2-10	75	M	2013.1	+	+	TACE (1), 냉각제거술 (1), MASCT (1)	MASCT (3)	SD
2-11	51	M	2013.4	+	-	TACE (1), 냉각제거술 (1), MASCT (1)	MASCT (3)	CR
2-12	57	M	2013.4	+	+	TACE (1)	MASCT (7)	SD
2-13	40	M	2013.4	+	+	TACE (2)	TACE (1), MASCT (6)	SD

M: 남성; F: 여성; HBV: B형 간염 바이러스; TACE: 간동맥 화학색전술; RFA: 고주파열치료; PD: 진행성 질환; SD: 안정적인 질환;

PR: 부분 반응; CR: 완전 반응

치료 횟수가 0에 도시되어 있다.

* 환자가 PD로 평가되지 않는 경우, 진단 후 1년이된 시점에 RECIST 평가가 도시되어 있다.

도면9b

환자 번호	나이	성별	진단 시간	HBsAg	항-HBV 요법	첫 3개월 동안의 치료	PD/1년까지의 후속 치료	RECIST 평가*	PD까지의 시간
2-1	67	M	2012.1	+	-	TACE (1), 냉각제거술 (1), MASCT (1)	MASCT (3)	SD	-
2-2	63	F	2012.2	+	ETV	TACE (1), 냉각제거술 (1)	MASCT (3)	SD	-
2-3	60	M	2012.3	+	+	TACE (1), 냉각제거술 (1), MASCT (1)	MASCT (3)	PR	-
2-4	34	M	2012.4	+	-	RFA (1)	MASCT (5)	SD	-
2-5	55	F	2012.5	+	-	TACE (3)	MASCT (3)	PD	11 m
2-6	56	M	2012.7	+	LAM	TACE (3), MASCT (3)	TACE (2), 냉각제거술 (1), MASCT (5)	PR	-
2-7	63	M	2012.9	+	ETV	TACE (2), 냉각제거술 (2), MASCT (3)	MASCT (4)	SD	-
2-8	44	M	2012.10	+	LAM	TACE (1), 냉각제거술 (1), MASCT (1)	MASCT (5), RFA (1)	SD	-
2-9	37	M	2013.1	+	-	TACE (2), RFA (1)	MASCT (5)	PR	-
2-10	75	M	2013.1	+	ETV	TACE (1), 냉각제거술 (1), MASCT (1)	MASCT (3)	SD	-
2-11	51	M	2013.4	+	-	TACE (1), 냉각제거술 (1), MASCT (1)	MASCT (3)	CR	-
2-12	56	M	2013.4	+	ADV	TACE (1)	MASCT (7)	SD	-
2-13	39	M	2013.4	+	NA	TACE (2)	TACE (1), MASCT (6)	SD	-
2-14	49	F	2013.7	+	ADV	TACE (1), MASCT (1), 절제술 (1)	MASCT (5),	PD	12 m
2-15	61	M	2013.10	+	+	TACE (2), 화학요법 (1), MASCT (2)	TACE (2), MASCT (2)	PD	4 m

M: 남성; F: 여성; HBV: B형 간염 바이러스; TACE: 간동맥 화학색전술; RFA: 고주파열치료; PEI: 경피 에탄올 주사;

PD: 진행성 질환; SD: 안정적인 질환;

PR: 부분 반응; CR: 완전 반응; NA: 해당 없음; LAM: 라미부딘; ETV: 엔테카비르정; ADV: 아데포빌 디피복실(Adefovir Dipivoxil)정.

치료 횟수가 0에 도시되어 있다.

* 환자가 PD로 평가되지 않는 경우, 진단 후 1년이된 시점에 RECIST 평가가 도시되어 있다.

도면10a

후향성 분석에 등록된 간세포 암종 (B기) 환자의 특징

	다회의 "MASCT"	"MASCT" 없음
	n=13	n=15
중위 연령 (범위), 년	56 (34~76)	54 (36~76)
성별 (남성), 수 (%)	11 (84.6)	14 (93.3)
만성 HBV 감염, 수 (%)	13 (100)	15 (100)
항-HBV 요법, 수 (%)	7 (53.8)	8 (53.3)
병용 요법, 수	34	49
절제술	0	2
TACE	22	40
RFA	3	3
냉각재거술	0	1
방사요법	0	2
소라페닙	0	1
환자 당 요법, 수	2.62	3.27

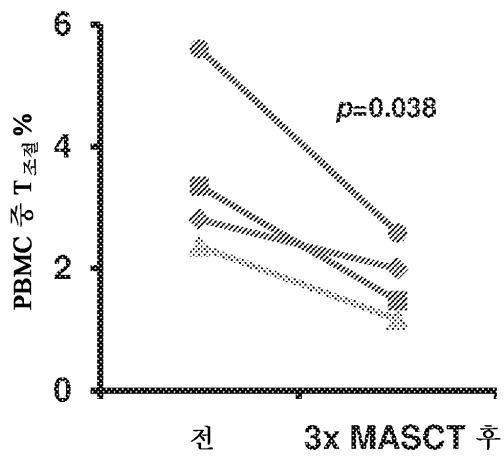
HBV: B형 간염 바이러스; TACE: 간동맥 화학색전술; RFA: 고주파열치료

도면10b

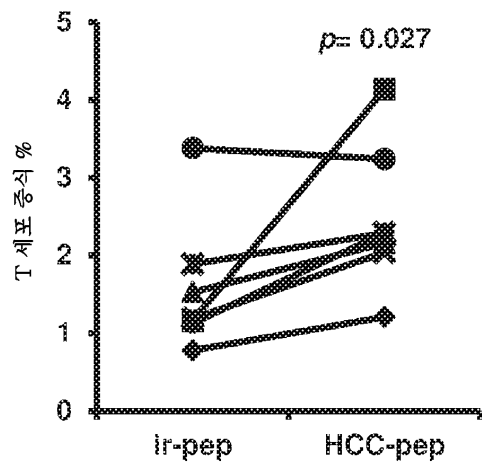
	통상 + MASCT	통상
	(n=15):	(n=17):
중위 연령 (범위), 년	56 (34~76)	52 (37~75)
성별 (남성), 수 (%)	12 (80%)	15 (88.24%)
만성 HBV 감염, 수 (%)	15 (100%)	17 (100%)
항-HBV 요법, 수 (%)	7 (47.06%)	8 (46.67%)
병용 요법, 수	39	63
절제술	1	2
TACE	25	47
RFA	3	4
냉각재거술	0	2
방사요법	0	2
소라페닙	0	1
PEI	0	5
화학요법	1	0
환자 당 요법, 수	2.6	3.71

HBV: B형 간염 바이러스; TACE: 간동맥 화학색전술; RFA: 고주파열치료; PEI: 경피 에탄올 주사

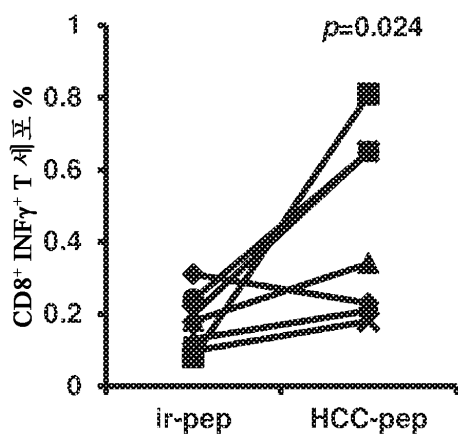
도면11a



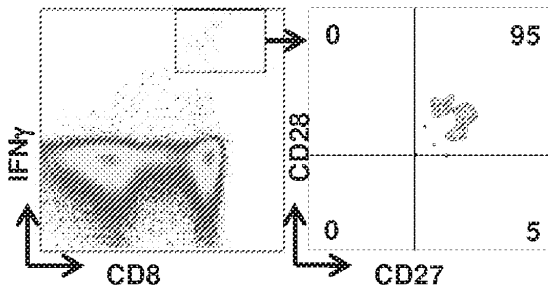
도면11b



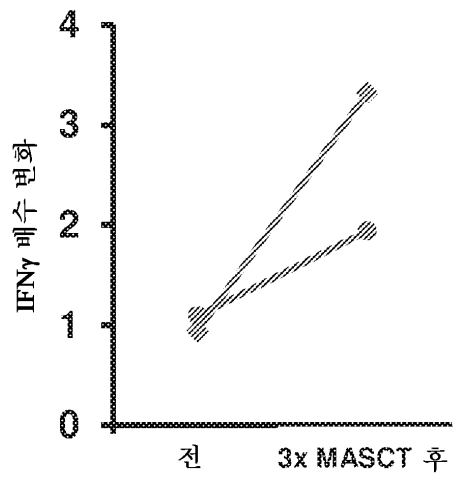
도면11c



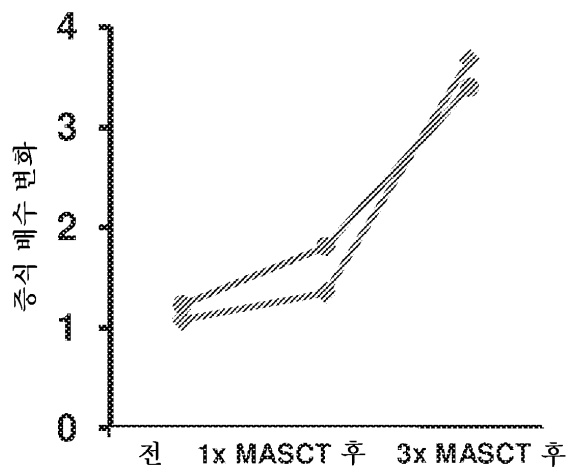
도면11d



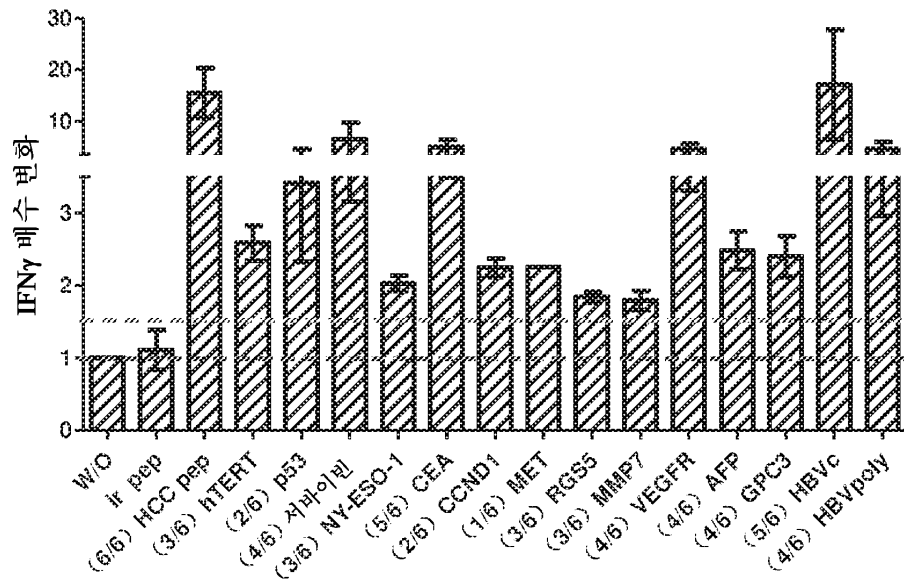
도면11e



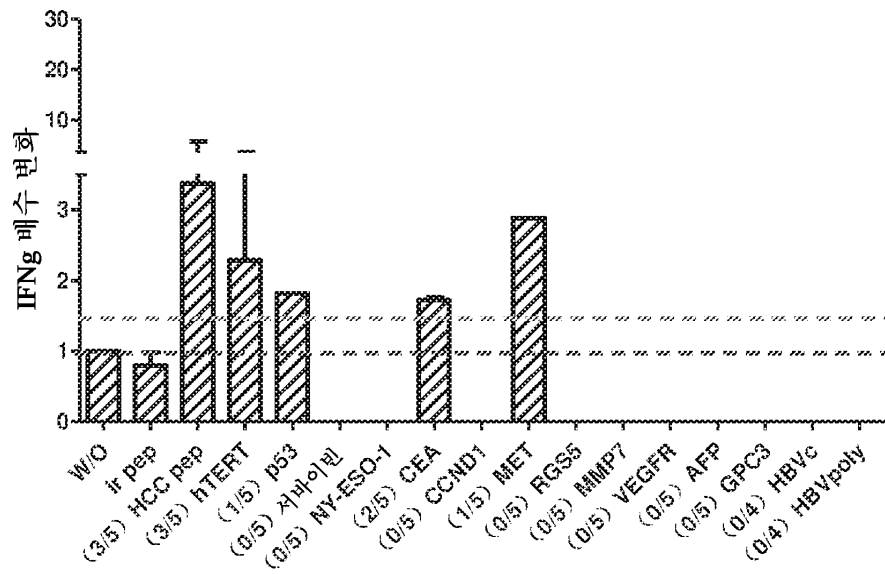
도면11f



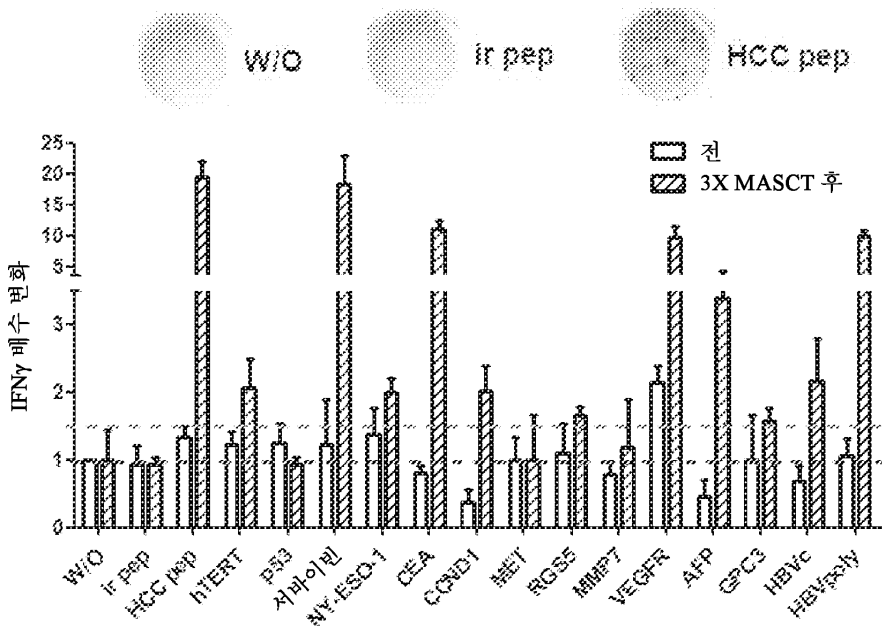
도면12a



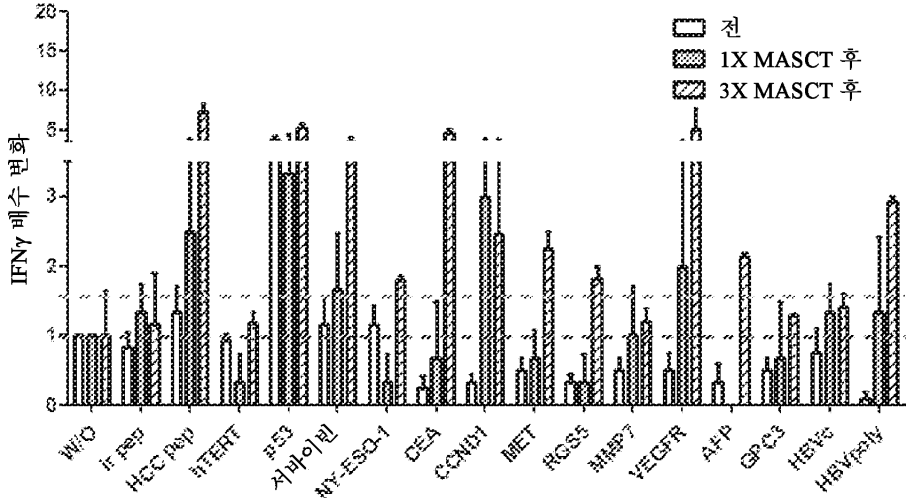
도면12b



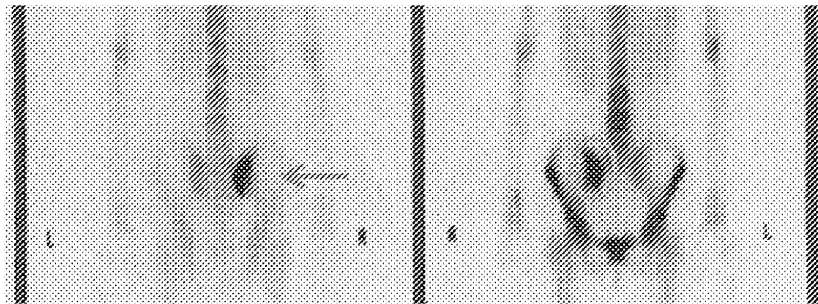
도면12c



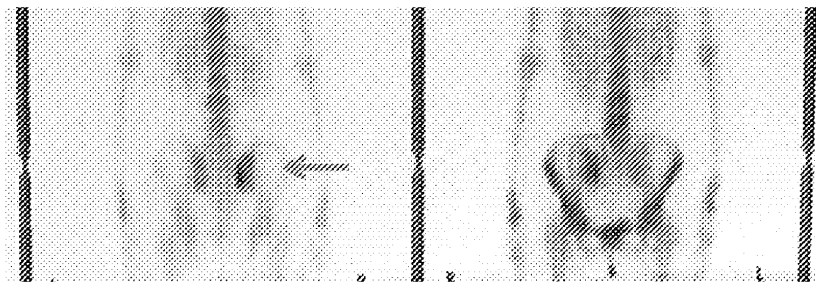
도면12d



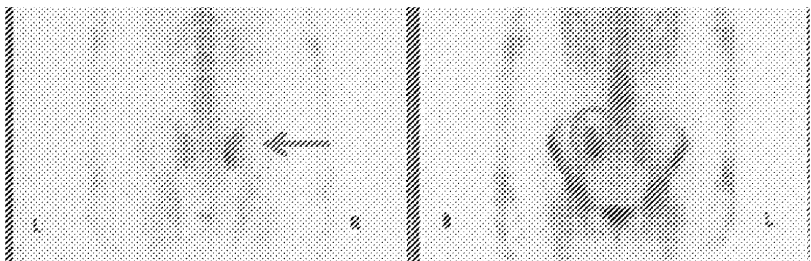
도면13a



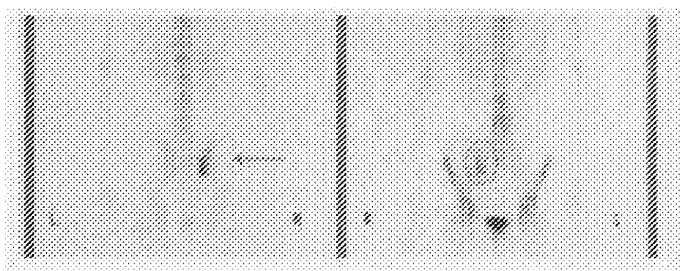
도면13b



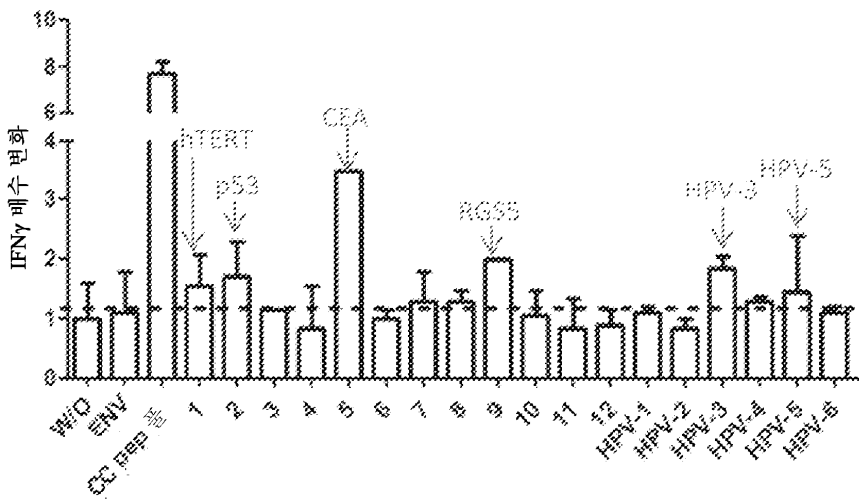
도면13c



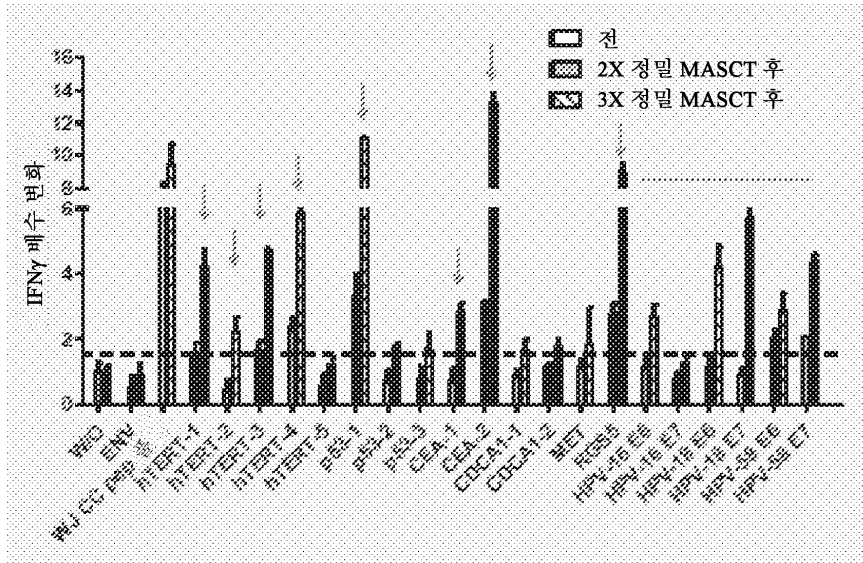
도면13d



도면13e

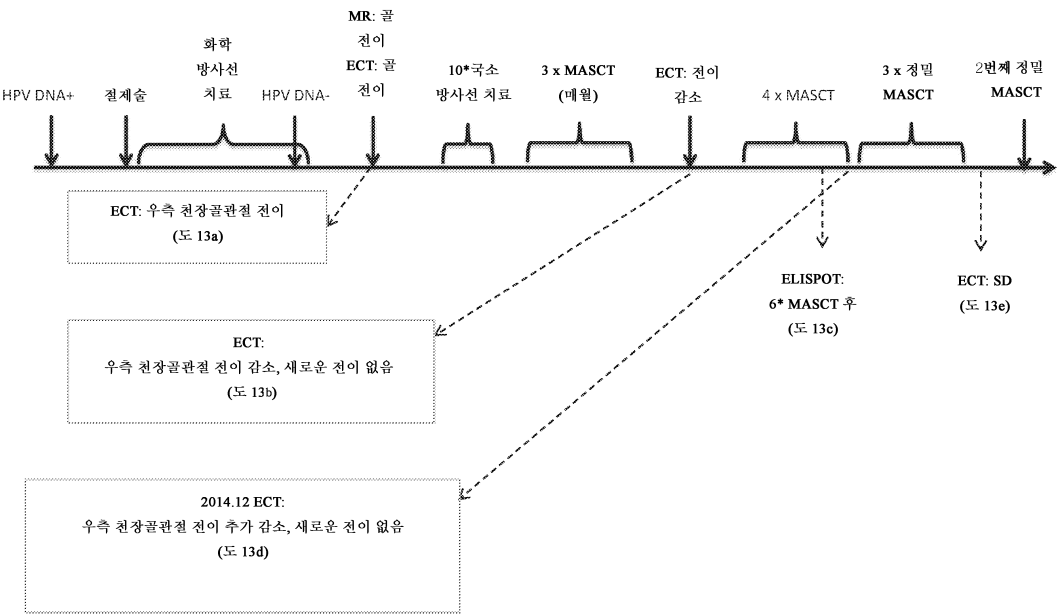


도면13f

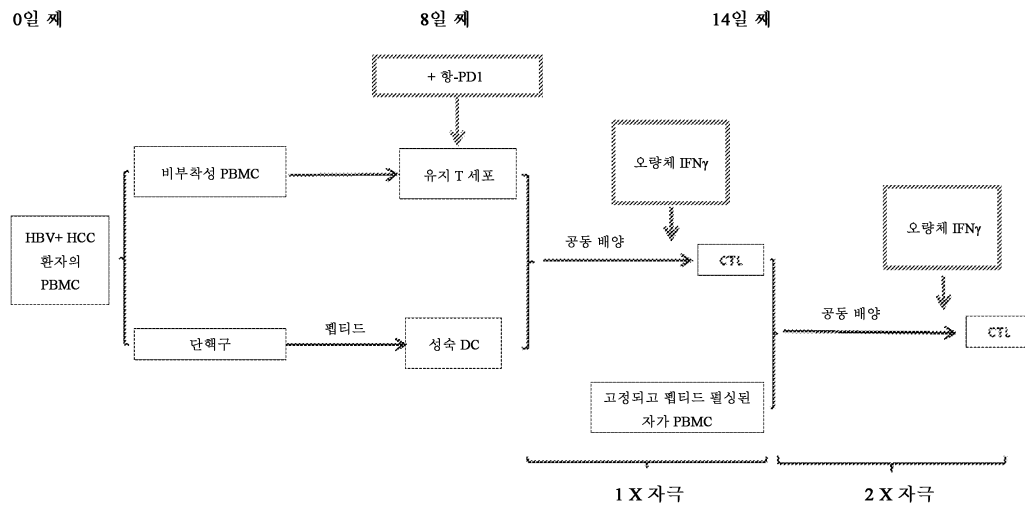


도면14

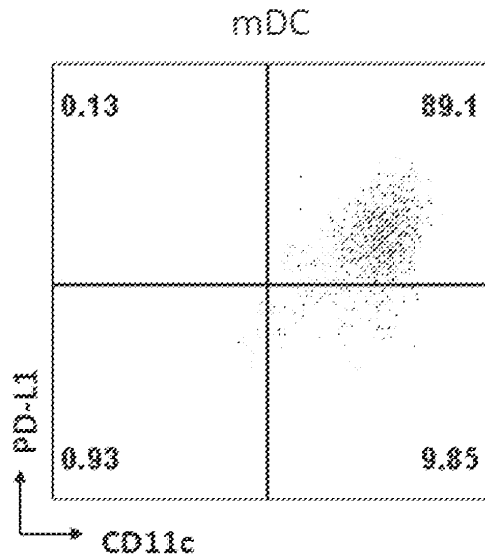
환자 WJ: 여성, 1970년생, 자궁경부암, HPV+, HLA-A2+



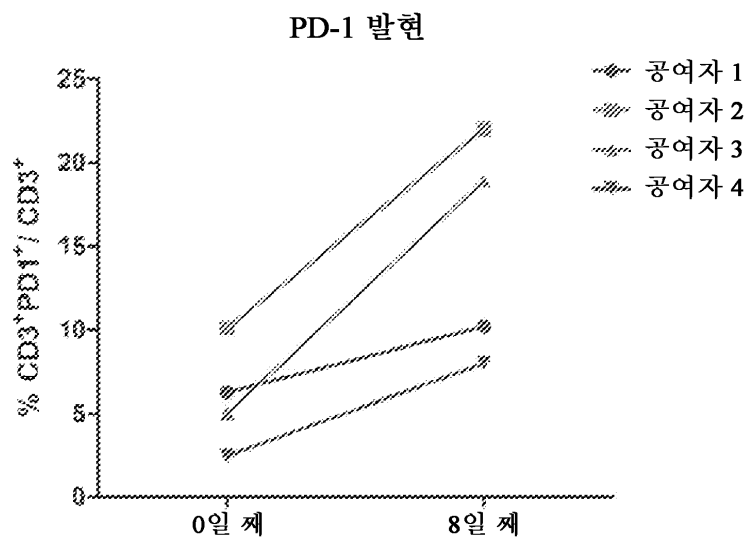
도면15



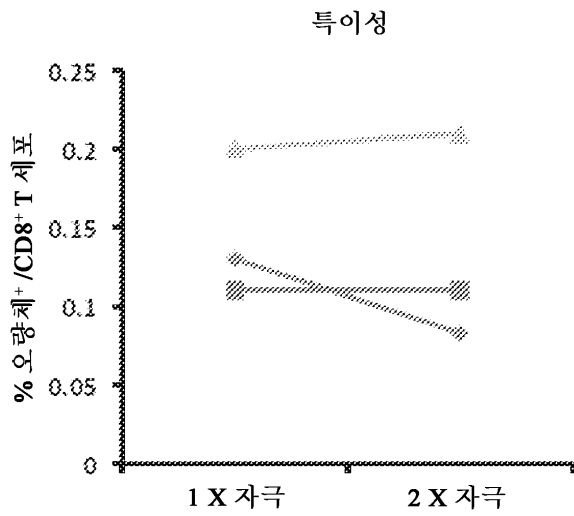
도면16a



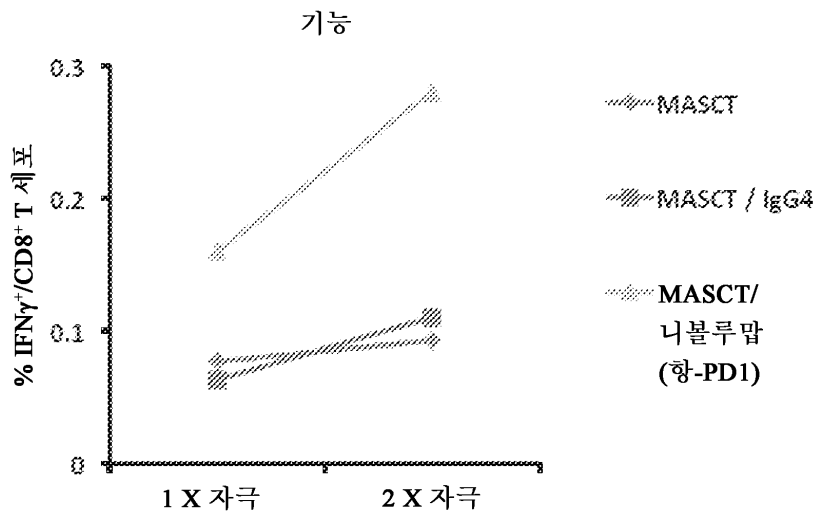
도면16b



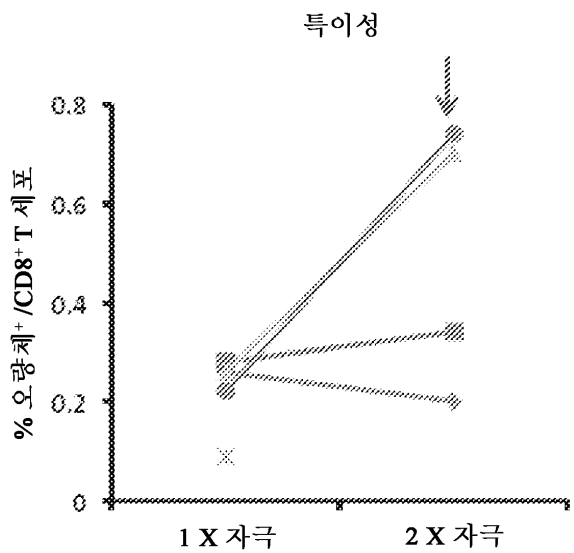
도면17a



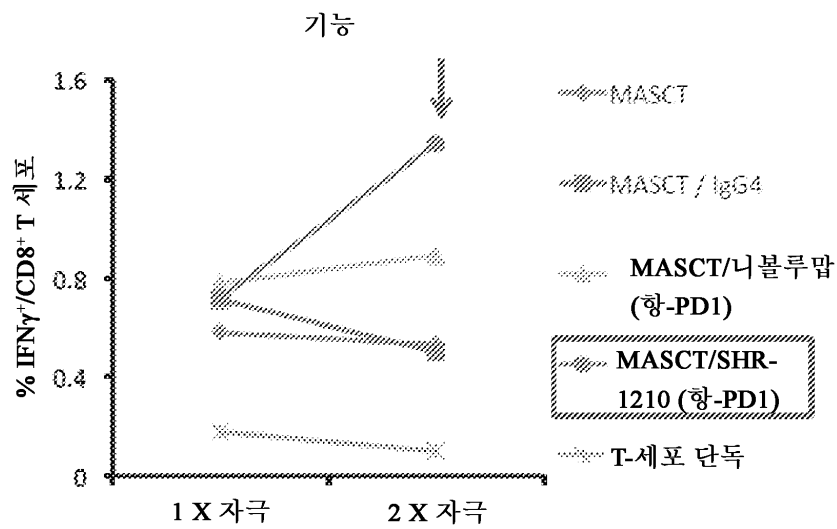
도면17b



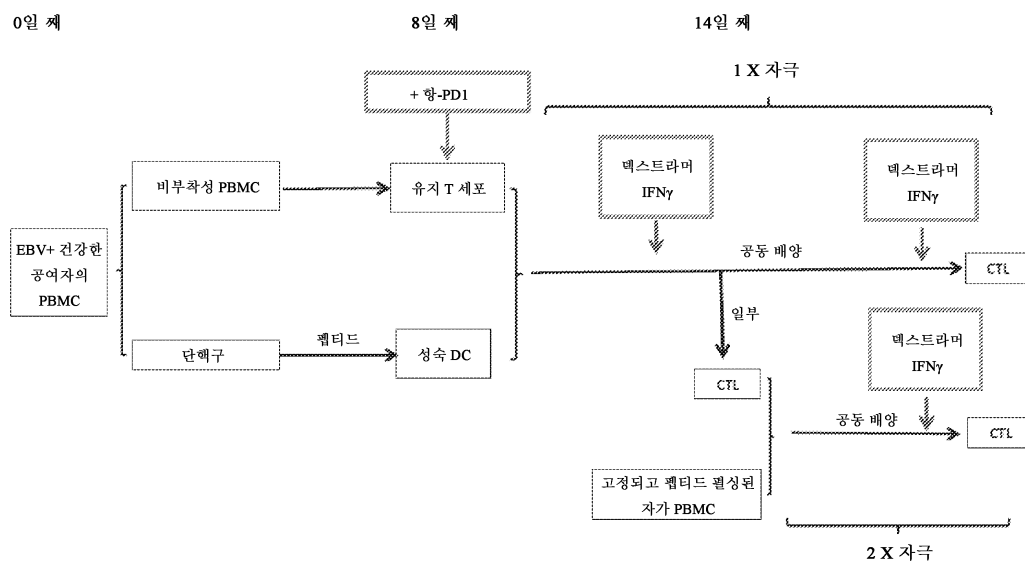
도면17c



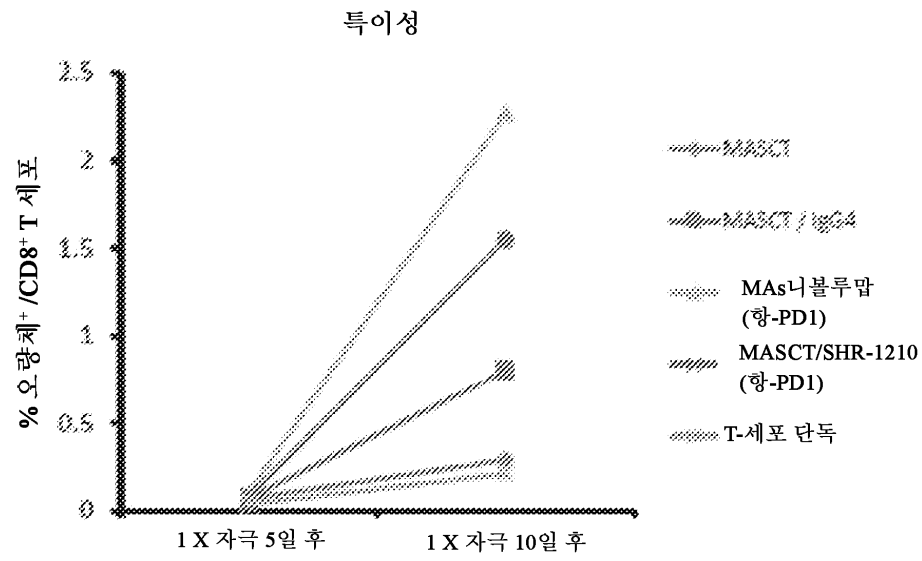
도면17d



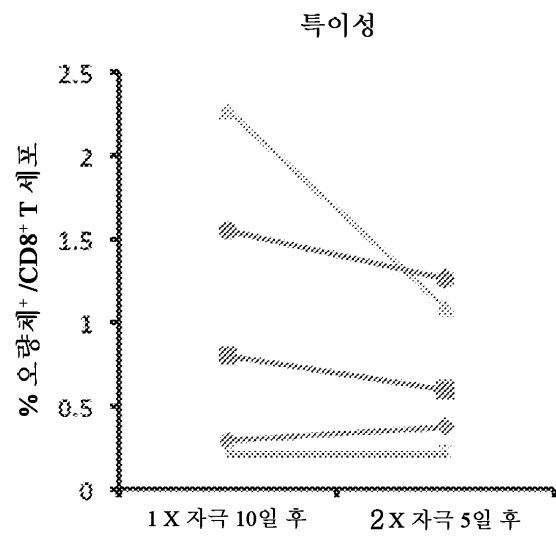
도면 18



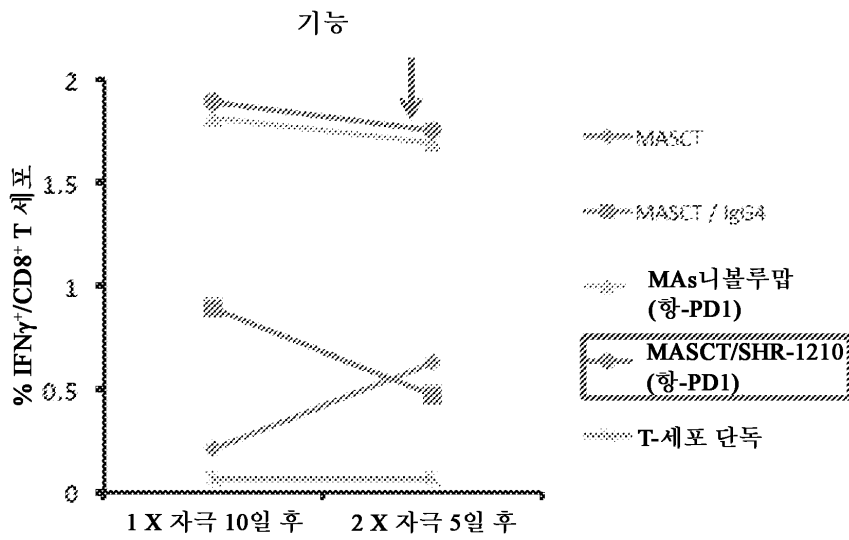
도면19a



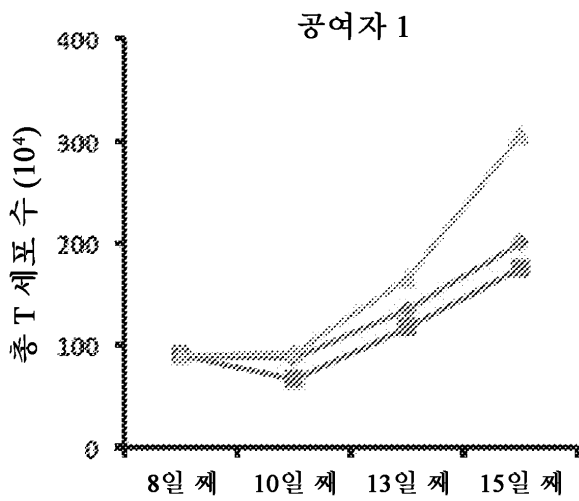
도면19b



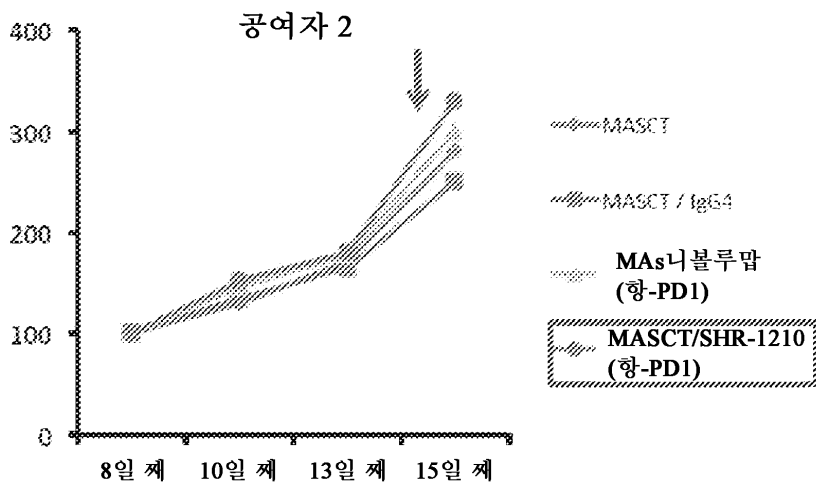
도면19c



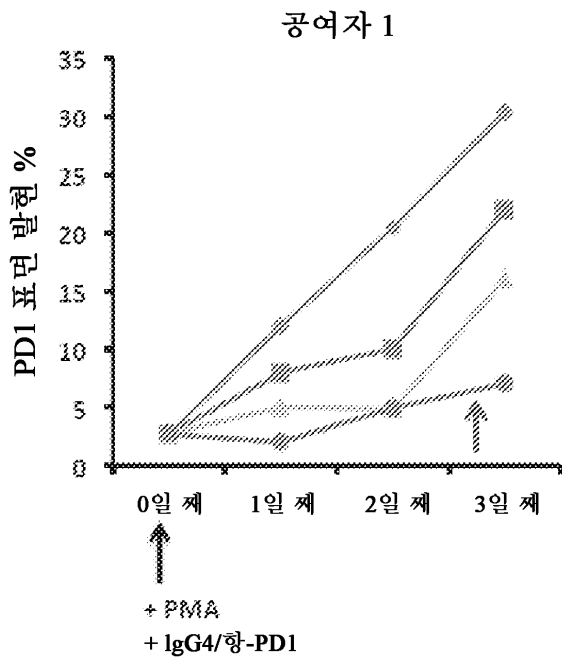
도면20a



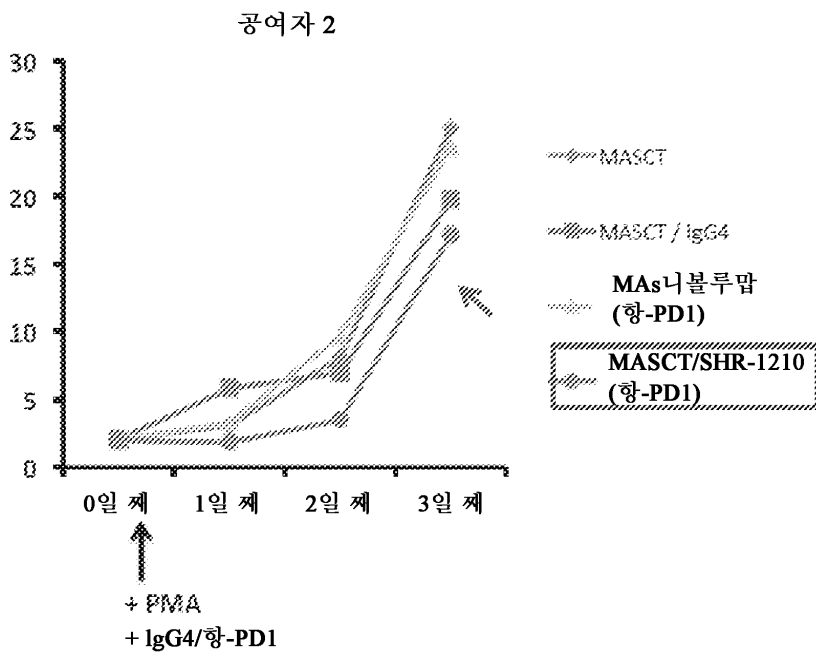
도면20b



도면21a



도면21b

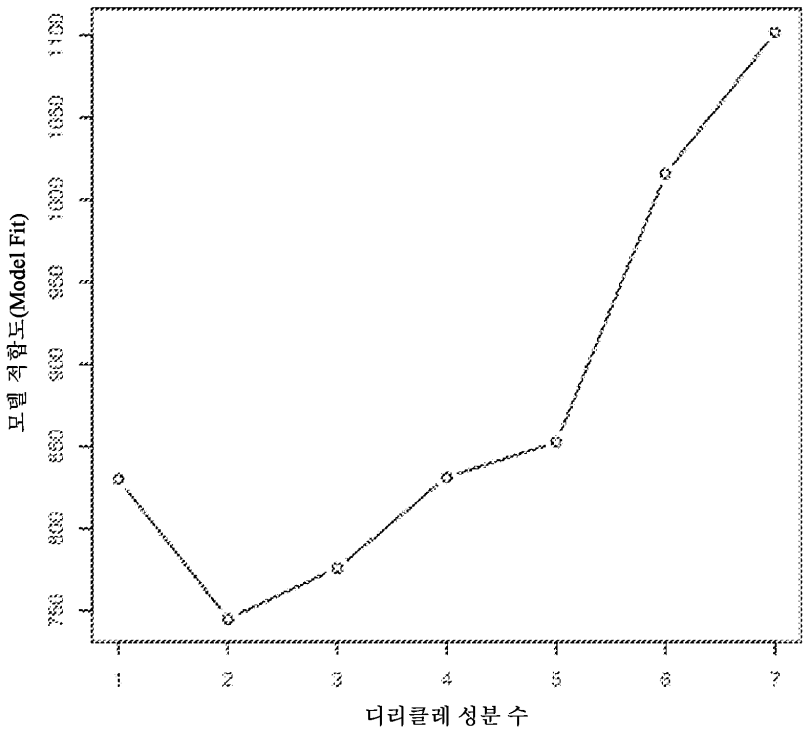


도면22

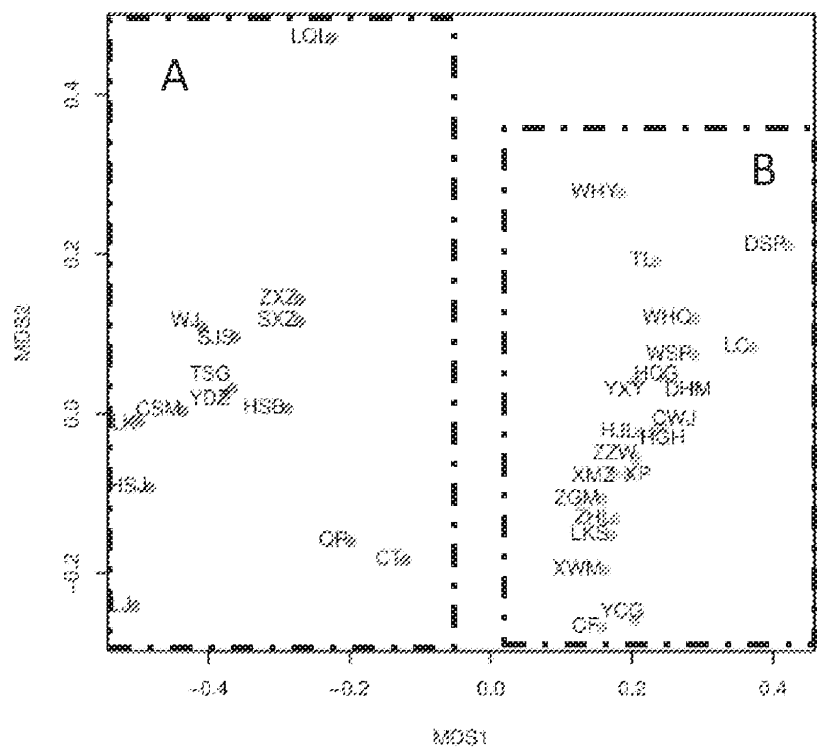
ID	암 유형	MMR					돌연변이 부하	신생항원 예측		HLA				DM	임상 데이터		
		ML H1	MS H2	MS H6	PMS 2	MMR 결과*		MHC I 친화력이 개선된 정 돌연변이	TCR 친화력이 개선된 정 돌연변이	HL A	HL A B	HL A C	B2 M		항-PD-1 (X/맞수)	MASCT (X/맞수)	반응
LQL	폐 선암종	5	4	14	7	1	3243	NA	NA	20	14	21	2	1	3X	4X	PD
SJS	식도암	0	0	0	0	0	86	17	3	4	1	3	0	1	-	3X	PD*
HJL	신우암	0	0	0	0	0	130	19	6	1	0	1	0	0	5X	5X	PR
LKS	과속 하임 폐 선암종	0	0	0	0	0	141	24	6	1	0	1	0	0	5X	-	PR
WHQ	중증도의 분화된 결장암	0	0	3	0	1	121	14	7	1	1	3	0	0	-	4X	SD

*MMR 결과: 0=MMR 능숙, 1=MMR 결핍

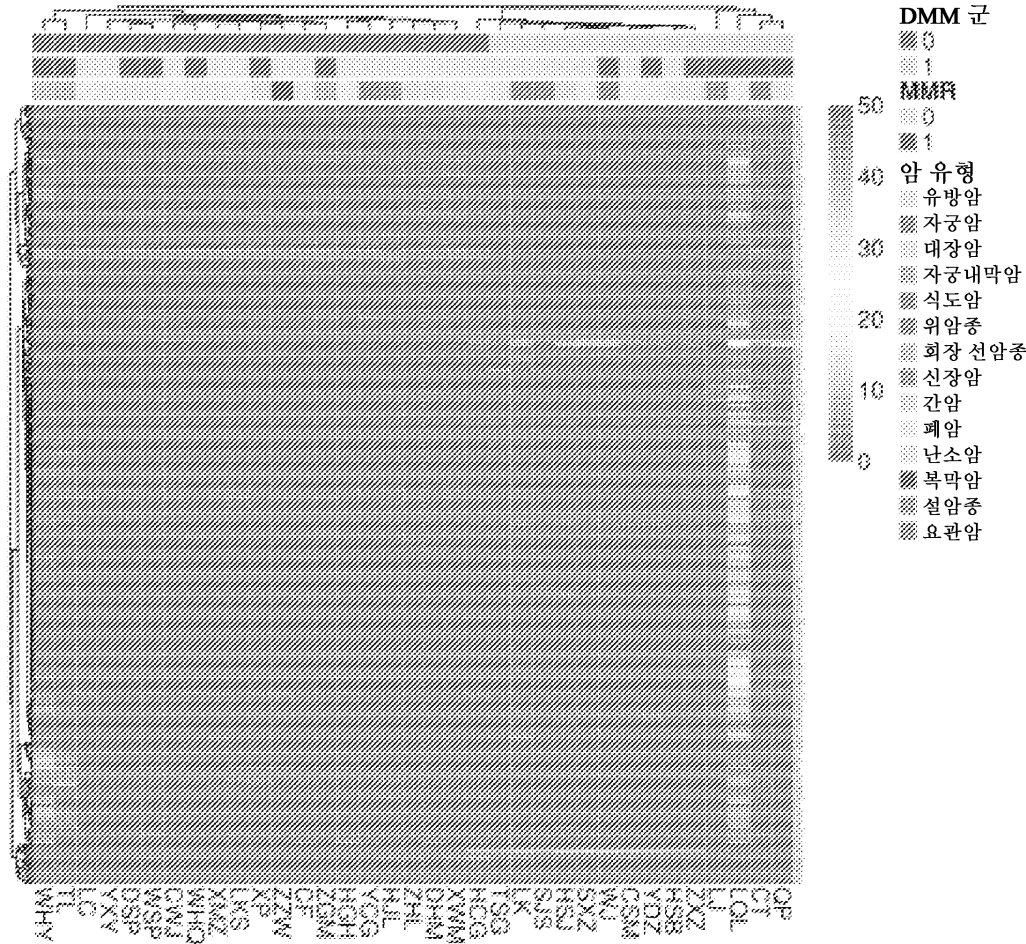
도면23a



도면23b



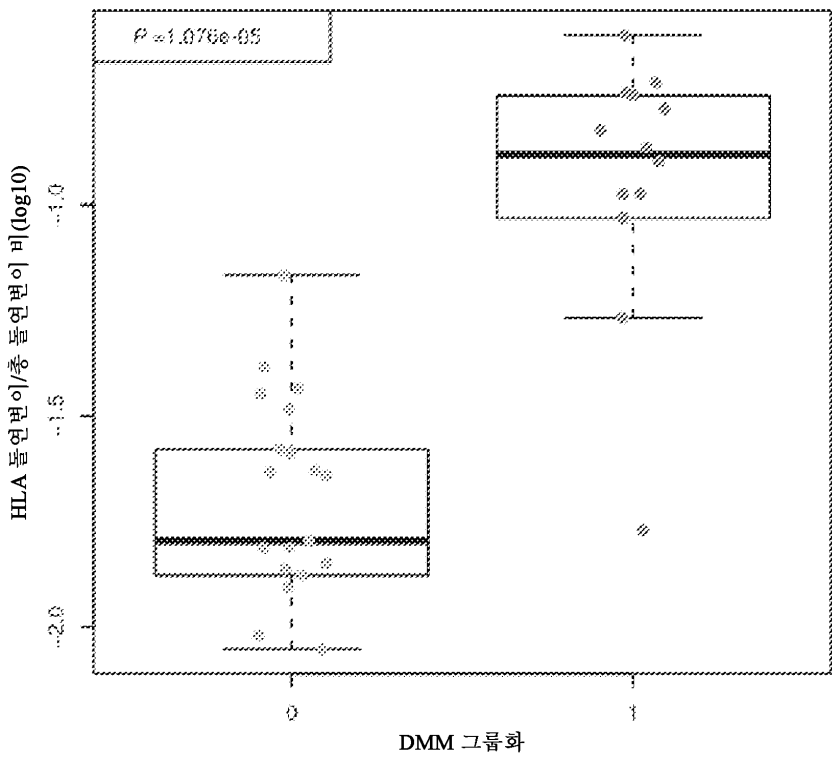
도면24a



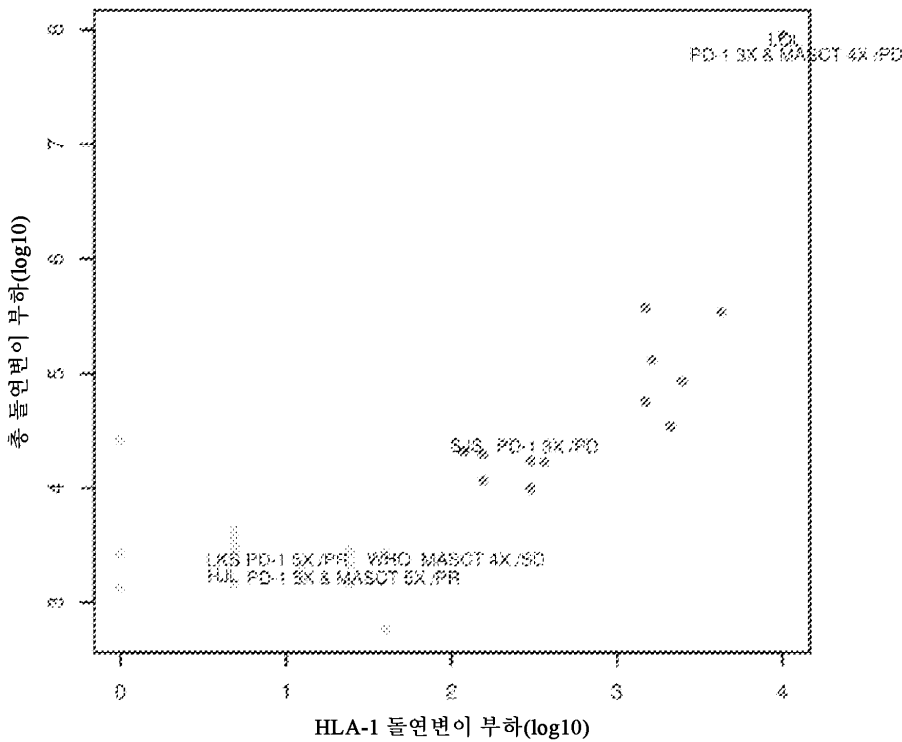
도면24b



도면25a



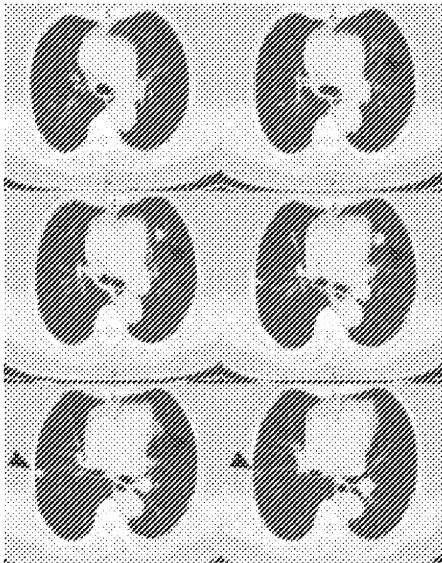
도면25b



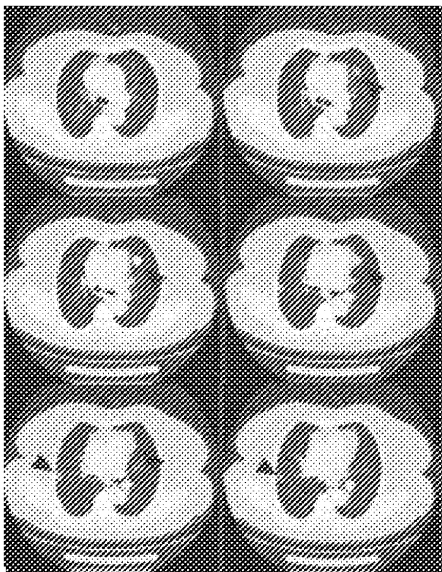
도면26a



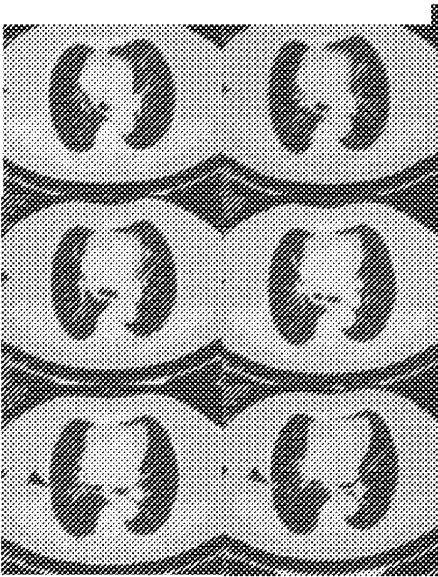
도면26b



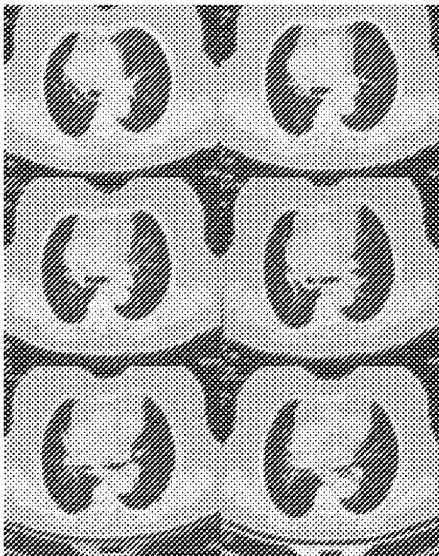
도면26c



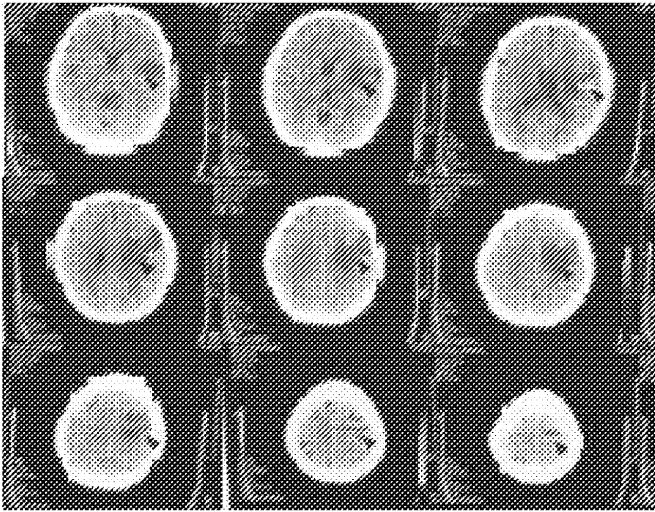
도면26d



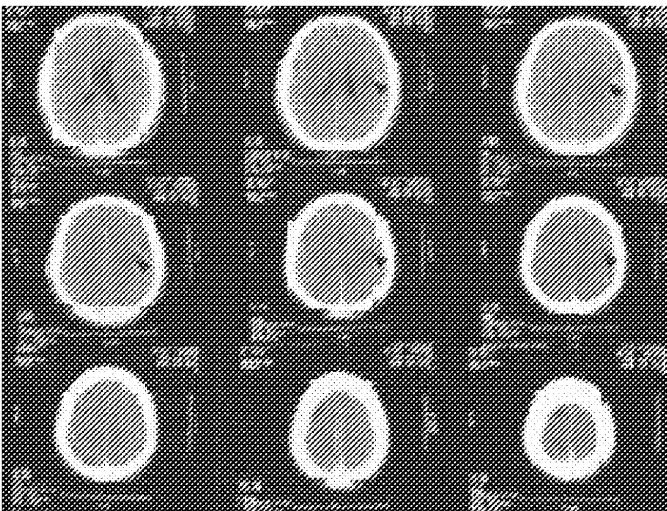
도면26e



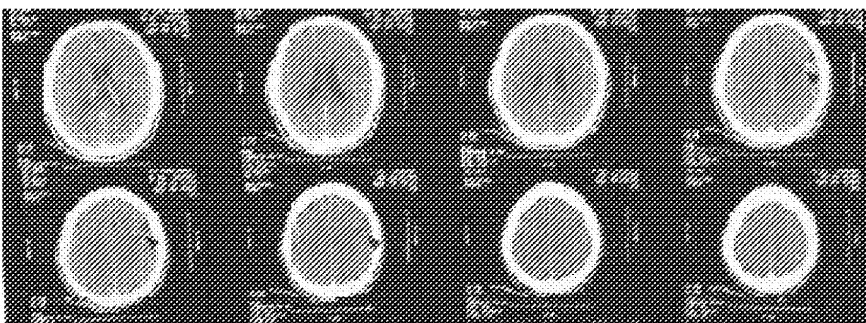
도면27a



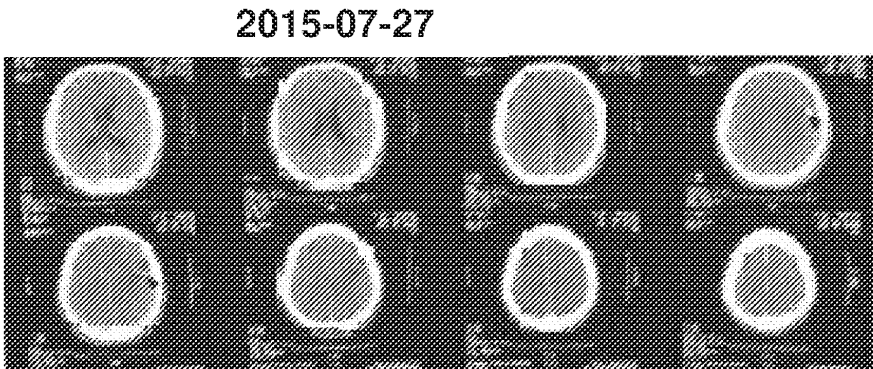
도면27b



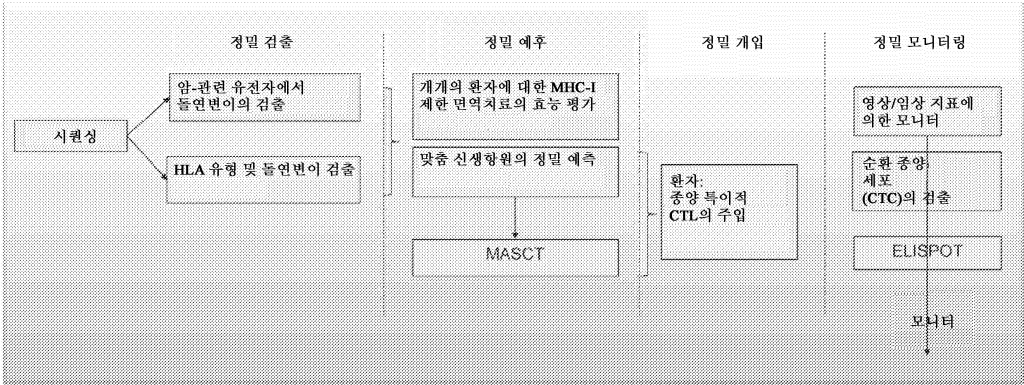
도면27c



도면27d



도면28



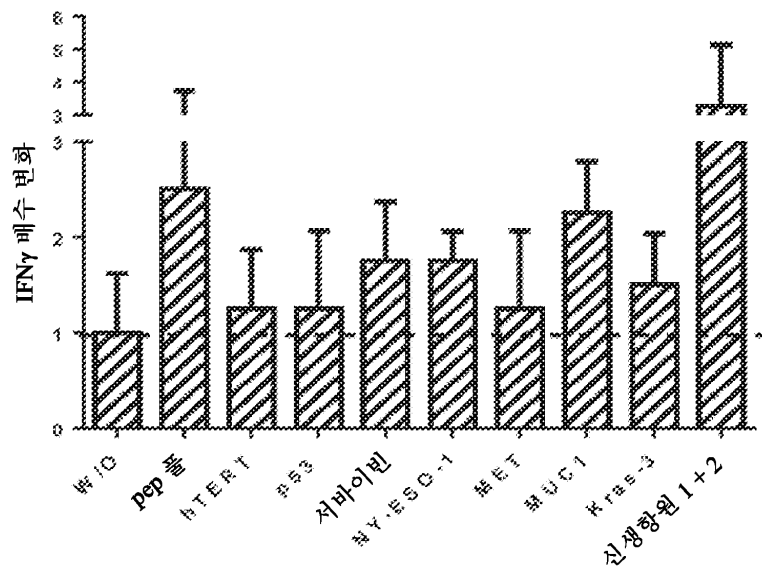
도면29a

신생항원 명	돌연변이 (환자 샘플)						야생형						예측
	에피토프	HLA-A*02:06	HLA-A*24:02	HLA-B*15:02	HLA-B*51:01	예측되는 HLA 친화력	에피토프	HLA-A*02:06	HLA-A*24:02	HLA-B*15:02	HLA-B*51:01	예측되는 HLA 친화력	
>MIHFR_A222V	KVSAGVDFI (서열 번호 36)	39	12533	24786	19241	39	KVSAGADFI (서열 번호 41)	68	13721	24250	19288	68	최상
>MLL3_C988F	GQCYHPYEV (서열 번호 37)	46	20210	23199	22786	46	GQCYHPYCV (서열 번호 42)	349	24235	24311	23167	349	최상
>MLL3_C988F	CYHPYEVSI (서열 번호 38)	2376	25	27516	12976	26	CYHPYCVSI (서열 번호 43)	10257	56	29503	13920	56	최상
>PARP4_T110H	LIQFTSFV (서열 번호 39)	9	21517	9810	16691	9	LIQFTSFV (서열 번호 44)	27	25616	12368	18860	27	최상
>KRAS_G12A	LVVVGAGGV (서열 번호 40)	16	35843	11477	13957	16	LVVVGAGGV (서열 번호 45)	57	38853	10338	14891	57	최상

도면29b

샘플링 시간	개개의 CTC	CTC 클러스터
진행 전	0/10 mL	0/10mL
낭선종절제술 3년 후	194/10 mL	0/10mL
3x 정밀 MASCT 후	6/10 mL	0/10 mL

도면29c



도면30a

45명의 HCC 환자의 임상 특징 [n(%)]

변수	HCC 환자
나이(t/a)	53.78 ± 10.9
남성	43(95.6)
HBsAg-양성	40(88.9)
항-HCV-양성	1(2.2)
차일드-피 클래스(A/B)	26/19(57.8/42.2)
BCLC 병기 (B/C)	13/19(28.9/42.2)
치료	
수술	14(31.1)
RFA	10(22.2)
TACE	33(73.3)
MASCT™ 치료 횟수	
1	16(35.5)
2	7(15.6)
≥3	22(48.9)

도면30b

MASCT™ 치료 후 일반 혈액 검사의 변화 (n=45)

지수	치료 전	치료 후	p
WBC ($\times 10^9/L$)	5.41 $\pm$ 2.11	6.78 $\pm$ 3.82	0.0411
Neu ($\times 10^9/L$)	62.34 $\pm$ 12.28	70.92 $\pm$ 13.32	0.0015
HB (g/L)	125.71 $\pm$ 21.70	114.20 $\pm$ 31.74	0.0508
PLT ($\times 10^9/L$)	143.76 $\pm$ 70.76	120.84 $\pm$ 75.02	0.1361

도면30c

MASCT™ 치료 후 ALT, AST, TBIL, CR 및 BUN

지수	치료 전 (n=45)	치료 후 (n=43)	p
ALT (IU/L)	52.79 $\pm$ 74.76	99.64 $\pm$ 168.50	0.1018
AST (IU/L)	70.40 $\pm$ 64.20	148.71 $\pm$ 202.63	0.0198
TBIL (μ mol/L)	23.64 $\pm$ 14.141	66.14 $\pm$ 112.01	0.0177
CR (μ mol/L)	86.23 $\pm$ 97.35	92.61 $\pm$ 87.87	0.7610
BUN (μ mol/L)	5.52 $\pm$ 3.64	6.14 $\pm$ 3.85	0.4822

도면30d

MASCT™ 치료 후 ALT, AST 동적 수 (n=8)

지수	기준선	1	2	3	4	5	p
ALT (IU/L)	39.91 $\pm$ 23.62	35.13 $\pm$ 18.89	35.46 $\pm$ 18.3	37.53 $\pm$ 20.25	40.09 $\pm$ 23.07	49.53 $\pm$ 35.39	0.4679
AST (IU/L)	37.34 $\pm$ 17.64	44.26 $\pm$ 26.23	43.71 $\pm$ 25.41	43.56 $\pm$ 21.32	47.23 $\pm$ 32.38	54.69 $\pm$ 39.91	0.1661

서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> SYZ CELL THERAPY CO.

<120> METHODS OF CANCER TREATMENT USING ACTIVATED T CELLS

<130> 744852000141

<140> Not Yet Assigned

<141> Concurrently Herewith

<160> NUMBER OF SEQ IDs: 45

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> SEQ ID NO: 1

<211> LENGTH: 9
 <212> TYPE: PRT
 <213> ORGANISM: Homo sapiens
 <400> SEQUENCE: 1
 Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu
 1 5

<210> SEQ ID NO: 2
 <211> LENGTH: 9
 <212> TYPE: PRT
 <213> ORGANISM: Homo sapiens
 <

<400> SEQUENCE: 2
 Val Tyr Gly Phe Val Arg Ala Cys Leu
 1 5

<210> SEQ ID NO: 3
 <211> LENGTH: 9
 <212> TYPE: PRT
 <213> ORGANISM: Homo sapiens
 <400> SEQUENCE: 3

Ile Leu Ala Lys Phe Leu His Trp Leu
 1 5

<210> SEQ ID NO: 4
 <211> LENGTH: 9
 <212> TYPE: PRT
 <213> ORGANISM: Homo sapiens
 <400> SEQUENCE: 4

Leu Thr Asp Leu Gln Pro Tyr Met Arg
 1 5

<210> SEQ ID NO: 5
 <211> LENGTH: 10
 <212> TYPE: PRT
 <213> ORGANISM: Homo sapiens
 <400> SEQUENCE: 5

Asp Leu Gln Val Asn Ser Leu Gln Thr Val

<210> SEQ ID NO: 6

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 6

Ser Thr Pro Pro Pro Gly Thr Arg Val

1 5

<210> SEQ ID NO: 7

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 7

Ala Ile Tyr Lys Gln Ser Gln His Met

1 5

<210> SEQ ID NO: 8

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 8

Glu Tyr Leu Asp Asp Arg Asn Thr Phe

1 5

<210> SEQ ID NO: 9

<211> LENGTH: 11

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 9

Leu Leu Gly Arg Asn Ser Phe Glu Val Arg Val

1 5 10

<210> SEQ ID NO: 10

<211> LENGTH: 11

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 10

Arg Ile Ser Thr Phe Lys Asn Trp Pro Phe Leu

1 5 10

<210> SEQ ID NO: 11

<211> LENGTH: 10

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 11

Asp Leu Ala Gln Cys Phe Phe Cys Phe Lys

1 5 10

<210> SEQ ID NO: 12

<211> LENGTH: 10

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 12

Glu Leu Thr Leu Gly Glu Phe Leu Lys Leu

1 5 10

<210> SEQ ID NO: 13

<211> LENGTH: 10

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 13

Tyr Leu Ala Met Pro Phe Ala Thr Pro Met

1 5 10

<210> SEQ ID NO: 14

<211> LENGTH: 9

<212

> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 14

Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Cys

1 5

<210> SEQ ID NO: 15

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 15

Tyr Leu Ser Gly Ala Asn Leu Asn Leu

1 5

<210> SEQ ID NO: 16

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 16

Thr Tyr Ala Cys Phe Val Ser Asn Leu

1 5

<210> SEQ ID NO: 17

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 17

Leu Leu Gly Ala Thr Cys Met Phe Val

1 5

<210> SEQ ID NO: 18

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 18

Tyr Val Asp Pro Val Ile Thr Ser Ile

1 5

<210> SEQ ID NO: 19

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 19

Leu Ala Ala Leu Pro His Ser Cys Leu

1 5

<210> SEQ ID NO: 20

<211> LENGTH: 10

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 20

Ser Gln Asp Asp Ile Lys Gly Ile Gln Lys

1 5 10

<210> SEQ ID NO: 21

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 21

Thr Leu Phe Trp Leu Leu Thr Leu

1 5

<210> SEQ ID NO: 22

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 22

Ser Tyr Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile

1 5

<210> SEQ ID NO: 23

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 23

Arg Phe Val Pro Asp Gly Asn Arg Ile

1 5

<210> SEQ ID NO: 24

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 24

Ser Tyr Met Ile Ser Tyr Ala Gly Met

1 5

<210> SEQ ID NO: 25

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 25

Pro Leu Phe Gln Val Pro Glu Pro Val

1 5

<210> SEQ ID NO: 26

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 26

Phe Met Asn Lys Phe Ile Tyr Glu Ile

1 5

<210> SEQ ID NO: 27

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 27

Gly Leu Ser Pro Asn Leu Asn Arg Phe

1 5

<210> SEQ ID NO: 28

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 28

Gly Val Ala Leu Gln Thr Met Lys Gln

1 5

<210> SEQ ID NO: 29

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 29

Phe Val Gly Glu Phe Phe Thr Asp

1 5
 <210> SEQ ID NO: 30
 <211> LENGTH: 9
 <212> TYPE: PRT
 <213> ORGANISM: Homo sapiens
 <400> SEQUENCE: 30
 Glu Tyr Ile Leu Ser Leu Glu Glu Leu

1 5
 <210> SEQ ID NO: 31
 <211> LENGTH: 9
 <212> TYPE: PRT
 <213> ORGANISM: Homo sapiens
 <400> SEQUENCE: 31
 Phe Leu Pro Ser Asp Phe Phe Pro Ser

1 5
 <210> SEQ ID NO: 32
 <211> LENGTH: 9
 <212> TYPE: PRT
 <213> ORGANISM: Homo sapiens
 <400> SEQUENCE: 32
 Tyr Val Asn Val Asn Met Gly Leu Lys

1 5
 <210> SEQ ID NO: 33
 <211> LENGTH: 9
 <212> TYPE: PRT
 <213> ORGANISM: Homo sapiens
 <400> SEQUENCE: 33
 Gly Leu Ser Arg Tyr Val Ala Arg Leu

1 5
 <210> SEQ ID NO: 34
 <211> LENGTH: 9
 <212> TYPE: PRT
 <213> ORGANISM: Homo sapiens
 <400> SEQUENCE: 34

Phe Leu Leu Ser Leu Gly Ile His Leu

1 5

<210> SEQ ID NO: 35

<211> LENGTH: 10

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 35

Arg Lys Tyr Thr Ser Phe Pro Trp Leu Leu

1 5 10

<210> SEQ ID NO: 36

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 36

Lys Val Ser Ala Gly Val Asp Phe Ile

1 5

<210> SEQ ID NO: 37

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 37

Gly Gln Cys Tyr His Pro Tyr Phe Val

1 5

<210> SEQ ID NO: 38

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 38

Cys Tyr His Pro Tyr Phe Val Ser Ile

1 5

<210> SEQ ID NO: 39

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 39

Leu Ile Ile Gln Phe Thr Ser Phe Val

1 5

<210> SEQ ID NO: 40

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 40

Leu Val Val Val Gly Ala Ala Gly Val

1 5

<210> SEQ ID NO: 41

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 41

Lys Val Ser Ala Gly Ala Asp Phe Ile

1 5

<210> SEQ ID NO: 42

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 42

Gly Gln Cys Tyr His Pro Tyr Cys Val

1 5

<210> SEQ ID NO: 43

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 43

Cys Tyr His Pro Tyr Cys Val Ser Ile

1 5

<210> SEQ ID NO: 44

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 44

Leu Ile Thr Gln Phe Thr Ser Phe Val

1 5

<210> SEQ ID NO: 45

<211> LENGTH: 9

<212> TYPE: PRT

<213> ORGANISM: Homo sapiens

<400> SEQUENCE: 45

Leu Val Val Val Gly Ala Gly Gly Val

1 5