(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0100912
(43) 공개일자 2022년07월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*A61K 39/00* (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
*A61P 35/02* (2006.01) *C07K 14/725* (2006.01)
(52) CPC특허분류
*A61K 39/001138* (2018.08)
*A61P 35/00* (2018.01)
(21) 출원번호 10-2022-7019519
(22) 출원일자(국제) 2020년11월13일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년06월09일
(86) 국제출원번호 PCT/IB2020/060718
(87) 국제공개번호 WO 2021/095009
국제공개일자 2021년05월20일
(30) 우선권주장
62/934,945 2019년11월13일 미국(US)
63/034,510 2020년06월04일 미국(US)

(71) 출원인
**크리스퍼 테라퓨틱스 아게**
스위스 6300 추크 바레어슈트라쎄 14
(72) 발명자
**데레트, 조나단 알렉산더**
미국 02139 매사추세츠주 케임브릿지 메인 스트리트 610 크리스퍼 테라퓨틱스 아게 내
**데칸트, 메리-리**
미국 02139 매사추세츠주 케임브릿지 메인 스트리트 610 크리스퍼 테라퓨틱스 아게 내
**윌, 마티아스**
미국 02139 매사추세츠주 케임브릿지 메인 스트리트 610 크리스퍼 테라퓨틱스 아게 내
(74) 대리인
**양영준, 이윤기**

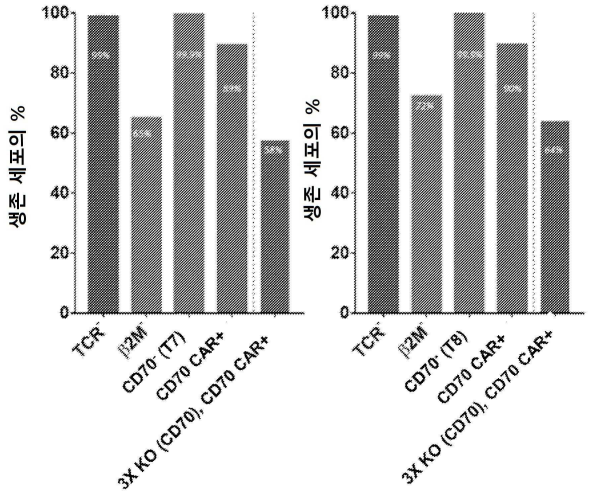
전체 청구항 수 : 총 52 항

(54) 발명의 명칭 **CD70을 표적화하는 유전자 조작된 T 세포를 사용하는 조혈 세포 악성종양에 대한 치료법**

## (57) 요 약

본 개시내용의 양태는 CD70에 결합하는 키메라 항원 수용체(CAR)을 발현하는 유전자 조작된 T 세포의 집단을 포함하는 조성물, 및 T 세포 및 B 세포 악성종양의 치료에 이를 사용하는 방법에 관한 것이다.

*대 표 도* - 도1



(52) CPC특허분류
***A61P 35/02*** (2018.01)
***C07K 14/7051*** (2013.01)
*A61K 2039/5156* (2013.01)
*A61K 2039/5158* (2013.01)
*A61K 2039/804* (2018.08)
*C07K 2319/03* (2013.01)

# *명 세 서*

## *청구범위*

### 청구항 1

(i) 조혈 세포 악성종양을 가지는 인간 환자에게 제1 림프구제거 치료를 수행하는 단계,

(ii) 단계 (i) 후에 제1 용량의 유전자 조작된 T 세포의 집단을 인간 환자에게 투여하며, 여기서 유전자 조작된 T 세포의 집단은 CD70에 결합하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 T 세포, 파괴된 *TRAC* 유전자, 파괴된 *2M* 유전자, 및 파괴된 *CD70* 유전자를 포함하고, CAR을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 파괴된 *TRAC* 유전자에 삽입되는 것인 단계

를 포함하는, 조혈 세포 악성종양을 치료하는 방법.

### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 단계 (i)의 제1 림프구제거 치료는 3일 동안 하루에 정맥내로 30 $mg/m^2$의 플루다라빈 및 500 $mg/m^2$의 사이클로포스파미드를 인간 환자에게 병합-투여하는 것을 포함하는, 방법.

### 청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 단계 (i) 전에, 상기 인간 환자는 다음 특성 중 하나 이상을 나타내지 않는, 방법:

(a) ECOG >1로 수행 상태의 변화,

(b) 임상 상태의 유의한 악화,

(c) 92% 초과의 포화 수준을 유지하기 위한 보충용 산소에 대한 요구,

(d) 비조절성 심장 부정맥,

(e) 혈관수축제 보조가 필요한 저혈압,

(f) 활동성 감염, 및

(g) 임의의 급성 신경학적 독성.

### 청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (i)은 단계 (ii)의 약 2 내지 7일 전에 수행되는, 방법.

### 청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (ii)는 유전자 조작된 T 세포의 집단을 약 $1\times10^7$개 $CAR^+$ 세포 내지 약 $1\times10^9$개 $CAR^+$ 세포, 선택적으로 약 $3\times10^7$개 내지 약 $9\times10^8$개 CAR+ 세포인 제1 용량으로 정맥내로 인간 환자에게 투여함으로써 수행되는, 방법.

### 청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (ii) 전 및 단계 (i) 후에, 상기 인간 환자는 다음 특성 중 하나 이상을 나타내지 않는, 방법:

(a) 동부 협력 종양 학회(Eastern Cooperative Oncology Group; ECOG) >1로 수행 상태의 변화;

(b) 활동성 비조절성 감염,

(c) 임상 상태의 유의한 악화, 및

(d) 임의의 급성 신경학적 독성.

**청구항 7**

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, (iii) 단계 (ii) 후에 급성 독성의 발생에 대해 인간 환자를 모니터링하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

**청구항 8**

제7항에 있어서, 급성 독성은 사이토카인 방출 증후군(CRS), 신경독성, 종양 용해 증후군(TLS), GvHD, 종양 표적 외(on target off-tumor) 독성, 및/또는 비조절성 T 세포 증식을 포함하는, 방법.

**청구항 9**

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, (iv) 인간 환자에게 제2 림프구제거 치료를 수행하는 단계, 및 단계 (ii) 후에 제2 용량의 유전자 조작된 T 세포의 집단을 인간 환자에게 투여하는 단계를 추가로 포함하고, 선택적으로 제2 용량은 제1 용량의 약 8주 내지 약 2년 후에 투여되며, 선택적으로 인간 환자는 단계 (ii) 후에 다음 중 하나 이상을 나타내지 않는, 방법:

(a) 용량-제한 독성(DLT),

(b) 72시간 이내에 2 등급으로 해결되지 않는 4 등급 CRS

(c) 1 등급 초과의 GvHD,

(d) 3 등급 이상의 신경독성;

(e) 활동성 감염,

(f) 혈역학적 불안정성, 및

(g) 장기 기능장애.

**청구항 10**

제9항에 있어서, 상기 단계 (iv)의 제2 림프구제거 치료는 1 내지 3일 동안 하루에 정맥내로 30 mg/$m^2$의 플루다라빈 및 500 mg/$m^2$의 사이클로포스파미드를 인간 환자에게 병합-투여하는 것을 포함하는, 방법.

**청구항 11**

제9항 또는 제10항에 있어서, 단계 (v)는 단계 (iv)의 2 내지 7일 후에 수행되는, 방법.

**청구항 12**

제9항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (v)는 유전자 조작된 T 세포의 집단을 약 $1\times10^7$개 $CAR^+$ 세포 내지 약 $1\times10^9$개 $CAR^+$ 세포, 선택적으로 약 $3\times10^7$개 내지 약 $9\times10^8$개 CAR+ 세포인 제2 용량으로 정맥내로 인간 환자에게 투여함으로써 수행되는, 방법.

**청구항 13**

제9항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 (vi) 인간 환자에게 제3 림프구제거 치료를 수행하는 단계, 및 (vii) 제3 용량의 유전자 조작된 T 세포의 집단을 인간 환자에게 투여하는 단계를 추가로 포함하며, 선택적으로 상기 인간 환자는 3개월 내에 제1, 제2, 및 제3 용량의 유전자 조작된 T 세포의 집단을 제공받고, 선택적으로 인간 환자는 단계(v) 후 다음 중 하나 이상을 나타내지 않는, 방법:

(a) 용량-제한 독성(DLT),

(b) 72시간 이내에 2 등급으로 해결되지 않는 4 등급 CRS,

(c) 1 등급 초과의 GvHD,

(d) 3 등급 이상의 신경독성,

(e) 활동성 감염,

(f) 혈역학적 불안정성, 및

(g) 장기 기능장애.

**청구항 14**

제13항에 있어서, 상기 (vi)의 제3 림프구제거 치료는 1 내지 3일 동안 하루에 정맥내로 30 mg/$m^2$의 플루다라빈 및 500 mg/$m^2$의 사이클로포스파미드를 인간 환자에게 병합-투여하는 것을 포함하는, 방법.

**청구항 15**

제14항에 있어서, 단계 (vii)은 단계 (vi)의 2 내지 7일 후에 수행되는, 방법.

**청구항 16**

제13항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (vii)은 유전자 조작된 T 세포의 집단을 약 $1\times10^7$개 $CAR^+$ 세포 내지 약 $1\times10^9$개 $CAR^+$ 세포, 선택적으로 약 $3\times10^7$개 내지 약 $9\times10^8$개 CAR+ 세포인 제3 용량으로 정맥내로 인간 환자에게 투여함으로써 수행되는, 방법.

**청구항 17**

제9항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 환자는 안정 질환 또는 질환 진행을 나타내는, 방법.

**청구항 18**

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 유전자 조작된 T 세포 집단의 제1 용량, 제2 용량, 및/또는 제3 용량은 $1\times10^7$개 CAR+ 세포, $3\times10^7$개 CAR+ 세포, $1\times10^8$개 CAR+ 세포, $3\times10^8$개 CAR+ 세포, 또는 $1\times10^9$ 개 CAR+ 세포이며, 선택적으로 유전자 조작된 T 세포 집단의 제1 용량, 제2 용량, 및/또는 제3 용량은 $1.5\times10^8$개 CAR+ 세포, $4.5\times10^8$개 CAR+ 세포, $6\times10^8$개 CAR+ 세포, $7.5\times10^8$개 CAR+ 세포, 또는 $9\times10^8$개 CAR+ 세포인, 방법.

**청구항 19**

제9항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 유전자 조작된 T 세포 집단의 제1 용량은 유전자 조작된 T 세포 집단의 제2 및/또는 제3 용량과 동일한, 방법.

**청구항 20**

제9항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 유전자 조작된 T 세포 집단의 제1 용량은 유전자 조작된 T 세포 집단의 제2 및/또는 제3 용량보다 더 낮은, 방법.

**청구항 21**

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 환자는 선행 항암 요법을 받은, 방법.

**청구항 22**

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 인간 환자는 재발성 또는 불응성 조혈 세포 악성종양을 가지는, 방법.

**청구항 23**

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 환자는 T 세포 악성종양을 가지고, 상기 T 세포 악성종양은 선택적으로 피부 T-세포 림프종(CTCL), 말초 T-세포 림프종(PTCL), 및 T 세포 백혈병으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 24**

제23항에 있어서, 상기 CTCL은 세자리 증후군(SS) 또는 균상 식육종(MF)이며, 여기서 선택적으로 인간 환자는 IIb기 이상의 MF, 선택적으로 형질전환된 큰세포 림프종을 가지는, 방법.

**청구항 25**

제23항에 있어서, 상기 PTCL은 혈관면역모세포성 T 세포 림프종(AITL), 역형성큰세포림프종(ALCL), 성인 T 세포 백혈병 또는 림프종(ATLL), 또는 달리 분류되지 않는 PTCL(PTCL-NOS)인, 방법.

**청구항 26**

제25항에 있어서, 상기 인간 환자는 PTCL, ATLL, 또는 AITL을 가지고, 1차 전신 요법에 실패한, 방법.

**청구항 27**

제25항 또는 제26항에 있어서, 상기 인간 환자는 ALCL을 가지고, 브루툭시맙 베도틴을 포함하는 병용 요법에 실패한, 방법.

**청구항 28**

제27항에 있어서, 상기 인간 환자는 $ALK^+$ ALCL을 가지고, 2회의 선행 치료법에 실패하였으며, 이 중 하나는 브렌툭시맙 베도틴을 포함하는, 방법.

**청구항 29**

제27항에 있어서, 상기 인간 환자는 $ALK^-$ ALCL을 가지고, 1회의 선행 치료법에 실패한, 방법.

**청구항 30**

제24항에 있어서, 상기 인간 환자는 MF 또는 SS를 가지고, 선행 전신 요법 또는 선행 모가물리주맙 요법에 실패한, 방법.

**청구항 31**

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 환자는 B 세포 악성종양을 가지고, 상기 B 세포 악성종양은 선택적으로 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBCL) 또는 외투 세포 림프종(MCL)인, 방법.

**청구항 32**

제31항에 있어서, 상기 인간 환자는 DLBCL을 가지고, 선행 항-CD19 CAR-T 세포 요법에 실패한, 방법.

**청구항 33**

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 환자는 골수 세포 악성종양을 가지고, 상기 골수 세포 악성종양은 선택적으로 급성 골수성 백혈병(AML)인, 방법.

**청구항 34**

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 환자는 유전자 변형된 T 세포 집단의 제1 용량의 적어도 3개월 전에 모가물리주맙 치료를 받지 않은, 방법.

**청구항 35**

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 환자는 CD70+ 종양 세포를 가지는, 방법.

**청구항 36**

제35항에 있어서, 상기 인간 환자는 인간 환자로부터 수득한 생물학적 샘플에서 적어도 10% $CD70^+$ 종양 세포를 가지는, 방법.

**청구항 37**

제36항에 있어서, 상기 생물학적 샘플은 종양 조직 샘플이고 CD70+ 종양 세포의 수준은 면역조직화학(IHC)에 의해 측정되는, 방법.

**청구항 38**

제37항에 있어서, 상기 생물학적 샘플은 혈액 샘플 또는 골수 샘플이고 CD70+ 종양 세포의 수준은 유세포 분석에 의해 측정되는, 방법.

**청구항 39**

제35항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 단계 (i) 전에, 선택적으로 T 세포 악성종양, B 세포 악성종양, 또는 골수 세포 악성종양인 조혈 세포 악성종양과 관련된 CD70+ 종양 세포를 가지는 인간 환자를 확인하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

**청구항 40**

제1항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 환자는 항-사이토카인 요법을 받는, 방법.

**청구항 41**

제1항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 환자는 다음 특성 중 하나 이상을 가지는, 방법:

(a) 적절한 장기 기능,

(b) 선행 줄기 세포 이식(SCT)이 없음,

(c) 선행 항-CD70 작용제 또는 입양 T 세포 또는 NK 세포 요법이 없음,

(d) 림프구제거 요법에 대한 공지된 금기사항이 없음,

(e) 증상이 있거나 있었던 현재 또는 과거의 악성종양 삼출이 있는 T 세포 또는 B 세포 림프종이 없음,

(f) 혈구탐식성 림프조직구증식증(HLH)이 없음,

(g) 중추신경계 악성종양 또는 장애가 없음,

(h) 불안정한 협심증, 부정맥, 및/또는 심근경색이 없음,

(i) 당뇨병이 없음,

(j) 비조절성 감염이 없음,

(k) 면역억제 요법이 필요한 면역결핍 장애 또는 자가면역 장애가 없음, 및

(l) 고형 장기 이식이 없음.

**청구항 42**

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 환자는 유전자 조작된 T 세포 집단의 각각의 투여 후 독성 발생에 대해 적어도 28일 동안 모니터링되는, 방법.

**청구항 43**

제42항에 있어서, 상기 인간 환자는 독성 발생이 관찰되는 경우 독성 관리를 받는, 방법.

**청구항 44**

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 환자는 성인인, 방법.

**청구항 45**

제1항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 CD70에 결합하는 CAR은 세포외 도메인, CD8 막관통 도메인, 4-1BB 공동-자극 도메인, 및 CD3ζ 세포질 신호전달 도메인을 포함하며, 여기서 세포외 도메인은 CD70에 결합하

는 단일-사슬 항체 단편(scFv)인, 방법.

**청구항 46**

제45항에 있어서, 상기 scFv는 서열번호 49를 포함하는 중쇄 가변 도메인($V_H$), 및 서열번호 50을 포함하는 경쇄 가변 도메인($V_L$)을 포함하는, 방법.

**청구항 47**

제46항에 있어서, 상기 scFv는 서열번호 48을 포함하는, 방법.

**청구항 48**

제45항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 CAR은 서열번호 46을 포함하는, 방법.

**청구항 49**

제1항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 파괴된 *TRAC* 유전자는 CRISPR/Cas9 유전자 편집 시스템에 의해 생성되며, 상기 파괴된 *TRAC* 유전자는 서열번호 8 또는 9의 스페이서 서열을 포함하는 가이드 RNA를 포함하는, 방법.

**청구항 50**

제49항에 있어서, 상기 파괴된 *TRAC* 유전자는 서열번호 8 또는 9의 스페이서 서열을 표적화한 영역, 또는 이의 일부의 결실을 가지는, 방법.

**청구항 51**

제1항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 파괴된 *β2M* 유전자는 CRISPR/Cas9 유전자 편집 시스템에 의해 생성되며, 상기 파괴된 *β2M* 유전자는 서열번호 12 또는 13의 스페이서 서열을 포함하는 가이드 RNA를 포함하는, 방법.

**청구항 52**

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 파괴된 CD70 유전자는 CRISPR/Cas9 유전자 편집 시스템에 의해 생성되며, 상기 파괴된 CD70 유전자는 서열번호 4 또는 5의 스페이서 서열을 포함하는 가이드 RNA를 포함하는, 방법.

## *발명의 설명*

### *기 술 분 야*

[0001] **관련 출원에 대한 상호-참조**

[0002] 본 출원은 2019년 11월 13일에 출원된 미국 가출원 62/934,945, 및 2020년 6월 4일에 출원된 미국 가출원 63/034,510에 대한 우선권의 이익을 주장한다. 상기 이전 출원 각각은 본 명세서에 전문이 참조로 포함된다.

### *배 경 기 술*

[0003] 키메라 항원 수용체(CAR) T-세포 요법은 유전자-변형 T 세포를 사용하여 암 세포를 보다 구체적이고 효율적으로 표적화하고 살해한다. T 세포가 혈액으로부터 수집된 후, 세포는 표면에 CAR을 포함하도록 조작된다. CAR은 CRISPR/Cas9 유전자 편집 기술을 사용하여 T 세포에 도입될 수 있다. 이들 동종이계 CAR T 세포가 환자에게 주사되면, 수용체는 T 세포가 암 세포를 살해할 수 있게 한다.

### *발명의 내용*

### *해결하려는 과제*

## *과제의 해결 수단*

[0004] 본 개시내용은, 적어도 부분적으로, 항-CD70 CAR+ T 세포, 예컨대 본 명세서에 개시된 CTX130 세포가 피하 T 세포 림프종 이종이식 모델에서 장기간 종양 제거를 제공하였다는 놀라운 발견에 기초한다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 항-CD70 CAR+ T 세포(예를 들어, CTX130 세포)는 투여 후 적어도 90일 동안 완전한 종양 제거를 제공하였다. 또한 추가적인 피하 T 세포 림프종 이종이식 모델에서도 종양 부담의 상당한 감소가 관찰되었다. 또한, CTX130 세포 분포, 확장, 및 지속성이 CAR-T 세포를 제공받은 인간 대상체에서 관찰되었다. 또한 우수한 치료 효능이 CTX130 세포 치료를 제공받은 인간 림프종 환자에서 관찰되었다.

[0005] 따라서, 본 개시내용은, 일부 양태에서, 조혈 세포 악성종양(예를 들어, T 세포 또는 B 세포 악성종양, 또는 골수 세포 악성종양)을 치료하는 방법을 제공하며, 방법은 (i) 조혈 세포 악성종양을 가지는 인간 환자(예를 들어, 인간 성인 환자)에게 제1 림프구제거 치료를 수행하는 단계; 및 (ii) 단계 (i) 후에 제1 용량의 유전자 조작된 T 세포의 집단을 인간 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 유전자 조작된 T 세포의 집단은 CD70에 결합하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 T 세포, 파괴된 *TRAC* 유전자, 파괴된 *β2M* 유전자, 및 파괴된 *CD70* 유전자를 포함하며, CAR을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열이 파괴된 *TRAC* 유전자에 삽입된다. 일부 예에서, 유전자 조작된 T 세포의 집단은 본 명세서에 개시된 바와 같은 CTX130 세포이다. 일부 구현예에서, 단계 (i)은 단계 (ii)의 약 2 내지 7일 전에 수행될 수 있다.

[0006] 일부 구현예에서, 단계 (i)의 제1 림프구제거 치료는 3일 동안 하루에 정맥내로 30 mg/m$^2$의 플루다라빈 및 500 mg/m$^2$의 사이클로포스파미드를 인간 환자에게 병합-투여하는 것을 포함한다. 대안적으로 또는 추가적으로, 단계 (ii)는 유전자 조작된 T 세포의 집단을 약 1×10$^7$개 CAR$^+$ 세포 내지 약 1×10$^9$개 CAR$^+$ 세포인 제1 용량으로 정맥내로 인간 환자에게 투여함으로써 수행된다. 일부 예에서, 제1 용량은 약 3×10$^7$개 내지 약 9×10$^8$개 CAR+ 세포의 범위일 수 있다.

[0007] 일부 구현예에서, 단계 (i) 전에, 인간 환자는 다음 특성 중 하나 이상을 나타내지 않는다: (a) ECOG >1로 수행 상태의 변화, (b) 임상 상태의 유의한 악화, (c) 92% 초과의 포화 수준을 유지하기 위한 보충용 산소에 대한 요구, (d) 비조절성 심장 부정맥, (e) 혈관수축제 보조가 필요한 저혈압, (f) 활동성 감염, 및 (g) 임의의 급성 신경학적 독성(예를 들어, 2 등급 이상의 급성 신경학적 독성).

[0008] 일부 구현예에서, 단계 (ii) 전 및 단계 (i) 후에, 인간 환자는 다음 특성 중 하나 이상을 나타내지 않는다: (a) 동부 협력 종양 학회(Eastern Cooperative Oncology Group; ECOG) >1로 수행 상태의 변화; (b) 활동성 비조절성 감염, (c) 임상 상태의 유의한 악화, 및 (d) 임의의 급성 신경학적 독성(예를 들어, 2 등급 이상의 급성 신경학적 독성).

[0009] 본 명세서에 개시된 임의의 방법은 단계 (ii) 후에 급성 독성의 발생에 대해 인간 환자를 모니터링하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 예시적인 급성 독성은 사이토카인 방출 증후군(CRS), 신경독성, 종양 용해 증후군(TLS), GvHD, 종양 표적 외(on target off-tumor) 독성, 비조절성 T 세포 증식, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.

[0010] 일부 예에서, 본 명세서에 개시된 방법은 인간 환자에게 제2 림프구제거 치료를 수행하는 단계, 및 단계 (ii) 후에 제2 용량의 유전자 조작된 T 세포의 집단을 인간 환자에게 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 일부 예에서, 제2 용량은 제1 용량의 약 8주 내지 약 2년 후에 인간 환자에게 투여된다. 일부 예에서, 제2 용량의 유전자 조작된 T 세포에 적격인 인간 환자는 단계 (ii) 후에 다음 중 하나 이상을 나타내지 않는다: (a) 용량-제한 독성(DLT), (b) 1 등급 초과의 GvHD, (c) 72시간 이내에 2 등급으로 해결되지 않는 4 등급 CRS, (d) 3 등급 이상의 신경독성; (e) 활동성 감염, (f) 혈역학적 불안정성, 및 (g) 장기 기능장애. 일부 예에서, 단계 (iv)에서 제2 림프구제거 치료는 1 내지 3일 동안 하루에 정맥내로 30 mg/m$^2$의 플루다라빈 및 500 mg/m$^2$의 사이클로포스파미드를 인간 환자에게 병합-투여하는 것을 포함한다. 일부 예에서, 제2 용량의 유전자 조작된 T 세포는 제2 림프구제거 치료의 2 내지 7일 후에 인간 환자에게 투여될 수 있다. 일부 예에서, 제2 용량의 유전자 조작된 T 세포의 집단은 약 1×10$^7$개 CAR$^+$ 세포 내지 약 CAR$^+$ 1×10$^9$개 세포로 정맥내로 인간 환자에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 제2 용량은 약 3×10$^7$개 내지 약 9×10$^8$개 CAR+ 세포의 범위일 수 있다.

[0011] 일부 예에서, 방법은 인간 환자에게 제3 림프구제거 치료를 수행하는 단계, 및 제3 용량의 유전자 조작된 T 세

포의 집단을 인간 환자에게 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 일부 예에서, 제3 용량은 제2 용량의 약 8주 내지 약 2년 후에 인간 환자에게 투여된다. 인간 환자는 3개월 내에 제1, 제2, 및 제3 용량의 유전자 조작된 T 세포의 집단을 제공받을 수 있고, 제2 용량의 유전자 조작된 T 세포 후 다음 중 하나 이상을 나타내지 않을 수 있다: (a) 용량-제한 독성(DLT), (b) 72시간 이내에 2 등급으로 해결되지 않는 4 등급 CRS, (c) 1 등급 초과의 GvHD, (d) 3 등급 이상의 신경독성, (e) 활동성 감염, (f) 혈역학적 불안정성, 및 (g) 장기 기능장애. 일부 예에서, 제 림프구제거 치료는 1 내지 3일 동안 하루에 정맥내로 30 $mg/m^2$의 플루다라빈 및 500 $mg/m^2$의 사이클로포스파미드를 인간 환자에게 병합-투여하는 것을 포함한다. 일부 예에서, 제3 용량의 유전자 조작된 T 세포는 제3 림프구제거 치료의 2 내지 7일 후에 인간 환자에게 투여될 수 있다. 일부 예에서, 제3 용량의 유전자 조작된 T 세포의 집단은 약 $1\times10^7$개 $CAR^+$ 세포 내지 약 $CAR^+$ $1\times10^9$개 세포로 정맥내로 인간 환자에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 제3 용량은 약 $3\times10^7$개 내지 약 $9\times10^8$개 CAR+ 세포의 범위일 수 있다.

[0012] 제2 및/또는 제3 용량의 유전자 조작된 T 세포를 제공받는 임의의 인간 환자는 안정 질환 또는 질환 진행을 나타낼 수 있다.

[0013] 일부 예에서, 유전자 조작된 T 세포 집단의 제1 용량, 제2 용량, 및/또는 제3 용량은 약 $1\times10^7$개 CAR+ 세포이다. 일부 예에서, 유전자 조작된 T 세포 집단의 제1 용량, 제2 용량, 및/또는 제3 용량은 약 $3\times10^7$개 CAR+ 세포이다. 일부 예에서, 유전자 조작된 T 세포 집단의 제1 용량, 제2 용량, 및/또는 제3 용량은 약 $1\times10^8$개 CAR+ 세포이다. 일부 예에서, 유전자 조작된 T 세포 집단의 제1 용량, 제2 용량, 및/또는 제3 용량은 약 $1.5\times10^8$개 CAR+ 세포이다. 일부 예에서, 유전자 조작된 T 세포 집단의 제1 용량, 제2 용량, 및/또는 제3 용량은 약 $3\times10^8$개 CAR+ 세포이다. 일부 예에서, 유전자 조작된 T 세포 집단의 제1 용량, 제2 용량, 및/또는 제3 용량은 약 $4.5\times10^8$개 CAR+ 세포이다. 일부 예에서, 유전자 조작된 T 세포 집단의 제1 용량, 제2 용량, 및/또는 제3 용량은 약 $6\times10^8$개 CAR+ 세포이다. 일부 예에서, 유전자 조작된 T 세포 집단의 제1 용량, 제2 용량, 및/또는 제3 용량은 약 $7.5\times10^8$개 CAR+ 세포이다. 일부 예에서, 유전자 조작된 T 세포 집단의 제1 용량, 제2 용량, 및/또는 제3 용량은 약 $9\times10^8$개 CAR+ 세포이다. 일부 예에서, 유전자 조작된 T 세포 집단의 제1 용량, 제2 용량, 및/또는 제3 용량은 약 $1\times10^9$개 CAR+ 세포이다.

[0014] 일부 예에서, 유전자 조작된 T 세포 집단의 제1 용량은 유전자 조작된 T 세포 집단의 제2 및/또는 제3 용량과 동일하다. 다른 예에서, 유전자 조작된 T 세포 집단의 제1 용량은 유전자 조작된 T 세포 집단의 제2 및/또는 제3 용량보다 더 낮다.

[0015] 본 명세서에 개시된 임의의 방법에서, 인간 환자는 선행 항암 요법을 받았을 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 인간 환자는 재발성 또는 불응성 조혈 세포 악성종양을 가질 수 있다.

[0016] 일부 구현예에서, 인간 환자는 T 세포 악성종양, 예를 들어 재발성 또는 불응성 T 세포 악성종양을 가진다. 일부 예에서, 인간 환자는 피부 T-세포 림프종(CTCL)을 가진다. 이러한 인간 환자는 형질전환된 큰세포 림프종을 포함하는 균상 식육종(MF), 예를 들어 IIb기 이상을 가질 수 있다. 대안적으로, 인간 환자는 세자리 증후군(SS)을 가질 수 있다. 다른 예에서, 인간 환자는 말초 T-세포 림프종(PTCL)을 가진다. 예는 혈관면역모세포성 T 세포 림프종(AITL), 역형성큰세포림프종 (ALCL)(이는 Alk 양성 또는 Alk 음성일 수 있음), 성인 T 세포 백혈병 또는 림프종(ATLL)(이는 무증상 하위유형을 배제할 수 있음)(비-무증상 ATLL); 및 달리 분류되지 않는 말초 T-세포 림프종(PTCL-NOS)을 포함하지만, 이로 제한되지 않는다.

[0017] 일부 예에서, 인간 환자는 PTCL, ATLL, 또는 AITL을 가지고, 1차 전신 요법에 실패하였다. 일부 예에서, 인간 환자는 ALCL을 가지고 브루툭시맙 베도틴을 포함하는 조합 요법에 실패하였다. 일부 예에서, 인간 환자는 $ALK^+$ ALCL을 가지고 2가지 선행 요법에 실패하였으며, 그 중 하나는 브렌툭시맙 베도틴을 포함한다. 다른 예에서, 인간 환는 $ALK^-$ ALCL요법을 가지고 1가지 선행 요법에 실패하였다. 또 다른 예에서, 인간 환자는 MF 또는 SS를 가지고, 선행 전신 요법 또는 선행 모가물리주맙 요법에 실패하였다.

[0018] 일부 구현예에서, 인간 환자는 B 세포 악성종양, 예를 들어 재발성 또는 불응성 B 세포 악성종양을 가질 수 있다. 일부 예에서, 인간 환자는 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBCL)을 가진다. 이러한 인간 환자는 선행 항-CD19

CAR-T 세포 요법에 실패했을 수 있다. 다른 예에서, 인간 환자는 외투 세포 림프종(MCL)을 가진다.

[0019] 또 다른 구현예에서, 인간 환자는 골수 세포 악성종양, 예를 들어 재발성 또는 불응성 골수 세포 악성종양을 가질 수 있다. 일부 예에서, 인간 환자는 급성 골수성 백혈병(AML)을 가진다.

[0020] 본 명세서에 개시된 방법에 의해 치료될 임의의 인간 환자는 유전자 변형된 T 세포 집단의 제1 용량의 적어도 3개월 전에 모가물리주맙 치료를 받지 않았을 수 있다.

[0021] 본 명세서에 개시된 임의의 방법에서, 인간 환자는 CD70+ 종양 세포를 가질 수 있다. 예를 들어, 인간 환자는 인간 환자로부터 수득한 생물학적 샘플에서 적어도 10% CD70+ 종양 세포를 가질 수 있다. 일부 경우에, 생물학적 샘플은 종양 조직 샘플이고 CD70+ 종양 세포의 수준은 면역조직화학(IHC)에 의해 측정된다. 다른 예에서, 생물학적 샘플은 혈액 샘플 또는 골수 샘플이고 CD70+ 종양 세포의 수준은 유세포 분석에 의해 결정된다. 본 명세서에 개시된 임의의 방법은 단계 (i) 전에, T 세포 또는 B 세포 악성종양과 관련된 CD70+ 종양 세포를 가지는 인간 환자를 확인하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0022] 대안적으로 또는 추가적으로, 본 명세서에 개시된 방법에 의해 치료될 인간 환자는 항-사이토카인 요법을 받을 수 있다. 일부 예에서, 인간 환자는 다음 특성 중 하나 이상을 가진다: (a) 적절한 장기 기능, (b) 선행 줄기세포 이식(SCT)이 없음, (c) 선행 항-CD70 작용제 또는 입양 T 세포 또는 NK 세포 요법이 없음, (d) 림프구제거 요법에 대한 공지된 금기사항이 없음, (e) 증상이 있거나 있었던 현재 또는 과거의 악성종양 삼출이 있는 T 세포 또는 B 세포 림프종이 없음, (f) 혈구탐식성 림프조직구증식증(HLH)이 없음, (g) 중추신경계 악성종양 또는 장애가 없음, (h) 불안정한 협심증, 부정맥, 및/또는 심근경색이 없음, (i) 당뇨병이 없음, (j) 비조절성 감염이 없음, (k) 면역억제 요법이 필요한 면역결핍 장애 또는 자가면역 장애가 없음, 및 (l) 고형 장기 이식이 없음.

[0023] 본 명세서에 개시된 임의의 방법에서, 인간 환자는 유전자 조작된 T 세포 집단의 각각의 투여 후 독성 발생에 대해 적어도 28일 동안 모니터링될 수 있다. 독성 발생이 관찰되는 경우, 인간 환자는 독성 관리를 받을 수 있다.

[0024] 유전자 조작된 T 세포는 CD70에 결합하는 CAR을 발현할 수 있다. CAR은 세포외 도메인, CD8 막관통 도메인, 4-1BB 공동-자극 도메인, 및 CD3ζ 세포질 신호전달 도메인을 포함할 수 있다. 일부 예에서, 세포외 도메인은 CD70에 결합하는 단일-사슬 항체 단편(scFv)이다. 일부 예에서, scFv는 서열번호 49를 포함하는 중쇄 가변 도메인($V_H$), 및 서열번호 50을 포함하는 경쇄 가변 도메인($V_L$)을 포함한다. 일부 예에서, scFv는 서열번호 48을 포함한다. 일부 특정 예에서, CAR은 서열번호 46을 포함한다.

[0025] 일부 구현예에서, 유전자 조작된 T 세포는 파괴된 *TRAC* 유전자를 가지며, 상기 파괴된 *TRAC* 유전자는 CRISPR/Cas9 유전자 편집 시스템에 의해 생성될 수 있다. 일부 예에서, CRISPR/Cas9 유전자 편집 시스템은 서열번호 8 또는 9의 스페이서 서열을 포함하는 가이드 RNA를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 파괴된 *TRAC* 유전자는 서열번호 8의 스페이서 서열을 표적화한 영역, 또는 이의 일부의 결실을 가진다.

[0026] 일부 구현예에서, 유전자 조작된 T 세포는 파괴된 β2M 유전자를 가지며, 상기 파괴된 β2M 유전자는 CRISPR/Cas9 유전자 편집 시스템에 의해 생성될 수 있다. 일부 예에서, CRISPR/Cas9 유전자 편집 시스템은 서열번호 12 또는 13의 스페이서 서열을 포함하는 가이드 RNA를 포함할 수 있다.

[0027] 일부 구현예에서, 유전자 조작된 T 세포는 파괴된 CD70 유전자를 가지며, 상기 파괴된 CD70 유전자는 CRISPR/Cas9 유전자 편집 시스템에 의해 생성될 수 있다. 일부 예에서, CRISPR/Cas9 유전자 편집 시스템은 서열번호 24 또는 5의 스페이서 서열을 포함하는 가이드 RNA를 포함할 수 있다.

[0028] 본 발명의 하나 이상의 구현예의 상세 내용은 하기 설명에 제시되어 있다. 본 발명의 다른 특성 또는 이점은 하기 도면 및 여러 구현예의 상세한 설명으로부터, 그리고 또한 첨부된 청구범위로부터 명백할 것이다.

## 도면의 간단한 설명

[0029] **도 1**은 $TRAC^-/β2M^-/CD70^-$/항-CD70 $CAR^+$(즉, 3× KO(CD70), CD70 $CAR^+$) T 세포에서 효율적인 다중 유전자 편집을 나타내는 그래프를 포함한다.

**도 2**는 CD4+ 및 CD8+ T 세포의 정상적인 비율이 $TRAC^-/β2M^-/CD70^-$/항-CD70 $CAR^+$ T 세포 집단 사이에서 유지됨을 나타내는 그래프를 포함한다.

**도 3**은 TRAC$^-$/β2M$^-$/CD70$^-$/항-CD70 CAR$^+$ T 세포에서 강력한 세포 확장을 나타내는 그래프를 포함한다. 생존 세포의 총 수를 3× KO(TRAC-/β2M-/CD70-) 및 2× KO(TRAC-/β2M-) 항-CD70 CAR T 세포에서 정량화하였다. CD70 sgRNA T7 또는 T8을 이용하여 3× KO 세포를 생성하였다.

**도 4a 내지 4k**는 다양한 암 세포주에서 상대적인 CD70 발현을 나타내는 그래프를 포함한다. **도 4a:** 9가지의 상이한 암 세포주에서 상대적인 CD70 발현을 나타내는 그래프. **도 4b:** 다양한 이펙터:표적 비율에서 CD70-결핍 만성 골수성 백혈병(K562) 세포에 대한 삼중 녹아웃 TRAC$^-$/β2M$^-$/CD70$^-$/항-CD70 CAR$^+$ T 세포(3KO (CD70), CD70 CAR+)를 사용하여 세포 살해 활성을 나타내는 그래프. **도 4c:** 다양한 이펙터:표적 비율에서 CD70-발현 다발성 골수종(MM.1S) 세포에 대한 동일한 삼중 녹아웃 TRAC$^-$/β2M$^-$/CD70$^-$/항-CD70 CAR$^+$ T 세포(3KO (CD70), CD70 CAR+)의 세포 살해 활성을 나타내는 그래프. **도 4d:** 다양한 이펙터:표적 비율에서 CD70-발현 T 세포 림프종(HuT78) 세포에 대한 동일한 삼중 녹아웃 TRAC$^-$/β2M$^-$/CD70$^-$/항-CD70 CAR$^+$ T 세포(3KO (CD70), CD70 CAR+)의 세포 살해 활성을 나타내는 그래프. **도 4e:** 다양한 이펙터:표적 비율에서 높은 CD70-발현 T 세포 림프종 세포(MJ), 낮은 CD70-발현 T 세포 림프종 세포(HuT78), 및 비-CD70 발현 음성 대조군 세포(K562)에 대한 동일한 삼중 녹아웃 TRAC$^-$/β2M$^-$/CD70$^-$/항-CD70 CAR$^+$ T 세포(3KO (CD70), CD70 CAR+)의 세포 살해 활성을 나타내는 그래프. **도 4f 내지 4k:** MV411(도 4f), EOL-1(도 4g), HL60(도 4h), Kasumi-1(도 4h), KG1(도 4j), 및 THP-1 세포(도 4k)를 포함하여, 다양한 유형의 급성 골수성 백혈병 세포주에서 TRAC$^-$/β2M$^-$/CD70$^-$/항-CD70 CAR$^+$ T 세포(예를 들어, CTX130)의 세포 살해 활성을 나타내는 그래프.

**도 5a 내지 5b**는 항-CD70 CAR+ T 세포, 예를 들어 CTX130 세포의 항종양 활성을 나타내는 그래프를 포함한다. **도 5a:** TRAC-/B2M-/CD70-항-CD70 CAR+ T 세포, 예를 들어 CTX130 세포에 노출된 인간 T-세포 림프종 이종이식 모델(예를 들어, HuT78 종양 세포)에서 종양 부피 감소를 나타내는 그래프. **도 5b:** TRAC-/B2M-/CD70-항-CD70 CAR+ T 세포, 예를 들어 CTX130 세포에 노출된 인간 T-세포 림프종 이종이식 모델(예를 들어, Hh 종양 세포)에서 종양 부피 감소를 나타내는 그래프.

**도 6**은 재발성 또는 불응성 T 세포 또는 B 세포 악성종양이 있는 성인 대상체에 대한 CTX130 세포 투여를 평가하기 위한 예시적인 임상 연구 설계를 도시하는 개략도이다. DLT: 용량-제한 독성; M: 개월; max: 최대; min: 최소. DLT 평가 기간은 CTX130 주입 후 처음 28일이다.

본 발명의 하나 이상의 구현예의 상세내용은 하기 설명에서 제시된다. 본 발명의 다른 특성 또는 이점은 하기 도면 및 여러 구현예의 상세한 설명, 및 또한 첨부된 청구범위로부터 명백해질 것이다.

## *발명을 실시하기 위한 구체적인 내용*

[0030] CD70은 활성화된 림프구 및 수지상 및 흉선 상피 세포의 하위세트로 제한되고 인간과 마우스 둘 모두에서 건강한 조직 발현 분포를 가지는 종양 괴사 인자 수용체(TNFR) 슈퍼패밀리 구성원 CD27에 대한 리간드 및 II형 막단백질이다.

[0031] 엄격하게 제어되는 정상적인 조직 발현과 대조적으로, CD70은 일반적으로 달리 분류되지 않는 말초 T 세포 림프종(PTCL-NOS), 역형성큰세포림프종(ALCL), 세자리 증후군(SS), 예를 들어 균상 식육종(MF), 비-무증상 급성 성인 T 세포 백혈병/림프종(ATLL), 혈관면역모세포성 T 세포 림프종(AITL; 또한 PTCL-AITL로 알려짐), 및 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBCL)을 포함하여 많은 T 세포 및 B 세포 악성종양에서 높은 수준으로 발현된다. CD70은 또한 다른 조혈 악성종양, 예컨대 골수 악성종양에서 발현된다.

[0032] T 세포 및 B 세포 악성종양과 같은 조혈 세포 악성종양은 화학 요법 및/또는 체크포인트 억제제(CPI)와 같은 종래 치료법을 사용하여 치료될 수 있지만, 환자는 잘 반응하지 않거나 전혀 반응하지 않거나 치료 후 재발할 수 있다. 이러한 환자는 수명 연장 이익이 확립된 치료 옵션이 없으며 새로운 치료 대안이 필요하다.

[0033] 놀랍게도, CTX130 세포와 같은 본 명세서에 개시된 항-CD70 CAR+ T 세포는 피하 T 세포 림프종 이종이식 모델에서 종양 부담을 성공적으로 감소시켰고 장기간(예를 들어, 치료 후 90일) 동안 종양 성장을 제거하는 장기 생체내 효능을 나타내었다.

[0034] 따라서, 본 개시내용은 일부 양태에서 T 세포, B 세포, 및 골수 세포 악성종양을 치료하기 위한 항-CD70 CAR+ T 세포(예를 들어, CTX130 세포)의 치료 용도를 제공한다. 항-CD70 CAR T 세포, 이를 생성하는 방법(예를 들어, CRISPR 접근법을 통함)뿐만 아니라, 본 명세서에 개시된 항-CD70 CAR+ T 세포를 제조하기 위한 구성요소 및 공

정(예를 들어, 유전자 편집을 위한 CRISPR 접근법 및 이에 사용된 구성요소)이 또한 본 개시내용의 범주 내에 있다.

[0035] **I.항-CD70 동종이계 CAR T 세포**

[0036] 조혈 세포 악성종양, 예컨대 T 세포 악성종양, B 세포 악성종양, 또는 골수 세포 악성종양을 치료하는 데 사용하기 위한 항-CD70 CAR T 세포(예를 들어, CTX130 세포)가 본 명세서에 개시되어 있다. 일부 구현예에서, 항-CD70 CAR T 세포는 파괴된 *TRAC* 유전자, 파괴된 *B2M* 유전자, 파괴된 *CD70* 유전자, 또는 이들의 조합을 가지는 동종이계 T 세포이다. 특정 예에서, 항-CD70 CAR T 세포는 항-CD70 CAR을 발현하고 파괴된 내인성 *TRAC*, *B2M*, 및 *CD70* 유전자를 가진다. 당업계에 공지된 임의의 적합한 유전자 편집 방법, 예를 들어 징크-핑거 뉴클레아제(ZFN), 전사 활성화제-유사 이펙터 뉴클레아제(TALEN), 또는 RNA-가이드 CRISPR-Cas9 뉴클레아제(CRISPR/Cas9; 클러스터링된 규칙적 간격의 짧은 회문 반복부 연관 9(Clustered Regular Interspaced Short Palindromic Repeats Associated 9))를 사용하는 뉴클레아제-의존성 표적화된 편집이 본 명세서에 개시된 항-CD70 CAR T 세포를 제조하는 데 사용될 수 있다.

[0037] 항-CD70 CAR T 세포의 예시적인 유전자 변형은 T 세포 수용체 알파 불변(TRAC), β2M, CD70, 또는 이들의 조합의 표적화된 파괴를 포함한다. TRAC 유전자좌의 파괴는 T 세포 수용체(TCR)의 발현 손실을 초래하고 이식편 대 숙주 질환(GvHD)의 가능성을 감소시키고자 하는 반면, β2M 유전자좌의 파괴는 주요 조직적합성 복합체 I형(MHC I) 단백질의 발현 결여를 초래하며 숙주 거부 가능성을 감소시킴으로써 지속성을 개선시키고자 한다. CD70의 파괴는 CD70의 발현 손실을 초래하며, 이는 CD70 CAR의 삽입 전에 가능한 세포간 동족 살해를 방지한다. 항-CD70 CAR의 추가는 변형된 T 세포를 CD70-발현 종양 세포로 향하게 한다.

[0038] 항-CD70 CAR은 CD70에 특이적인 항-CD70 단일-사슬 가변 단편(scFv)에 이어 세포내 공동-신호전달 도메인(예를 들어, 4-1BB 공동-자극 도메인) 및 CD3ζ 신호전달 도메인에 융합되는 힌지 도메인 및 막관통 도메인(예를 들어, CD8 힌지 및 막관통 도메인)을 포함할 수 있다.

[0039] *(i)키메라 항원 수용체(CAR)*

[0040] 키메라 항원 수용체(CAR)는 요망되지 않는 세포, 예를 들어 암 세포와 같은 질환이 있는 세포에 의해 발현되는 항원을 인식하고 이에 결합하도록 조작된 인공 면역 세포 수용체를 지칭한다. CAR 폴리펩타이드를 발현하는 T 세포는 CAR T 세포로 지칭된다. CAR은 T-세포 특이성 및 반응성을 비-MHC-제한된 방식으로 선택된 표적에 대하여 재유도하는 능력을 가진다. 비-MHC-제한된 항원 인식은 CAR-T 세포에 항원 가공과 관계없이 항원을 인식함으로써 주요 종양 회피 기전을 우회하는 능력을 제공한다. 더욱이, T-세포에서 발현되는 경우, CAR은 유리하게는 내인성 T-세포 수용체(TCR) 알파 및 베타 사슬과 이량체화하지 않는다.

[0041] 다양한 세대의 CAR이 존재하며, 이의 각각은 상이한 구성요소를 함유한다. 1세대 CAR은 힌지 및 막관통 도메인을 통하여 항체-유래 scFv를 T-세포 수용체의 CD3제타(ζ 또는 z) 세포내 신호전달 도메인에 연결시킨다. 2세대 CAR은 공동자극 신호를 제공하기 위해 추가적인 공동-자극 도메인, 예를 들어 CD28, 4-1BB(41BB), 또는 ICOS를 혼입한다. 3세대 CAR은 TCR CDRζ 사슬과 융합된 2개의 공동자극 도메인(예를 들어, CD27, CD28, 4-1BB, ICOS, 또는 OX40의 조합)을 함유한다(Maude *et al.*, Blood. 2015; 125(26):4017-4023; Kakarla and Gottschalk, Cancer J. 2014; 20(2):151-155). 임의의 다양한 세대의 CAR 작제물이 본 개시내용의 범주 내에 있다.

[0042] 일반적으로, CAR은 표적 항원(예를 들어, 항체의 단일 사슬 단편(scFv) 또는 다른 항체 단편)을 인식하는 세포외 도메인 및 T-세포 수용체(TCR) 복합체(예를 들어, CD3ζ)의 신호전달 도메인 및 대부분의 경우에 공동-자극 도메인을 포함하는 세포내 도메인을 포함하는 융합 폴리펩타이드이다(Enblad *et al.*, Human Gene Therapy. 2015; 26(8):498-505). CAR 작제물은 세포외 도메인과 세포내 도메인 사이의 힌지 및 막관통 도메인뿐만 아니라, 표면 발현을 위한 N-말단에서의 신호 펩타이드를 추가로 포함할 수 있다. 신호 펩타이드의 예는 MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIP(서열번호 52) 및 MALPVTALLLPLALLLHAARP(서열번호 53)를 포함한다. 다른 신호 펩타이드가 사용될 수 있다.

[0043] (a) 항원 결합 세포외 도메인

[0044] 항원-결합 세포외 도메인은 CAR이 세포 표면에서 발현될 때 세포외액에 노출되는 CAR 폴리펩타이드의 영역이다. 일부 예에서, 신호 펩타이드는 세포 표면 발현을 용이하게 하기 위해 N-말단에 위치할 수 있다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 단일-사슬 가변 단편(scFv, 항체 중쇄 가변 영역($V_H$) 및 항체 경쇄 가변 영역($V_L$)(어느 한 배향)을 포함할 수 있음)일 수 있다. 일부 예에서, $V_H$ 및 $V_L$ 단편은 펩타이드 링커를 통해 연결될 수 있다.

일부 구현예에서, 링커는 가요성을 위한 글리신 및 세린의 스트레치뿐만 아니라, 부가된 가용성을 위한 글루타메이트 및 리신의 스트레치를 가지는 친수성 잔기를 포함한다. scFv 단편은 scFv 단편이 유래된 모 항체의 항원-결합 특이성을 보유한다. 일부 구현예에서, scFv는 인간화된 $V_H$ 및/또는 $V_L$ 도메인을 포함할 수 있다. 다른 구현예에서, scFv의 $V_H$ 및/또는 $V_L$ 도메인은 완전히 인간이다.

[0045] 항원-결합 세포외 도메인은 관심이 있는 표적 항원, 예를 들어 종양 항원과 같은 병리학적 항원에 특이적일 수 있다. 일부 구현예에서, 종양 항원은 일반적으로, 종양 항원이 전혀 발현되지 않을 수 있거나 낮은 수준으로만 발현될 수 있는 비-종양 세포에서보다 종양 세포에서 더 높은 수준으로 발현되는 단백질과 같은 면역원성 분자를 지칭하는 "종양 연관 항원"이다. 일부 구현예에서, 종양-보유 숙주의 면역계에 의해 인식되는 종양-연관 구조는 종양-연관 항원으로 지칭된다. 일부 구현예에서, 종양-연관 항원은 대부분 유형의 종양에 의해 광범위하게 발현되는 경우, 보편적인 종양 항원이다. 일부 구현예에서, 종양-연관 항원은 분화 항원, 돌연변이 항원, 과발현 세포 항원 또는 바이러스 항원이다. 일부 구현예에서, 종양 항원은 종양 세포에 고유한 단백질과 같은 면역원성 분자를 지칭하는 "종양 특이적 항원" 또는 "TSA"이다. 종양 특이적 항원은 종양 세포에서, 예를 들어 특정 유형의 종양 세포에서 배타적으로 발현된다.

[0046] 일부 예에서, 본 명세서에 개시된 CAR 작제물은 CD70에 결합할 수 있는 scFv 세포외 도메인을 포함한다. 항-CD70 CAR의 예는 하기 실시예에서 제공된다.

[0047] (b) 막관통 도메인

[0048] 본 명세서에 개시된 CAR 폴리펩타이드는 막을 가로지르는 소수성 알파 나선일 수 있는 막관통 도메인을 함유할 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "막관통 도메인"은 세포막, 바람직하게는 진핵 세포막에서 열역학적으로 안정적인 임의의 단백질 구조를 지칭한다. 막관통 도메인은 이를 함유하는 CAR의 안정성을 제공할 수 있다.

[0049] 일부 구현예에서, 본 명세서에서 제공된 바와 같은 CAR의 막관통 도메인은 CD8 막관통 도메인일 수 있다. 다른 구현예에서, 막관통 도메인은 CD28 막관통 도메인일 수 있다. 추가의 다른 구현예에서, 막관통 도메인은 CD8 및 CD28 막관통 도메인의 키메라이다. 다른 막관통 도메인은 본 명세서에 제공된 바와 같이 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 막관통 도메인은 FVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIAS QPLSLRPEACRPAAGG AVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRNR(서열번호 54) 또는 IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLY(서열번호 55)의 서열을 함유하는 CD8a 막관통 도메인이다. 다른 막관통 도메인이 사용될 수 있다.

[0050] (c) 힌지 도메인

[0051] 일부 구현예에서, 힌지 도메인은 CAR의 세포외 도메인(항원 결합 도메인을 포함함)과 막관통 도메인 사이에, 또는 CAR의 세포질 도메인과 막관통 도메인 사이에 위치할 수 있다. 힌지 도메인은 폴리펩타이드 사슬에서 막관통 도메인을 세포외 도메인 및/또는 세포질 도메인에 연결시키는 기능을 하는 임의의 올리고펩타이드 또는 폴리펩타이드일 수 있다. 힌지 도메인은 CAR 또는 이의 도메인에 가요성을 제공하도록, 또는 CAR 또는 이의 도메인의 입체 장애를 방지하도록 기능할 수 있다.

[0052] 일부 구현예에서, 힌지 도메인은 최대 300개의 아미노산(예를 들어, 10 내지 100개의 아미노산, 또는 5 내지 20개의 아미노산)을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 힌지 도메인(들)은 CAR의 다른 영역에 포함될 수 있다. 일부 구현예에서, 힌지 도메인은 CD8 힌지 도메인일 수 있다. 다른 힌지 도메인이 사용될 수 있다.

[0053] (d) 세포내 신호전달 도메인

[0054] 임의의 CAR 작제물은 수용체의 기능적 말단인 하나 이상의 세포내 신호전달 도메인(예를 들어, CD3ζ, 및 선택적으로 하나 이상의 공동-자극 도메인)을 함유한다. 항원 인식 후에, 수용체는 클러스터링되고, 신호는 세포로 전달된다.

[0055] CD3ζ는 T 세포 수용체 복합체의 세포질 신호전달 도메인이다. CD3ζ는 세(3) 개의 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프(ITAM)를 함유하며, 이는 T 세포가 동족 항원과 결합된 후 활성화 신호를 T 세포로 전달한다. 많은 경우에, CD3ζ는 완전 적격인 활성화 신호가 아니라 일차 T 세포 활성화를 제공하고, 이는 공동-자극 신호전달을 필요로 한다.

[0056] 일부 구현예에서, 본 명세서에 개시된 CAR 폴리펩타이드는 하나 이상의 공동-자극 신호전달 도메인을 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어, CD28 및/또는 4-1BB의 공동-자극 도메인은 CD3ζ에 의해 매개되는 일차 신호전달과

함께 완전한 증식/생존 신호를 전달하는 데 사용될 수 있다. 일부 예에서, 본 명세서에 개시된 CAR은 CD28 공동-자극 분자를 포함한다. 다른 예에서, 본 명세서에 개시된 CAR은 4-1BB 공동-자극 분자를 포함한다. 일부 구현예에서, CAR은 CD3ζ 신호전달 도메인 및 CD28 공동-자극 도메인을 포함한다. 다른 구현예에서, CAR은 CD3ζ 신호전달 도메인 및 4-1BB 공동-자극 도메인을 포함한다. 또 다른 구현예에서, CAR은 CD3ζ 신호전달 도메인, CD28 공동-자극 도메인, 및 4-1BB 공동-자극 도메인을 포함한다.

[0057] 본 명세서에 기재된 방법은 CAR을 발현하는 유전자 조작된 T 세포를 생성하는 데 사용될 수 있는 하나 초과의 적합한 CAR, 예를 들어 당업계에 공지되거나 본 명세서에 개시된 것을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 예는, 예를 들어 WO 2019/097305A2, 및 WO2019/215500에서 찾을 수 있으며, 상기 이전 출원 각각의 관련 개시내용은 본 명세서에 언급된 목적 및 주제에 대하여 본 명세서에 참조로 포함된다.

[0058] 예를 들어, CAR은 CD70(또한 "CD70 CAR" 또는 "항-CD70 CAR"로 알려짐)에 결합한다. CD70에 결합하는 예시적인 CAR의 아미노산 서열은 서열번호 46에 제공되어 있다. 또한 하기 **표 1**에서 예시적인 항-CD70 CAR 작제물에서 구성요소의 아미노산 서열 및 코딩 뉴클레오타이드 서열을 참조한다.

표 1

예시적인 항-CD70 CAR 작제물 구성요소의 서열.

| 설명 | 서열 | 서열번호 |
|---|---|---|
| CD70<br>rAAV<br><br>(41BB 포함<br>CD70B scFV ) | CCTGCAGGCAGCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCGTCGG<br>GCGACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGA<br>GTGGCCAACTCCATCACTAGGGGTTCCTGCGGCCGCACGCGTGAGATGTAA<br>GGAGCTGCTGTGACTTGCTCAAGGCCTTATATCGAGTAAACGGTAGTGCTG<br>GGGCTTAGACGCAGGTGTTCTGATTTATAGTTCAAAACCTCTATCAATGAG<br>AGAGCAATCTCCTGGTAATGTGATAGATTTCCCAACTTAATGCCAACATAC<br>CATAAACCTCCCATTCTGCTAATGCCCAGCCTAAGTTGGGGAGACCACTCC<br>AGATTCCAAGATGTACAGTTTGCTTTGCTGGGCCTTTTTCCCATGCCTGCC<br>TTTACTCTGCCAGAGTTATATTGCTGGGGTTTTGAAGAAGATCCTATTAAA<br>TAAAAGAATAAGCAGTATTATTAAGTAGCCCTGCATTTCAGGTTTCCTTGA<br>GTGGCAGGCCAGGCCTGGCCGTGAACGTTCACTGAAATCATGGCCTCTTGG<br>CCAAGATTGATAGCTTGTGCCTGTCCCTGAGTCCCAGTCCATCACGAGCAG<br>CTGGTTTCTAAGATGCTATTTCCCGTATAAAGCATGAGACCGTGACTTGCC<br>AGCCCCACAGAGCCCCGCCCTTGTCCATCACTGGCATCTGGACTCCAGCCT<br>GGGTTGGGGCAAAGAGGGAAATGAGATCATGTCCTAACCCTGATCCTCTTG<br>TCCCACAGATATCCAGAACCCTGACCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGACTC<br>TAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCGATTTTGATTCTCAAAC<br>AAATGTGTCACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACAGACAAAACTGT<br>GCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAG<br>AGCGCACATCGCCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATT<br>GAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCG<br>TGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTG<br>CAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACAC<br>AGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATG<br>GCCCTTGCGTGCCTTGAATTACTTCCACTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGA<br>TCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGGAGAGTTCGAGGCCTTGCGCTTA<br>AGGAGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGG<br>CCGCCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGA<br>TAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTT<br>CTGGCAAGATAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTC<br>GGTTTTTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATG<br>TTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTA<br>GTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTAT<br>CGCCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGTTGCGTGAGC<br>GGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGAC<br>GCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGC<br>CTTTCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCC<br>GTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTCTTTAGG<br>TTGGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGA<br>GACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAATTTGC<br>CCTTTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCA<br>AAGTTTTTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTGACCACCATGGCGCTTCCGGTG<br>ACAGCACTGCTCCTCCCCTTGGCGCTGTTGCTCCACGCAGCAAGGCCGCAG<br>GTCCAGTTGGTGCAAAGCGGGGCGGAGGTGAAAAAACCCGGCGCTTCCGTG<br>AAGGTGTCCTGTAAGGCGTCCGGTTATACGTTCACGAACTACGGGATGAAT<br>TGGGTTCGCCAAGCGCCGGGGCAGGGACTGAAATGGATGGGGTGGATAAAT<br>ACCTACACCGGCGAACCTACATACGCCGACGCTTTTAAAGGGCGAGTCACT<br>ATGACGCGCGATACCAGCATATCCACCGCATACATGGAGCTGTCCCGACTC<br>CGGTCAGACGACACGGCTGTCTACTATTGTGCTCGGGACTATGGCGATTAT<br>GGCATGGACTACTGGGGTCAGGGTACGACTGTAACAGTTAGTAGTGGTGGA<br>GGCGGCAGTGGCGGGGGGGGAAGCGGAGGAGGGGGTTCTGGTGACATAGTT<br>ATGACCCAATCCCCAGATAGTTTGGCGGTTTCTCTGGGCGAGAGGGCAACG<br>ATTAATTGTCGCGCATCAAAGAGCGTTTCAACGAGCGGATATTCTTTTATG<br>CATTGGTACCAGCAAAAACCCGGACAACCGCCGAAGCTGCTGATCTACTTG<br>GCTTCAAATCTTGAGTCTGGGGTGCCGGACCGATTTTCTGGTAGTGGAAGC<br>GGAACTGACTTTACGCTCACGATCAGTTCACTGCAGGCTGAGGATGTAGCG<br>GTCTATTATTGCCAGCACAGTAGAGAAGTCCCCCTGGACCTTCGGTCAAGGC<br>ACGAAAGTAGAAATTAAAAGTGCTGCTGCCTTTGTCCCGGTATTCTCTCCA<br>GCCAAACCGACCACGACTCCCGCCCCGCGCCCTCCGACACCCGCTCCCACC<br>ATCGCCTCTCAACCTCTTAGTCTTCGCCCCGAGGCATGCCGACCCGCCGCC<br>GGGGGTGCTGTTCATACGAGGGGCTTGGACTTCGCTTGTGATATTTACATT<br>TGGGCTCCGTTGGCGGGTACGTGCGGCGTCCTTTTGTTGTCACTCGTTATT<br>ACTTTGTATTGTAATCACAGGAATCGCAAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTG<br>TATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAGAGGAA<br>GATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG<br>CGAGTGAAGTTTCCCGAAGCGCAGACGCTCCGGCATATCAGCAAGGACAG<br>AATCAGCTGTATAACGAACTGAATTTGGGACGCCGCGAGGAGTATGACGTG<br>CTTGATAAACGCCGGGGGAGAGACCCGGAAATGGGGGGTAAACCCCGAAGA<br>AAGAATCCCCAAGAAGGACTCTACAATGAACTCCAGAAGGATAAGATGGCG<br>GAGGCCTACTCAGAAATAGGTATGAAGGGCGAACGACGACGGGGAAAAGGT<br>CACGATGGCCTCTACCAAGGGTTGAGTACGGCAACCAAAGATACGTACGAT<br>GCACTGCATATGCAGGCCCTGCCTCCCAGATAATAATAAAATCGCTATCCA<br>TCGAAGATGGATGTGTGTTGGTTTTTTGTGTGTGGAGCAACAAATCTGACT<br>TTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATTATTCCAGAAGACACCTTCT<br>TCCCCAGCCCAGGTAAGGGCAGCTTTGGTGCCTTCGCAGGCTGTTTCCTTG<br>CTTCAGGAATGGCCAGGTTCTGCCCAGAGCTCTGGTCAATGATGTCTAAAA<br>CTCCTCTGATTGGTGGTCTCGGCCTTATCCATTGCCACCAAAACCCTCTTT<br>TTACTAAGAAACAGTGAGCCTTGTTCTGGCAGTCCAGAGAATGACACGGGA<br>AAAAAGCAGATGAAGAGAAGGTGGCAGGAGAGGGCACGTGGCCCAGCCTCA<br>GTCTCTCCAACTGAGTTCCTGCCTGCCTGCCTTTGCTCAGACTGTTTGCCC<br>CTTACTGCTCTTCTAGGCCTCATTCTAAGCCCCTTCTCCAAGTTGCCTCTC<br>CTTATTTCTCCCTGTCTGCCAAAAAATCTTTCCCAGCTCACTAAGTCAGTC<br>TCACGCAGTCACTCATTAACCCACCAATCACTGATTGTGCCGGCACATGAA<br>TGCACCAGGTGTTGAAGTGGAGGAATTAAAAAGTCAGATGAGGGGTGTGCC<br>CAGAGGAAGCACCATTCTAGTTGGGGGAGCCCATCTGTCAGCTGGGAAAAG<br>TCCAAATAACTTCAGATTGGAATGTGTTTTAACTCAGGGTTGAGAAAACAG<br>CTACCTTCAGGACAAAAGTCAGGGAAGGGCTCTCTGAAGAAATGCTACTTG<br>AAGATACCAGCCCTACCAAGGGCAGGGAGAGGACCCTATAGAGGCCTGGGA<br>CAGGAGCTCAATGAGAAAGGTAACCACGTGCGGACCGAGGCTGCAGCGTCG<br>TCCTCCCTAGGAACCCCTAGTGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGC<br>TCGCTCGCTCACTGAGGCCGGGCGACCAAAGGTCGCCCGACGCCCGGGCTT<br>TGCCCGGGCGGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCTGCCTGCAGG | 43 |

[0059]

| | | |
|---|---|---|
| CD70<br>LHA에서 RHA<br><br><br>(41BB 포함<br>CD70B scFV ) | GAGATGTAAGGAGCTGCTGTGACTTGCTCAAGGCCTTATATCGAGTAAACG<br>GTAGTGCTGGGGCTTAGACGCAGGTGTTCTGATTTATAGTTCAAAACCTCT<br>ATCAATGAGAGAGCAATCTCCTGGTAATGTGATAGATTTCCCAACTTAATG<br>CCAACATACCATAAACCTCCCATTCTGCTAATGCCCAGCCTAAGTTGGGGA<br>GACCACTCCAGATTCCAAGATGTACAGTTTGCTTTGCTGGGCCTTTTTCCC<br>ATGCCTGCCTTTACTCTGCCAGAGTTATATTGCTGGGGTTTTGAAGAAGAT<br>CCTATTAAATAAAAGAATAAGCAGTATTATTAAGTAGCCCTGCATTTCAGG<br>TTTCCTTGAGTGGCAGGCCAGGCCTGGCCGTGAACGTTCACTGAAATCATG<br>GCCTCTTGGCCAAGATTGATAGCTTGTGCCTGTCCCTGAGTCCCAGTCCAT<br>CACGAGCAGCTGGTTTCTAAGATGCTATTTCCCGTATAAAGCATGAGACCG<br>TGACTTGCCAGCCCCACAGAGCCCCGCCCTTGTCCATCACTGGCATCTGGA<br>CTCCAGCCTGGGTTGGGGCAAAGAGGGAAATGAGATCATGTCCTAACCCTG<br>ATCCTCTTGTCCCACAGATATCCAGAACCCTGACCCTGCCGTGTACCAGCT<br>GAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCGATTTTGA<br>TTCTCAAACAAATGTGTCACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACAGA<br>CAAAACTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAGGCTCCGGTGCCCGTC<br>AGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGG<br>TCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAA<br>GTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGT<br>ATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCG<br>CCAGAACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTA<br>CGGGTTATGGCCCTTGCGTGCCTTGAATTACTTCCACTGGCTGCAGTACGT<br>GATTCTTGATCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCC<br>TTGCGCTTAAGGAGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGG<br>GCGCTGGGGCCGCCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGC<br>TGCTTTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGAC<br>GCTTTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGATCTGCACAC<br>TGGTATTTCGGTTTTTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCA<br>GCGCACATGTTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGG<br>ACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCC<br>GCCGTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGT<br>TGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAA<br>ATGGAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAG<br>GAAAAGGGCCTTTCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTA<br>CCGGGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTC<br>GTCTTTAGGTTGGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGA<br>GTGGGTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTT<br>GGAATTTGCCCTTTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGAC<br>AGTGGTTCAAAGTTTTTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTGACCACCATGGCG<br>CTTCCGGTGACAGCACTGCTCCTCCCCTTGGCGCTGTTGCTCCACGCAGCA<br>AGGCCGCAGGTCCAGTTGGTGCAAAGCGGGGCGGAGGTGAAAAAACCCGGC<br>GCTTCCGTGAAGGTGTCCTGTAAGGCGTCCGGTTATACGTTCACGAACTAC<br>GGGATGAATTGGGTTCGCCAAGCGCCGGGGCAGGGACTGAAATGGATGGGG<br>TGGATAAATACCTACACCGGCGAACCTACATACGCCGACGCTTTTAAAGGG<br>CGAGTCACTATGACGCGCGATACCAGCATATCCACCGCATACATGGAGCTG<br>TCCCGACTCCGGTCAGACGACACGGCTGTCTACTATTGTGCTCGGGACTAT<br>GGCGATTATGGCATGGACTACTGGGGTCAGGGTACGACTGTAACAGTTAGT<br>AGTGGTGGAGGCGGCAGTGGCGGGGGGGGAAGCGGAGGAGGGGGTTCTGGT<br>GACATAGTTATGACCCAATCCCCAGATAGTTTGGCGGTTTCTCTGGGCGAG<br>AGGGCAACGATTAATTGTCGCGCATCAAAGAGCGTTTCAACGAGCGGATAT<br>TCTTTTATGCATTGGTACCAGCAAAAACCCGGACAACCGCCGAAGCTGCTG<br>ATCTACTTGGCTTCAAATCTTGAGTCTGGGGTGCCGGACCGATTTTCTGGT<br>AGTGGAAGCGGAACTGACTTTACGCTCACGATCAGTTCACTGCAGGCTGAG<br>GATGTAGCGGTCTATTATTGCCAGCACAGTAGAGAAGTCCCCTGGACCTTC<br>GGTCAAGGCACGAAAGTAGAAATTAAAAGTGCTGCTGCCTTTGTCCCGGTA<br>TTTCTCCCAGCCAAACCGACCACGACTCCCGCCCCGCGCCCTCCGACACCC<br>GCTCCCACCATCGCCTCTCAACCTCTTAGTCTTCGCCCCGAGGCATGCCGA<br>CCCGCCGCCGGGGGTGCTGTTCATACGAGGGGCTTGGACTTCGCTTGTGAT<br>ATTTACATTTGGGCTCCGTTGGCGGGTACGTGCGGCGTCCTTTTGTTGTCA<br>CTCGTTATTACTTTGTATTGTAATCACAGGAATCGCAAACGGGGGCAGAAAG<br>AAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACT<br>CAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGA<br>TGTGAACTGCGAGTGAAGTTTTCCCGAAGCGCAGACGCTCCGGCATATCAG<br>CAAGGACAGAATCAGCTGTATAACGAACTGAATTTGGGACGCCGCGAGGAG<br>TATGACGTGCTTGATAAACGCCGGGGGAGAGACCCGGAAATGGGGGGTAAA<br>CCCCGAAGAAAGAATCCCCAAGAAGGACTCTACAATGAACTCCAGAAGGAT<br>AAGATGGCGGAGGCCTACTCAGAAATAGGTATGAAGGGCGAACGACGACGG<br>GGAAAAGGTCACGATGGCCTCTACCAAGGGTTGAGTACGGCAACCAAAGAT<br>ACGTACGATGCACTGCATATGCAGGCCCTGCCTCCCAGATAATAATAAAAT<br>CGCTATCCATCGAAGATGGATGTGTGTTGGTTTTTTGTGTGTGGAGCAACA<br>AATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATTATTCCAGAAG<br>ACACCTTCTTCCCCAGCCCAGGTAAGGGCAGCTTTGGTGCCTTCGCAGGCT<br>GTTTCCTTGCTTCAGGAATGGCCAGGTTCTGCCCAGAGCTCTGGTCAATGA<br>TGTCTAAAACTCCTCTGATTGGTGGTCTCGGCCTTATCCATTGCCACCAAA<br>ACCCTCTTTTTACTAAGAAACAGTGAGCCTTGTTCTGGCAGTCCAGAGAAT<br>GACACGGGAAAAAAGCAGATGAAGAGAAGGTGGCAGGAGAGGGCACGTGGC<br>CCAGGCTCAGTCTCTCCAACTGAGTTCCTGCCTGCCTGCCTTTGCTCAGAC<br>TGTTTGCCCCTTACTGCTCTTCTAGGCCTCATTCTAAGCCCCTTCTCCAAG<br>TTGCCTCTCCTTATTTCTCCCTGTCTGCCAAAAAATCTTTCCCAGCTCACT<br>AAGTCAGTCTCACGCAGTCACTCATTAACCCACCAATCACTGATTGTGCCG<br>GCACATGAATGCACCAGGTGTTGAAGTGGAGGAATTAAAAAGTCAGATGAG<br>GGGTGTGCCCAGAGGAAGCACCATTCTAGTTGGGGGAGCCCATCTGTCAGC<br>TGGGAAAAGTCCAAATAACTTCAGATTGGAATGTGTTTTAACTCAGGGTTG<br>AGAAAACAGCTACCTTCAGGACAAAAGTCAGGGAAGGGCTCTCTGAAGAAA<br>TGCTACTTGAAGATACCAGCCCTACCAAGGGCAGGGAGAGGACCCTATAGA<br>GGCCTGGGACAGGAGCTCAATGAGAAAGG | 44 |

[0060]

| | | |
|---|---|---|
| CD70 CAR<br>뉴클레오타이드<br>서열<br><br>(41BB 포함<br>CD70B scFV ) | ATGGCGCTTCCGGTGACAGCACTGCTCCTCCCCTTGGCGCTGTTGCTCCACG<br>CAGCAAGGCCGCAGGTCCAGTTGGTGCAAAGCGGGGCGGAGGTGAAAAAACC<br>CGGCGCTTCCGTGAAGGTGTCCTGTAAGGCGTCCGGTTATACGTTCACGAAC<br>TACGGGATGAATTGGGTTCGCCAAGCGCCGGGGCAGGGACTGAAATGGATGG<br>GGTGGATAAATACCTACACCGGCGAACCTACATACGCCGACGCTTTTAAAGG<br>GCGAGTCACTATGACGCGCGATACCAGCATATCCACCGCATACATGGAGCTG<br>TCCCGACTCCGGTCAGACGACACGGCTGTCTACTATTGTGCTCGGGACTATG<br>GCGATTATGGCATGGACTACTGGGGTCAGGGTACGACTGTAACAGTTAGTAG<br>TGGTGGAGGCGGCAGTGGCGGGGGGGGAAGCGGAGGAGGGGGTTCTGGTGAC<br>ATAGTTATGACCCAATCCCCAGATAGTTTGGCGGTTTCTCTGGGCGAGAGGG<br>CAACGATTAATTGTCGCGCATCAAAGAGCGTTTCAACGAGCGGATATTCTTT<br>TATGCATTGGTACCAGCAAAAACCCGGACAACCGCCGAAGCTGCTGATCTAC<br>TTGGCTTCAAATCTTGAGTCTGGGGTGCCGGACCGATTTTCTGGTAGTGGAA<br>GCGGAACTGACTTTACGCTCACGATCAGTTCACTGCAGGCTGAGGATGTAGC<br>GGTCTATTATTGCCAGCACAGTAGAGAAGTCCCCTGGACCTTCGGTCAAGGC<br>ACGAAAGTAGAAATTAAAAGTGCTGCTGCCTTTGTCCCGGTATTTCTCCCAG<br>CCAAACCGACCACGACTCCCGCCCCGCGCCCTCCGACACCCGCTCCCACCAT<br>CGCCTCTCAACCTCTTAGTCTTCGCCCCGAGGCATGCCGACCCGCCGCCGGG<br>GGTGCTGTTCATACGAGGGGCTTGGACTTCGCTTGTGATATTTACATTTGGG<br>CTCCGTTGGCGGGTACGTGCGGCGTCCTTTTGTTGTCACTCGTTATTACTTT<br>GTATTGTAATCACAGGAATCGCAAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATA<br>TTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAGAGGAAGATGGCT<br>GTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAGGAGGATGTGAACTGCGAGTGAA<br>GTTTTCCCGAAGCGCAGACGCTCCGGCATATCAGCAAGGACAGAATCAGCTG<br>TATAACGAACTGAATTTGGGACGCCGCGAGGAGTATGACGTGCTTGATAAAC<br>GCCGGGGGAGAGACCCGGAAATGGGGGGTAAACCCCGAAGAAAGAACCCCA<br>AGAAGGACTCTACAATGAACTCCAGAAGGATAAGATGGCGGAGGCCTACTCA<br>GAAATAGGTATGAAGGGCGAACGACGACGGGGAAAAGGTCACGATGGCCTCT<br>ACCAAGGGTTGAGTACGGCAACCAAAGATACGTACGATGCACTGCATATGCA<br>GGCCCTGCCTCCCAGATAA | 45 |
| CD70 CAR<br>아미노산 서열<br><br>(41BB 포함<br>CD70B scFV ) | MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTN<br>YGMNWVRQAPGQGLKWMGWINTYTGEPTYADAFKGRVTMTRDTSISTAYMEL<br>SRLRSDDTAVYYCARDYGDYGMDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGD<br>IVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSVSTSGYSFMHWYQQKPGQPPKLLIY<br>LASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQHSREVPWTFGQG<br>TKVEIKSAAAFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAG<br>GAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRNRKRGRKKLLYI<br>FKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQL<br>YNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYS<br>EIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR | 46 |
| CD70B<br>scFv<br>뉴클레오타이드<br>서열 | CAGGTCCAGTTGGTGCAAAGCGGGGCGGAGGTGAAAAAACCCGGCGCTTCCG<br>TGAAGGTGTCCTGTAAGGCGTCCGGTTATACGTTCACGAACTACGGGATGAA<br>TTGGGTTCGCCAAGCGCCGGGGCAGGGACTGAAATGGATGGGGTGGATAAAT<br>ACCTACACCGGCGAACCTACATACGCCGACGCTTTTAAAGGGCGAGTCACTA<br>TGACGCGCGATACCAGCATATCCACCGCATACATGGAGCTGTCCCGACTCCG<br>GTCAGACGACACGGCTGTCTACTATTGTGCTCGGGACTATGGCGATTATGGC<br>ATGGACTACTGGGGTCAGGGTACGACTGTAACAGTTAGTAGTGGTGGAGGCG<br>GCAGTGGCGGGGGGGGAAGCGGAGGAGGGGGTTCTGGTGACATAGTTATGAC<br>CCAATCCCCAGATAGTTTGGCGGTTTCTCTGGGCGAGAGGGCAACGATTAAT<br>TGTCGCGCATCAAAGAGCGTTTCAACGAGCGGATATTCTTTTATGCATTGGT<br>ACCAGCAAAAACCCGGACAACCGCCGAAGCTGCTGATCTACTTGGCTTCAAA<br>TCTTGAGTCTGGGGTGCCGGACCGATTTTCTGGTAGTGGAAGCGGAACTGAC<br>TTTACGCTCACGATCAGTTCACTGCAGGCTGAGGATGTAGCGGTCTATTATT<br>GCCAGCACAGTAGAGAAGTCCCCTGGACCTTCGGTCAAGGCACGAAAGTAGA<br>AATTAAA | 47 |
| CD70B<br>scFv<br>아미노산 서열<br>(링커는 밑줄 표시<br>되어 있음) | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVRQAPGQGLKWMGWIN<br>TYTGEPTYADAFKGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARDYGDYG<br>MDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGDIVMTQSPDSLAVSLGERATIN<br>CRASKSVSTSGYSFMHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTD<br>FTLTISSLQAEDVAVYYCQHSREVPWTFGQGTKVEIK | 48 |
| CD70 $V_H$ | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVRQAPGQGLKWMGWIN<br>TYTGEPTYADAFKGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARDYGDYG<br>MDYWGQGTTVTVSS | 49 |
| CD70 $V_L$ | DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSVSTSGYSFMHWYQQKPGQPPKLLI<br>YLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQHSREVPWTFGQ<br>GTKVEIK | 50 |
| 링커 | GGGGSGGGGSGGGGSG | 51 |
| 신호 펩타이드 | MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIP | 52 |
| 신호 펩타이드 | MALPVTALLLPLALLLHAARP | 53 |
| CD8a<br>막관통 도메인 | FVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDF<br>ACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRNR | 54 |

[0061]

| | | |
|---|---|---|
| CD8a<br>막관통 | IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLY | 55 |
| 4-1BB<br>뉴클레오타이드<br>서열 | AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGAC<br>CAGTACAAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGA<br>AGAAGAAGGAGGATGTGAACTG | 56 |
| 4-1BB<br>아미노산 서열 | KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL | 57 |
| CD28<br>뉴클레오타이드<br>서열 | TCAAAGCGGAGTAGGTTGTTGCATTCCGATTACATGAATATGACTCCTCGCC<br>GGCCTGGGCCGACAAGAAAACATTACCAACCCTATGCCCCCCCACGAGACTT<br>CGCTGCGTACAGGTCC | 58 |
| CD28<br>아미노산 서열 | SKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS | 59 |
| CD3ζ<br>뉴클레오타이드<br>서열 | CGAGTGAAGTTTTCCCGAAGCGCAGACGCTCCGGCATATCAGCAAGGACAGA<br>ATCAGCTGTATAACGAACTGAATTTGGGACGCCGCGAGGAGTATGACGTGCT<br>TGATAAACGCCGGGGGAGAGACCCGGAAATGGGGGGTAAACCCCGAAGAAAG<br>AATCCCCAAGAAGGACTCTACAATGAACTCCAGAAGGATAAGATGGCGGAGG<br>CCTACTCAGAAATAGGTATGAAGGGCGAACGACGACGGGGAAAAGGTCACGA<br>TGGCCTCTACCAAGGGTTGAGTACGGCAACCAAAGATACGTACGATGCACTG<br>CATATGCAGGCCCTGCCTCCCAGA | 60 |
| CD3ζ<br>아미노산 서열 | RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRK<br>NPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDAL<br>HMQALPPR | 61 |
| TRAC-LHA | GAGATGTAAGGAGCTGCTGTGACTTGCTCAAGGCCTTATATCGAGTAAACGG<br>TAGTGCTGGGGCTTAGACGCAGGTGTTCTGATTTATAGTTCAAAACCTCTAT<br>CAATGAGAGAGCAATCTCCTGGTAATGTGATAGATTTCCCAACTTAATGCCA<br>ACATACCATAAACCTCCCATTCTGCTAATGCCCAGCCTAAGTTGGGGAGACC<br>ACTCCAGATTCCAAGATGTACAGTTTGCTTTGCTGGGCCTTTTTCCCATGCC<br>TGCCTTTACTCTGCCAGAGTTATATTGCTGGGGTTTTGAAGAAGATCCTATT<br>AAATAAAAGAATAAGCAGTATTATTAAGTAGCCCTGCATTTCAGGTTTCCTT<br>GAGTGGCAGGCCAGGCCTGGCCGTGAACGTTCACTGAAATCATGGCCTCTTG<br>GCCAAGATTGATAGCTTGTGCCTGTCCCTGAGTCCCAGTCCATCACGAGCAG<br>CTGGTTTCTAAGATGCTATTTCCCGTATAAAGCATGAGACCGTGACTTGCCA<br>GCCCCACAGAGCCCCGCCCTTGTCCATCACTGGCATCTGGACTCCAGCCTGG<br>GTTGGGGCAAAGAGGGAAATGAGATCATGTCCTAACCCTGATCCTCTTGTCC<br>CACAGATATCCAGAACCCTGACCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGACTCTAAA<br>TCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCGATTTTGATTCTCAAACAAATG<br>TGTCACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACAGACAAAACTGTGCTAGA<br>CATGAGGTCTATGGACTTCA | 62 |
| EF1α 프로모터 | GGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCCCGAGA<br>AGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGG<br>GGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGT<br>GGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCA<br>ACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCC<br>TGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTGCGTGCCTTGAATTACTTCCACTGGC<br>TGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAG<br>TTCGAGGCCTTGCGCTTAAGGAGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCC<br>TGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCT<br>GTCTCGCTGCTTTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGC<br>TGCGACGCTTTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAAATGCGGGCCAAGATCTG<br>CACACTGGTATTTCGGTTTTTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGT<br>CCCAGCGCACATGTTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAAT<br>CGGACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCG<br>CCGCCGTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAG<br>TTGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAA<br>ATGGAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGG<br>AAAAGGGCCTTTCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACC<br>GGGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTC<br>TTTAGGTTGGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGG<br>GTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAAT<br>TTGCCCTTTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGT<br>TCAAAGTTTTTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTGA | 63 |
| 합성 폴리(A) 신호 | AATAAAATCGCTATCCATCGAAGATGGATGTGTGTTGGTTTTTTGTGTG | 64 |
| TRAC-RHA | TGGAGCAACAAATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATTA<br>TTCCAGAAGACACCTTCTTCCCCAGCCCAGGTAAGGGCAGCTTTGGTGCCTT<br>CGCAGGCTGTTTCCTTGCTTCAGGAATGGCCAGGTTCTGCCCAGAGCTCTGG<br>TCAATGATGTCTAAAACTCCTCTGATTGGTGGTCTCGGCCTTATCCATTGCC<br>ACCAAAACCCTCTTTTTACTAAGAAACAGTGAGCCTTGTTCTGGCAGTCCAG<br>AGAATGACACGGGAAAAAAGCAGATGAAGAGAAGGTGGCAGGAGAGGGCACG<br>TGGCCCAGCCTCAGTCTCTCCAACTGAGTTCCTGCCTGCCTGCCTTTGCTCA<br>GACTGTTTGCCCCTTACTGCTCTTCTAGGCCTCATTCTAAGCCCCTTCTCCA<br>AGTTGCCTCTCCTTATTTCTCCCTGTCTGCCAAAAAATCTTTCCCAGCTCAC<br>TAAGTCAGTCTCACGCAGTCACTCATTAACCCACCAATCACTGATTGTGCCG<br>GCACATGAATGCACCAGGTGTTGAAGTGGAGGAATTAAAAAGTCAGATGAGG<br>GGTGTGCCCAGAGGAAGCACCATTCTAGTTGGGGGAGCCCATCTGTCAGCTG<br>GGAAAAGTCCAAATAACTTCAGATTGGAATGTGTTTTAACTCAGGGTTGAGA<br>AAACAGCTACCTTCAGGACAAAAGTCAGGGAAGGGCTCTCTGAAGAAATGCT<br>ACTTGAAGATACCAGCCCTACCAAGGGCAGGGAGAGGACCCTATAGAGGCCT<br>GGGACAGGAGCTCAATGAGAAAGG | 65 |

[0062]

[0063] *(ii)TRAC, B2M, 및/또는 CD70 유전자의 녹-아웃*

[0064] 본 명세서에 개시된 항-CD70 CAR-T 세포는 파괴된 *TRAC* 유전자, 파괴된 B2M 유전자, 파괴된 CD70 유전자, 또는 이들의 조합을 추가로 가질 수 있다. *TRAC* 유전자좌의 파괴는 T 세포 수용체(TCR)의 발현 손실을 초래하고 이식편 대 숙주 질환(GvHD)의 가능성을 감소시키고자 하는 반면, *β2M* 유전자좌의 파괴는 주요 조직적합성 복합체 I 형(MHC I) 단백질의 발현 결여를 초래하며 숙주 거부 가능성을 감소시킴으로써 지속성을 개선시키고자 한다. CD70 유전자의 파괴는 항-CD70 CAR-T 세포를 생성함에 있어서 동족 살해 효과를 최소화할 것이다. 또한, CD70 유전자의 파괴는 생성된 조작된 T 세포의 건강 및 활성을 예상외로 증가시켰다. 항-CD70 CAR의 추가는 변형된 T 세포를 CD70-발현 종양 세포로 향하게 한다.

[0065] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "파괴된 유전자"는 인코딩된 유전자 산물의 활성을 실질적으로 감소시키거나 완전히 없애도록 야생형 대응물에 비해 하나 이상의 돌연변이(예를 들어, 삽입, 결실, 또는 뉴클레오타이드 치환 등)를 함유하는 유전자를 지칭한다. 하나 이상의 돌연변이는 비-코딩 영역, 예를 들어 프로모터 영역, 전사 또는 번역을 조절하는 조절 영역; 또는 인트론 영역에 위치할 수 있다. 대안적으로, 하나 이상의 돌연변이는 코딩 영역(예를 들어, 엑손)에 위치할 수 있다. 일부 예에서, 파괴된 유전자는 인코딩된 단백질을 발현하지 않거나 실질적으로 감소된 수준으로 발현한다. 다른 예에서, 파괴된 유전자는 기능적이지 않거나 실질적

으로 감소된 활성을 가지는 돌연변이된 형태로 인코딩된 단백질을 발현한다. 일부 구현예에서, 파괴된 유전자는 기능성 단백질을 인코딩하지 않는 유전자이다. 일부 구현예에서, 파괴된 유전자를 포함하는 세포는 유전자에 의해 인코딩된 단백질을 검출 가능한 수준으로(예를 들어, 항체에 의해, 예를 들어, 유세포 분석에 의해) 발현하지 않는다(예를 들어, 세포 표면에서). 검출 가능한 수준의 단백질을 발현하지 않는 세포는 녹아웃 세포로 지칭될 수 있다. 예를 들어, *β2M* 단백질이 *β2M* 단백질에 특이적으로 결합하는 항체를 사용하여 세포 표면에서 검출될 수 없는 경우 *β2M* 유전자 편집을 가지는 세포는 β2M 녹아웃 세포로 간주될 수 있다.

[0066] 일부 구현예에서, 파괴된 유전자는 야생형 대응물에 비해 돌연변이된 단편을 포함하는 것으로 기재될 수 있다. 돌연변이된 단편은 결실, 뉴클레오타이드 치환, 첨가, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 다른 구현예에서, 파괴된 유전자는 야생형 대응물에 존재하는 단편의 결실을 가지는 것으로 기재될 수 있다. 일부 예에서, 결실된 단편의 5' 말단은 본 명세서에 개시된 것과 같은 설계된 가이드 RNA에 의해 표적화된 유전자 영역 내에 위치할 수 있고(표적내 서열로 알려짐), 결실된 단편의 3' 말단은 표적화된 영역을 벗어날 수 있다. 대안적으로, 결실된 단편의 3' 말단은 표적화된 영역 내에 위치할 수 있고, 결실된 단편의 5' 말단은 표적화된 영역을 벗어날 수 있다.

[0067] 일부 예에서, 본 명세서에 개시된 항-CD70 CAR-T 세포에서 파괴된 TRAC 유전자는 결실, 예를 들어 TRAC 유전자 유전자좌의 엑손 1에서의 단편의 결실을 포함할 수 있다. 일부 예에서, 파괴된 TRAC 유전자는 TRAC 가이드 RNA TA-1의 표적 부위인 서열번호 17의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 단편의 결실을 포함한다. 하기 서열 표를 참조한다. 일부 예에서, 서열번호 17의 단편은 항-CD70 CAR을 인코딩하는 핵산으로 대체될 수 있다. 이러한 파괴된 TRAC 유전자는 서열번호 44의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다.

[0068] 본 명세서에 개시된 항-CD70 CAR-T 세포에서 파괴된 B2M 유전자는 CRISPR/Cas 기술을 사용하여 생성될 수 있다. 일부 예에서, 하기 서열 표에 제공된 B2M gRNA가 사용될 수 있다. 파괴된 B2M 유전자는 서열번호 31 내지 36 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. 하기 **표 4**를 참조한다.

[0069] 대안적으로 또는 추가적으로, 본 명세서에 개시된 항-CD70 CAR-T 세포에서 파괴된 CD70 유전자는 CRISPR/Cas 기술을 사용하여 생성될 수 있다. 일부 예에서, 하기 서열 표에 제공된 CD70 gRNA가 사용될 수 있다. 파괴된 CD70 유전자는 서열번호 37 내지 42 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. 하기 **표 5**를 참조한다.

[0070] *(iii) 예시적인 항-CD70 CAR T 세포*

[0071] 일부 예에서, 항-CD70 CAR T 세포는 CTX130 세포이며, 이는 파괴된 *TRAC* 유전자, *B2M* 유전자, 및 *CD70* 유전자를 가지는 CD70-유도 T 세포이다. CTX130 세포는 CRISPR/Cas9(클러스터링된 규칙적 간격의 짧은 회문 반복부/CRISPR 연관 단백질 9) 유전자 편집 구성요소(sgRNA 및 Cas9 뉴클레아제)를 사용하여 생체외 유전자 변형을 통해 생성될 수 있다.

[0072] 또한 본 명세서에 개시된 항-CD70 CAR 및 파괴된 *TRAC*, *B2M*, 및 *CD70* 유전자를 발현하는 유전자 조작된 세포(예를 들어, 편집된 CRISPR-Cas9-매개 유전자)를 포함하는 항-CD70 CAR T 세포의 집단(예를 들어, CTX130 세포의 집단)이 본 개시내용의 범주 내에 있으며; 항-CD70 CAR을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 *TRAC* 유전자좌에 삽입된다.

[0073] 유전자 파괴는 유전자 편집(예를 들어, 하나 이상의 뉴클레오타이드를 삽입하거나 결실시키기 위해 CRISPR/Cas 유전자 편집을 사용함)을 통한 유전자 변형을 포함한다는 것을 이해하여야 한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "파괴된 유전자"는 인코딩된 유전자 산물의 활성을 실질적으로 감소시키거나 완전히 없애도록 야생형 대응물에 비해 하나 이상의 돌연변이(예를 들어, 삽입, 결실, 또는 뉴클레오타이드 치환 등)를 함유하는 유전자를 지칭한다. 하나 이상의 돌연변이는 비-코딩 영역, 예를 들어 프로모터 영역, 전사 또는 번역을 조절하는 조절 영역; 또는 인트론 영역에 위치할 수 있다. 대안적으로, 하나 이상의 돌연변이는 코딩 영역(예를 들어, 엑손)에 위치할 수 있다. 일부 예에서, 파괴된 유전자는 인코딩된 단백질을 발현하지 않거나 실질적으로 감소된 수준으로 발현한다. 다른 예에서, 파괴된 유전자는 기능적이지 않거나 실질적으로 감소된 활성을 가지는 돌연변이된 형태로 인코딩된 단백질을 발현한다. 일부 구현예에서, 파괴된 유전자는 기능성 단백질을 인코딩하지 않는 유전자이다. 일부 구현예에서, 파괴된 유전자를 포함하는 세포는 유전자에 의해 인코딩된 단백질을 검출 가능한 수준으로(예를 들어, 항체에 의해, 예를 들어, 유세포 분석에 의해) 발현하지 않는다(예를 들어, 세포 표면에서). 검출 가능한 수준의 단백질을 발현하지 않는 세포는 녹아웃 세포로 지칭될 수 있다. 예를 들어, *β2M* 단백질이 *β2M* 단백질에 특이적으로 결합하는 항체를 사용하여 세포 표면에서 검출될 수 없는 경우 *β2M* 유전자 편집을 가지는 세포는 β2M 녹아웃 세포로 간주될 수 있다.

[0074] 특정 예에서, 항-CD70 CAR+ T 세포는 CTX130 세포이며, 상기 세포는 표적화된 유전자를 파괴하기 위한 CRISPR 기술, CAR 작제물을 전달하기 위한 아데노-연관 바이러스(AAV) 형질도입을 사용하여 생성된다. CRISPR-Cas9-매개 유전자 편집은 3개의 가이드 RNA(sgRNA), 즉 CD70 유전자좌를 표적화하는 CD70-7 sgRNA(서열번호 2), TRAC 유전자좌를 표적화하는 TA-1 sgRNA(서열번호 6), 및 β2M 유전자좌를 표적화하는 B2M-1 sgRNA(서열번호 10)를 포함한다. CTX130 세포의 항-CD70 CAR은 CD70에 특이적인 항-CD70 단일-사슬 항체 단편(scFv)에 이에, 4-1BB 및 CD3ζ 신호전달 도메인의 세포내 공동-신호전달 도메인에 융합된 CD8 및 막관통 도메인으로 구성된다. 이와 같이, CTX130은 CRISPR/Cas9 유전자 편집 구성요소(sgRNA 및 Cas9 뉴클레아제)를 사용하여 생체외에서 유전자 변형된 동종이계 T 세포로 구성된 CD70-유도 T 세포 면역요법이다.

[0075] 일부 구현예에서, CTX130 세포 집단의 적어도 50%는 검출 가능한 수준의 β2M 표면 단백질을 발현하지 않을 수 있다. 예를 들어, 집단의 조작된 T 세포의 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%는 검출 가능한 수준의 β2M 표면 단백질을 발현하지 않을 수 있다. 일부 구현예에서, 집단의 조작된 T 세포의 50% 내지 100%, 50% 내지 90%, 50% 내지 80%, 50% 내지 70%, 50% 내지 60%, 60% 내지 100%, 60% 내지 90%, 60% 내지 80%, 60% 내지 70%, 70% 내지 100%, 70% 내지 90%, 70% 내지 80%, 80% 내지 100%, 80% 내지 90%, 또는 90% 내지 100%는 검출 가능한 수준의 β2M 표면 단백질을 발현하지 않는다.

[0076] 대안적으로 또는 추가적으로, CTX130 세포 집단의 적어도 50%는 검출 가능한 수준의 TRAC 표면 단백질을 발현하지 않을 수 있다. 예를 들어, 집단의 조작된 T 세포의 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%는 검출 가능한 수준의 TRAC 표면 단백질을 발현하지 않을 수 있다. 일부 구현예에서, 집단의 조작된 T 세포의 50% 내지 100%, 50% 내지 90%, 50% 내지 80%, 50% 내지 70%, 50% 내지 60%, 60% 내지 100%, 60% 내지 90%, 60% 내지 80%, 60% 내지 70%, 70% 내지 100%, 70% 내지 90%, 70% 내지 80%, 80% 내지 100%, 80% 내지 90%, 또는 90% 내지 100%는 검출 가능한 수준의 TRAC 표면 단백질을 발현하지 않는다.

[0077] 일부 구현예에서, CTX130 세포 집단의 적어도 50%는 검출 가능한 수준의 CD70 표면 단백질을 발현하지 않을 수 있다. 예를 들어, 집단의 조작된 T 세포의 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 98%는 검출 가능한 수준의 CD70 표면 단백질을 발현하지 않을 수 있다. 일부 구현예에서, 집단의 조작된 T 세포의 50% 내지 100%, 50% 내지 90%, 50% 내지 80%, 50% 내지 70%, 50% 내지 60%, 60% 내지 100%, 60% 내지 90%, 60% 내지 80%, 60% 내지 70%, 70% 내지 100%, 70% 내지 90%, 70% 내지 80%, 80% 내지 100%, 80% 내지 90%, 90% 내지 100%, 또는 95% 내지 100%는 검출 가능한 수준의 CD70 표면 단백질을 발현하지 않는다.

[0078] 일부 구현예에서, CTX130 세포 집단의 상당한 백분율은 하나 초과의 유전자 편집을 포함할 수 있으며, 이는 특정 백분율의 세포가 하나 초과의 유전자 및/또는 단백질을 발현하지 않게 한다.

[0079] 예를 들어, CTX130 세포 집단의 적어도 50%는 검출 가능한 수준의 2가지 표면 단백질을 발현하지 않을 수 있으며, 예를 들어 검출 가능한 수준의 β2M 및 TRAC 단백질, β2M 및 CD70 단백질, 또는 TRAC 및 CD70 단백질을 발현하지 않는다. 일부 구현예에서, 집단의 조작된 T 세포의 50% 내지 100%, 50% 내지 90%, 50% 내지 80%, 50% 내지 70%, 50% 내지 60%, 60% 내지 100%, 60% 내지 90%, 60% 내지 80%, 60% 내지 70%, 70% 내지 100%, 70% 내지 90%, 70% 내지 80%, 80% 내지 100%, 80% 내지 90%, 또는 90% 내지 100%는 검출 가능한 수준의 2가지 표면 단백질을 발현하지 않는다. 또 다른 예에서, CTX130 세포 집단의 적어도 50%는 검출 가능한 수준의 3가지 표적 단백질 β2M, TRAC, 및 CD70 단백질 모두를 발현하지 않을 수 있다. 일부 구현예에서, 집단의 조작된 T 세포의 50% 내지 100%, 50% 내지 90%, 50% 내지 80%, 50% 내지 70%, 50% 내지 60%, 60% 내지 100%, 60% 내지 90%, 60% 내지 80%, 60% 내지 70%, 70% 내지 100%, 70% 내지 90%, 70% 내지 80%, 80% 내지 100%, 80% 내지 90%, 또는 90% 내지 100%는 검출 가능한 수준의 β2M, TRAC, 및 CD70 표면 단백질을 발현하지 않는다.

[0080] 일부 구현예에서, CTX130 세포의 집단은 명세서에 기재된 편집일 수 있는 1개 초과의 유전자 편집(예를 들어, 1개 초과의 유전자에서)을 포함할 수 있다. 예를 들어, CTX130 세포의 집단은 가이드 RNA TA-1을 사용하여 CRISPR/Cas 기술을 통해 파괴된 *TRAC* 유전자를 포함할 수 있다(또한 표 2, 서열번호 6 내지 7 참조). 대안적으로 또는 추가적으로, CTX130 세포의 집단은 B2M-1의 가이드 RNA를 사용하여 CRISPR/Cas 기술을 통해 파괴된 *β2M* 유전자를 포함할 수 있다(또한 표 2, 서열번호 10 내지 11 참조). 이와 같은 CTX130 세포는 **표 4**에 열거된 뉴클레오타이드 서열 중 하나 이상을 포함하는 *β2M* 유전자에 인델(Indel)을 포함할 수 있다. 예를 들어, CTX130 세포의 집단은 가이드 RNA CD70-7을 사용하여 CRISPR/Cas 기술을 통해 파괴된 *CD70* 유전자를 포함할 수

있다(또한 표 2, 서열번호 2 내지 3 참조). 또한, CTX130 세포의 집단은 **표 5**에 열거된 하나 이상의 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있는 *CD70* 유전자에 인델을 포함할 수 있다.

[0081] 일부 구현예에서, CTX130 세포는 비변형 T 세포에 비해 *TRAC* 유전자에 결실을 포함할 수 있다. 예를 들어, CTX130 세포는 *TRAC* 유전자에 단편 AGAGCAACAGTGCTGTGGCC(서열번호 17), 또는 이의 일부, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 또는 19개의 연속적인 염기쌍을 포함하는 서열번호 17의 단편의 결실을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, CTX130 세포는 *TRAC* 유전자에 서열번호 17의 단편을 포함하는 결실을 포함한다. 일부 구현예에서, 조작된 T 세포는 비변형 T 세포에 비해 *TRAC* 유전자에 서열번호 17의 결실을 포함한다. 일부 구현예에서, 조작된 T 세포는 비변형 T 세포에 비해 *TRAC* 유전자에 서열번호 17을 포함하는 결실을 포함한다.

[0082] 또한, CTX130 세포의 집단은 본 명세서에 개시된 것(예를 들어, 서열번호 46)과 같은 항-CD70 CAR을 발현하는 세포를 포함할 수 있다. 항-CD70 CAR의 코딩 서열은, 예를 들어 가이드 RNA TA-1에 의해 표적화된 영역에서, *TRAC* 유전자좌 내로 삽입될 수 있다(또한 표 2, 서열번호 6 내지 7 참조). 이러한 예에서, 예시적인 항-CD70 CAR의 아미노산 서열은 서열번호 46의 아미노산 서열을 포함한다.

[0083] 일부 구현예에서, CTX130 세포의 적어도 30% 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%는 항-CD70 CAR을 발현하는 CAR+ 세포이다. 또한 WO 2019/097305A2 및 WO2019/215500을 참조하며, 이들 각각의 관련 개시내용은 본 명세서에 언급된 주제 및 목적에 대하여 참조로 포함된다.

[0084] 특정 예에서, 본 명세서에 개시된 항-CD70 CAR-T 세포(예를 들어, CTX130 세포)는 30% 이상의 CAR+ T 세포, 0.4% 이하의 TCR+ T 세포, 30% 이하의 B2M+ T 세포, 및 2% 이하의 CD70+ T 세포를 가지는 T 세포의 집단이다.

[0085] *(v) 약학적 조성물*

[0086] 일부 양태에서, 본 개시내용은 본 명세서에 개시된 바와 같은 임의의 유전자 조작된 항-CD70 CAR T 세포, 예를 들어, CTX130 세포의 집단, 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 이러한 약학적 조성물은 또한 본 명세서에 개시된 인간 환자에서 암 치료에 사용될 수 있다.

[0087] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "약학적으로 허용되는"은 적절한 의학적 판단의 범주 내에서 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응, 또는 합리적인 이익/위험 비율에 상응하는 다른 문제 또는 합병증이 없이 대상체의 조직, 기관 및/또는 체액과 접촉하여 사용하기에 적합한 화합물, 물질, 조성물, 및/또는 투약 형태를 지칭한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "약학적으로 허용되는 담체"는 생리적으로 상용성인, 용매, 분산매, 코팅물, 항박테리아제 및 항진균제, 등장제 및 흡수 지연제 등을 지칭한다. 조성물은 약학적으로 허용되는 염, 예를 들어, 산 부가 염 또는 염기 부가 염을 포함할 수 있다. 예를 들어, 문헌[Berge *et al*., (1977) J Pharm Sci 66:1-19]을 참조한다.

[0088] 일부 구현예에서, 약학적 조성물은 약학적으로 허용되는 염을 추가로 포함한다. 약학적으로 허용되는 염의 비-제한적 예는 산 부가 염(무기산(예를 들어, 염산 또는 인산), 또는 유기산, 예컨대 아세트산, 타르타르산, 만델산 등과 함께 폴리펩타이드의 유리 아미노 기로부터 형성됨)을 포함한다. 일부 구현예에서, 유리 카복실 기와 형성된 염은 무기 염기(예를 들어, 소듐, 포타슘, 암모늄, 칼슘 또는 페릭 하이드록사이드), 또는 유기 염기, 예컨대 이소프로필아민, 트리메틸아민, 2-에틸아미노 에탄올, 히스티딘, 또는 프로카인 등으로부터 유래된다.

[0089] 일부 구현예에서, 본 명세서에 개시된 약학적 조성물은 동결보존 용액(예를 들어, CryoStor® C55)에 현탁된 유전자 조작된 항-CD70 CAR-T 세포(예를 들어, CTX130 세포)의 집단을 포함한다. 본 개시내용에 사용하기 위한 동결보존 용액은 또한 아데노신, 덱스트로스, 덱스트란-40, 락토비온산, 수크로스, 만니톨, 완충제, 예컨대 N-)2-하이드록시에틸) 피페라진-N'-(2-에탄설폰산)(HEPES), 하나 이상의 염(예를 들어, 칼슘 클로라이드, 마그네슘 클로라이드, 포타슘 클로라이드, 포타슘 바이카보네이트, 포타슘 포스페이트 등), 하나 이상의 염기(예를 들어, 소듐 하이드록사이드, 포타슘 하이드록사이드 등), 또는 이들의 조합물을 포함할 수 있다. 동결보존 용액의 구성요소는 멸균수에 용해될 수 있다(주사용 품질). 임의의 동결보존 용액은 혈청을 실질적으로 함유하지 않을 수 있다(일상적인 방법으로는 검출 불가).

[0090] 일부 예에서, 동결보존 용액(예를 들어, 혈청을 실질적으로 함유하지 않는)에 현탁된 CTX130 세포와 같은 유전자 조작된 항-CD70 CAR-T 세포의 집단을 포함하는 약학적 조성물이 보관 바이알에 넣어질 수 있다.

[0091] 선택적으로 본 명세서에 개시된 바와 같은 동결보존 용액에 현탁될 수 있는 또한 본 명세서에 개시된 바와 같은 유전자 조작된 항-CD70 CAR T 세포(예를 들어, CTX130 세포)의 집단을 포함하는 본 명세서에 개시된 임의의 약학적 조성물은 추후 사용을 위해 T 세포의 생존율 및 생활성에 실질적으로 영향을 미치지 않는 환경에서, 예를 들어 세포 및 조직의 보관을 위해 흔히 적용되는 조건 하에 보관될 수 있다. 일부 예에서, 약학적 조성물은 -135℃ 이하에서 액체 질소의 기체상에 보관될 수 있다. 세포가 이러한 조건 하에 소정 기간 동안 보관된 후 외관, 세포수, 생존율, %$CAR^+$ T 세포, %$TCR^+$ T 세포, %$B2M^+$ T 세포, 및 %$CD70^+$ T 세포에 대하여 유의한 변화는 관찰되지 않았다.

[0092] 일부 구현예에서, 본 명세서에 개시된 약학적 조성물은 본 명세서에 개시된 항-CD70 CAR T 세포, 예컨대 CTX130 세포를 포함하는, 주입용 현탁액일 수 있다. 일부 예에서, 현탁액은 30% 이상의 CAR+ T 세포, 0.4% 이하의 TCR+ T 세포, 30% 이하의 B2M+ T 세포, 및 2% 이하의 CD70+ T 세포를 가지는 약 25 내지 85 × $10^6$개 세포/ml(예를 들어, 50 × $10^6$개 세포/ml)를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 현탁액은 약 25 × $10^6$개 CAR+ 세포/mL를 포함할 수 있다. 특정 예에서, 약학적 조성물은 바이알에 넣어질 수 있으며, 각각은 약 1.5×$10^8$개 CAR+ T 세포, 예컨대 CTX130 세포(예를 들어, 생존 세포)를 포함할 수 있다. 다른 예에서, 약학적 조성물은 바이알에 넣어질 수 있으며, 각각은 약 3×$10^8$개 CAR+ T 세포, 예컨대 CTX130 세포(예를 들어, 생존 세포)를 포함할 수 있다.

[0093] **II.항-CD70 CAR T 세포의 제조**

[0094] 당업계에 공지된 임의의 적합한 유전자 편집 방법은, 예를 들어 징크-핑거 뉴클레아제(ZFN), 전사 활성화제-유사 이펙터 뉴클레아제(TALEN), 또는 RNA-가이드 CRISPR-Cas9 뉴클레아제(CRISPR/Cas9; 클러스터링된 규칙적 간격의 짧은 회문 반복부 연관 9)를 사용하는 뉴클레아제-의존성 표적화된 편집이 본 명세서에 개시된 유전자 조작된 면역 세포(예를 들어, T 세포, 예컨대 CTX130 세포)를 제조하는 데 사용될 수 있다. 특정 예에서, 유전자 조작된 면역 세포, 예컨대 CTX130 세포는 공여체 주형으로서 아데노-연관 바이러스 벡터(AAV)를 사용함으로써 상동성 재조합과 조합하여 CRISPR 기술에 의해 생성된다.

[0095] *(i)유전자 조작을 위한 CRISPR-Cas9-매개 유전자 편집 시스템*

[0096] CRISPR-Cas9 시스템은 유전자 편집에 사용되는 RNA-가이드 DNA-표적화 플랫폼으로 용도가 변경된 원핵생물의 자연 발생적 방어 메커니즘이다. 이는 DNA의 절단을 표적화하기 위해 DNA 뉴클레아제 Cas9, 및 2개의 비코딩 RNA, 즉 crisprRNA(crRNA)와 트랜스-활성화 RNA(tracrRNA)에 의존한다. CRISPR은, 예를 들어 원핵생물을 감염시키거나 공격한 바이러스에 의해 세포에 이전에 노출된 외래 DNA와 유사성을 가지는 DNA의 단편(스페이서 DNA)을 함유하는 박테리아 및 고세균의 게놈에서 발견된 DNA 서열의 패밀리인 클러스터링된 규칙적 간격의 짧은 회문 반복부의 약어이다. 이러한 DNA 단편은 후속하는 공격 동안 예를 들어 유사한 바이러스로부터의 재도입 시 유사한 외래 DNA를 검출하고 파괴시키도록 원핵생물에 의해 사용된다. CRISPR 유전자좌의 전사는 외래 외인성 DNA를 인식하고 절단할 수 있는 Cas(CRISPR-연관) 단백질과 회합하고 이를 표적화하는 스페이서 서열을 포함하는 RNA 분자의 형성을 초래한다. CRISPR/Cas 시스템의 많은 유형 및 부류가 기재되어 있다(예를 들어, 문헌[Koonin *et al.*, (2017) Curr Opin Microbiol 37:67-78] 참조).

[0097] crRNA는 통상적으로 표적 DNA에서 20개의 뉴클레오타이드(nt) 서열과 왓슨-크릭(Watson-Crick) 염기 쌍형성을 통해 CRISPR-Cas9 복합체의 서열 인식 및 특이성을 유도한다. crRNA에서의 5' 20개 nt의 서열의 변경은 특이적 유전자좌로의 CRISPR-Cas9 복합체의 표적화를 가능하게 한다. 표적 서열 뒤에 프로토스페이서 인접 모티프(PAM)로 지칭되는 특이적 짧은 DNA 모티프(서열 NGG를 가짐)가 있으면, CRISPR-Cas9 복합체는 crRNA의 처음 20개 nt에 일치하는 서열을 함유하는 DNA 서열에만 결합한다.

[0098] TracrRNA는 crRNA의 3' 말단과 혼성화하여 RNA-이중나선 구조를 형성하고, 이는 Cas9 엔도뉴클레아제에 의해 결합되어, 이후 표적 DNA를 절단할 수 있는 촉매 활성 CRISPR-Cas9 복합체를 형성한다.

[0099] CRISPR-Cas9 복합체가 표적 부위에서 DNA에 결합되면, Cas9 효소 내의 2개의 독립적인 뉴클레아제 도메인은 각각 PAM 부위의 상류에서 DNA 가닥의 하나를 절단하여, 이중-가닥 파손(DSB)을 남기고, 여기서 DNA의 가닥 둘 모두는 염기 쌍에서 종료한다(블런트 말단).

[0100] 특이적 표적 부위에서의 DNA에 대한 CRISPR-Cas9 복합체의 결합 및 부위-특이적 DSB의 형성 후, 다음의 핵심 단계는 DSB의 복구이다. 세포는 DSB를 복구하기 위한 2개의 주요 DNA 복구 경로, 즉 비상동성 말단 연결(NHEJ) 및 상동성-지정 복구(HDR)를 사용한다.

[0101] NHEJ는 비분열 세포를 포함하는 대부분의 세포 유형에서 고도로 활성으로 보이는 강력한 복구 메커니즘이다. NHEJ는 오류 발생이 쉽고, 흔히 DSB의 부위에서 1 개의 뉴클레오타이드 내지 수백 개의 뉴클레오타이드의 제거 또는 첨가를 초래할 수 있지만, 이러한 변형은 통상적으로 20개 nt 미만이다. 생성된 삽입 및 결실(인델)은 유전자의 코딩 또는 비코딩 영역을 파괴할 수 있다. 대안적으로, HDR은 고충실도로 DSB를 복구하기 위해 내인성으로 또는 외인성으로 제공된 상동성 공여체 DNA의 긴 스트레치를 사용한다. HDR은 분열 세포에서만 활성이고, 대부분의 세포 유형에서 비교적 낮은 빈도로 생긴다. 본 개시내용의 많은 구현예에서, NHEJ는 복구 오페란트로서 이용된다.

[0102] (a) Cas9

[0103] 일부 구현예에서, Cas9(CRISPR 연관 단백질 9) 엔도뉴클레아제는 본 명세서에 개시된 바와 같은 유전자 조작된 T 세포를 제조하기 위한 CRISPR 방법에 사용된다. 다른 Cas9 동족체가 또한 사용될 수 있지만, Cas9 효소는 스트렙토코쿠스 피오게네스(*Streptococcus pyogenes*) 유래의 것일 수 있다. 야생형 Cas9가 사용될 수 있거나, Cas9의 변형된 버전(예를 들어, Cas9의 진화된 버전, 또는 Cas9 오쏠로그 또는 변이체)이 본 명세서에 제공된 바와 같이 사용될 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 일부 구현예에서, Cas9는 C-말단 및 N-말단 SV40 대형 T 항원 핵 국소화 서열(NLS)을 포함하도록 조작된 스트렙토코쿠스 피오게네스-유래 Cas9 뉴클레아제 단백질을 포함한다. 생성된 Cas9 뉴클레아제(sNLS-spCas9-sNLS)는, 재조합 *이. 콜라이*(*E. coli*) 발효에 의해 생성되고 크로마토그래피에 의해 정제된 162 kDa 단백질이다. spCas9 아미노산 서열은 본 명세서에서 서열번호 1로 제공된 UniProt 수탁 번호 Q99ZW2로서 확인될 수 있다.

[0104] Cas9 뉴클레아제의 아미노산 서열(서열번호 1):

[0105]
```
MDKKYSIGLDIGTNSVGWAVITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARR
RYTRRKNRICYLQEIFSNEMAKVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRK
KLVDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVDKLFIQLVQTYNQLFEENPINASGVDAKA
ILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQLSKDTYDDDLDNLLA
QIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDEHHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEI
FFDQSKNGYAGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTEELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELH
AILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIPYYVGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQS
FIERMTNFDKNLPNEKVLPKHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNRKVT
VKQLKEDYFKKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDRE
MIEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANRNFMQLIHDD
SLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVMGRHKPENIVIEMARENQTT
QKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEKLYLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDH
IVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVPSEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSE
LDKAGFIKRQLVETRQITKHVAQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINN
YHHAHDAYLNAVVGTALIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEI
TLANGEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRNSDKLI
ARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSFEKNPIDFLEAKGYKEV
KKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLYLASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVE
QHKHYLDEIIEQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHRDKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTT
IDRKRYTSTKEVLDATLIHQSITGLYETRIDLSQLGGD
```

[0106] (b) 가이드 RNA(gRNA)

[0107] 본 명세서에 기재된 바와 같은 CRISPR-Cas9-매개 유전자 편집은 가이드 RNA 또는 gRNA의 사용을 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "gRNA"는 특정 표적 서열에서 유전자 편집을 위해 *CD70* 유전자 또는 *TRAC* 유전자 또는 *β2M* 유전자 내의 특정 표적 서열로 Cas9를 유도할 수 있는 게놈-표적화 핵산을 지칭한다. 가이드 RNA는 편집을 위한 표적 유전자 내의 표적 핵산 서열, 및 CRISPR 반복 서열에 혼성화하는 적어도 하나의 스페이서 서열을 포함한다.

[0108] *CD70* 유전자를 표적화하는 예시적인 gRNA는 서열번호 2에 제공되어 있다. 또한 WO2019/215500을 참조하며, 이의 관련 개시내용은 본 명세서에 언급된 주제 및 목적에 대하여 본 명세서에 참조로 포함된다. 다른 gRNA 서열은 염색체 19(GRCh38: 염색체 19: 6,583,183-6,604,103; Ensembl; ENSG00000125726)에 위치한 *CD70* 유전자를 사용하여 설계될 수 있다. 일부 구현예에서, CD70 게놈 영역 및 Cas9를 표적화하는 gRNA는 CD70 게놈 영역에서 파손을 형성하여 mRNA 또는 단백질의 발현을 방해하는 *CD70* 유전자 내의 인델을 생성한다.

[0109] *TRAC* 유전자를 표적화하는 예시적인 gRNA는 서열번호 6에 제공된다. WO2019/097305A2를 참조하며, 이의 관련 개시내용은 본 명세서에 언급된 주제 및 목적에 대하여 본 명세서에 참조로 포함된다. 다른 gRNA 서열은 염색체 14(GRCh38: 염색체 14: 22,547,506-22,552,154; Ensembl; ENSG00000277734)에 위치한 TRAC 유전자 서열을 사용

하여 설계될 수 있다. 일부 구현예에서, TRAC 게놈 영역 및 Cas9를 표적화하는 gRNA는 TRAC 게놈 영역에서 파손을 형성하여 mRNA 또는 단백질의 발현을 방해하는 *TRAC* 유전자 내의 인델을 생성한다.

[0110] *β2M* 유전자를 표적화하는 예시적인 gRNA는 서열번호 10에 제공된다. 또한, WO 2019/097305A2를 참조하며, 이의 관련 개시내용은 본 명세서에 언급된 목적 및 주제에 대하여 본 명세서에 참조로 포함된다. 다른 gRNA 서열은 염색체 15(GRCh38 좌표: 염색체 15: 44,711,477-44,718,877; Ensembl: ENSG00000166710)에 위치한 *β2M* 유전자 서열을 사용하여 설계될 수 있다. 일부 구현예에서, β2M 게놈 영역 및 RNA-가이드 뉴클레아제를 표적화하는 gRNA는 *β2M* 게놈 영역에서 파손을 형성하여 mRNA 또는 단백질의 발현을 방해하는 *β2M* 유전자 내의 인델을 생성한다.

*표 2*

sgRNA 서열 및 표적 유전자 서열.

| sgRNA 서열 | | | 서열번호 |
|---|---|---|---|
| ***CD70* sgRNA (CD70-7)** | 변형 | G*C*U*UUGGUCCCAUUGGUCGCguuuuagagcuagaaauagcaaguuaaaauaaggcuaguccguuaucaacuugaaaaaguggcaccgagucggugcU*U*U*U | 2 |
| | 비변형 | GCUUUGGUCCCAUUGGUCGCguuuuagagcuagaaauagcaaguuaaaauaaggcuaguccguuaucaacuugaaaaaguggcaccgagucggugcUUUU | 3 |
| ***CD70* sgRNA 스페이서** | 변형 | G*C*U*UUGGUCCCAUUGGUCGC | 4 |
| | 비변형 | GCUUUGGUCCCAUUGGUCGC | 5 |
| ***TRAC* sgRNA (TA-1)** | 변형 | A*G*A*GCAACAGUGCUGUGGCCguuuuagagcuagaaauagcaaguuaaaauaaggcuaguccguuaucaacuugaaaaaguggcaccgagucggugcU*U*U*U | 6 |
| | 비변형 | AGAGCAACAGUGCUGUGGCCguuuuagagcuagaaauagcaaguuaaaauaaggcuaguccguuaucaacuugaaaaaguggcaccgagucggugcUUUU | 7 |
| ***TRAC* sgRNA 스페이서** | 변형 | A*G*A*GCAACAGUGCUGUGGCC | 8 |
| | 비변형 | AGAGCAACAGUGCUGUGGCC | 9 |
| ***β2M* sgRNA (B2M-1)** | 변형 | G*C*U*ACUCUCUCUUUCUGGCCguuuuagagcuagaaauagcaaguuaaaauaaggcuaguccguuaucaacuugaaaaaguggcaccgagucggugcU*U*U*U | 10 |
| | 비변형 | GCUACUCUCUCUUUCUGGCCguuuuagagcuagaaauagcaaguuaaaauaaggcuaguccguuaucaacuugaaaaaguggcaccgagucggugcUUUU | 11 |
| ***β2M* sgRNA 스페이서** | 변형 | G*C*U*ACUCUCUCUUUCUGGCC | 12 |
| | 비변형 | GCUACUCUCUCUUUCUGGCC | 13 |
| **표적 서열 (PAM)** | | | |
| **(PAM) 포함 *CD70* 표적 서열** | GCTTTGGTCCCATTGGTCGC (GGG) | | 14 |
| ***CD70* 표적 서열** | GCTTTGGTCCCATTGGTCGC | | 15 |
| **(PAM) 포함 *TRAC* 표적 서열** | AGAGCAACAGTGCTGTGGCC (TGG) | | 16 |
| ***TRAC* 표적 서열** | AGAGCAACAGTGCTGTGGCC | | 17 |
| **(PAM) 포함 *β2M* 표적 서열** | GCTACTCTCTCTTTCTGGCC (TGG) | | 18 |
| ***β2M* 표적 서열** | GCTACTCTCTCTTTCTGGCC | | 19 |
| **예시적인 sgRNA 식** | | | |
| **sgRNA 서열** | nnnnnnnnnnnnnnnnnnnnguuuuagagcuagaaauagcaaguuaaaauaaggcuaguccguuaucaacuugaaaaaguggcaccgagucggugcuuuu | | 20 |
| **sgRNA 서열** | nnnnnnnnnnnnnnnnnnnnguuuuagagcuagaaauagcaaguuaaaauaaggcuaguccguuaucaacuugaaaaaguggcaccgagucggugc | | 21 |
| **sgRNA 서열** | n(17-30)guuuuagagcuagaaauagcaaguuaaaauaaggcuaguccguuaucaacuugaaaaaguggcaccgagucggugcu(1-8) | | 22 |

*는 2'-O-메틸 포스포로티오에이트 변형이 있는 뉴클레오타이드를 표시함.

"n"은 5' 말단의 스페이서 서열을 지칭함.

[0111]

[0112] II형 시스템에서, gRNA는 또한 tracrRNA 서열로 불리는 제2 RNA를 포함한다. II형 gRNA에서, CRISPR 반복 서열

및 tracrRNA 서열은 서로 혼성화하여 이중나선을 형성한다. V형 gRNA에서, crRNA는 이중나선을 형성한다. 두 시스템 모두에서, 이중나선은 부위-지정 폴리펩타이드에 결합하고, 그에 따라 가이드 RNA와 부위-지정 폴리펩타이드는 복합체를 형성한다. 일부 구현예에서, 게놈-표적화 핵산은 부위-지정 폴리펩타이드와의 회합으로 인해 복합체에 대한 표적 특이성을 제공한다. 따라서 게놈-표적화 핵산은 부위-지정 폴리펩타이드의 활성을 유도한다.

[0113] 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 각각의 가이드 RNA는 이의 게놈 표적 서열에 상보적인 스페이서 서열을 포함하도록 설계된다. 문헌[Jinek *et al.*, Science, 337, 816-821 (2012) 및 Deltcheva *et al.*, Nature, 471, 602-607 (2011)]을 참조한다.

[0114] 일부 구현예에서, 게놈-표적화 핵산(예를 들어, gRNA)은 이중-분자 가이드 RNA이다. 일부 구현예에서, 게놈-표적화 핵산(예를 들어, gRNA)은 단일-분자 가이드 RNA이다.

[0115] 이중-분자 가이드 RNA는 두 가닥의 RNA 분자를 포함한다. 제1 가닥은, 5'에서 3' 방향으로, 선택적인 스페이서 연장 서열, 스페이서 서열 및 최소 CRISPR 반복 서열을 포함한다. 제2 가닥은 최소 tracrRNA 서열(최소 CRISPR 반복 서열에 상보적임), 3' tracrRNA 서열 및 선택적인 tracrRNA 연장 서열을 포함한다.

[0116] II형 시스템에서 단일-분자 가이드 RNA("sgRNA"로 지칭됨)는, 5'에서 3'방향으로, 선택적 스페이서 연장 서열, 스페이서 서열, 최소 CRISPR 반복 서열, 단일-분자 가이드 링커, 최소 tracrRNA 배열, 3' tracrRNA 서열 및 선택적 tracrRNA 연장 서열을 포함한다. 선택적 tracrRNA 연장부는 가이드 RNA에 추가적인 기능(예를 들어, 안정성)을 제공하는 요소를 포함할 수 있다. 단일-분자 가이드 링커는 최소 CRISPR 반복부와 최소 tracrRNA 서열을 연결하여 헤어핀 구조를 형성한다. 선택적 tracrRNA 연장부는 하나 이상의 헤어핀을 포함한다. V형 시스템에서 단일-분자 가이드 RNA는, 5'에서 3' 방향으로, 최소 CRISPR 반복 서열 및 스페이서 서열을 포함한다.

[0117] "표적 서열"은 PAM 서열에 인접한 표적 유전자에 있으며, Cas9에 의해 변형될 서열이다. "표적 서열"은 PAM-가닥 및 상보적 비-PAM 가닥을 함유하는 이중-가닥 분자인 "표적 핵산"에서 소위 PAM-가닥에 있다. 당업자는 gRNA 스페이서 서열이 관심이 있는 표적 핵산의 비-PAM 가닥에 위치한 상보적 서열에 혼성화한다는 것을 인식한다. 따라서, gRNA 스페이서 서열은 표적 서열의 RNA 등가물이다.

[0118] 예를 들어, CD70 표적 서열이 5'- GCTTTGGTCCCATTGGTCGC-3'(서열번호 15)이면, gRNA 스페이서 서열은 5'-GCUUUGGUCCCAUUGGUCGC-3'(서열번호 5)이다. 또 다른 예에서, TRAC 표적 서열이 5'-AGAGCAACAGTGCTGTGGCC-3'(서열번호 17)이면, gRNA 스페이서 서열은 5'-AGAGCAACAGUGCUGUGGCC-3'(서열번호 9)이다. 또 다른 예에서, β2M 표적 서열이 5'-GCTACTCTCTCTTTCTGGCC-3'(서열번호 19)이면, gRNA 스페이서 서열은 5'-GCUACUCUCUCUUUCUGGCC-3'(서열번호 13)이다. gRNA의 스페이서는 혼성화(즉, 염기 쌍형성)를 통해 서열-특이적 방식으로 관심이 있는 표적 핵산과 상호작용한다. 따라서, 스페이서의 뉴클레오타이드 서열은 관심이 있는 표적 핵산의 표적 서열에 따라 달라진다.

[0119] 본 명세서의 CRISPR/Cas 시스템에서, 스페이서 서열은 시스템에 사용된 Cas9 효소에 의해 인식 가능한 PAM의 5'에 위치한 표적 핵산의 영역에 혼성화하도록 설계된다. 스페이서는 표적 서열과 완벽하게 일치할 수 있거나 불일치를 가질 수 있다. 각각의 Cas9 효소는 표적 DNA에서 인식하는 특정 PAM 서열을 가진다. 예를 들어, *에스. 피오게네스*(*S. pyogenes*)는 표적 핵산에서, 서열 5'-NRG-3'을 포함하는 PAM을 인식하며, 여기서 R은 A 또는 G를 포함하고, N은 임의의 뉴클레오타이드이며, N은 스페이서 서열에 의해 표적화된 표적 핵산 서열의 3' 바로 옆에 있다.

[0120] 일부 구현예에서, 표적 핵산 서열은 20개 뉴클레오타이드 길이를 가진다. 일부 구현예에서, 표적 핵산은 20개 미만의 뉴클레오타이드 길이를 가진다. 일부 구현예에서, 표적 핵산은 20개 초과의 뉴클레오타이드 길이를 가진다. 일부 구현예에서, 표적 핵산은 적어도 5, 10, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30개 이상의 뉴클레오타이드 길이를 가진다. 일부 구현예에서, 표적 핵산은 최대 5, 10, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30개 이상의 뉴클레오타이드 길이를 가진다. 일부 구현예에서, 표적 핵산 서열은 PAM의 첫 번째 뉴클레오타이드의 5' 바로 옆에 20개의 염기를 가진다. 예를 들어, 5'-NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNRG-3'을 포함하는 서열에서, 표적 핵산은 N에 대응하는 서열일 수 있으며, 여기서 N은 임의의 뉴클레오타이드이고, 밑줄 표시된 NRG 서열은 *에스. 피오게네스* PAM이다.

[0121] gRNA의 스페이서 서열은 관심이 있는 표적 유전자의 표적 서열(예를 들어, DNA 표적 서열, 예컨대 게놈 표적 서열)을 정의하는 서열(예를 들어, 20개 뉴클레오타이드 서열)이다. *CD70* 유전자를 표적화하는 gRNA의 예시적인 스페이서 서열은 서열번호 4에 제공되어 있다. *TRAC* 유전자를 표적화하는 gRNA의 예시적인 스페이서 서열은 서열번호 8에 제공되어 있다. *β2M*을 표적화하는 gRNA의 예시적인 스페이서 서열은 서열번호 12에 제공되어 있다.

[0122] 본 명세서에 개시된 가이드 RNA는 crRNA에서 스페이서 서열을 통해 임의의 관심이 있는 서열을 표적화할 수 있다. 일부 구현예에서, 표적 유전자에서 표적 서열과 가이드 RNA의 스페이서 서열 사이에 상보성 정도는 약 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%일 수 있다. 일부 구현예에서, 표적 유전자에서 표적 서열과 가이드 RNA의 스페이서 서열은 100% 상보성이다. 다른 구현예에서, 표적 유전자에서 표적 서열과 가이드 RNA의 스페이서 서열은 최대 10개의 불일치, 예를 들어 최대 9개, 최대 8개, 최대 7개, 최대 6개, 최대 5개, 최대 4개, 최대 3개, 최대 2개, 또는 최대 1개의 불일치를 함유할 수 있다.

[0123] 본 명세서에 제공된 바와 같이 사용될 수 있는 gRNA의 비-제한적 예는 WO 2019/097305A2, 및 WO2019/215500에 제공되어 있으며, 상기 이전 출원 각각의 관련 개시내용은 본 명세서에 언급된 목적 및 주제에 대하여 본 명세서에 참조로 포함된다. 본 명세서에 제공된 임의의 gRNA 서열에 대하여, 명시적으로 변형을 나타내지 않는 것들은 비변형 서열과 임의의 적합한 변형을 가지는 서열 둘 모두를 포괄하는 것을 의미한다.

[0124] 본 명세서에 개시된 임의의 gRNA에서 스페이서 서열의 길이는, 또한 본 명세서에 개시된 임의의 표적 유전자를 편집하는 데 사용되는 CRISPR/Cas9 시스템 및 구성요소에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 상이한 박테리아 종으로부터의 상이한 Cas9 단백질은 다양한 최적의 스페이서 서열 길이를 가진다. 따라서, 스페이서 서열은 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50개, 또는 50개 초과의 뉴클레오타이드 길이를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 스페이서 서열은 18 내지 24개 뉴클레오타이드 길이를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 표적화 서열은 19개 내지 21개 뉴클레오타이드 길이를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 스페이서 서열은 20개 뉴클레오타이드 길이를 포함할 수 있다.

[0125] 일부 구현예에서, gRNA는 sgRNA 서열의 5' 말단에 20개 뉴클레오타이드 스페이서 서열을 포함할 수 있는 sgRNA일 수 있다. 일부 구현예에서, sgRNA는 sgRNA 서열의 5' 말단에 20개 미만의 뉴클레오타이드 스페이서 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, sgRNA는 sgRNA 서열의 5' 말단에 20개 초과의 뉴클레오타이드 스페이서 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, sgRNA는 sgRNA 서열의 5' 말단에 17 내지 30개의 뉴클레오타이드를 가지는 다양한 길이의 스페이서 서열을 포함한다.

[0126] 일부 구현예에서, sgRNA는 sgRNA 서열의 3' 말단에 우라실을 포함하지 않는다. 다른 구현예에서, sgRNA는 sgRNA 서열의 3' 말단에 하나 이상의 우라실을 포함할 수 있다. 예를 들어, sgRNA는 sgRNA 서열의 3' 말단에 1 내지 8개의 우라실 잔기, 예를 들어, sgRNA 서열의 3' 말단에 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개의 우라실 잔기를 포함할 수 있다.

[0127] 임의의 sgRNA를 포함하여 본 명세서에 개시된 임의의 gRNA는 변형되지 않을 수 있다. 대안적으로, 이는 하나 이상의 변형된 뉴클레오타이드 및/또는 변형된 백본을 함유할 수 있다. 예를 들어, sgRNA와 같은 변형된 gRNA는, 5' 말단, 3' 말단, 또는 이 둘 모두에 위치할 수 있는 하나 이상의 2'-O-메틸 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다.

[0128] 특정 구현예에서, 하나 초과의 가이드 RNA는 CRISPR/Cas 뉴클레아제 시스템과 함께 사용될 수 있다. 각각의 가이드 RNA는 CRISPR/Cas 시스템이 하나 초과의 표적 핵산을 절단하도록 상이한 표적화 서열을 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 가이드 RNA는 Cas9 RNP 복합체 내에서 활성 또는 안정성과 같은 동일하거나 상이한 특성을 가질 수 있다. 하나 초과의 가이드 RNA가 사용되는 경우, 각각의 가이드 RNA는 동일하거나 상이한 벡터에서 인코딩될 수 있다. 하나 초과의 가이드 RNA의 발현을 구동하는 데 사용되는 프로모터는 동일하거나 상이하다.

[0129] 하나 초과의 적합한 Cas9 및 하나 초과의 적합한 gRNA가 본 명세서에 기재된 방법, 예를 들어 당업계에 공지되거나 본 명세서에 개시된 방법에 사용될 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 일부 구현예에서, 방법은 당업계에 공지된 Cas9 효소 및/또는 gRNA를 포함한다. 예는, 예를 들어 WO 2019/097305A2, 및 WO2019/215500에서 찾을 수 있으며, 상기 이전 출원 각각의 관련 개시내용은 본 명세서에 언급된 목적 및 주제에 대하여 본 명세서에 참조로 포함된다.

[0130] 일부 구현예에서, TRAC 게놈 영역을 표적화하는 gRNA는 **표 3**의 서열로부터 선택되는 적어도 하나의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 TRAC 유전자에 인델을 생성한다. 일부 구현예에서, *TRAC* 게놈 영역을 표적화하는 gRNA(예를 들어, 서열번호 6)는 **표 3**의 서열로부터 선택되는 적어도 하나의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 *TRAC* 유전자에 인델을 생성한다.

표 3

편집된 TRAC 유전자 서열.

| 설명 | 서열(결실은 대시(-)로 표시함; 삽입은 **굵은체**로 표시함) | 서열번호 |
|---|---|---|
| *TRAC* 유전자 편집 | AA----------GAGCAACAAATCTGACT | 23 |
| *TRAC* 유전자 편집 | AAGAGCAACAGTGCTGT-GCCTGGAGCAACAAATCTGACT | 24 |
| *TRAC* 유전자 편집 | AAGAGCAACAGTG-------CTGGAGCAACAAATCTGACT | 25 |
| *TRAC* 유전자 편집 | AAGAGCAACAGT------GCCTGGAGCAACAAATCTGACT | 26 |
| *TRAC* 유전자 편집 | AAGAGCAACAGTG----------CTGACT | 27 |
| *TRAC* 유전자 편집 | AAGAGCAACAGTGCTGT**G**GGCCTGGAGCAACAAATCTGACT | 28 |
| *TRAC* 유전자 편집 | AAGAGCAACAGTGC--TGGCCTGGAGCAACAAATCTGACT | 29 |
| *TRAC* 유전자 편집 | AAGAGCAACAGTGCTGTG**T**GCCTGGAGCAACAAATCTGACT | 30 |

[0131]

[0132] 일부 구현예에서, *β2M* 게놈 영역을 표적화하는 gRNA는 **표 4**의 서열로부터 선택되는 적어도 하나의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 *β2M* 유전자에 인델을 생성한다. 일부 구현예에서, *β2M* 게놈 영역을 표적화하는 gRNA(예를 들어, 서열번호 10)는 **표 4**의 서열로부터 선택되는 적어도 하나의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 *β2M* 유전자에 인델을 생성한다.

표 4

편집된 *β2M* 유전자 서열.

| 설명 | 서열(결실은 대시(-)로 표시함; 삽입은 **굵은체**로 표시함) | 서열번호 |
|---|---|---|
| *β2M* 유전자-편집 | CGTGGCCTTAGCTGTGCTCGCGCTACTCTCTCTTTCT-<br>GCCTGGAGGCTATCCAGCGTGAGTCTCTCCTACCCTCCCGCT | 31 |
| *β2M* 유전자-편집 | CGTGGCCTTAGCTGTGCTCGCGCTACTCTCTCTTTC--<br>GCCTGGAGGCTATCCAGCGTGAGTCTCTCCTACCCTCCCGCT | 32 |
| *β2M* 유전자-편집 | CGTGGCCTTAGCTGTGCTCGCGCTACTCTCTCTTT-----<br>CTGGAGGCTATCCAGCGTGAGTCTCTCCTACCCTCCCGCT | 33 |
| *β2M* 유전자-편집 | CGTGGCCTTAGCTGTGCTCGCGCTACTCTCTCTTTCTG**GATA**GCCTGGAGGC<br>TATCCAGCGTGAGTCTCTCCTACCCTCCCGCT | 34 |
| *β2M* 유전자-편집 | CGTGGCCTTAGCTGTGCTCGC----------<br>GCTATCCAGCGTGAGTCTCTCCTACCCTCCCGCT | 35 |
| *β2M* 유전자-편집 | CGTGGCCTTAGCTGTGCTCGCGCTACTCTCTCTTTC**TG**TGGCCTGGAGGCTA<br>TCCAGCGTGAGTCTCTCCTACCCTCCCGCT | 36 |

[0133]

[0134] 일부 구현예에서, *CD70* 게놈 영역을 표적화하는 gRNA는 **표 5**의 서열로부터 선택되는 적어도 하나의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 *CD70* 유전자에 인델을 생성한다. 일부 구현예에서, *CD70* 게놈 영역을 표적화하는 gRNA(예를 들어, 서열번호 2)는 **표 5**의 서열로부터 선택되는 적어도 하나의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 *CD70* 유전자에 인델을 생성한다.

표 5

편집된 CD70 유전자 서열.

| 설명 | 서열(결실은 대시(-)로 표시함; 삽입은 **굵은체**로 표시함) | 서열번호 |
|---|---|---|
| *CD70* 유전자-편집 | CACACCACGAGGCAGATCACCAAGCCCGCG--<br>CAATGGGACCAAAGCAGCCCGCAGGACG | 37 |
| *CD70* 유전자-편집 | CACACCACGAGGCAGATCACCAAGCCCGCG**A**ACCAATGGGACCAAAGCAGCC<br>CGCAGGACG | 38 |
| *CD70* 유전자-편집 | CACACCACGAGGCAGATC----------<br>ACCAATGGGACCAAAGCAGCCCGCAGGACG | 39 |
| *CD70* 유전자-편집 | CACACCACGAGGCAGATCACCAAGCCCGCG-<br>CCAATGGGACCAAAGCAGCCCGCAGGACG | 40 |
| *CD70* 유전자-편집 | CACACCACGAGGCAGATCACCAAGCCCGC-<br>ACCAATGGGACCAAAGCAGCCCGCAGGACG | 41 |
| *CD70* 유전자-편집 | CACACCACGAGGCAGATCACCA----------<br>AGCCCGCAGGACG | 42 |

[0135]

[0136] *(iii)T 세포로의 CAR 작제물 전달을 위한 AAV 벡터*

[0137] CAR 작제물을 인코딩하는 핵산은 아데노-연관 바이러스(AAV)를 사용하여 세포로 전달될 수 있다. AAV는 숙주 게놈에 부위 특이적으로 통합되어 CAR과 같은 이식유전자를 전달할 수 있는 작은 바이러스이다. 역위 말단 반복부(ITR)는 AAV 게놈 및/또는 관심이 있는 이식유전자에 측접하여 존재하고, 복제 기점으로서 작용한다. 또한 AAV 게놈에는, 전사될 때 표적 세포로의 전달을 위해 AAV 게놈을 캡슐화하는 캡시드를 형성하는 rep 및 cap 단백질이 존재한다. 이러한 캡시드의 표면 수용체는 AAV 혈청형을 부여하며, 이는 캡시드가 어느 표적 기관에 주로 결합할지를 결정하여 AAV에 의해 가장 효율적으로 감염되는 세포를 결정한다. 현재 12개의 인간 AAV 혈청형이 알려져 있다. 일부 구현예에서, CAR-코딩 핵산을 전달하는 데 사용되는 AAV는 AAV 혈청형 6(AAV6)이다.

[0138] 아데노-연관 바이러스는 여러 이유로 유전자 요법에 가장 흔히 사용되는 바이러스 중 하나이다. 첫째, AAV는 인간을 포함하여 포유동물에 투여 시 면역 반응을 유발하지 않는다. 둘째, AAV는 특히 적절한 AAV 혈청형 선택을 고려할 때, 표적 세포로 효과적으로 전달된다. 마지막으로, AAV는 게놈이 통합 없이 숙주 세포에서 지속할 수 있으므로 분열 세포와 비분열 세포 둘 모두를 감염시킬 수 있는 능력을 가진다. 이러한 특성으로 인해 AAV는 유전자 요법에 이상적인 후보물질이다.

[0139] CAR을 인코딩하는 핵산은 숙주 T 세포에서 관심이 있는 게놈 부위로 삽입되도록 설계될 수 있다. 일부 구현예에서, 표적 게놈 부위는 안전한 정착 유전자좌에 있을 수 있다.

[0140] 일부 구현예에서, (예를 들어, 바이러스 벡터, 예컨대 아데노-연관 바이러스(AAV) 벡터에 의해 운반될 수 있는 공여체 주형을 통해) CAR을 인코딩하는 핵산은 유전자 조작된 T 세포에서 *TRAC* 유전자를 파괴하고 CAR 폴리펩타이드를 발현하기 위해 *TRAC* 유전자 내의 위치에 삽입될 수 있도록 설계될 수 있다. *TRAC*의 파괴는 내인성 TCR의 기능 상실을 야기한다. 예를 들어, *TRAC* 유전자의 파괴는 본 명세서에 기재된 것들과 같은 엔도뉴클레아제 및 하나 이상의 *TRAC* 게놈 영역을 표적화하는 하나 이상의 gRNA로 생성될 수 있다. *TRAC* 유전자 및 표적 영역에 특이적인 임의의 gRNA, 예를 들어 본 명세서에 개시된 것들이 이러한 목적을 위해 사용될 수 있다.

[0141] 일부 예에서, *TRAC* 유전자의 게놈 결실 및 CAR 코딩 세그먼트로의 대체는 상동성 지정 복구 또는 HDR에 의해 생성될 수 있다(예를 들어, 바이러스 벡터, 예컨대 아데노-연관 바이러스(AAV) 벡터의 일부일 수 있는 공여체 주형을 사용함). 일부 구현예에서, *TRAC* 유전자에서의 파괴는 본 명세서에 개시된 것들과 같은 엔도뉴클레아제 및 하나 이상의 *TRAC* 게놈 영역을 표적화하는 하나 이상의 gRNA로 CAR 코딩 세그먼트를 *TRAC* 유전자로 삽입함으로써 생성될 수 있다.

[0142] 본 명세서에 개시된 바와 같은 공여체 주형은 CAR에 대한 코딩 서열을 함유할 수 있다. 일부 예에서, CAR-코딩 서열은, 예를 들어 CRISPR-Cas9 유전자 편집 기술을 사용하여 *TRAC* 유전자에서 관심이 있는 게놈 위치에 효율적인 HDR이 가능하도록 2개의 상동성 영역에 의해 측접될 수 있다. 이러한 경우에, 표적 유전자좌에서 DNA의 2가닥 모두 표적 유전자좌에 특이적인 gRNA에 의해 가이딩된 CRISPR Cas9 효소로 절단될 수 있다. 이후, HDR이 발생하여 이중-가닥 파손(DSB)을 복구하고 CAR을 코딩하는 공여체 DNA를 삽입한다. 이러한 발생이 정확하게 일어나기 위해, 공여체 서열은 *TRAC* 유전자와 같은 표적 유전자에서 DSB 부위를 둘러싸는 서열에 상보적인 측접 잔기(이하, "상동성 아암")로 설계된다. 이러한 상동성 아암은 DSB 복구를 위한 주형으로서 작용하여, 본질적으로 오류가 없는 메커니즘의 HDR을 가능하게 한다. 상동성 지정 복구(HDR)의 속도는 돌연변이와 절단 부위 사이의 거리의 함수이므로, 중복되거나 가까운 표적 부위를 선택하는 것이 중요하다. 주형은 상동성 영역에 의해 측접된 추가 서열을 포함할 수 있거나, 게놈 서열과 상이한 서열을 함유할 수 있으므로, 서열 편집이 가능하다.

[0143] 대안적으로, 공여체 주형은 DNA의 표적 위치에 대해 상동성 영역을 갖지 않을 수 있으며, 표적 부위에서의 절단 후 NHEJ-의존성 말단 연결에 의해 통합될 수 있다.

[0144] 공여체 주형은 단일-가닥 및/또는 이중-가닥의 DNA 또는 RNA일 수 있으며, 선형 또는 원형 형태로 세포에 도입될 수 있다. 선형 형태로 도입되는 경우, 공여체 서열의 말단은 당업자에게 공지된 방법에 의해(예를 들어, 핵외 분해로부터) 보호될 수 있다. 예를 들어, 선형 분자의 3' 말단에 하나 이상의 디데옥시뉴클레오타이드 잔기가 추가되고/되거나, 한쪽 또는 양쪽 말단에 자기-상보성 올리고뉴클레오타이드가 결찰된다. 예를 들어, 문헌[Chang *et al.*, (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:4959-4963; Nehls et al., (1996) Science 272:886-889]을 참조한다. 외인성 폴리뉴클레오타이드를 분해로부터 보호하는 추가적인 방법은 말단 아미노기(들)의 추가, 및 예를 들어 포스포로티오에이트, 포스포르아미데이트, 및 O-메틸 리보스 또는 데옥시리보스 잔기와 같은 변형된 뉴클레오타이드간 연결의 사용을 포함하지만, 이로 제한되지 않는다.

[0145] 공여체 주형은, 예를 들어, 복제 기점, 프로모터, 및 항생제 내성을 인코딩하는 유전자와 같은 추가적인 서열을 가지는 벡터 분자의 일부로서 세포에 도입될 수 있다. 더욱이, 공여체 주형은 세포에 네이키드 핵산으로서 도입되거나, 리포솜 또는 폴록사머와 같은 작용제와 복합체화된 핵산으로서 도입되거나, 바이러스(예를 들어, 아데노바이러스, AAV, 헤르페스바이러스, 레트로바이러스, 렌티바이러스, 및 인테그라제 결함 렌티바이러스(IDLV))에 의해 전달될 수 있다.

[0146] 일부 구현예에서, 공여체 주형은 내인성 프로모터 부근(예를 들어, 하류 또는 상류)의 부위에 삽입될 수 있고, 이에 따라 이의 발현이 내인성 프로모터에 의해 구동될 수 있다. 다른 구현예에서, 공여체 주형은 CAR 유전자의 발현을 제어하기 위해 외인성 프로모터 및/또는 인핸서, 예를 들어 구성적 프로모터, 유도성 프로모터, 또는 조직-특이적 프로모터를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 외인성 프로모터는 EF1α 프로모터이다. 다른 프로모터가 사용될 수 있다.

[0147] 게다가, 외인성 서열은 또한 전사 또는 번역 조절 서열, 예를 들어, 프로모터, 인핸서, 인슐레이터, 내부 리보솜 유입 부위, 2A 펩타이드를 인코딩하는 서열, 및/또는 폴리아데닐화 신호를 포함할 수도 있다.

[0148] **III.조혈 세포 악성종양의 치료**

[0149] 일부 양태에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 CTX130 세포와 같은 임의의 항-CD70 CAR T 세포의 집단을 사용하여 조혈 세포 악성종양(예를 들어, T 세포 또는 B 세포 악성종양, 또는 골수 세포 악성종양)을 가지는 인간 환자를 치료하는 방법이 본 명세서에서 제공된다. 동종이계 항-CD70 CAR T 세포 요법은 (i) 적합한 인간 환자에게 하나 이상의 림프구제거제의 1회 이상의 용량을 제공하는 것을 포함하는 컨디셔닝 요법(림프구제거 치료), 및 (ii) 본 명세서에 개시된 바와 같은 CTX130 세포와 같은 항-CD70 CAR T 세포의 집단을 인간 환자에게 투여하는 것을 포함하는 치료 요법(항-CD70 CAR T 세포 요법)의 2 단계의 치료를 포함할 수 있다. 적용 가능한 경우, 항-CD70 CAR T 세포의 다중 용량이 인간 환자에게 제공될 수 있고 림프구제거 치료가 항-CD70 CAR T 세포의 각각의 용량 전에 인간 환자에게 제공될 수 있고 림프구제거 치료가 항-CD70 CAR T 세포의 각각의 용량 전에 인간 환자에게 적용될 수 있다.

[0150] *(i)환자 집단*

[0151] 인간 환자는 진단, 치료 또는 요법이 요망되는 임의의 인간 대상체일 수 있다. 인간 환자는 임의의 연령일 수 있다. 일부 구현예에서, 인간 환자는 성인(예를 들어, 적어도 18세인 사람)이다. 일부 구현예에서, 인간 환자는 어린이이다. 일부 구현예에서, 인간 환자는 체중이 60 kg 이상이다.

[0152] 본 명세서에 기재된 방법에 의해 치료될 인간 환자는 조혈 세포 악성종양(예를 들어, CD70+ 질환 세포를 포함함)을 가지거나, 가지는 것으로 의심되거나, 가질 위험이 있는 인간 환자일 수 있다. 일부 예에서, 인간 환자는 T 세포 악성종양을 가지거나, 가지는 것으로 의심되거나, 가질 위험이 있다. 일부 예에서, 인간 환자는 B 세포 악성종양을 가지거나, 가지는 것으로 의심되거나, 가질 위험이 있다. 일부 예에서, 인간 환자는 골수 세포 악성종양을 가지거나, 가지는 것으로 의심되거나, 가질 위험이 있다. 조혈 세포 악성종양을 가지는 것으로 의심되는 대상체는 조혈 세포 악성종양의 하나 이상의 증상, 예를 들어 설명할 수 없는 체중 감소, 피로, 도한, 숨가쁨 또는 임파선 부종을 나타낼 수 있다. 조혈 세포 악성종양에 대한 위험이 있는 대상체는 조혈 세포 악성종양에 대한 하나 이상의 위험 인자, 예를 들어 약화된 면역계, 연령, 남성 또는 감염(예를 들어, 엡스타인-바 바이러스 감염)에 대한 하나 이상의 위험 인자를 가지는 대상체일 수 있다. 항-CD70 CAR T 세포(예를 들어, CTX130 세포) 치료를 필요로 하는 인간 환자는 일상적인 의료 검사, 예를 들어 신체 검사, 실험실 검사, 생검(예를 들어, 골수 생검 및/또는 림프절 생검), 자기 공명 영상(MRI) 스캔, 또는 초음파 검사에 의해 확인될 수 있다.

[0153] 일부 구현예에서, 인간 환자는 T 세포 악성종양, 예를 들어 재발성 또는 불응성 T 세포 악성종양을 가진다. 이러한 인간 환자는 CD70+ 질환 T 세포를 보유할 수 있다. 예는 피부 T-세포 림프종(CTCL), 말초 T-세포 림프종(PTCL) 및 T 세포 백혈병을 포함하지만, 이로 제한되지 않는다. 일부 예에서, T 세포 악성종양은 CTCL일 수 있으며, 이는 형질전환된 큰세포 림프종을 포함하는 균상 식육종(MF), 예를 들어 IIb기 이상, 또는 세자리 증후군(SS)을 포함할 수 있다.

[0154] 일부 예에서, T 세포 악성종양은 PTCL이다. 예는 혈관면역모세포성 T 세포 림프종(AITL), 역형성큰세포림프종(ALCL)(이는 Alk 양성 또는 Alk 음성일 수 있음), 성인 T 세포 백혈병 또는 림프종(ATLL)(이는 무증상 하위유형을 배제할 수 있음)(비-무증상 ATLL); 및 달리 분류되지 않는 말초 T-세포 림프종(PTCL-NOS)을 포함하지만, 이로 제한되지 않는다.

[0155] 일부 구현예에서, 인간 환자는 B 세포 악성종양, 예를 들어 재발성 또는 불응성 B 세포 악성종양을 가질 수 있다. 이러한 인간 환자는 CD70+ 질환 B 세포를 보유할 수 있다. 일부 예에서, 인간 환자는 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBCL)을 가진다. 이러한 인간 환자는 선행 항-CD19 CAR-T 세포 요법에 실패했을 수 있다. 다른 예에서, 인간 환자는 불량한 예후와 연관된 B-세포 비-호지킨 림프종(NHL)의 공격적 유형인 외투 세포 림프종(MCL)을 가진다.

[0156] 또 다른 구현예에서, 인간 환자는 골수 세포 악성종양, 예를 들어 재발성 또는 불응성 골수 세포 악성종양을 가질 수 있다. 일부 예에서, 인간 환자는 급성 골수성 백혈병(AML, 또한 급성 골수구성 백혈병으로도 지칭됨)을 가진다.

[0157] 일부 구현예에서, 인간 환자는 CD70+ 백혈병을 가진다. 일부 구현예에서, 인간 환자는 CD70+ T 세포 백혈병을 가진다. 일부 구현예에서, 인간 환자는 CD70+ 림프종을 가진다. 일부 구현예에서, 인간 환자는 CD70+ T 세포 림프종을 가진다.

[0158] 일부 구현예에서, 본 명세서에 기재된 방법에 의해 치료될 인간 환자는 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해 확인될 수 있는 CD70-발현 종양 세포를 포함하는 종양(CD70-발현 종양)을 갖는 인간 환자일 수 있다. 예를 들어, CD70-발현 종양은 대표적인 종양의 절제 또는 코어 생검에 의해 수집된 조직에서 면역조직화학(IHC)에 의해 확인될 수 있다. 다른 예에서, CD70-발현 종양은 말초 혈액 또는 골수에서 수집된 면역표현형에 의해 정의된 종양 세포에서 유세포 분석에 의해 확인될 수 있다. 특정 예에서, 본 명세서에 개시된 방법에 의해 치료될 인간 환자는 생물학적 샘플(예를 들어, 조직 샘플, 예컨대 림프절 샘플, 혈액 샘플 또는 골수 샘플)의 전체 암 세포에서 적어도 10% $CD70^+$ 종영 세포를 포함하는 종양을 가질 수 있다.

[0159] 본 명세서에 개시된 임의의 방법은 환자에서 CD70+ 종양 세포의 존재 및/또는 수준에 기초하여 동종이계 항-CD70 CAR T 요법에 적합한 인간 환자를 확인하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 확인 단계는, 예를 들어 IHC를 통해 후보 환자로부터 수득한 생검 샘플에서 CD70+ 종양 세포의 존재 및/또는 수준을 결정함으로써 수행될 수 있다. 대안적으로, 확인 단계는, 예를 들어 유세포 분석을 통해 후보 환자로부터 수득한 혈액 샘플 또는 골수 샘플에서 CD70+ 종양 세포의 존재 및/또는 수준을 결정함으로써 수행될 수 있다.

[0160] 본 명세서에 기재된 방법에 의해 치료될 인간 환자는 치료 후 재발하고/하거나 치료에 내성이 되고/되거나 치료에 비-반응성인 인간 환자일 수 있다. 비-제한적 예는 (a) 재발성 또는 불응성 조혈 세포 악성종양(예를 들어, T 세포 또는 B 세포 악성종양, 또는 골수 세포 악성종양), (b) SS 또는 균상 식육종(MF) IIB기 이상(이식이 필요할 수 있음), (c) 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBCL)(항-CD19 CAR T 세포 요법에 반응하지 않을 수 있음), (d)) PTCL, ATLL(예를 들어, 백혈병 ATLL, 림프종 ATLL), 또는 AITL이고 1차 전신 요법에 실패한 경우, (e) ALCL이고 브루툭시맙 베도틴을 포함하는 조합 요법에 실패한 경우, (f) ALK+ ALCL이고 2가지 선행 요법에 실패한 경우(예를 들어, 이러한 요법 중 하나는 브렌툭시맙 베도틴을 포함할 수 있음), (g) ALK-ALCL이고 한 가지 선행 요법에 실패한 경우, 또는 (h) MF 또는 SS이고 하나 이상(예를 들어, 적어도 2가지) 선행 전신 요법에 실패한 경우(일부 예에서, 선행 모가물리주맙 요법을 포함할 수 있음)를 가지는 환자를 포함한다.

[0161] 본 명세서에 기재된 방법에 의해 치료될 인간 환자는 최근에 선행 치료를 받은 인간 환자 또는 선행 치료를 받지 않은 환자일 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 방법에 의해 치료될 인간 환자는 유전자 변형 T 세포 집단의 제1 용량의 적어도 3개월 전에 모가물리주맙 치료를 받지 않았을 수 있다.

[0162] 본 명세서에 개시된 방법을 사용하여 치료된 임의의 인간 환자는 후속 치료를 제공받을 수 있다. 예를 들어, 인간 환자는 항-사이토카인 요법을 받는다. 또 다른 예에서, 인간 환자는 유전자 조작된 T 세포의 집단으로 치료한 후 자가 또는 동종이계 조혈 줄기 세포 이식을 받는다.

[0163] 인간 환자는 환자가 컨디셔닝 요법(림프구제거 치료) 및/또는 치료 요법(항-CD70 CAR-T 세포 요법)을 받는 데 적격인지 여부를 결정하기 위해 스크리닝될 수 있다. 예를 들어, 림프구제거 치료에 적격인 인간 환자는 다음 특성 중 하나 이상을 나타내지 않는다: (a) 동부 협력 종양 학회(ECOG) >1로 수행 상태의 변화, (b) 임상 상태의 유의한 악화(예를 들어, 컨디셔닝 요법 및/또는 치료 요법과 연관된 AE의 잠재적 위험을 증가시킬 수 있는 임상 상태의 유의한 악화), (c) 92% 초과의 포화 수준을 유지하기 위한 보충용 산소에 대한 요구, (d) 비조절성 심장 부정맥, (e) 혈관수축제 보조가 필요한 저혈압, (f) 활동성 감염, 및 (g) 임의의 급성 신경학적 독성(예를 들어, 2 등급 이상의 급성 신경학적 독성).

[0164] 다른 예에서, 치료 요법에 적격인 인간 환자는 다음 특성 중 하나 이상을 나타내지 않는다: (a) ECOG(Eastern Cooperative Oncology Group) >1에 대한 수행 상태의 변화, (b) 활동성 비조절성 감염, (c) 임상 상태의 유의

한 악화(예를 들어, 동종이계 CAR T 세포 주입과 연관된 AE의 잠재적 위험을 증가시킬 수 있는 임상 상태의 유의한 악화), 및 (d) 임의의 급성 신경학적 독성(예를 들어, 2 등급 이상의 급성 신경학적 독성).

[0165] 컨디셔닝 요법 및/또는 치료 요법과 연관된 AE의 잠재적 위험을 증가시킬 수 있는 임상 상태의 유의한 악화는 혈구감소증의 임상적으로 유의한 악화, 트랜스아미나제 수준의 임상적으로 유의한 증가(예를 들어, >3 × ULN), 총 빌리루빈의 임상적으로 유의한 증가(예를 들어, >2 × ULN), 및 혈청 크레아티닌의 임상적으로 유의한 증가를 포함할 수 있지만, 이로 제한되지 않는다.

[0166] 인간 환자는 이러한 스크리닝 결과에 기초하여 컨디셔닝 요법 및/또는 치료 요법으로부터 스크리닝되고 배제될 수 있다. 예를 들어, 인간 환자가 다음 배제 기준 중 임의의 것을 충족하는 경우, 인간 환자는 컨디셔닝 요법 및/또는 치료 요법에서 배제될 수 있다: (a) 선행 동종이계 줄기 세포 이식(SCT), (b) 스크리닝 시점에 자가 SCT로부터 60일 미만이고 심각한 합병증이 해결되지 않은 경우, (c) 임의의 항-CD70 표적화제를 이용한 선행 치료, (d) 자가 CD19 CAR T 세포를 제외한 임의의 CAR T 세포 또는 임의의 다른 변형된 T 또는 자연 살해(NK) 세포로의 사전 치료 및 환자가 DLBCL을 가지는 경우, (e) 임의의 림프제거 치료 또는 임의의 치료 요법의 임의의 부형제에 대한 공지된 금기사항, (f) 증상이 있거나 있었던 현재 또는 과거의 악성종양 삼출이 있는 T 세포 또는 B 세포 림프종, (g) 혈구탐식성 림프조직구증식증(HLH)의 임상 징후, (h) 뇌척수액(CSF) 또는 뇌 전이를 나타내는 자기 공명 영상(MRI)에서 검출 가능한 악성 T 세포, (i) 임상적으로 관련된 CNS 병리의 병력 또는 존재, (j) 스크리닝 전 6개월 이내에 불안정한 협심증, 부정맥 또는 심근 경색, (k) 전신 요법의 필요 없이 12개월 초과 동안 관해 상태에 있었고 치료 접근법으로 치료된 경우를 제외한, 이전 또는 현재의 악성종양(일부 예에서, 기저 세포 또는 편평 세포 피부 암종, 적절하게 절제된 자궁경부의 제자리 암종, 또는 완전히 절제되어 3년 초과 동안 관해 상태에 있었던 이전 악성종양은 허용될 수 있음), 및 (l) 비조절성의 급성으로 생명을 위협하는 박테리아, 바이러스, 또는 진균 감염.

[0167] 림프구제거 치료를 받은 인간 환자는 CTX130 세포와 같은 본 명세서에 개시된 항-CD70 CAR T 세포의 1회 이상의 용량을 받는 적격성에 대해 스크리닝될 수 있다. 예를 들어, 항-CD70 CAR T 세포 치료에 적격인 림프구제거 치료를 받은 인간 환자는 다음 특성 중 하나 이상을 나타내지 않는다:(a) 동부 협력 종양 학회(ECOG) >1로 수행 상태의 변화; (b) 활동성 비조절성 감염, (c) 임상 상태의 유의한 악화(예를 들어, 동종이계 CAR T 세포 주입과 연관된 AE의 잠재적 위험을 증가시킬 수 있는 임상 상태의 유의한 악화), 및 (d) 임의의 급성 신경학적 독성(예를 들어, 2 등급 이상의 급성 신경학적 독성).

[0168] 항-CD70 CAR T 세포의 각각의 투약 후, 인간 환자는 급성 독성, 예컨대 사이토카인 방출 증후군(CRS), 종양 용해 증후군(TLS), 신경독성(예를 들어, 면역 이펙터 세포-연관 신경독성 증후군 또는 ICANS), 및 이식편 대 숙주 질환(GvHD)에 대해 모니터링될 수 있다. 추가적으로, 다음 부작용 중 하나 이상이 모니터링될 수 있다: 저혈압, 신부전(예를 들어, 신세뇨관-유사 상피 세포의 억제에 의해 유발될 수 있음), 혈구탐식성 림프조직구증식증(HLH), 연장된 혈구감소증, 및/또는 조골세포의 억제. 항-CD70 CAR T 세포의 각각의 투약 후, 인간 환자는 독성 발생에 대해 적어도 28일 동안 모니터링될 수 있다.

[0169] 인간 환자가 급성 독성의 하나 이상의 증상을 나타낼 때, 인간 환자는 독성 관리를 받을 수 있다. 급성 독성의 하나 이상의 증상을 나타내는 환자에 대한 치료는 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, CRS의 증상(예를 들어, 심장, 호흡기, 및/또는 신경 이상)을 나타내는 인간 환자는 항-사이토카인 요법을 투여받을 수 있다. 추가적으로, CRS의 증상을 나타내지 않는 인간 환자는 항-사이토카인 요법을 투여받아 항-CD70 CAR T 세포의 증식을 촉진시킬 수 있다.

[0170] 대안적으로, 또는 추가적으로, 인간 환자가 급성 독성의 하나 이상의 증상을 나타낼 때, 인간 환자의 치료는 종료될 수 있다. 환자가 유해 사례(AE)의 하나 이상의 징후를 나타내는 경우, 예를 들어, 환자가 비정상적 검사 소견을 가지고/가지거나 환자가 질환 진행의 징후를 보이는 경우, 환자 치료가 또한 종료될 수 있다.

[0171] *(ii) 컨디셔닝 요법(림프구제거 요법)*

[0172] 본 명세서에 개시된 치료 방법에 적합한 임의의 인간 환자는 대상체의 내인성 림프구를 감소시키거나 고갈시키기 위해 림프구제거 요법을 제공받을 수 있다.

[0173] 림프구제거는 내인성 림프구 및/또는 T 세포의 파괴를 지칭하며, 이는 일반적으로 면역이식 및 면역요법 전에 사용된다. 림프구제거는 방사선 조사 및/또는 화학요법에 의해 달성될 수 있다. "림프구제거제"는 대상체에게 투여될 때 내인성 림프구 및/또는 T 세포를 감소시키거나, 고갈시키거나, 제거할 수 있는 임의의 분자일 수 있다. 일부 구현예에서, 림프구제거제는 림프구의 수를 상기 작용제의 투여 전 림프구의 수와 비교하여 적어도

10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 96%, 97%, 98%, 또는 적어도 99% 감소시키는 데 효과적인 양으로 투여된다. 일부 구현예에서, 림프구제거제는 대상체에서 림프구의 수가 검출 한계 미만이 되도록 림프구의 수를 감소시키는 데 효과적인 양으로 투여된다. 일부 구현예에서, 대상체는 적어도 1개(예를 들어, 2, 3, 4, 5개 이상)의 림프구제거제를 투여받는다.

[0174] 일부 구현예에서, 림프구제거제는 림프구를 특이적으로 살해하는 세포독성제이다. 림프구제거제의 예는, 제한없이, 플루다라빈, 사이클로포스파미드, 벤다무스틴, 5-플루오로우라실, 젬시타빈, 메토트렉세이트, 다카르바진, 멜팔란, 독소루비신, 빈블라스틴, 시스플라틴, 옥살리플라틴, 파클리탁셀, 도세탁셀, 이리노테칸, 에탑사이드 포스페이트, 미톡산트론, 클라드리빈, 데닐류킨 디프티톡스, 또는 DAB-IL2를 포함한다. 일부 예에서, 림프구제거제는 저선량 방사선조사를 동반할 수 있다. 컨디셔닝 요법의 림프구제거 효과는 일상적인 관행을 통해 모니터링될 수 있다.

[0175] 일부 구현예에서, 본 명세서에 기재된 방법은 하나 이상의 림프구제거제, 예를 들어 플루다라빈 및 사이클로포스파미드를 포함하는 컨디셔닝 요법을 포함한다. 본 명세서에 기재된 방법에 의해 치료하고자 하는 인간 환자는 컨디셔닝 단계에서 적합한 기간(예를 들어, 1 내지 5일) 동안 다회 용량의 하나 이상의 림프구제거제를 제공받을 수 있다. 환자는 림프구제거 기간 동안 1일 1회 림프구제거제 중 하나 이상을 제공받을 수 있다. 일례에서, 인간 환자는 2 내지 4일(예를 들어, 3일) 동안 하루에 약 20 내지 50 mg/㎡(예를 들어, 20 mg/㎡ 또는 30 mg/㎡)의 플루다라빈 및 2 내지 4일(예를 들어, 3일) 동안 하루에 약 300 내지 600 mg/㎡(예를 들어, 500 mg/㎡)의 사이클로포스파미드를 제공받는다. 또 다른 예에서, 인간 환자는 2 내지 4일(예를 들어, 3일) 동안 하루에 약 20 내지 30 mg/㎡(예를 들어, 25 mg/$m^2$)의 플루다라빈 및 2 내지 4일(예를 들어, 3일) 동안 하루에 약 300 내지 500 mg/㎡(예를 들어, 300 mg/$m^2$ 또는 400 mg/$m^2$)의 사이클로포스파미드를 제공받는다. 필요한 경우, 사이클로포스파미드의 용량은, 예를 들어 최대 1,000 mg/$m^2$까지 증가될 수 있다.

[0176] 그 다음 인간 환자는 본 명세서에 개시된 바와 같은 림프구제거 요법 후 적합한 기간 내에 임의의 항-CD70 CAR T 세포, 예컨대 CTX130 세포를 투여받을 수 있다. 예를 들어, 인간 환자는 항-CD70 CAR+ T 세포(예를 들어, CTX130 세포)를 투여하고 약 2 내지 7일(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7일) 전 하나 이상의 림프구고갈제를 받을 수 있다.

[0177] 동종이계 항-CD70 CAR-T 세포, 예컨대 CTX130 세포가 사전에 제조될 수 있으므로, 본 명세서에 개시된 바와 같은 림프구제거 요법은 인간 환자가 본 명세서에 개시된 동종이계 항-CD70 CAR-T 세포 요법에 적합한 것으로 확인된 후 짧은 시간 대역 내에(예를 들어, 2주 내에) T 세포 또는 B 세포 악성종양을 가지는 인간 환자에게 적용될 수 있다.

[0178] 본 명세서에 기재된 방법은 인간 환자에게 항-CD70 CAR+ T 세포를 재투약하는 것을 포함한다. 이러한 예에서, 인간 환자는 재투약 전에 림프구제거 치료를 받는다. 예를 들어, 인간 환자는 제1 림프구제거 치료 및 제1 용량의 CTX130을 받은 다음 제2 림프구제거 치료 및 제2 용량의 CTX130을 받을 수 있다. 또 다른 예에서, 인간 환자는 제1 림프구제거 치료 및 제1 용량의 CTX130, 제2 림프구제거 치료 및 제2 용량의 CTX130, 및 제3 림프구제거 치료 및 제3 용량의 CTX130을 받을 수 있다.

[0179] 임의의 림프구제거 단계 전에(예를 들어, 초기 림프구제거 단계 전에 또는 항-CD70 CAR T 세포, 예컨대 CTX130 세포의 재투약과 연관된 임의의 후속 림프구제거 단계 전에), 인간 환자는 환자가 림프구제거 치료에 적격인지 여부를 결정하기 위해 하나 이상의 특성에 대해 스크리닝될 수 있다. 예를 들어, 림프구제거 전에, 림프구제거 치료에 적격인 인간 환자는 다음 특성 중 하나 이상을 나타내지 않는다: (a) 동부 협력 종양 학회(ECOG) >1로 수행 상태의 변화, (b) 임상 상태의 유의한 악화(예를 들어, 림프구제거 치료와 연관된 AE의 잠재적 위험을 증가시킬 수 있는 임상 상태의 유의한 악화), (c) 92% 초과의 포화 수준을 유지하기 위한 보충용 산소에 대한 요구, (d) 비조절성 심장 부정맥, (e) 혈관수축제 보조가 필요한 저혈압, (f) 활동성 감염, 및 (g) 임의의 급성 신경학적 독성(예를 들어, 2 등급 이상의 급성 신경학적 독성). 일부 예에서, 림프구제거 치료와 연관된 유해 사례의 잠재적 위험을 증가시킬 수 있는 임상 상태의 유의한 악화는 임의의 혈구감소증의 임상적으로 유의한 악화, 트랜스아미나제 수준의 임상적으로 유의한 증가(예를 들어, >3 × ULN), 총 빌리루빈의 임상적으로 유의한 증가(예를 들어, >2 × ULN), 및/또는 혈청 크레아티닌의 임상적으로 유의한 증가를 포함할 수 있지만, 이로 제한되지 않는다.

[0180] 림프구제거 후, 인간 환자는 환자가 항-CD70 CAR T 세포를 이용한 치료에 적격인지의 여부를 결정하기 위해 하나 이상의 특성에 대해 스크리닝될 수 있다. 예를 들어, 항-CD70 CAR T 세포 치료 전 및 림프구제거 치료 후,

항-CD70 CAR T 세포 치료에 적격인 인간 환자는 다음 특성 중 하나 이상을 나타내지 않는다: (a) 동부 협력 종양 학회(ECOG) >1로 수행 상태의 변화; (b) 활동성 비조절성 감염, (c) 임상 상태의 유의한 악화(예를 들어, 동종이계 CAR T 세포 주입과 연관된 AE의 잠재적 위험을 증가시킬 수 있는 임상 상태의 유의한 악화), 및 (d) 임의의 급성 신경학적 독성(예를 들어, 2 등급 이상의 급성 신경학적 독성).

[0181] *(iii)항-CD70 CAR T 세포의 투여*

[0182] 본 개시내용의 양태는 인간 환자에 림프구제거 치료를 수행하는 단계 및 인간 환자에게 본 명세서에 기재된 유전자 조작된 T 세포(예를 들어, CTX130 세포)의 집단의 용량을 투여하는 단계를 포함하는 T 세포 또는 B 세포 악성종양을 치료하는 방법을 제공한다.

[0183] 항-CD70 CAR T 세포를 투여하는 것은 요망되는 효과(들)가 생성될 수 있도록 요망되는 부위, 예컨대 종양 부위에 유전자 조작된 T 세포 집단의 적어도 부분적인 국소화를 초래하는 방법 또는 경로에 의한 인간 환자로의 유전자 조작된 T 세포 집단의 배치(예를 들어, 이식)를 포함할 수 있다. 유전자 조작된 T 세포 집단은 이식된 세포 또는 세포의 구성요소의 적어도 일부가 생존 가능한 상태로 유지되는 대상체에서 요망되는 위치로의 전달을 초래하는 임의의 적절한 경로에 의해 투여될 수 있다. 대상체에게 투여한 후 세포의 생존 기간은 몇 시간, 예를 들어, 24시간만큼 짧은 것에서부터 며칠까지, 수년 또는 심지어 대상체의 일생, 즉, 장기간 생착만큼까지 길 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 일부 양태에서, 유전자 조작된 T 세포 집단의 유효량은 전신 투여 경로, 예컨대 복강내 또는 정맥내 경로를 통해 투여될 수 있다.

[0184] 일부 구현예에서, 유전자 조작된 T 세포 집단은, 표적 부위, 조직, 또는 기관에 직접 투여되는 것이 아니라, 세포 집단의 투여를 지칭하는 전신으로 투여되며, 따라서 대신에 대상체의 순환계에 들어가 신진대사 등의 유사한 과정을 거치도록 투여되는 것을 지칭한다. 적합한 투여 방식은 주사, 주입, 점적주입, 또는 섭취를 포함한다. 주사는, 제한 없이, 정맥내, 근육내, 동맥내, 척수강내, 심실내, 낭내, 안와내, 심장내, 피내, 복강내, 경기관, 피하, 표피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 내척수내, 및 흉골내 주사와 주입을 포함한다. 일부 구현예에서, 경로는 정맥내이다.

[0185] 유효량은 의학적 병태(예를 들어, T 세포 또는 B 세포 악성종양)의 적어도 하나 이상의 징후 또는 증상을 예방하거나 완화하는 데 필요한 유전자 조작된 T 세포 집단의 양을 지칭하고, 요망되는 효과를 제공하기에 충분한, 예를 들어, 의학적 병태를 가지는 대상체를 치료하기에 충분한 유전자 조작된 T 세포 집단의 양과 관련된다. 유효량은 또한, 질환의 증상의 발생을 예방하거나 지연시키거나, 질환의 증상의 경과를 변경하거나(비제한적으로 예를 들어, 질환의 증상의 진행을 늦춤), 질환의 증상을 역전시키기에 충분한 양을 포함한다. 임의의 주어진 경우에, 적절한 유효량은 일상적인 실험을 사용하여 당업자에 의해 결정될 수 있는 것으로 이해된다.

[0186] 유전자 조작된 T 세포 집단의 유효량은 CD70에 결합하는 CAR을 발현하는 약 $1\times10^{7}$개 CAR+ 세포 내지 약 $1\times10^{9}$개 CAR+ 세포, 예를 들어 약 $3\times10^{7}$개 세포 내지 약 $1\times10^{9}$개 세포를 포함할 수 있다.

[0187] 유전자 조작된 T 세포 집단의 유효량은 항-CD70 CAR($CAR^{+}$ 세포), 예를 들어 $CAR^{+}$ CTX130 세포를 발현하는 약 $3.0\times10^{7}$개 세포 내지 약 $9\times10^{8}$개 세포를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 유전자 조작된 T 세포 집단의 유효량은 적어도 $3.0\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ CTX130 세포, 적어도 $4\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ CTX130 세포, 적어도 $4.5\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ CTX130 세포, 적어도 $5\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ CTX130 세포, 적어도 $5.5\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ CTX130 세포, 적어도 $6\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ CTX130 세포, 적어도 $6.5\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ CTX130 세포, 적어도 $7\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ CTX130 세포, 적어도 $7.5\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ CTX130 세포, 적어도 $8\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ CTX130 세포, 적어도 $8.5\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ CTX130 세포, 또는 적어도 $9\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ CTX130 세포를 포함할 수 있다. 일부 예에서, $CAR^{+}$ CTX130 세포의 양은 $1\times10^{9}$개 세포를 초과하지 않을 수 있다.

[0188] 일부 구현예에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 유전자 조작된 T 세포 집단(예를 들어, CTX130 세포)의 유효량은 약 $3.0\times10^{7}$ 내지 약 $3\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ T 세포, 예를 들어 약 $1\times10^{7}$ 내지 약 $1\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ T 세포 또는 약 $1\times10^{8}$ 내지 약 $3\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ T 세포의 범위일 수 있다. 일부 구현예에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 유전자 조작된 T 세포 집단(예를 들어, CTX130 세포)의 유효량은 약 $1.5\times10^{8}$ 내지 약 $3\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ T 세포의 범위일 수 있다.

[0189] 일부 구현예에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 유전자 조작된 T 세포 집단(예를 들어, CTX130 세포)의 유효량은 약 $3.0\times10^{8}$ 내지 약 $9\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ T 세포, 예를 들어 약 $3.5\times10^{8}$ 내지 약 $6\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ T 세포 또는 약 $3.5\times10^{8}$ 내지 약 $4.5\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ T 세포의 범위일 수 있다. 일부 구현예에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 유전자 조작된 T 세포 집단(예를 들어, CTX130 세포)의 유효량은 약 $4.5\times10^{8}$ 내지 약 $9\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ T 세포의 범위일 수 있다. 일부 구현예에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 유전자 조작된 T 세포 집단(예를 들어, CTX130 세포)의 유효량은 약 $4.5\times10^{8}$ 내지 약 $6\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ T 세포의 범위일 수 있다. 일부 구현예에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 유전자 조작된 T 세포 집단(예를 들어, CTX130 세포)의 유효량은 약 $6\times10^{8}$ 내지 약 $9\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ T 세포의 범위일 수 있다. 일부 구현예에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 유전자 조작된 T 세포 집단(예를 들어, CTX130 세포)의 유효량은 약 $7.5\times10^{8}$ 내지 약 $9\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ T 세포의 범위일 수 있다.

[0190] 특정 예에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 유전자 조작된 T 세포 집단(예를 들어, CTX130 세포)의 유효량은 약 $3.0\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ T 세포를 포함할 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 개시된 바와 같은 유전자 조작된 T 세포 집단(예를 들어, CTX130 세포)의 유효량은 약 $4.5\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ T 세포를 포함할 수 있다. 다른 예에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 유전자 조작된 T 세포 집단(예를 들어, CTX130 세포)의 유효량은 약 $6\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ T 세포를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 유전자 조작된 T 세포 집단(예를 들어, CTX130 세포)의 유효량은 약 $7.5\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ T 세포를 포함할 수 있다. 또 다른 예에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 유전자 조작된 T 세포 집단(예를 들어, CTX130 세포)의 유효량은 약 $9\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ T 세포를 포함할 수 있다.

[0191] 일부 구현예에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 유전자 조작된 T 세포 집단(예를 들어, CTX130 세포)의 유효량은 약 $3\times10^{8}$ 내지 약 $9\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ T 세포의 범위일 수 있다. 일부 구현예에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 유전자 조작된 T 세포 집단(예를 들어, CTX130 세포)의 유효량은 약 $3\times10^{8}$ 내지 약 $7.5\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ T 세포의 범위일 수 있다. 일부 구현예에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 유전자 조작된 T 세포 집단(예를 들어, CTX130 세포)의 유효량은 약 $3\times10^{8}$ 내지 약 $6\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ T 세포의 범위일 수 있다. 일부 구현예에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 유전자 조작된 T 세포 집단(예를 들어, CTX130 세포)의 유효량은 약 $3\times10^{8}$ 내지 약 $4.5\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ T 세포의 범위일 수 있다.

[0192] 일부 구현예에서, 유전자 조작된 T 세포 집단의 유효량은 유전자 조작된 T 세포 집단의 용량, 예를 들어 약 $3.0\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ CTX130 세포 내지 약 $9\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ CTX130 세포를 포함하는 용량, 예를 들어 본 명세서에 개시된 임의의 용량 또는 용량 범위를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 유효량은 $4.5\times10^{6}$개 $CAR^{+}$ CTX130 세포이다. 일부 예에서, 유효량은 $6\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ CTX130 세포이다. 일부 예에서, 유효량은 $7.5\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ CTX130 세포이다. 일부 예에서, 유효량은 $9\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ CTX130 세포이다.

[0193] 일부 예에서, CTCL, 예를 들어 큰세포 형질전환이 있는 균상 식육종(MF)을 가지는 환자는, 적합한 용량의 CTX130 세포, 예를 들어 약 $3\times10^{7}$ 내지 약 $6\times10^{8}$개 CAR+ CTX130 세포를 제공받을 수 있다. 이러한 MF 환자는 약 $3\times10^{7}$개 CAR+ CTX130 세포를 투여받을 수 있다. 대안적으로, MF 환자는 약 $1\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ CTX130 세포를 투여받을 수 있다. 또 다른 예에서, MF 환자는 약 $3\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ CTX130 세포를 투여받을 수 있다. 또 다른 예에서, MF 환자는 약 $4.5\times10^{8}$개의 $CAR^{+}$ CTX130 세포를 투여받을 수 있다. 또 다른 예에서, MF 환자는 약 $6\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ CTX130 세포를 투여받을 수 있다. 또 다른 예에서, MF 환자는 약 $7.5\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ CTX130 세포를 투여받을 수 있다. 또 다른 예에서, MF 환자는 약 $9\times10^{8}$개 $CAR^{+}$ CTX130 세포를 투여받을 수 있다.

[0194] 일부 예에서, CTCL, 예를 들어 큰세포 형질전환이 있는 균상 식육종(MF)을 가지는 환자는 적합한 용량의 CTX130 세포, 예를 들어 약 $9\times10^{9}$ 내지 약 $1.0\times10^{9}$개 $CAR^{+}$ CTX130 세포를 제공받을 수 있다. 이러한 MF 환자는 약 9×

$10^9$개 $CAR^+$ CTX130 세포를 투여받을 수 있다. 대안적으로, MF 환자는 약 $1.0\times10^9$개 $CAR^+$ CTX130 세포를 투여받을 수 있다.

[0195] 일부 구현예에서, CTX130 세포의 적합한 용량은 약학적 조성물의 하나 이상의 바이알로부터 투여되며, 각각의 바이알은 약 $1.5\times10^8$개 CAR+ CTX130 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, CTX130 세포의 적합한 용량은 약학적 조성물의 하나 이상의 바이알로부터 투여되며, 각각의 바이알은 약 $3\times10^8$개 CAR+ CTX130 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, CTX130 세포의 적합한 용량은 $1.5\times10^8$개 CAR+ CTX130 세포의 1배 이상, 예를 들어 $1.5\times10^8$개 CAR+ CTX130 세포의 1배, 2배, 3배, 4배, 5배, 또는 6배로 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서 CTX130 세포의 적합한 용량은 약학적 조성물의 하나 이상의 전체 또는 부분 바이알로부터 투여된다.

[0196] 본 명세서에 기재된 항-CD70 CAR T 세포 요법의 효능은 숙련된 임상의에 의해 결정될 수 있다. 징후 또는 증상 중 어느 하나 또는 전부, 일례로서 CD70의 수준이 유리한 방식으로 변경(예를 들어, 적어도 10% 감소)되거나, T 세포 또는 B 세포 악성종양의 다른 임상적으로 허용되는 증상 또는 마커가 개선되거나 호전되는 경우, 항-CD70 CAR T 세포 요법은 "효과적"인 것으로 간주된다. 효능은 또한, 입원이나 의료 개입의 필요성에 의해 평가되는 바와 같은 대상체의 증세 악화가 일어나지 않는 것에 의해 측정될 수 있다(예를 들어, T 세포 또는 B 세포 악성종양의 진행이 중단되거나 적어도 느려짐). 이들 적응증을 측정하는 방법은 당업자에게 알려져 있고/있거나 본 명세서에 기재되어 있다. 치료는 인간 환자에서 T 세포 또는 B 세포 악성종양의 임의의 치료를 포함하며, (1) 질환 억제, 예를 들어 증상의 진행을 억제하거나 늦추는 것; 또는 (2) 질환 완화, 예를 들어 증상의 퇴행을 유발하는 것 및 (3) 증상의 발생 가능성을 방지하거나 감소시키는 것을 포함한다.

[0197] 본 명세서에 기재된 치료 방법은 림프구제거의 반복 및 항-CD70 CAR T 세포의 재투약을 포함한다. 항-CD70 CAR T 세포의 각각의 재투약 전에, 환자는 또 다른 림프구제거 치료를 받는다. 항-CD70 CAR T 세포의 용량은 제1, 제2, 및 제3 용량에 대해 동일할 수 있다. 예를 들어, 제1, 제2, 및 제3 용량 각각은 $1\times10^7$개 CAR+ 세포, $3\times10^7$개 CAR+ 세포, $1\times10^8$개 CAR+ 세포, $1.5\times10^8$개 CAR+ 세포, $3\times10^8$개 CAR+ 세포, $4.5\times10^8$개 CAR+ 세포, $6\times10^8$개 CAR+ 세포, $7.5\times10^8$개 CAR+ 세포, $9\times10^8$개 CAR+ 세포일 수 있다. 다른 예에서, 항-CD70 CAR T 세포의 용량은 투약 수가 증가함에 따라 CAR+ 세포의 수가 증가할 수 있다. 예를 들어, 제1 용량은 $1\times10^7$개 CAR+ 세포이고, 제2 용량은 $1\times10^8$개 CAR+ 세포이며, 제3 용량은 $1\times10^9$개 CAR+ 세포이다. 대안적으로, CAR+ 세포의 제1 용량은 CAR+ 세포의 제2 및/또는 제3 용량보다 더 낮으며, 예를 들어 제1 용량은 $1\times10^7$개 CAR+ 세포이고 제2 및 제3 용량은 $1\times10^9$개 CAR+ 세포이다. 일부 예에서, 항-CD70 CAR T 세포의 용량은 각각의 후속 용량에 대하여 $1.5\times10^8$개 CAR+ 세포만큼 증가할 수 있다.

[0198] 환자는 항-CD70 CAR T 세포의 각각의 투여 후 재투약에 대해 평가될 수 있다. 예를 들어, 항-CD70 CAR T 세포의 제1 용량 후, 환자가 다음 중 하나 이상을 나타내지 않는 경우 인간 환자는 항-CD70 CAR T 세포의 제2 용량을 제공받는 것에 적격일 수 있다: (a) 용량-제한 독성(DLT), (b) 72시간 이내에 2 등급으로 해결되지 않는 4 등급 CRS, (c) 1 등급 초과의 GvHD, (d) 3 등급 이상의 신경독성, (e) 활동성 감염, (f) 혈역학적 불안정성, 및 (g) 장기 기능장애. 또 다른 예에서, 항-CD70 CAR T 세포의 제2 용량 후, 환자가 다음 중 하나 이상을 나타내지 않는 경우 인간 환자는 CTX130의 제3 용량을 제공받는 것에 적격일 수 있다: (a) 용량-제한 독성(DLT), (b) 72시간 이내에 2 등급으로 해결되지 않는 4 등급 CRS, (c) 1 등급 초과의 GvHD, (d) 3 등급 이상의 신경독성, (e) 활동성 감염, (f) 혈역학적 불안정성, 및 (g) 장기 기능장애.

[0199] 일부 구현예에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 인간 환자는 항-CD70 CAR T 세포(예를 들어, 본 명세서에 개시된 바와 같은 CTX130 세포)의 다중 용량, 즉 재투약을 제공받을 수 있다. 인간 환자는 최대 총 3회의 용량(즉, 2회 이하의 재투약)을 제공받을 수 있다. 2회의 연속 투약 사이의 간격은 약 8주 내지 약 2년일 수 있다. 일부 예에서, 환자가 제1 용량(또는 제2 용량) 후에 부분 반응(PR) 또는 완전 반응(CR)을 달성하고 후속적으로 마지막 투약 2년 이내에 진행되는 경우 인간 환자는 재투약받을 수 있다. 다른 예에서, 환자가 가장 최근의 투약 후 PR(CR은 아님) 또는 안정 질환(SD)를 달성할 때 재투약받을 수 있다.

[0200] 일부 예에서, 항-CD70 CAR T 세포의 재투약은 항-CD70 CAR T 세포의 제1 투약 최대 12주 후에 일어날 수 있다. 인간 환자는 제12주에 최대 2회까지 재투약받을 수 있다. 환자가 2회 용량을 투여받는 경우, 제2 투약은 제1 투약 3 내지 6주 또는 9 내지 12주 후에 투여될 수 있다. 환자가 3회 용량을 투여받는 경우, 제3 투약은 제1 투약

9 내지 12주 후에 투여될 수 있고 제2 투약은 제1 투약 3 내지 6주 후에 투여될 수 있다.

[0201] 항-CD70 CAR T 세포의 각각의 투약 후, 인간 환자는 급성 독성, 예컨대 사이토카인 방출 증후군(CRS), 종양 용해 증후군(TLS), 신경독성, 이식편 대 숙주 질환(GvHD), 및/또는 종양 표적 외 독성(예를 들어, 활성화된 T 림프구, B 림프구, 수지상 세포, 조골세포, 및/또는 신세뇨관-유사 상피에 대한 항-CD70 CAR T 세포의 활성으로 인함), 및/또는 비조절성 T 세포 증식에 대해 모니터링될 수 있다. 추가적으로, 다음의 부작용 중 하나 이상이 모니터링될 수 있다: 저혈압, 신부전(예를 들어, 신세뇨관-유사 상피 세포의 억제에 의해 유발될 수 있음), 혈구탐식성 림프조직구증식증(HLH), 연장된 혈구감소증, 및/또는 조골세포의 억제. 항-CD70 CAR T 세포의 각각의 용량 후, 인간 환자는 독성 발생에 대해 적어도 28일 동안 모니터링될 수 있다. 독성 발생이 관찰되는 경우, 인간 환자는 독성 관리를 받을 수 있다. 급성 독성의 하나 이상의 증상을 나타내는 환자에 대한 치료는 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, CRS의 증상(예를 들어, 심장, 호흡기, 및/또는 신경 이상)을 나타내는 인간 환자는 항-사이토카인 요법을 투여받을 수 있다. 추가적으로, CRS의 증상을 나타내지 않는 인간 환자는 항-사이토카인 요법을 투여받아 항-CD70 CAR T 세포의 증식을 촉진시킬 수 있다.

[0202] 본 명세서에 기재된 항-CD70 CAR T 세포 치료 방법은 선행 항-CD19 CAR T 세포 요법, 선행 1차 전신 요법, 선행 조합 요법, 또는 선행 모가물리주맙 요법을 받은 인간 환자에 대해 사용될 수 있다.

[0203] 본 명세서에 기재된 항-CD70 CAR T 세포 치료 방법은 또한 조합 요법에서 사용될 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 항-CD70 CAR T 세포 치료 방법은 T 세포 또는 B 세포 악성종양을 치료하기 위해, 또는 유전자 조작된 T 세포 집단의 효능을 향상시키고/시키거나 유전자 조작된 T 세포 집단의 부작용을 감소시키기 위해, 다른 치료제와 공동-사용될 수 있다.

[0204] **IV.조혈 세포 악성종양의 치료용 키트**

[0205] 본 개시내용은 또한 조혈 세포 악성종양, 예를 들어 T 세포 악성종양, B 세포 악성종양, 또는 골수 세포 악성종양을 치료하기 위한 방법에서 본 명세서에 기재된 바와 같은 항-CD70 CAR T 세포, 예컨대 CTX130 세포의 집단을 사용하기 위한 키트를 제공한다. 이러한 키트는 하나 이상의 림프구제거제를 포함하는 제1 약학적 조성물, 및 임의의 핵산 또는 유전자 조작된 T 세포의 집단(예를 들어, 본 명세서에 기재된 것들)을 포함하는 제2 약학적 조성물, 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 하나 이상의 용기를 포함할 수 있다.

[0206] 일부 구현예에서, 키트는 본 명세서에 기재된 임의의 방법에 사용하기 위한 설명서를 포함할 수 있다. 포함되는 설명서는 인간 환자에서 의도된 활성을 달성하기 위해 대상체에게 제1 약학적 조성물 및/또는 제2 약학적 조성물을 투여하는 설명을 포함할 수 있다. 키트는 인간 환자가 치료를 필요로 하는지의 여부를 확인하는 데 기초하여 치료에 적합한 인간 환자를 선택하는 설명을 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 설명서는 치료를 필요로 하는 인간 환자에게 제1 약학적 조성물 및 제2 약학적 조성물을 투여하는 설명을 포함한다.

[0207] 본 명세서에 기재된 항-CD70 CAR T 세포, 예컨대, CTX130 T 세포의 집단의 사용에 관한 설명서는 일반적으로 의도된 치료를 위한 투약량, 투약 일정, 및 투여 경로에 대한 정보를 포함한다. 용기는 단위 용량, 벌크 패키지(예를 들어, 다중-용량 패키지) 또는 서브-유닛 용량일 수 있다. 본 개시내용의 키트에 제공된 설명서는 통상적으로 라벨 또는 패키지 삽입물 상의 서면 설명서이다. 라벨 또는 패키지 삽입물은 유전자 조작된 T 세포의 집단이 대상체에서 조혈 세포(예를 들어, T 세포, B 세포, 또는 골수 세포) 악성종양을 치료, 발병 지연, 및/또는 완화시키는 데 사용된다는 것을 지시한다.

[0208] 본 명세서에 제공된 키트는 적합한 패키징을 갖는다. 적합한 패키징은 바이알, 보틀, 병, 및 가요성 패키징 등을 포함하지만, 이로 제한되지 않는다. 또한, 흡입기, 비강 투여 장치, 또는 주입 장치와 같은 특정 장치와 조합하여 사용하기 위한 패키지가 고려된다. 키트는 멸균 접근 포트를 가질 수 있다(예를 들어, 용기는 정맥내 용액 백 또는 피하 주사 바늘로 뚫을 수 있는 마개를 가지는 바이알일 수 있음). 용기는 또한 멸균 접근 포트를 가질 수 있다. 약학적 조성물 중 적어도 하나의 활성제는 본 명세서에 개시된 바와 같은 항-CD70 CAR-T 세포, 예컨대 CTX130 세포의 집단이다.

[0209] 키트는 선택적으로 완충제 및 설명적 정보와 같은 추가적인 구성요소를 제공할 수 있다. 일반적으로, 키트는 용기 및 용기 상에 있거나 용기와 결합된 라벨 또는 패키지 삽입물(들)을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 개시내용은 상기 기재된 키트의 내용물을 포함하는 제조 물품을 제공한다.

[0210] ***일반적인 기법***

[0211] 본 개시내용의 실행은 달리 지시되지 않는 한, 당업계의 기술 내에 있는 분자 생물학(재조합 기법을 포함함),

미생물학, 세포 생물학, 생화학, 및 면역학의 통상적인 기법을 이용할 것이다. 이러한 기법은 문헌, 예컨대 [*Molecular Cloning: A Laboratory Manual,* second edition (Sambrook, et al., 1989) Cold Spring Harbor Press; *Oligonucleotide Synthesis* (M. J. Gait, ed. 1984); *Methods in Molecular Biology*, Humana Press; *Cell Biology: A Laboratory Notebook* (J. E. Cellis, ed., 1989) Academic Press; Animal Cell Culture (R. I. Freshney, ed. 1987); Introuction to Cell and Tissue Culture (J. P. Mather and P. E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J. B. Griffiths, and D. G. Newell, eds. 1993-8) J. Wiley and Sons; Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.); Handbook of Experimental Immunology (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds.): Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J. M. Miller and M. P. Calos, eds., 1987); Current Protocols in Molecular Biology (F. M. Ausubel, et al. eds. 1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis, et al., eds. 1994); Current Protocols in Immunology (J. E. Coligan et al., eds., 1991); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999); Immunobiology (C. A. Janeway and P. Travers, 1997); Antibodies (P. Finch, 1997); Antibodies: a practice approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); Monoclonal antibodies: a practical approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); Using antibodies: a laboratory manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); The Antibodies (M. Zanetti and J. D. Capra, eds. Harwood Academic Publishers, 1995); *DNA Cloning: A practical Approach,* Volumes I and II (D.N. Glover ed. 1985); *Nucleic Acid Hybridization* (B.D. Hames & S.J. Higgins eds.(1985; *Transcription and Translation* (B.D. Hames & S.J. Higgins, eds. (1984; *Animal Cell Culture* (R.I. Freshney, ed. (1986; *Immobilized Cells and Enzymes* (IRL Press, (1986; and B. Perbal, *A practical Guide To Molecular Cloning* (1984); F.M. Ausubel *et al.* (eds.)]에 충분히 설명되어 있다.

[0212] 추가 설명 없이, 당업자는 상기 설명에 기초하여 본 발명을 최대한 활용할 수 있는 것으로 여겨진다. 따라서, 다음의 특정 구현예는 어떤 식으로든 나머지 개시내용의 제한이 아니라 단지 예시적인 것으로 해석되어야 한다. 본 명세서에 언급된 목적 또는 주제에 대하여 본 명세서에 인용된 모든 간행물은 참조로 포함된다.

[0213] **실시예**

[0214] 기재된 본 발명을 더 완전히 이해할 수 있도록, 하기 실시예를 제시한다. 본 출원에 기재된 실시예는 본 명세서에서 제공된 방법 및 조성물을 예시하기 위해 제공되며 어떠한 방식으로도 그 범주를 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다.

[0215] **실시예 1:다중 유전자 녹아웃이 있는 세포의 생성.**

[0216] 이 실시예는 2 또는 3개의 유전자를 동시에 발현하지 않는 인간 T 세포를 생성하기 위한 CRISPR/Cas9 유전자 편집 기술의 사용을 기재한다. 구체적으로, T 세포 수용체(TCR) 유전자(TCR 알파 불변(TRAC) 영역에서 편집된 유전자), β2-마이크로글로불린(β2M) 유전자, 및 분화 클러스터 70(CD70) 유전자를 CRISPR/Cas9 유전자 편집에 의해 편집하여 열거된 유전자 중 2개 이상이 결핍된 T 세포를 생성하였다. 간결성 및 명확성을 위해 다음 약어를 사용한다:

[0217] 2× KO: $TRAC^-/\beta2M^-$

[0218] 3× KO (CD70): $TRAC^-/\beta2M^-/CD70^-$

[0219] 활성화된 일차 인간 T 세포를 Cas9:gRNA RNP로 전기천공하였다. 뉴클레오펙션 혼합물은 Nucleofector™ Solution, $5\times10^6$개 세포, 1 μM Cas9, 및 5 μM gRNA를 함유하였다(문헌[Hendel *et al.*, *Nat Biotechnol.* 2015; 33(9):985-989, PMID: 26121415]에 기재된 바와 같음). 이중 녹아웃 T 세포(2× KO)의 생성을 위해 2가지 상이한 RNP 복합체로 세포를 전기천공하였으며, 각각의 RNP 복합체는 Cas 단백질, 및 TRAC(서열번호 6) 및 β2M(서열번호 10) sgRNA 중 하나를 상기 나타낸 농도로 함유하였다. 삼중 녹아웃 T 세포(3× KO)의 생성을 위해 3가지 상이한 RNP 복합체로 세포를 전기천공하였으며, 각각의 RNA 복합체는 Cas 단백질, 및 TRAC(서열번호 6), β2M(서열번호 10), 및 CD70(서열번호 2 또는 66) sgRNA 중 하나를 함유하였다. gRNA의 비변형 버전(또는 다른 변형된 버전)을 또한 사용할 수 있다(예를 들어, 서열번호 3, 7, 11, 및/또는 67). 또한 **표 6**의 서열을 참조한다.

표 6

**gRNA 서열/표적 서열.**

| 명칭 | 비변형 서열 | 변형된 서열 |
|---|---|---|
| TRAC sgRNA | AGAGCAACAGUGCUGUGGCCguuuuagagcuagaaauagcaaguuaaaauaaggcuaguccguuaucaacuugaaaaaguggcaccgagucggugcUUUU ( 서열번호 7) | A*G*A*GCAACAGUGCUGUGGCCguuuuagagcuagaaauagcaaguuaaaauaaggcuaguccguuaucaacuugaaaaaguggcaccgagucggugcU*U*U*U ( 서열번호 6) |
| TRAC sgRNA 스페이서 | AGAGCAACAGUGCUGUGGCC ( 서열번호 9) | A*G*A*GCAACAGUGCUGUGGCC ( 서열번호 8) |
| β2M sgRNA | GCUACUCUCUCUUUCUGGCCguuuuagagcuagaaauagcaaguuaaaauaaggcuaguccguuaucaacuugaaaaaguggcaccgagucggugcUUUU ( 서열번호 11) | G*C*U*ACUCUCUCUUUCUGGCCguuuuagagcuagaaauagcaaguuaaaauaaggcuaguccguuaucaacuugaaaaaguggcaccgagucggugcU*U*U*U ( 서열번호 10) |
| β2M sgRNA 스페이서 | GCUACUCUCUCUUUCUGGCC ( 서열번호 13) | G*C*U*ACUCUCUCUUUCUGGCC ( 서열번호 12) |
| CD70 sgRNA; 또한 T7로도 지칭됨 | GCUUUGGUCCCAUUGGUCGCguuuuagagcuagaaauagcaaguuaaaauaaggcuaguccguuaucaacuugaaaaaguggcaccgagucggugcUUUU ( 서열번호 3) | G*C*U*UUGGUCCCAUUGGUCGCguuuuagagcuagaaauagcaaguuaaaauaaggcuaguccguuaucaacuugaaaaaguggcaccgagucggugcU*U*U*U ( 서열번호 2) |
| CD70 sgRNA 스페이서; 또한 T7로도 지칭됨 | GCUUUGGUCCCAUUGGUCGC ( 서열번호 5) | G*C*U*UUGGUCCCAUUGGUCGC ( 서열번호 4) |
| CD70 sgRNA; 또한 T8로도 지칭됨 | GCCCGCAGGACGCACCCAUAguuuuagagcuagaaauagcaaguuaaaauaaggcuaguccguuaucaacuugaaaaaguggcaccgagucggugcUUUU ( 서열번호 67) | G*C*C*CGCAGGACGCACCCAUAguuuuagagcuagaaauagcaaguuaaaauaaggcuaguccguuaucaacuugaaaaaguggcaccgagucggugcU*U*U*U ( 서열번호 66) |
| CD70 sgRNA 스페이서; 또한 T8로도 지칭됨 | GCCCGCAGGACGCACCCAUA ( 서열번호 69) | G*C*C*CGCAGGACGCACCCAUA ( 서열번호 68) |

[0220]

[0221] 전기천공하고 약 1주일 후, 세포를 미처리 상태로 두거나 포르볼 미리스테이트 아세테이트(PMA)/이오노마이신으로 밤새 처리하였다. 다음날 세포를 유세포 분석을 위해 처리하여 편집된 세포 집단의 세포 표면에서 TRAC, β2M, 및 CD70 발현 수준을 평가하였다. 다음의 일차 항체를 사용하였다(**표 7**):

표 7

[0222] **항체.**

| 항체 | 항체 | 형광물질 | 카탈로그 번호 | 희석 | 1에 대해 |
|---|---|---|---|---|---|
| TCR | BW242/412 | PE | 130-091-236 (Miltenyi) | 1:100 | 1 mL |
| b2M | 2M2 | PE-Cy7 | 316318 (Biolegend) | 1:100 | 1 μL |
| CD70 | 113-16 | FITC | 355105 (Biolegend) | 1:100 | 1 mL |

[0223] **표 8**은 고효율 다중 유전자 편집을 나타낸다. 삼중 녹아웃 세포의 경우, 생존 세포의 80%가 TCR, β2M, 및 CD70의 발현이 없었다(**표 8**).

표 8

[0224] **3KO 세포 집단에서 발현이 없는 생존 세포의 %.**

| | TRAC KO | β2M KO | CD70 KO | 3KO |
|---|---|---|---|---|
| 3KO (CD70) | 99% | 79% | 99% | 80% |

[0225] T 세포의 삼중 유전자 편집이 세포 확장에 영향을 미치는지 여부를 평가하기 위해, 편집 후 2주의 기간에 걸쳐 이중 및 삼중 유전자 편집 T 세포(비편집 T 세포를 대조군으로 사용함) 사이에서 세포 수를 계수하였다. T 세포의 각각의 유전자형에 대해 $5\times10^{6}$개 세포를 생성하고 도말하였다.

[0226] 전기천공 후 대역 시험 동안 세포 증식(확장)은 계속되었다. 생존 세포의 수로 나타낸 바와 같이(데이터는 나타내지 않음), 유사한 세포 증식이 이중(β2M-/TRAC-) 및 삼중(β2M-/TRAC-/CD70-) 녹아웃 T 세포 사이에서 관찰되었다. 이들 데이터는 T 세포 증식에 의해 측정된 바와 같이 다중 유전자 편집이 T 세포 건강에 영향을 미치지 않는다는 것을 시사한다.

[0227] **실시예 2:다중 녹아웃이 있는 항-CD70 CAR T 세포의 생성.**

[0228] 이 실시예는 *TCR* 유전자, *β2M* 유전자, 및/또는 *CD70* 유전자를 발현하지 않고, CD70을 표적화하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 동종이계 인간 T 세포의 생성을 기재한다. 이들 세포는 $TCR^{-}$/β2$M^{-}$/$CD70^{-}$/항-CD70 $CAR^{+}$ 또는 3× KO(CD70) CD70 $CAR^{+}$로 지정된다.

[0229] 서열번호 43의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 재조합 아데노-연관 아데노바이러스 벡터 혈청형 6(AAV6)(서열번호 44의 공여체 주형을 포함하고, 서열번호 46의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD70 CAR을 인코딩함)을 Cas9:sgRNA RNP(1 μM Cas9, 5 μM gRNA)와 함께 활성화된 동종이계 인간 T 세포로 전달하였다. 다음 sgRNA를 사용하였다: TRAC(서열번호 6), β2M(서열번호 10), 및 CD70(서열번호 2 또는 66). gRNA의 비변형 버전(또는 다른 변형된 버전)을 또한 사용할 수 있다(예를 들어, 서열번호 3, 7, 11, 및/또는 67). 전기천공하고 약 1주일 후, 세포를 유세포 분석을 위해 처리하여 편집된 세포 집단의 세포 표면에서 TRAC, β2M, 및 CD70 발현 수준을 평가하였다. 다음의 일차 항체를 사용하였다(**표 9**):

*표 9*

[0230] **항체.**

| 항체 | 클론 | 형광물질 | 카탈로그 번호 | 희석 |
|---|---|---|---|---|
| TCR | BW242/412 | PE | 130-091-236(Miltenyi) | 1:100 |
| b2M | 2M2 | PE-Cy7 | 316318(Biolegend) | 1:100 |
| CD70 | 113-16 | FITC | 355105(Biolegend) | 1:100 |

[0231] **T 세포 비율 분석.** 그 다음 CD4+ 및 CD8+ 세포의 비율을 다음 항체를 사용하여 유세포 분석에 의해 편집된 T 세포 집단에서 평가하였다(**표 10**):

*표 10*

[0232] **항체.**

| 항체 | 클론 | 형광물질 | 카탈로그 번호 | 희석 |
|---|---|---|---|---|
| CD4 | RPA-T4 | BV510 | 300545(Biolegend) | 1:100 |
| CD8 | SK1 | BV605 | 344741(Biolegend) | 1:100 |

[0233] 편집된 항-CD70 CAR T 세포 집단에서 고효율 유전자 편집 및 CAR 발현을 달성하였다. 추가적으로, 편집은 CD4/CD8 T 세포 집단을 불리하게 변경하지 않았다. **도 1**은 삼중 녹아웃 CAR T 세포에서 고효율 유전자 편집 및 항-CD70 CAR 발현을 나타낸다. 생존 세포의 55% 초과는 TCR, β2M, 및 CD70의 발현이 없고, 또한 항-CD70 CAR을 발현하였다. **도 2**는 CD4/CD8 T 세포 하위세트의 정상적인 비율이 TRAC-/β2M-/CD70-/항-CD70 CAR+ 세포에서 유지되었음을 나타내며, 이는 이들 다중 유전자 편집이 CD4/CD8 T 세포 하위세트의 비율에 의해 측정된 바와 같이 T 세포 생물학에 영향을 미치지 않는다는 것을 시사한다.

[0234] **실시예 3:시험관내 항-CD70 CAR T 세포의 세포 증식에 대한 CD70 KO의 효과.**

[0235] CAR T 세포에서 *CD70* 유전자 파괴의 영향을 추가로 평가하기 위해, 실시예 2에 기재된 바와 같은 항-CD70 CAR T 세포를 생성하였다. 구체적으로, 2가지 상이한 gRNA(T7(서열번호 2) 및 T8(서열번호 66))을 사용하여 TRAC-/β

2M-/CD70- 항-CD70 CAR+ T 세포를 생성하였다. 전기천공 후, 편집 후 2주의 기간에 걸쳐 이중 또는 삼중 유전자 편집된 T 세포를 계수함으로써 세포 확장을 평가하였다. $5\times10^{6}$개의 세포를 생성하고 T 세포의 각각의 유전자형에 대해 도말하였다. 생존 세포의 수를 계수함으로써 증식을 결정하였다. **도 3**은 T7 또는 T8 gRNA를 이용하여 생성된 삼중 녹아웃 $TRAC^{-}/\beta2M^{-}/CD70^{-}$/항-CD70 $CAR^{+}$ T 세포가 이중 녹아웃 $TRAC^{-}/\beta2M^{-}$/항-CD70 $CAR^{+}$ T 세포에 비해 더 큰 세포 확장을 나타내었음을 보여준다. 이러한 데이터는 *CD70* 유전자의 녹아웃이 항--CD70 CAR+ T 세포에 세포 증식 이점을 제공한다는 것을 시사한다.

[0236] **실시예 4: CD70 KO는 여러 세포 유형에서 세포 살해를 개선시킨다.**

[0237] **다양한 암세포주에서 CD70 발현.** 다양한 암 유형을 살해하는 항-CD70 $CAR^{+}$ T 세포의 능력을 추가로 평가하기 위해 다양한 암 세포주에서 상대적인 CD70 발현을 측정하였다. Alexa Fluor 647 항-인간 CD70 항체(BioLegend 카탈로그 번호 355115)를 사용한 유세포 분석에 의해 CD70 발현을 측정하였다. **도 4a**의 FITC 항-인간 CD70 항체(BioLegend 카탈로그 번호 355105)를 사용하여 유세포 분석(**표 11A, 도 4Aa**)에 의해 암 세포주를 CD70 발현에 대해 평가하였다. SKOV-3(난소), HuT78(림프종), NCI-H1975(폐) 및 Hs-766T(췌장) 세포주는 ACHN과 유사하거나 높지만 A498보다는 낮은 CD70 발현 수준을 나타내었다(**표 22, 도 4a**).

[0238] 급성 골수성 백혈병(AML)은 높은 수준의 CD70을 발현할 수 있다. 유세포 분석에 의해 여러 급성 골수성 백혈병 세포주에서 CD70 발현을 측정하였다: THP-1, MV-4-11, EOL-1, HL-60, Kasumi-1 및 KG1. **표 11B**는 본 명세서에 기재된 세포 살해 데이터에 의해 입증된 바와 같이, 이들 세포가 CD70을 발현하고 항-CD70 CAR T 세포에 의해 모두 표적화될 수 있음을 나타낸다.

[0239] [표 11A]

암 세포주에서 CD70 발현.

[0240]

| 세포주 | 암 유형 | 상대적인 CD70 발현 |
|---|---|---|
| A498 | 신장 암종a | 고 |
| ACHN | 신장(전이로부터 유래됨) | 중-저 |
| SK-OV-3 | 난소 선암종 | 중 |
| NCI-H1975 | 폐 선암종(NSCLC) | 중 |
| Calu-1 | 폐 암종 | 저 |
| DU 145 | 전립선 암종 | 저 |
| SNU-1 | 위 암종 | 고 |
| Hs 766T | 췌장 암종 | 중 |
| MJ | 피부 T 세포 림프종(CTCL) | 고 |
| HuT78 | 피부 T 세포 림프종(CTCL; 세자리 증후군) | 중-저 |
| HuT102 | 피부 T 세포 림프종(CTCL) | 중 |
| HH | 피부 T 세포 림프종(CTCL) | 중-저 |
| PANC-1 | 췌장 암종 | 저 |
| U937 | AML: 급성 골수성 백혈병 | 발현 없음 |
| K562 | 만성 골수구성 백혈병 | 발현 없음(음성 대조군) |

[0241] [표 11B]

백혈병 세포주에서 CD70 발현.

| 예시적인 AML 세포주 | 유세포 분석에 의한 CD70 발현 |
|---|---|
| THP-1 | 88.9% |
| MV-4-11 | 99.9% |
| EOL-1 | 70.1% |
| HL-60 | 12.5% |
| Kasumi-1 | 19.4% |
| KG1 | 14.8% |

[0242]

[0243] **세포 살해.** CD70-발현 세포를 선택적으로 살해하는 항-CD70 CAR+ T 세포의 능력을 결정하였다. 3× KO(CD70)(TRAC-/B2M-/CD70$^-$) 항-CD70 CAR+ T 세포에 의한 현탁액 암세포주(예를 들어, "표적 세포"로 지칭되는 K562, MM.1S, HuT78 및 MJ 암세포)의 살해를 시험하기 위해 유세포 분석을 설계하였다. 사용된 표적 세포주 중 3개는 CD70-발현 암 세포(예를 들어, MM.1S, HuT78, 및 MJ)인 반면, 음성 대조군 암 세포로 사용된 세 번째 표적 세포주는 CD70 발현이 없다(예를 들어, K562). TRAC-/B2M-/CD70-/항-CD70 CAR+ T 세포를 CD70-발현 MM.1S, HuT78 또는 MJ 세포주 또는 CD70-음성 K562 세포주와 공동-배양하였다. 표적 세포를 5 μM efluor670(eBiosciences)으로 표지하고, 세척한 다음 96-웰 U-바닥 플레이트에서 웰당 50,000개의 표적 세포 밀도로 파종하였다. 표적 세포를 다양한 비율(0.5:1, 1:1, 2:1 및 4:1 CAR+ T 세포 대 표적 세포)로 TRAC-/B2M-/CD70- 항-CD70 CAR+ T 세포와 공동-배양하고 밤새 인큐베이션하였다. 24시간 공동-배양 후에 표적 세포 살해를 결정하였다. 세포를 세척하고 5 mg/mL DAPI(Molecular Probes)의 1:500 희석액을 함유하는 배지 200 μL(사멸된/죽어가는 세포를 계수하기 위함)를 각각의 웰에 첨가하였다. 그 다음 세포를 유세포 분석에 의해 분석하고 남은 살아있는 표적 세포의 양을 정량화하였다.

[0244] **도 4b, 도 4c, 도 4d, 및 도 4e**는 TRAC-/B2M-/CD70-항-CD70 CAR+ T 세포(예를 들어, CTX130)에 의한 선택적 표적 세포 살해를 입증한다. 3× KO(CD70) CAR+ T 세포와의 24시간 공동-배양은 심지어 0.5:1의 낮은 CAR+ T 세포 대 CD70-발현 표적 세포 비율에서도 T 세포 림프종 세포(HuT78)의 거의 완전한 살해를 초래하였다(**도 4d**). 마찬가지로, 24시간 공동-배양은 시험된 모든 CAR+ T 세포 대 표적 세포 비율에서 다발성 골수종 세포(MM.1S)의 거의 완전한 살해를 초래하였다(**도 4c**). 유사하게, 24시간 공동-배양은 시험된 모든 CAR+ T 세포 대 표적 세포 비율에서 높은 CD70 발현 T 세포 림프종 세포(MJ)의 효과적인 세포 용해를 초래하였다. 도 4e는 저발현 CD70 T 세포 림프종 세포(HuT78)에 대한 세포 용해를 나타낸다. 표적 세포의 살해는 TRAC-/B2M-CD70-/항-CD70 CAR+ T 세포가 시험된 임의의 이펙터:표적 세포 비율에서 대조군 샘플(예를 들어, 암세포 단독 또는 RNP T 세포가 없는 공동-배양)의 수준보다 높은 CD70-결핍 K562 세포의 살해를 유도하지 않음이 확인되었다(**도 4b**). 도 4f 내지 4k는 TRAC-/B2M-/CD70-항-CD70 CAR+ T 세포(예를 들어, CTX130)가 AML 세포주를 발현하는 다양한 CD70을 효과적으로 살해할 수 있음을 입증한다. 구체적으로, 24시간 공동-배양은 MV411(도 4f), EOL-1(도 4g), HL60(도 4h), Kasumi-1(도 4h), KG1(도 4j) 및 THP-1 세포(도 4k)를 포함한 다양한 급성 골수성 백혈병 세포주의 효과적인 사멸을 초래하였다. 추가적으로, 데이터는 급성 골수성 백혈병 세포에 대한 항-CD70 CAR T 세포의 살해 효과가 항-CD70 CAR T 세포의 용량 증가에 따라 증가한다는 것을 입증한다.

[0245] **실시예 5: CTX130 세포의 효능: 피부 T-세포 림프종 종양 이종이식 모델에서의 치료.**

[0246] T 세포 림프종을 제거하는 항-CD70 CAR을 발현하는 T 세포의 능력을 마우스에서 피하 T-세포 림프종(Hu T78 또는 Hh) 종양 이종이식 모델을 사용하여 생체내에서 평가하였다.

[0247] CRISPR/Cas9 및 AAV6을 상기와 같이 사용하여(예를 들어, 실시예 2 참조) CD70을 표적화하는 CAR 작제물을 사용하여 TRAC 유전자좌로부터의 동시 발현과 함께 TCR, β2M, CD70의 발현이 없는 인간 항-CD70 CAR+ T 세포를 형성하였다(서열번호 46). 이 실시예에서 활성화된 T 세포를 먼저 TRAC(서열 번호 6), β2M(서열 번호 10), 및 CD70(서열번호 2)을 표적화하는 sgRNA를 함유하는 3개의 별개의 Cas9:sgRNA RNP 복합체로 전기천공하였다. TRAC 유전자좌에서 DNA 이중 가닥 파손을 키메라 항원 수용체 카세트(유전자 발현을 위한 -/+ 조절 요소)에 측접하는 TRAC 유전자좌에 대한 우측 및 좌측 상동성 아암을 함유하는 AAV6-전달된 DNA 주형(서열 번호: 43)(서열번호 46의 아미노산 서열을 포함하는 항-CD70 CAR을 인코딩함)으로 상동성 지정 복구에 의해 복구하였다.

[0248] 생성된 변형된 T 세포는 TRAC-/β2M-/CD70- 항-CD70 CAR+ T 세포(CTX130)이다. CD70+ T-세포 림프종 세포주에

의해 유발된 질환을 개선하는 이러한 항-CD70 CAR+ T 세포의 능력을 Translational Drug Development, LLC(미국 애리조나주 스코츠데일 소재)가 이용하는 방법을 사용하여 NOG 마우스에서 평가하였다. 간단히 말해서, 12마리의 5 내지 8주령 암컷인 CIEA NOG(NOD.Cg-Prkdc$^{scid}$I12rg$^{tm1Sug}$/JicTac) 마우스를 연구 시작 5 내지 7일 전에 환기되는 마이크로아이솔레이터(microisolator) 케이지에 개별적으로 수용하고, 병원체가 없는 조건 하에 유지하였다. 마우스는 우측 뒷 옆구리에 3×10$^{6}$개 T-세포 림프종 세포(HuT78 또는 Hh)의 피하 접종을 받았다. 평균 종양 크기가 25 내지 75 mm$^{3}$(목표 약 50 mm$^{3}$)에 도달했을 때, 마우스를 **표 12**에 나타낸 것처럼 2개의 처리 그룹으로 추가로 나누었다. 제1일에, 처리 그룹 2는 **표 12**에 따라 항-CD70 CAR+ T 세포의 단일 200 μl 정맥내 용량을 제공받았다.

*표 12*

[0249] **처리 그룹.**

| 그룹 | CAR-T | 종양 세포 | CAR+ T 세포 처리 (*i.v.*) | N |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 없음 | 3×10$^{6}$개 세포/마우스 | 없음 | 5 |
| 2 | CTX130 CAR T 세포 | 3×10$^{6}$개 세포/마우스 | 1×10$^{7}$개 세포/마우스 | 5 |

[0250] 처리 개시일로부터 매주 2회 종양 부피를 측정하였다. 주사 후 제12일까지, 항-CD70 CAR T 세포로 처리된 HuT78 종양은 5마리의 처리된 마우스 중 4마리에서 종양 부피의 감소를 나타내기 시작하였다(**도 5a**). 추가 종양이 제30일 및 연구의 나머지 기간 동안 제거되었다(**도 5a**). HuT78 종양 성장은 90일의 연구 기간 동안 유의하게 억제되었다(**도 5a**). 항-CD70 CAR+ T 세포를 이용한 처리는 45일 기간에 걸쳐 시험된 모든 마우스에서 Hh T-세포 림프종 종양의 종양 성장을 효과적으로 늦추었다(**도 5b**).

[0251] 이러한 데이터는 항-CD70 CAR+ 세포(CTX130)가 확립된 HuT78 및 Hh T-세포 림프종 이종이식편에 대해 강력한 활성으로 생체내 인간 CD70+ T-세포 림프종 종양의 성장을 억제한다는 것을 입증한다.

[0252] **실시예 6:T 세포 또는 B 세포 악성종양이 있는 성인 대상체에서 동종이계 CRISPR-Cas9 조작된 T 세포(CTX130)의 안전성 및 효능에 대한 1상, 개방-라벨, 다기관, 용량 증대 및 코호트 확장 연구.**

[0253] CTX130은 CRISPR-Cas9(클러스터링된 규칙적 간격의 짧은 회문 반복부/CRISPR-연관 단백질 9) 유전자 편집 구성요소(단일 가이드 RNA[sgRNA] 및 Cas9 뉴클레아제)를 사용하여 생체외 유전자 변형된 동종이계 T 세포로 구성된 CD70-유도 T-세포 면역요법이다. 변형은 T-세포 수용체 알파 불변(TRAC), 베타 2-마이크로글로불린(B2M), 및 CD70 유전자좌의 표적화된 파괴 및 아데노-연관 바이러스(AAV) 발현 카세트를 통한 항-CD70 키메라 항원 수용체(CAR) 이식유전자의 TRAC 유전자좌로의 삽입을 포함한다. 항-CD70 CAR(서열 번호: 46)은 이전에 특성화된 항-CD70 하이브리도마 IF6, CD8 막관통 도메인(서열번호 54), 4-1BB 공동-자극 도메인(서열번호 57), 및 CD3ζ 신호전달 도메인(서열번호 61)으로부터 유래된 항-CD70 단일-사슬 가변 단편(서열번호 48)으로 구성된다.

[0254] 이 연구에서 적격 인간 환자는 림프구제거(LD) 화학요법 후 CTX130의 정맥내(IV) 주입을 제공받는다.

[0255] **1. 연구 집단**

[0256] 용량 증대(파트 A)는 다음과 같은 재발성/불응성 T 세포 또는 B 세포 악성 종양이 있는 성인 대상체를 포함한다: (a) 달리 분류되지 않는 말초 T 세포 림프종(PTCL-NOS), (b) 역형성큰세포림프종(ALCL), (c) 균상 식육종(MF)을 포함한 세자리 증후군(SS), (d) 성인 T 세포 백혈병/림프종(ATLL), 백혈병 및 림프종 하위유형, (e) 혈관면역모세포 T 세포 림프종(AITL), 및 (f) 미만성 거대 B 세포 림프종(DLBCL). 코호트 확장(파트 B)은 DLBCL 및 파트 A에 등록하기 위한 동일한 포함 및 배제 기준을 가진 대상체뿐만 아니라 본 명세서에 기재된 T 세포 림프종이 있는 대상체를 포함한다.

[0257] 이 연구에서 치료할 대상체는 T 또는 B 세포 림프종, 예를 들어 CTCL(대세포 림프종으로의 형질전환, 세자리 증후군을 포함하여, 균상 식육종 IIb기 이상을 포함함); PTCL: AITL, ALCL(Alk 양성 및 음성), ATLL(무증상 하위유형, 및 PTCL-NOS를 제외함); 및 자가 CD19-유도 CAR T 세포 요법 실패 후의 DLBCL을 포함할 수 있다.

[0258] **2. 연구 목적 및 근거**

[0259] 1상 용량 증대 연구의 목적은 재발성 또는 불응성 B 세포 악성종양이 있는 대상체에서 항-CD70 동종이계

CRISPR-Cas9 조작 T 세포(CTX130 세포)의 안전성과 효능을 평가하는 것이다.

[0260] 선택되고 기재된 T 또는 B 세포 림프종(예를 들어, 본 명세서에 개시된 것들)이 있는 대상체에서 충족되지 않은 의학적 요구가 있다. 선택된 T 또는 B 세포 악성종양은 CD70의 높은 발현을 가지는 것으로 보고되고, 따라서 CAR T 세포-유도 요법의 잠재적인 표적이다(Baba et al., (2008) *J Virol* 82 3843-52; Lens et al., (1999) *Br J Hematol* 106, 491-503; McEarchern et al., (2007) *Blood* 109, 1185-92; Shaffer et al., (2011) *Blood* 117, 4304-14).

[0261] CAR T 세포 요법이 엄청난 임상적 성공을 거두었지만, 승인된 제품은 자가 조직이며 환자-특이적 세포 수집 및 제조가 필요하다. 이러한 문제로 인해 자가 CAR T 세포 제품을 제공받은 적이 없는 등록된 대상체의 상당한 비율(1 연구에서 대략 30%)이 발생하였다(Schuster et al., (2019) *N Engl J Med* 380, 45-56). 추가적으로, 각각의 자가 제품의 이질적인 특성은 연구된 대부분의 질환 적응증에서 CAR T 세포 용량, 독성 및/또는 반응 간의 상관 관계를 입증하는 것을 어렵게 하였다(Mueller et al., (2017) *Blood* 130, 2317-2325). 최근 데이터는 출발 물질, 구체적으로 분리된 T 세포의 면역표현형이 질환 반응에 영향을 미칠 수 있음을 시사한다(Fraietta et al., (2018) *Nat Med* 24, 563-71). 이러한 발견은 긴급한 종양 감축(cytoreductive) 요법이 필요한 환자를 위한 동종이계 CAR T 치료 접근법의 이점을 뒷받침한다.

[0262] CTX130은 건강한 공여체의 T 세포에서 제조되며, 이는 제조 실행 전반에 걸쳐 일관된 CAR 발현 및 면역표현형을 생성하기 위한 것이다. 추가적으로, 건강한 공여체 세포에서 개시된 제조 공정은 치료 동안 의도하지 않은 악성종양 T 세포의 형질도입 위험을 크게 감소시킨다. CAR T 세포로 형질도입된 악성종양 B 세포로 재발한 ALL이 있는 대상체의 최근 보고된 사례는 CAR 삽입이 TCR 파괴와 커플링되지 않는 렌티바이러스 접근법의 이러한 잠재적 위험을 더 강조한다(Ruella et al., (2018) *Nat Med* 24, 1499-503). 개별 대상체 제조 실패, 일정 조정의 복잡성, 가교 화학요법과 연관된 독성, 및 대상체에 대한 백혈구성분채집술의 위험은 동종이계 CAR T 세포 제품에 적용되지 않는다. CTX130을 즉시 투여할 수 있다는 것은 대상체가 시기적절하게 제품을 제공받을 수 있도록 하고 대상체가 가교 화학요법을 받지 않아도 되도록 돕는다.

[0263] 진행성 재발성 악성종양 환자로부터 생성된 자가 CAR T 세포는 조기 소진에 취약할 수 있다(Fraietta et al., (2018) *Nat Med* 24, 563-71; Mackall, (2019) Cancer Research, AACR annual meeting, Abstract PL01-05; Riches et al., (2013) *Blood* 121, 1612-21). 고도로 정밀한 편집 도구인 CRISPR-Cas9 덕분에 건강한 공여체 T 림프구를 다중-편집 동종이계 CAR T 세포의 기초로 사용할 수 있게 되었다.

[0264] CTX130에 적용된 4가지 편집 단계는 다음과 같은 방식으로 안전성과 효능을 다룬다:

[0265] ● **안전성**: 내인성 TCR과 숙주 MHC 시스템과의 상호작용을 방해하여 이식편 대 숙주 질환(GvHD)을 억제하기 위한 TRAC 유전자좌의 결실.

[0266] ● **T 세포 활성**: CD70-표적화 CAR 작제물의 삽입, B2M 유전자좌의 결실, 및 CD70 유전자좌의 결실.

[0267] CRISPR-Cas9는 상동 재조합을 통해 결실된 유전자좌로서 CAR 작제물의 도입의 커플링을 가능하게 한다. AAV-전달 DNA 공여체 주형 및 HDR을 사용하여 TRAC 게놈 유전자좌에서 CAR의 전달 및 정확한 삽입은 렌티바이러스 및 레트로바이러스 형질도입과 같은 다른 일반적인 형질도입 방법을 사용하는 유전 물질의 무작위 삽입과 대조를 이룬다. TRAC 유전자좌에서 CAR 유전자 삽입은 CAR을 발현하는 거의 모든 세포에서 TCR의 제거를 초래한다. 내인성 TCR의 CRISPR-Cas9-매개 파괴는 GvHD의 위험을 상당히 감소시키거나 제거할 수 있는 한편, MHC 클래스 I 단백질의 파괴는 CAR T 세포 지속성을 증가시키는 것으로 가정된다. CD70 유전자좌의 결실은 CTX130의 지속성을 증가시키고 활성화된 CAR T 세포에 대한 증가된 발현을 통해 잠재적인 친교를 감소시키고자 한다.

[0268] **3. 연구 목적**

[0269] **일차 목적, 파트 A(용량 증대)**: 권고되는 파트 B 용량(RPBD)을 결정하기 위해 재발성/불응성 T 또는 B 세포 악성종양이 있는 대상체에서 CTX130의 용량을 증대시키는 것의 안전성을 평가함.

[0270] **일차 목적, 파트 B(코호트 확장)**: Lugano 반응 기준(Cheson et al., (2014) *J Clin Oncol* 32, 3059-68)에 따라 객관적 반응률(ORR)로 측정한 DLBCL 및 상기 개시된 다른 유형의 T 세포 림프종이 있는 대상체(예를 들어, 초기 자가 CD19 유도 CAR-T 요법에 실패한 대상체)에서 CTX130의 효능을 평가함.

[0271] **이차 목적(파트 A 및 B)**: 시간에 따른 반응 시간(TTR), 반응 기간(DoR), 무진행 생존율(PFS), 전체 생존기간(OS), 질환 조절율(DCR), 종양 진행 시간(TTP)을 포함한 CTX130의 활성을 평가함; 사이토카인 방출 증후군(CRS) 및 이식편 대 숙주 질환(GvHD)을 포함한, 특별 관심 이상 반응(AESI)을 설명하고 평가함; 및 혈액에서

CTX130의 약동학(확장 및 지속성)을 특성화함.

[0272] **탐색적 목적(파트 A 및 파트 B)**: 질환, 임상 반응, 내성, 또는 안전성과 연관된 게놈, 대사 및/또는 단백질체 바이오마커를 확인함; 잠재적으로 임상 반응과 관련된 약력학적 활성을 특성화함; CTX130의 효능 동역학을 추가로 설명하고 환자-보고 결과(PRO)에 대한 CTX130의 효과를 설명함.

[0273] **4. 연구 적격**

[0274] 4.1 포함 기준

[0275] 이 연구의 참여에 적격인 것으로 간주되려면, 대상체는 하기 열거된 모든 포함 기준을 충족하여야 한다:

[0276] 1. 18세 이상, 체중 60 kg 이상.

[0277] 2. 프로토콜-요구 연구 절차를 이해하고 준수할 수 있으며, 서면 사전 동의 문서에 자발적으로 서명할 수 있음.

[0278] 3. T 세포 림프종이 있는 대상체의 경우 다음 항목만 등록됨.

[0279] ● 다음 하위세트를 포함하여 T 세포 악성종양의 확인된 진단:

[0280] a) PTCL-NOS,

[0281] b) ALCL,

[0282] c) MF ≥IIB기(예를 들어, 이식이 필요할 수 있는 대상체)를 포함한 SS,

[0283] d) ATLL의 백혈병 및 림프종 하위유형,

[0284] e) 혈관면역모세포성 T-세포 림프종(AITL). 일부 예에서, 스크리닝 기간 이전 또는 도중에 임의의 삼출이 있었던 대상체는 배제될 수 있음.

[0285] ● PTCL-NOS, ATLL 또는 AITL이 있는 대상체는 1회 이상의 전신 요법에 실패한 바 있음.

[0286] ● ALCL이 있는 대상체는 브렌툭시맙 베도틴을 병용하거나 단일 약제로 이용하는 요법 및/또는 병용 화학요법에 실패했거나 부적격이거나 거부한 이력이 있어야 함.

[0287] ○ 역형성 림프종 키나제 음성(ALK-) ALCL이 있는 대상체는 이전에 한 가지 요법에 실패한 바 있음.

[0288] ○ 역형성 림프종 키나제 양성(ALK+) ALCL이 있는 대상체는 2개의 이전 요법에 실패한 바 있음.

[0289] ● 균상 식육종(MF) 또는 세자리 증후군(SS)이 있는 대상체는 다음 전신 요법 중 적어도 2개에 실패해야 함: 브렌툭시맙 베도틴, 로미뎁신(또는 기타 표시된 히스톤 데아세틸라제[HDAC] 억제제), 프랄라트렉세이트, 모가물리주맙 또는 화학요법. 모가물리주맙이 등록 전 마지막 요법이었다면, 모가물리주맙의 마지막 용량과 CTX130 주입 사이에 적어도 3개월이 있어야 함.

[0290] 4. B 세포 림프종이 있는 대상체의 경우: 자가 CD19 CAR T 세포 요법에 적격이지만 이에 대한 치료 시도에 실패한 대상체의 DLBCL.

[0291] 5. 대상체는 다음 중 하나에 의해 해당 지역 요구 사항(예를 들어, 임상실험 개선 수정법(Clinical Laboratory Improvement Amendments[CLIA] 또는 미국 외 지역의 경우 이에 상응)을 충족하는 실험실에서 결정한 CD70-발현 종양을 가져야 함.

[0292] ● 대표적인 종양 병변의 절제 또는 코어 생검으로 수집한 조직에서 면역조직화학(IHC)에 의한 CD70 양성(세포의 ≥10%).

[0293] ● 스크리닝 시 말초 혈액 또는 골수에서 수집된 면역표현형에 의해 정의된 종양 세포에서 유세포 측정에 의한 CD70 양성(세포의 ≥10%).

[0294] 6. 등록 전 3개월 이내에 그리고 진행 후 마지막 전신 또는 표적화 요법 후에 수행된 생검이 이용 가능한 경우를 제외하고, 스크리닝 시 새로 수득한 코어 또는 종양 병변의 절제 생검에서 조직을 제공할 의향이 있어야 함.

[0295] 7. 동부 협력 종양 학회(ECOG) 수행 상태 0 내지 1(**표 13** 참조).

[0296] 8. 본 명세서에 기재된 LD 화학요법 및 CAR T 세포 주입을 받기 위한 기준을 충족함.

[0297] 9. 적절한 장기 기능:

[0298] ● 신장: 크레아티닌 제거율(CrCl) ≥ 50 mL/분

[0299] ● 간:

[0300] ○ 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제(AST) 및 알라닌 아미노트랜스퍼라제(ALT) < 3× 정상 상한(ULN).

[0301] ○ 총 빌리루빈 < 2×ULN(길버트 증후군의 경우, 총 빌리루빈 < 3 mg/dL); 및 정상 접합 빌리루빈).

[0302] ● 심장: 혈역학적으로 안정적이고 심초음파에 의한 좌심실 박출률(LVEF) ≥ 45%.

[0303] ● 폐: 맥박 산소측정당 실내 공기에 대한 산소 포화 수준 > 92%.

[0304] ● 혈액학적: 혈소판 수 > 25,000/$mm^3$, 절대 호중구 수 > 500/$mm^3$.

[0305] 10. 가임기 여성 환자(초경 후, 온전한 자궁 및 적어도 1개의 난소를 가짐, 폐경후 1년 미만임)는 등록부터 마지막 CTX130 주입 후 적어도 12개월까지 매우 효과적인 피임법을 사용하는 데 동의하여야 함.

[0306] 11. 남성 환자는 등록부터 마지막 CTX130 주입 후 적어도 12개월까지 매우 효과적 피임법을 사용하는 데 동의하여야 함.

*표 13*

[0307] **ECOG 수행 상태 척도.**

| 등급 | 설명 |
|---|---|
| 0 | 완전히 활동적이며 제한 없이 질환 전의 기능을 수행할 수 있음 |
| 1 | 육체적으로 힘든 활동에 제한이 있지만 걸을 수 있고 가벼운 집안일, 사무직과 같이 부담이 덜하고 주로 앉아서 하는 일을 수행할 수 있음 |
| 2 | 걸을 수 있고 모든 자가 관리가 가능하지만 깨어 있는 시간의 약 50% 초과에 대해 어떤 활동도 수행할 수 없음 |
| 3 | 제한된 자가 관리만 가능함. 깨어있는 시간의 50% 초과를 침대나 의자에서만 보냄 |
| 4 | 완전히 비활성화됨; 자기 관리를 수행할 수 없음; 완전히 침대나 의자에서만 보냄 |
| 5 | 사망 |

[0308] 문헌[Eastern Cooperative Oncology Group, Robert L. Comis, MD, Group Chair (Oken et al., (1982) *Am J Clin Oncol*, 5, 649-655)]에 의해 개발됨.

[0309] 4.2 배제 기준

[0310] 이 연구의 참여에 대해 적격이려면, 대상체는 하기 열거된 임의의 배제 기준을 충족하지 않아야 한다.

[0311] 1. 선행 동종이계 줄기 세포 이식(SCT),

[0312] 2. 스크리닝 시점에 자가 SCT로부터 60일 미만이고 심각한 합병증이 해결되지 않은 경우,

[0313] 3. 임의의 항-CD70 표적화제를 이용한 선행 치료,

[0314] 4. 자가 CD19 CAR T 세포를 제외한 CAR T 세포 또는 변형된 T 또는 자연 살해(NK) 세포로의 사전 치료 및 DLBCL가 있는 대상체의 경우,

[0315] 5. 임의의 LD 화학요법제(들) 또는 CTX130 제품의 임의의 부형제에 대한 공지된 금기사항,

[0316] 6. 증상이 있거나 있었던 현재 또는 과거의 악성종양 삼출이 있는 T 세포 또는 B 세포 림프종,

[0317] 7. 혈구탐식성 림프조직구증식증(HLH)의 임상 징후: 발열, 이중혈구감소증, 고중성지방혈증 또는 저섬유소원혈증 및 페리틴 >500 μg/L의 조합.

[0318] 8. 스크리닝 영상에서 기저 질환의 활성 중추 신경계(CNS) 발현.

[0319] 9. 발작, 뇌졸중, 심각한 뇌 손상, 소뇌 질환, 척수병증(예를 들어, 열대성 경성대 마비), 선행 치료에 의한 후두부 가역적 뇌병증 증후군(PRES)의 병력, 또는 CAR T-관련 독성을 증가시킬 수 있는 또 다른 병태와 같은 임상적으로 관련된 중추신경계(CNS) 병리의 병력 또는 존재.

[0320] 10. 스크리닝 전 6개월 이내에 불안정한 협심증, 부정맥, 또는 심근경색.

[0321] 11. 비조절성의 급성으로 생명을 위협하는 박테리아, 바이러스, 또는 진균 감염.

[0322] 12. 인간 면역결핍 바이러스 1형 또는 2형(HIV-1 또는 HIV-2), 또는 활성 B형 간염 바이러스 또는 C형 간염 바이러스 감염의 존재에 대해 양성. (정량적 중합효소 연쇄 반응 또는 핵산 검사에 의해) 검출할 수 없는 바이러스 부하를 기록한 B형 또는 C형 간염 감염의 이전 병력이 있는 대상체는 허용됨.

[0323] 13. 전신 요법을 필요로 하지 않는 치유 접근법으로 치료되고 12개월 초과 동안 관해 상태에 있는 경우를 제외한, 이전 또는 동시 악성종양.

[0324] 14. 스테로이드 및/또는 기타 면역억제 요법이 필요한 원발성 면역결핍 장애 또는 활성 자가면역 질환.

[0325] 15. 선행 고형 장기 이식.

[0326] 16. 등록 전 14일 이내에 방사선요법을 포함한 항종양제의 사전 사용. 연구용 작용제의 경우, 휴약 시간은 의료 모니터와 논의해야 함. 스테로이드의 생리학적 용량의 사용은 이전에 스테로이드를 사용한 대상체에 대해 허용됨. ATLL이 있는 대상체에 대한 경막내 예방은 지시된 경우 허용됨. RANKL 억제제인 데노수맙을 제공받는 ATLL이 있는 대상체는 적어도 4주 동안 치료를 받아야 하고 안정화된 교정된 혈청 칼슘 수준을 가져야 하며; 혈청 칼슘 수준이 >11.5mg/dL 또는 >2.9mmol/L이거나 이온화된 칼슘 수준이 >1.5mmol/L인 경우 배제됨. 모가물리주맙과 같은 CCR-4- 유도 항체의 사용은 CTX130 주입 3개월 전에 금지됨

[0327] 17. 연구에 참여하는 환자의 능력을 심각하게 방해할 수 있는 심각한 정신 장애의 진단.

[0328] 18. 등록 전 28일 이내에 중국 전통 의학 또는 비처방 약초 요법의 일부로 생백신 또는 생약을 제공받음.

[0329] 19. 임신 중이거나 수유 중인 여성.

[0330] **5. 연구 설계**

[0331] 5.1 연구 계획

[0332] 이는 재발성 또는 불응성 T 또는 B 세포 악성종양이 있는 18세 이상의 대상체에서 개방-라벨, 다중-코호트, 다기관, 용량 증대 1상 연구이다. 본 연구는 용량 증대(파트 A) 및 이어서 코호트 확대(파트 B)의 2개의 파트로 나뉘어진다.

[0333] 파트 A에서 용량 증대는 다음 중 하나가 있는 성인 대상체에서 시작된다:

[0334] 1. T 세포 악성 종양:

[0335] ● PTCL-NOS, 백혈병 및 림프종성 ATLL 또는 AITL이 있는 대상체는 1회 이상의 전신 요법에 실패한 바 있음.

[0336] ● ALCL이 있는 대상체는 브렌툭시맙 베도틴을 이용한 치료법 및/또는 병용 화학 요법에 실패했거나, 부적격이거나 거부한 이력이 있어야 함.

[0337] ○ ALK-ALCL이 있는 대상체는 이전에 1회의 선행 요법에 실패한 바 있음.

[0338] ○ ALK+ ALCL이 있는 대상체는 이전에 2회의 선행 요법에 실패한 바 있음.

[0339] ● MF 또는 SS가 있는 대상체는 적어도 1회의 선행 요법에 실패한 바 있음. SS가 있는 대상체는 지시되는 경우, 모가물리주맙 치료를 포함한 선행 전신 요법에 실패한 바 있음. 모가물리주맙이 등록 전 마지막 요법이었다면, 모가물리주맙의 마지막 용량과 CTX130 주입 사이에 적어도 3개월의 기간이 있어야 함.

[0340] 2. B 세포 악성종양:

[0341] ● 자가 CD19 CAR T 세포 요법을 이용한 치료 시도에 실패한 대상체의 DLBCL.

[0342] 본 명세서에 기재된 기준에 따라 용량 증대를 수행한다.

[0343] 파트 B에서는 자가 CD19 CAR T 세포로 이전 치료 시도에 실패한 DLBCL이 있는 대상체에서 RPBD에서 CTX130의 안전성과 효능을 추가로 평가하기 위해 확장 코호트를 개시한다. DLBCL이 있는 대상체는 파트 A 등록에 필요한 동일한 포함 및 배제 기준에 따라 파트 B에 등록된다. 이 확장은 자가 CD19 CAR T 요법 후 환자에서 18% 미만의 ORR을 거부하도록 설계되어 있다.

[0344] 5.1.1 연구 설계

[0345] 본 연구는 용량 증대(파트 A) 및 이어서 코호트 확대(파트 B)의 2개의 파트로 나뉘어진다. 연구 파트 둘 모두

스크리닝, 치료 및 추적의 3개 주요 단계로 이루어진다. 연구 도식의 개략도가 **도 6**에 나타나 있다.

[0346] 연구의 3개 주요 단계는 다음과 같다:

[0347] **단계 1** - 치료에 대한 적격성을 결정하기 위한 스크리닝(최대 14일).

[0348] **단계 2** - 치료.

[0349] **단계 2A** - LD 화학요법: 3일 동안 매일 IV 플루다라빈 30 $mg/m^2$ 및 사이클로포스파미드 500 $mg/m^2$의 병합-투여. 2가지 작용제 모두 동일한 날에 시작하여 연속 3일 동안 투여한다. LD 화학요법은 CTX130 주입 전 적어도 48시간 전(단, 7일 이내)에 완료되어야 한다.

[0350] **단계 2B** - CTX130 주입: LD 화학요법의 3일 과정 완료 후 적어도 48시간(단, 7일 이내)에 투여된다.

[0351] **임상 적격성** - 대상체의 임상 적격성은 LD 화학요법의 개시와 CTX130 주입 모두 전에 본 명세서에 제공된 기준에 따라 재확인되어야 한다.

[0352] **단계 3** - 후속 조치(마지막 CTX130 주입 5년 후).

[0353] CTX130 주입 후의 기간 동안, CRS, 신경독성, GvHD, 및 기타 AE를 포함하는 급성 독성(제1일 내지 제28일)에 대해 대상체를 모니터링한다. 독성 관리 지침이 본 명세서에 기재되어 있다. 파트 A(용량 증대) 동안, 모든 대상체는 CTX130 주입 후 처음 7일 동안, 또는 로컬 규정 또는 현장 관행에 의해 요구되는 경우 더 오래 입원한다. 파트 A와 파트 B 둘 모두에서, 대상체는 CTX130 주입 후 28일 동안 연구 장소에 근접해 있어야 한다(즉, 이동 시간 1시간의 거리)

[0354] 급성 독성 관찰 기간 후, 신체 검사, 정기적인 실험실 및 영상 평가, 및 AE 평가와 함께 CTX130 주입 후 최대 5년 동안 대상체를 후속적으로 추적한다. 이 연구의 완료 후, 대상체는 장기 안전성 및 생존을 평가하기 위해 추가 10년 동안 별도의 장기 추적 연구에 참여하여야 한다.

[0355] 5.2 CTX130 용량 증대

[0356] CTX130 세포는 CAR+ T 세포의 수에 기초한 균일한 투약 계획을 사용하여 IV 투여된다. 이 연구에서 평가된 용량 수준은 **표 14**에 제시되어 있다. 모든 용량 수준에 대해 $1\times10^5$개 TCR+ 세포/kg의 용량 제한이 부과될 수 있다.

*표 14*

[0357] **CTX130의 용량 증대.**

| 용량 수준 | 총 CAR+ T-세포 용량 |
|---|---|
| -1(축소) | $1 \times 10^7$ |
| 1 | $3 \times 10^7$ |
| 2 | $1 \times 10^8$ |
| 3 | $3 \times 10^8$ |
| 4 | $9 \times 10^8$ |

[0358] 본 명세서에 정의된 바와 같이 용량 제한 독성(DLT)의 발생에 따라 각각의 용량 수준에 3 내지 6명의 대상체를 등록하는 표준 3+3 설계를 사용하여 용량 증대를 수행한다.

[0359] 다음 규칙에 따라 용량 증대를 수행한다:

[0360] ● 3명의 대상체 중 0명이 DLT를 경험하는 경우, 다음 용량 수준으로 증대시킨다.

[0361] ● 3명의 대상체 중 1명이 DLT를 경험하는 경우, 현재 용량 수준을 6명의 대상체로 확장한다.

[0362] ○ 6명의 대상체 중 1명이 DLT를 경험하면, 다음 용량 수준으로 증대시킨다.

[0363] ○ 6명의 대상체 중 2명 이상이 DLT를 경험하는 경우:

[0364] ■ 용량 수준 -1인 경우, 대안적인 투약 도식을 평가하거나 파트 B 코호트 확장에 대한 권고 용량을 결정할 수

없음을 선언한다.

[0365] ■ 용량 수준 1인 경우, 용량 수준 -1로 축소한다.

[0366] ■ 용량 수준 2 내지 4인 경우, 이전 용량 수준을 최대 내성 용량(MTD)으로 선언한다.

[0367] ● 3명의 대상체 중 2명 이상이 DLT를 경험하는 경우:

[0368] ○ 용량 수준 -1인 경우, 대안적인 투약 도식을 평가하거나 파트 B 코호트 확장에 대한 권고 용량을 결정할 수 없음을 선언한다.

[0369] ○ 용량 수준 1인 경우, 용량 수준 -1로 축소한다.

[0370] ○ 용량 수준 2 내지 4인 경우, 이전 용량 수준을 MTD로 선언한다.

[0371] ● DL2와 DL3 사이의 중간 투약, 예를 들어 $1.5\times\times10^{8}$개 CAR+ CTX130 세포의 투약이 허용될 것이다.

[0372] ● DL3과 DL4 사이의 중간 투약, 예를 들어 $4.5\times10^{8}$, $6\times10^{8}$ 또는 $7.5\times10^{8}$개 CAR+ CTX130 세포의 투약이 허용될 것이다.

[0373] ● **표 14**에 열거된 최고 용량을 초과하는 용량 증대는 없다.

[0374] 5.2.1 용량 제한 독성(DLT) 정의

[0375] DLT 평가 기간은 CTX130 주입으로 시작하여 28일 동안 지속된다. 용량 수준 1(-1 내지 4)에서, 이전 대상체가 DLT 평가 기간을 완료한 후에만 대상체가 CTX130을 제공받도록, 대상체 1 내지 3은 시차 방식으로 치료받는다(즉, 28일의 시차). 각각의 용량 수준 사이의 투약은 또한 적어도 28일의 시차가 있을 수 있다.

[0376] 대상체는 DLT를 평가하기 위해 CTX130을 제공받아야 한다. 대상체가 독성 이외의 이유로 CTX130 주입 전에 언제든지 연구를 중단하는 경우, 대상체는 DLT에 대해 평가받지 않고 대체 대상체는 중단된 대상체와 동일한 용량 수준으로 등록되어야 한다. DLT 평가 가능한 대상체(즉, CTX130을 투여받은 대상체)에게 잠재적인 DLT의 징후 또는 증상이 있는 경우, DLT가 선언되기 전에 개선 또는 해결을 허용하기 위해 DLT 평가 기간이 연장될 수 있다.

[0377] 독성은 CRS(ASTCT 기준; 미국 이식 및 세포 치료 학회(American Society for Transplantation and Cellular Therapy) 기준; Lee 기준), 신경독성(ICANS 기준; 면역 이펙터 세포-연관 신경독성 증후군(immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome) 기준, CTCAE 버전 5.0; Lee 기준), 및 GvHD(MAGIC 기준; 마운트 시나이 급성 GvHD 국제 컨소시엄(Mount Sinai Acute GvHD International Consortium) 기준; Harris et al., (2016) *Biol Blood Marrow Transplant* 22, 4-10)를 제외하고는 NCI의 유해 사례 공통 용어 기준(Common Terminology Criteria for Adverse Events; CTCAE) 버전 5.0에 따라 등급을 매기고 기록하였다. CTX130과 타당한 인과 관계가 없는 AE는 DLT로 간주되어서는 안 된다.

[0378] DLT는 다음과 같이 정의된다:

[0379] A. 4 등급 CRS

[0380] B. 스테로이드 불응성인 2 등급 이상의 GvHD(예를 들어, 3일의 스테로이드 치료[예를 들어, 1 mg/kg/일] 후 진행성 질환, 또는 치료 7일 후 반응 없음). 스테로이드 불응성이 아니고 14일 이내에 1 등급으로 해결되는 GvHD는 DLT로 정의되지 않는다(GvHD 등급은 **표 34**에 제공됨).

[0381] C. 3 등급 또는 4 등급 신경독성(ICANS 기준에 따름).

[0382] D. DLT 기간 중 사망(질환 진행으로 인한 경우 제외).

[0383] E. 28일 이내에 2 등급 이하로 회복되지 않는 임의의 4 등급 혈액학적 독성.

[0384] F. 기저 악성종양 또는 이의 진행과 관련이 없는 임의의 기간의 임의의 3 등급 이상의 CTX130-치료 창발적 생명 기관 독성(예를 들어, 폐, 심장)은 다음 예외를 제외하고 DLT로 간주됨

| 예외 | 기준 |
|---|---|
| #1 | 72시간 이내에 적절한 의료 개입으로 2 등급 이하로 개선되는 CRS 등급 시스템(표 29)에 따른 임의의 3 등급의 CRS |
| #2 | 적절한 의료 개입으로 72시간 이내에 해결되는 3 등급 또는 4 등급의 발열. |
| #3 | 7일 미만 지속되는 3 등급 또는 4 등급의 피로. |
| #4 | 7일 이내에 2 등급 이하로 개선되는 임의의 3 등급 또는 4 등급의 비정상 간 기능 검사. |
| #5 | 7일 이내에 2 등급 이하로 개선되는 임의의 3 등급 또는 4 등급의 신부전. |
| #6 | 질환 진행으로 인한 사망. |
| #7 | 3 등급 또는 4 등급의 혈소판감소증 또는 호중구감소증은 후향적으로 평가됨. 대상체의 50% 이상이 혈구감소증이 지속되면(즉, 주입 후 28일 초과로 지속됨), 적어도 6명의 대상체에게 주입된 후, 용량 증대는 보류 중인 상태에서 일시 중단됨<br>LD 화학요법 시작 시 존재했던 3 등급 이상의 혈구감소증은 DLT 및 다른 병인의 확인으로 간주되지 않을 수 있음. |

[0385]

[0386] **6. 연구 절차**

[0387] 연구의 용량 증대 및 확장 파트는 둘 모두 (1) 스크리닝 및 적격성 확인, (2) LD 화학요법 및 CTX130 주입, 및 (3) 추적의 3가지 별개의 단계로 이루어진다. 스크리닝 기간 동안, 본 명세서에 기재된 적격성 기준에 따라 대상체를 평가한다. 등록 후, 대상체는 LD 화학요법을 제공받은 다음, CTX130을 주입받는다. 치료 기간을 완료한 후, 종양 반응, 질환 진행, 및 생존에 대해 대상체를 평가한다. 모든 연구 기간에 걸쳐, 대상체는 안전성을 위해 정기적으로 모니터링된다.

[0388] 전체 평가 일정은 **표 15** 및 **표 16**에서 제공된다. 누락된 평가 일정은 변경하여 가능한 한 원래 예정된 날짜에 가깝게 수행하여야 한다. 다음 예정된 평가일에 너무 가깝기 때문에 의료 종사자의 의견에 따라 일정 변경이 의학적으로 불필요하거나 안전하지 않은 경우에는 예외가 적용된다. 이 경우, 누락된 평가를 포기하여야 한다.

[0389] 이 프로토콜의 목적에 부합하도록 제0일이 없다. 모든 방문 날짜 및 기간은 제1일을 CTX130 주입 날짜로 사용하여 계산되어야 한다.

[0390] 6.2 면역 이펙터 세포-연관 뇌병증(ICE) 평가

[0391] ICE 평가를 사용하여 신경인지 평가를 수행하여야 한다. ICE 평가 도구는 CARTOX-10 스크리닝 도구의 약간 수정된 버전으로, 상기 도구는 이제 수용성 실어증에 대한 테스트를 포함한다(Neelapu et al., (2018) *Nat Rev Clin Oncol* 15, 47-62). ICE 평가는 인지 기능의 다양한 영역, 즉 방향정위, 명명, 명령 따르기, 쓰기, 및 주의력을 검사한다(**표 17** 참조).

*표 17*

[0392] ICE 평가.

| 영역 | 평가 | 최대 점수 |
|---|---|---|
| 방향정위 | 년, 월, 도시, 병원에 대한 방향정위 | 4점 |
| 명명 | 3가지 물건의 명명(예를 들어, 시계, 펜, 버튼 가리킴) | 3점 |
| 명령 따르기 | 명령에 따르는 능력(예를 들어, "나에게 손가락 2개를 보여주세요" 또는 "눈을 감소 혀를 내미세요") | 1점 |
| 쓰기 | 표준 문장(명사 및 동사를 포함함)을 쓰는 능력 | 1점 |
| 주의력 | 100부터 10씩 거꾸로 세는 능력 | 1점 |

[0393] ICE 점수는 모든 평가에 걸쳐 종점(0 내지 10)으로 기록됨.

[0394] 스크리닝 시, 제1일에 CTX130 투여 전, 및 제2일, 제3일, 제5일, 제7일, 및 제28일에 ICE 평가를 수행한다. 대상체가 CNS 증상을 경험하는 경우, 증상이 해결될 때까지 ICE 평가를 대략 2일마다 계속 수행하여야 한다. 변동성을 최소화하기 위해, 가능하다면 모든 경우에 ICE 평가 도구 관리에 익숙하거나 교육을 받은 동일한 연구 직

원이 평가를 수행하여야 한다.

[0395] 6.3 환자-보고 결과

[0396] 5개의 PRO 조사, 즉 유럽 암 연구 및 치료 기구(European Organisation for Research and Treatment of Cancer; EORTC) QLQ-C30, EuroQol EQ-5D-5L 설문지, 암 치료의 기능적 평가-전반적(Functional Assessment of Cancer Therapy-General; FACT-G), SS 및 MF에 대한 Skindex-29 설문지, 및 SS 및 MF에 대한 피부과 삶의 질 지수(DLQI) 설문지를 **표 15** 및 **표 16**의 일정에 따라 실시한다. 설문지는 임상 평가를 수행하기 전에 작성해야 한다(대상체에게 가장 친숙한 언어로 스스로 작성함).

[0397] EORTC QLQ-C30은 암의 삶의 질을 측정하기 위해 고안된 설문지이다. 이는 5개의 다항목 기능 척도(신체, 역할, 사회적, 정서적, 인지적 기능), 3개의 증상 척도(피로, 구역질, 통증) 및 추가적인 단일 증상 항목(금전적 영향, 식욕 부진, 설사, 변비, 수면 장애, 삶의 질)로 구성된다. EORTC QLQ-C30은 검증되었으며 암 환자들 사이에서 널리 사용되어 왔다(Wisloff et al., (1996) Br J Haematol 92, 604-13.; Wisloff and Hjorth, (1997) Br J Haematol 97, 29-37). 4점 척도(1=전혀 그렇지 않다, 2=약간, 3=보통, 4=매우 그렇다)로 채점한다. EORTC QLQ-C30 도구는 또한 앵커와 함께 7점 척도 점수를 사용하는 2개의 글로벌 척도를 함유한다(1=매우 나쁨 및 7=우수).

[0398] EQ-5D-5L은 건강 상태의 일반적인 척도이며 이동성, 자기-관리, 일상 활동, 통증/불편, 및 불안/우울을 포함한 5개 영역을 평가하는 설문지와 시각적 아날로그 척도를 함유한다. EQ-5D-5L은 QLQ-C30과 함께 사용되었다(Moreau et al., (2019) *Leukemia* 33, 12:2934-2946).

[0399] FACT-G 신체적, 사회적/가족, 정서적, 기능적 웰빙의 4가지 영역에서 암 치료의 영향을 측정하는 검증된 27개 항목의 도구이다. FACT-G 총점은 27개 항목 모두를 기초로 하고 범위는 0에서 108까지이며, 점수가 높을수록 삶의 질이 더 좋음을 나타낸다(Cella et al., (1993) *J Clin Oncol* 11, 570-9).

[0400] Skindex-29는 피부 질환이 삶의 질에 미치는 영향을 증상(7개 항목), 감정(10개 항목), 기능(12개 항목)의 3개 영역에서 측정하도록 고안되어 있다. 모든 응답은 0(효과 없음)에서 100(항상 경험 중인 효과)까지의 100의 선형 척도로 변환된다. 점수는 3개의 영역에 해당하는 3개의 척도 점수로 기록되며; 척도 점수는 주어진 영역의 항목에 대한 환자의 반응 평균이다(Chren, (2012) *Dermatol Clin* 30, 231-6).

표 15

평가 일정: 24개월까지 스크리닝.

| 평가 | | | | | 추적 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 일 | 스크리닝 [1] | LD Chemo [2] | CTX130 세포 [3] | 제1일[4] | 제2일 | 제3일 | 제5일 ±2일 | 제7일 ±2일 | 제10일 ±2일 | 제14일 ±2일 | 제21일 ±2일 | 제28일 ±2일 | M2 (제56일) ±7일 | M3 (제84일) ±7일 | M4 (제112일) ±7일 | M5 (제140일) ±7일 | M6 (제168일) ±7일 | M9 (제252일) ±14일 | M12 (제336일) ±14일 | M15 (제420일) ±14일 | M18 (제504일) ±14일 | M21 (제588일) ±14일 | M24 (제672일) ±14일 |
| 적격성 확인 [5] | X | X | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 사전 동의 | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 병력 [6] | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 신체검사 [7] | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| 활력 징후 [8] | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| 신장, 체중 [9] | X | X | X | | | | | X | | X | | X | | | | | | | | | | | |
| 임신테스트 [10] | X | X | | | | | | | | | | | X | X | | | | | | | | | |
| ECOG 상태 | X | X | X | | | | | | | | | | X | X | | | | | | | | | |
| 심초음파 | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 12-리드ECG [11] | X | X | X | | | | | | | | | X | | | | | | | | | | | |
| ICE 평가 [12] | X | | X | | X | X | X | X | | | | X | | | | | | | | | | | |
| PRO [13] | X | | X | | | | | X | | X | X | X | | X | | | X | | X | | | | X |
| 병용 약제 [14] | 계속 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AE [15] | 계속 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 병원 이용 | | | | 계속 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| B 및 T 세포 림프종 질환/반응 평가 | | | | 16 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 전신 PET/CT 스캔 [16] | X | | | | | | | | | | | X | | X | | | X | X | X | | X | | X |
| 뇌 MRI [16] | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 모든 T-세포 림프종에 대한 피부 평가 [17] | | X [17] | | | | | | X | | | | X | | X | | | X | X | X | | X | | X |
| 종양 생검 [18] | | X | | | | | | X | | | | X | | | | | | | | | | | |
| 말초 혈액 평가 [19] | X | | | | | | | X | | | | X | | X | | | X | X | X | | X | | X |
| BM 흡인물/생검 [20] | X | | | | | | | | | | | X [20] | | | | | | | | | | | |
| DLBCL에 대한 MRD [21] | X | | | | | | | X | | | | X | | X | | | X | X | X | | X | X | X |
| ATLL에 대한 질환 반응 평가 [22] | X | | | | | | | | | | | X | | X | | | X | X | X | | X | | X |
| 실험실 평가(로컬) [9] | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

[0401]

[0402]

| 평가 | 스크리닝[1] | LD Chemo[2] | CTX130 주입[3] | 추적 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 일 | | | 제1일[4] | 제2일 | 제3일 | 제5일 | 제7일 ±2일 | 제10일 ±2일 | 제14일 ±2일 | 제21일 ±2일 | 제28일 ±2일 | M2 (제56일) ±7일 | M3 (제84일) ±7일 | M4 (제112일) ±7일 | M5 (제140일) ±7일 | M6 (제168일) ±7일 | M9 (제252일) ±14일 | M12 (제336일) ±14일 | M15 (제420일) ±14일 | M18 (제504일) ±14일 | M21 (제588일) ±14일 | M24 (제672일) ±14일 |
| CD70 발현[23] | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 차등이 있는 CBC[24] | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| 혈청 화학[25] | X | X | X[25] | X[25] | X[25] | X[25] | X[25] | X[25] | X[25] | X[25] | X[25] | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| 응고 매개변수[26] | X | X | X | X | X | X | X | X | X | | X | | | | | | | | | | | |
| 바이러스 혈청학[27] | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 면역글로불린[28] | X | | X | | | | | | | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| 림프구 하위세트[29] | X | X | X | | X | | | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| 페리틴, CRP, 트리글리세라이드 | X | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | | | X | X | | | | | | | |
| 바이오마커(혈액, 중앙) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CTX130 수준[30] | X | | X[30] 전/후 | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| 사이토카인[31] | X | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | | | X | | | | | | |
| BSAP, PINP[32] | X | | X | | | | X | | X | X | X | | X | | | X | | X | | | | |
| 항 -Cas9 Ab | X | | | | | | | | | | X | | X | | | X | | X | | | | X |
| 항 -CTX130 Ab | X | | | | | | | | | | X | | X | | | X | | X | | | | X |
| 면역표현형 | X | | X[30] 전/후 | | X | X | X | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| 무세포 DNA | X | | | | | | | | | | X | X | X | X | X | X | X | X | | X | X | X |
| 탐색적 바이오마커 | X | X[34] | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |

Ab: 항체; AE: 유해 사례; AESI: 특별히 관심이 있는 유해 사례; ALT: 알라닌 아미노트랜스퍼라제; AST: 아스파테이트 아미노트랜스퍼라제; ATLL: 성인 T 세포 백혈병/림프종; BM: 골수; BSAP: 뼈-특이적 알칼리 포스파타제; BUN: 혈액 우레아 질소; Cas9: CRISPR-연관 단백질 9; CBC: 전체혈구계산; chemo: 화학요법; CMV: 거대세포바이러스; CNS: 중추신경계; con meds: 병용 약제; CR: 완전 반응; CRISPR: 클러스터링된 규칙적 간격의 짧은 회문 반복부; CRP: C-반응성 단백질; CRS: 사이토카인 방출 증후군; CT: 컴퓨터 단층 촬영; D 또는 d: 일; DLQI: 피부 관련 삶의 질 지수(Dermatology Life Quality Index); DNA: 데옥시리보핵산; ECG: 심전도; ECOG: 동부 협력 종양 학회; eGFR: 예측된 사구체 여과율; EORTC QLQ-C30: 유럽 암 연구 및 치료 기관 QLQ-C30 및 설문지(European Organisation for Research and Treatment of Cancer QLQ-C30 and questionnaire); FACT-G: 암 치료의 기능 평가-전반적(functional assessment of cancer therapy-general); FDG: 플루오로데옥시글루코스; GvHD: 이식편 대 숙주 질환; HBcAb: B형 간염 코어 항체; HBsAb: B형 간염 표면 항체; HBsAg: B형 간염 표면 항원; HBV: B형 간염 바이러스; HCV: C형 간염 바이러스; HIV-1/-2: 인간 면역결핍 바이러스 1형 또는 2; ICE: 면역 이펙터 세포-연관 뇌병증; Ig: 면역글로불린; INR: 국제 정규화 비율; LD: ㄹ리림프구제거; LDH: 락테이트 탈수소효소; M: 개월; MF: 균상 식육종; MRD: 최소 잔여 질환; MRI: 자기 공명 영상; NK: 자연 살해; PET: 양전자 방출 단층 촬영; PINP: 프로콜라겐 I형 N 프로펩타이드; PRO: 환자-보고 결과; PT: 프로트롬빈 시간;



공개특허 10-2022-0100912

[0403]

RNA: 리보핵산; SGOT: 혈청 글루탐산 옥살로아세트산 트랜스아미나제; SGPT: 혈청 글루탐산 피루브산 트랜스아미나제; SS: 세자리 증후군; TBNK: T, B, 및 NK 세포.

[1] 사전 동의서에 서명한 후 14일 이내에 스크리닝 평가를 완료하여야 한다. 대상체에 대해 1회 재스크리닝이 허용될 것이며, 이는 최초 동의 3개월 이내에 이루어질 수 있다.

[2] 대상체는 연구 등록 7일 이내에 LD 화학요법을 시작하여야 한다. LD 화학요법 제1 용량 전에 신체 검사, 체중, 및 응고 실험을 수행한다. LD 화학요법 동안 활력 징후, 차등이 있는 CBC, 혈청 화학, 및 AE/병용 약제를 매일(즉, 3회) 평가하고 기록한다.

[3] LD 화학요법을 완료하고 48시간 내지 7일 후에 CTX130을 투여할 것이다.

[4] 달리 명시되지 않는 한 CTX130 주입 전 제1일에 모든 기준선 평가를 수행하여야 한다; 상세 내용에 대해서는 실험실 매뉴얼을 참조한다.

[5] 스크리닝을 완료할 때마다 적격성을 확인해야 한다. 또한 LD 화학요법의 제1일, 및 CTX130의 주입일에도 적격성을 확인하여야 한다. 해당 일에 대한 모든 평가를 완료한 후 및 투약 전에 적격성을 확인하여야 한다.

[6] 완전한 수술 및 심장 병력을 포함한다.

[7] 피부, 구강 점막, 공막, 손, 및 발에서 GvHD의 징후 및 증상에 대한 평가를 포함한다.

[9] 스크리닝 시에만 신장.

[10] 가임기 여성 대상체의 경우. 스크리닝 시 혈청 임신 검사가 필요하다. LD 화학요법의 시작 72시간 이내, 제28일, M2, 및 M3에 혈청 임신 검사를 로컬 실험실에서 평가한다.

[11] LD 화학요법 전 및 CTX130 주입 전.

[12] CTX130 투여 전 제1일. CNS 증상이 지속되면, 증상이 1 등급 또는 기준선으로 해결될 때까지 대략 2일마다 ICE 평가를 계속 수행하여야 한다.

[13] EORTC QLQ-C30, EQ-5D-5L 설문지, FACT-G, SS 및 MF에 대한 Skindex-29 설문지, 및 SS 및 MF에 대한 DLQI 설문지. 스크리닝 시, 제1일 투약 전, 투약 후 제7일, 제14일, 제21일, 제28일, 제3개월, 및 그 이후에는 평가 일정에 명시된 바와 같이 PRO를 완료하여야 한다.

[14] 모든 병용 약제를 CTX130을 주입하고 최대 3개월 후에 수집한다. 그 후에, 본 명세서에 기재된 바와 같이 선택된 병용 약제만 수집할 것이다.

[15] AE 수집 기간은 본 명세서에 기재된 바와 같다. 대상체가 새로운 항암 요법을 시작하는 경우, CTX130과 관련되거나 관련될 수 있는 AESI만 보고하여야 한다.

[16] 스크리닝 시 전신(목을 포함힘) PET/CT 및 MRI 뇌 스캔을 수행하여야 한다(즉, CTX130 주입 전 28일 이내). 비 FDG-열성 림프종은 임상적으로 지시된 대 바와 같이 CT에 의해 기준선 이후에 추적될 수 있다. 전신(기준선에서 관련된 경우 목을 포함함) PET/CT 또는 CT를 임상적으로 지시된 바와 같이, 의심되는 CR에 대해 수행하여야 한다. 모든 기준선 FDG-열성 림프종에 대해 평가 일정에 따라, 프로토콜-정의 응답 기준에 따라, 그리고 임상적으로 지시된 바와 같이 주입 후 스캔을 수행한다. CT가 임상적으로 금기이거나 로컬 규정에서 요구하는 경우 CT 부분에 조영제를 이용한 MRI를 사용할 수 있다. 진단용 CT로 PET를 수행할 수 없는 경우에는 별도의 진단용 CT를 수행하여야 한다. PET/CT는 로컬에서 그리고 중앙에서 평가됩니다.

[17] 피부 평가는 로컬에서 평가되어야 하지만, 또한 지시된 경우 중앙세서 평가할 수 있다(즉, 피부 펀치 생검). LD 화학요법 후 제3일 및 CTX130 주입 전에 피부 사진 및 mSWAT를 수행하여야 한다.

[18] CTX130의 투약 제7일 + 2일, 및 제28일 ± 2일 후에 진행 후 생검 조직이 이용가능/허용가능하지 않은 경우, 스크리닝 시 생검(피부 펀치 생검을 포함함)을 수행하여야 한다. 종양 생검을 로컬 및 중앙에서 평가하여야 한다.

[19] 기관 지침에 따라 말초 혈액 평가를 수행한다.

[20] 스크리닝 시 모든 대상체에 대해 골수 생검 및 흡인물을 수집한다. 대상체가 스크리닝 시 BM 침윤에 대해 음성이면, 제28일에 BM 생검 및 흡인물 수집만 수행한다. 그렇지 않은 경우, 스크리닝 시 BM 침윤에 대해 양성인 대상체에 대해 CR을 확인하기 위해 추가적인 BM 생검 및 흡인물 수집이 있다. BM 흡인물/새검은 로컬 및 중앙에서 평가되어야 한다. CTX130 주입 후 BM 흡인물 유래의 샘플을 CTX130 및 탐색적 바이오마커를 위해 보내야 한다.

[21] 말초 혈액에 기초한 최소 잔류 질환 평가. MRD는 로컬 및 중앙에서 평가되어야 한다.

[0404]

[22] ATLL-특이적 바이오마커는 국부적으로 평가되어야 한다. CD3, CD4, CD7, CD8, CD25, CD52 및 인간 T 세포 백혈병 바이러스 유형 1(HTLV-1) 프로바이러스 부하와 같은 마커에 기초한 면역표현형에 의해 모니터링되는 ATLL 세포의 말초 혈액 수준 변화.

[23] 대상체는 CD70-발현 종양을 가지고 있어야 한다(추가적인 상세 내용에 대해서는 섹션 3.1, 포함 기준 #5를 참조). 대상체가 적절한 동의서에 서명한 경우, 스크리닝을 위한 14일 대역 전 또는 동안의 임의의 시점에 조직을 제출 및 시험하여야 한다.

[24] 헤마토크리트, 헤모글로빈, 적혈구 수, 백혈구 수, 호중구, 림프구, 단핵구, 호염기구, 호산구, 혈소판 수, 절대 호중구 수.

[25] 혈청 화학은 ALT(SGPT), AST(SGOT), 빌리루빈(총 및 직접), 알부민, 알칼리 포스파타제, 중탄산염, BUN, 칼슘, 염화물, 크레아티닌, eGFR, 글루코스, LDH, 마그네슘, 인, 칼륨, 나트륨, 총 단백질, CRP, 요산(최대 제28일)을 포함한다. 급성 신세뇨관 손상에 대해 모니터링하기 위해 제1일 내지 제28일에 더 자주 크레아티닌을 평가하여야 한다: 제1일 내지 제7일에는 매일, 제8일 내지 제15일에는 격일, 제28일까지는 매주 2회. 급성 신세뇨관 손상이 의심되는 경우, 요침사 검사 및 소변 중 나트륨의 분획 배설을 포함한 추가적인 검사를 수행하여야 하고, 신장 전문의와 상담을 개시하여야 한다.

[26] PT, PTT, 피브리노겐, INR, 및 d-이량체를 포함한다.

[27] 스크리닝 시 HIV-1, HIV-2, HBV(HBsAg, HBsAb, HBcAb)에 대한 바이러스 혈청학, HCV(HCV 항체 및 RNA), 및 CMV; 그러나, 등록 60일 이내에 얻은 병력 결과는 적격성을 결정하는 데 사용될 수 있다.

[28] IgA, IgG, IgM을 포함한다.

[29] 스크리닝 시, LD chemo의 첫째 날 시작 전, CTX130 주입 전, 그 다음 열거된 모든 시점에서 림프구 하위세트 평가를 로컬 실험실에서 평가할 것이다. 6색 TBNK 패널을 포함하거나, 또는 T, B, 및 NK 세포에 대한 등가물을 포함한다.

[30] CTX130 수준 및 면역표현형 평가를 위하여 제1일에 2개의 샘플을 수집하여야 한다: 하나는 CTX130 주입 전이고 하나는 CTX130 주입 종료 20분(±5분) 후이다. CTX130 수준 평가의 경우: CRS가 발생하면, CRS가 해결될 때까지 예정된 방문 사이에 48시간마다 CTX130 수준의 평가를 위한 샘플을 수집할 것이다. 열거된 시점에 추가적으로, CTX130 주입 후 수행된 임의의 예정에 없는 혈액 수집, BM 흡인물, 또는 조직 생검 유래의 CTX130 수준의 분석을 위한 샘플을 중앙 실험실로 보내야 한다.

[32] 명시된 수집일에 해당 일의 동일한 시각(± 2시간)에 샘플을 수집하여야 한다.

[33] CTX130 주입 후 수행된 임의의 LP 또는 BM 유래의 탐색적 바이오마커를 위핸 샘플을 보내야 한다. CRS가 발생하면, CRS가 해결될 때까지 예정된 방문 사이에 48시간마다 해결탐색적 바이오마커의 평가를 위한 샘플을 수집한다.

[34] LD 화학요법의 첫째 날 이전에만.



공개특허 10-2022-0100912

*표 16*

**평가 일정(30 내지 60개월).**

| 평가 | 제30개월 (±21 일) | 제36개월 (±21 일) | 제42개월 (±21 일) | 제48개월 (±21 일) | 제54개월 (±21 일) | 제60개월 (±21 일) | 진행성 질환[1] | 이차 추적[2] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 신체 검사 | X | X | X | X | X | X | X | X |
| 활력 징후[3] | X | X | X | X | X | X | X | X |
| PRO[4] | | X | | X | | X | X | |
| 병용 약제[5] | X | X | X | X | X | X | X | X |
| AE[6] | X | X | X | X | X | X | X | X |
| 질환/반응 평가[7] | X | X | X | X | X | X | X | |
| **실험실 평가(혈액, 중앙)** | | | | | | | | |
| 차등이 있는 CBC[8] | X | X | X | X | X | X | X | X |
| 혈청 화학[8] | X | X | X | X | X | X | X | X |
| 림프구 하위세트[8] | X | X | X | X | X | X | X | |
| **바이오마커(혈액, 중앙)** | | | | | | | | |
| CTX130 수준[9] | X | X | X | X | X | X | X | X |
| 항 -Cas9 Ab | | X | | X | | X | X | |
| 항 -CTX130 Ab | | X | | X | | X | X | |
| 무세포 DNA | | | | | | | X | |
| 탐색적 바이오마커 | X | X | X | X | X | X | X | X |

Ab: 항체; AE: 유해 사례; AESI: 특별 관심 이상 반응; AITL: 혈관면역모세포성 T 세포 림프종; ALCL: 역형성큰세포림프종; ATLL: 성인 T 세포 백혈병/림프종; BM: 골수; Cas9: CRISPR-연관 단백질 9; CBC: 전체혈구계산; CRISPR: 클러스터링된 규칙적 간격의 짧은 회문 반복부; CT: 컴퓨터 단층 촬영; DLBCL: 미만성 거대 B 세포 림프종; DLQI: 피부과 삶의 질 지수; DNA: 데옥시리보핵산; EORTC QLQ-C30: 유럽 암 연구 및 치료 기구 QLQ-C30 설문지; FACT-G: 암 치료의 기능적 평가-전반적; ISCL: 국제 피부 림프종 학회(International Society for Cutaneous Lymphomas); M: 개월; M-단백질: 모노클로날 단백질; MF: 균상 식육종; PD: 진행성 질환; PET: 양전자 방출 단층 촬영; PRO: 환자-보고 결과; PTCL-NOS: 달리 분류되지 않는 말초 T-세포 림프종; SAE: 심각한 유해 사례; SCT: 줄기 세포 이식; SS: 세자리 증후군.

[1] PD가 있는 대상체는 정상적인 평가 일정을 중단하고, 열거된 연구 평가를 받은 다음 2차 후속 조치를 받는다(각주 2 참조).
[2] 부분적으로 동의를 철회한 대상체는 정상적인 평가 일정을 중단하고 최소한 다음 절차를 거친다: 약식 신체 검사, 차등이 있는 CBC, 혈청 화학, 질환 평가/생존 상태, CTX130 지속성, 선택된 병용 약제/절차(항암 요법, 질환-관련 수술, SCT), 및 선택된 AE(치료-관련 AE 및 SAE, 새로운 악성종양, 새로운/악화 자가면역, 면역 결핍, 또는 신경학적 장애).
[3] 체온, 혈압, 심박수, 맥박 산소측정, 및 호흡율을 포함한다.
[4] EORTC QLQ-30, EQ-5D-5L 설문지, FACT-G, SS 및 MF에 대한 Skindex-29 설문지, 및 SS 및 MF에 대한 DLQI 설문지.
[5] 본 명세서에 기재된 바와 같은 선택된 병용 약제만 수집할 것이다.
[6] 대상체가 새로운 항암 요법을 시작하는 경우, CTX130과 관련되거나 관련될 수 있는 AESI로 정의된 사례만 보고하여야 한다.
[7] 질환 평가는 PTCL-NOS, ALCL, 백혈병 및 림프종 ATLL, AITL, 및 DLBCL이 있는 대상체의 경우 Lugano 반응 기준(Cheson et al., (2014) *J Clin Oncol* 32, 3059-68), 그리고 SS 또는 MF가 있는 대상체의 경우 ISCL 반응 기준(Olsen et al., (2011) *J Clin Oncol* 29, 2598-607)에 따른 평가에 기초하며, 전신 PET/CT, BM 흡인물 및 생검, 및 피부 평가를 포함한다.
[8] 로컬 실험실에서 평가한다.
[9] 열거된 시점에 추가적으로, CTX130 주입 후 수행된 임의의 예정에 없는 혈액 수집, BM 흡인물, 또는 조직 생검 유래의 CTX130 수준의 분석을 위한 샘플을 중앙 실험실로 보내야 한다.

[0405]

[0406] DLQI는 피부 질환이 삶의 질에 미치는 영향을 측정하는 데 사용되는 10개의 질문으로 구성된 설문지이다. 10개의 질문은 다음과 같은 주제를 다룬다: 증상, 곤란함, 쇼핑 및 재택 관리, 의복, 사교 및 여가, 스포츠, 일 또는 공부, 친밀한 관계, 섹스 및 치료. 각각의 질문은 0에서 3까지 점수가 매겨지며, 0(삶의 질에 대한 피부 질환의 영향이 없음을 의미함)에서 30(삶의 질에 대한 최대 영향을 의미함)까지 가능한 점수 범위를 제공한다(Finlay and Khan, (1994) *Clin Exp Dermatol* 19, 210-6).

[0407] 6.4 B 세포 및 T 세포 림프종 질환 및 반응 평가

[0408] 질환 평가는 PTCL-NOS, ALCL, 백혈병 및 림프종 ATLL, AITL, 및 DLBCL이 있는 대상체에 대해서는 Lugano 반응 기준(Cheson et al., (2014) *J Clin Oncol* 32, 3059-68; 섹션 6.10 참조), 그리고 SS 또는 MF가 있는 대상체에 대해서는 ISCL 반응 기준(Olsen et al., (2011) *J Clin Oncol* 29, 2598-607; 섹션 6.11 참조)에 따른 평가에 기초한다.

[0409] 뇌의 질환 평가는 스크리닝 동안 대상체의 뇌 관여를 배제하기 위해 MRI로 수행되어야 한다.

[0410] 문헌[Olsen et al., (2011) *J Clin Oncol* 29, 2598-607]에 따르면, SS가 있는 대상체는 다음을 가지고 있어야 한다:

[0411] ● Lugano 기준에 따라 측정가능한 질환; 체표면적 및 혈액 연계의 80% 이상에 대한 SS의 정의를 충족함.

[0412] ● 홍피증은 체표면적의 적어도 80%를 덮는 홍반으로 정의됨.

[0413] ● 중합효소 연쇄 반응(PCR) 또는 서던 블롯 분석으로 확인된 혈액 내 클론 T 세포 수용체(TCR) 재배열.

[0414] ● 혈액 내 세자리 세포의 절대 수 ≥1,000/μL 또는 다음 2가지 기준 중 하나:

[0415] ○ CD4 대 CD8 비율이 10 이상인 CD4+ 또는 CD3+ 세포 증가.

[0416] ○ 비정상적인 표현형을 가진 CD4+ 세포 증가(예컨대, CD4+CD7- 비율 ≥40% 또는 CD4+CD26- 비율 ≥30%).

[0417] 효능 분석을 위해 비 FDG(플루오로데옥시글루코스)-열성 질환에 대한 PET/CT 영상 또는 CT 영상에 대해 평가된 바와 같이 다음 종양 하위유형에 대한 Lugano 반응 기준을 사용하여 질환 결과의 등급을 매긴다:

[0418] ● PTCL-NOS

[0419] ● ALCL

[0420] ● 백혈병 및 림프종 ATLL

[0421] ● AITL

[0422] ● DLBCL

[0423] ATLL 고칼슘혈증이 있는 대상체의 경우, 활동성 질환이 지속되는 한 발적은 PD로 간주되지 않으며 기관 지침에 따라 증상에 따라 치료하여야 한다. ATLL 세포의 말초 혈액 수준의 변화는 CD3, CD4, CD7, CD8, CD25, CD52와 같은 마커에 기초한 면역표현형에 의해 모니터링되며 인간 T 세포 백혈병 바이러스 1형(HTLV-1) 프로바이러스 부하가 탐색적 평가변수이다.

[0424] 림프절 측정의 감소 설정에서 증가된 림프구증가는 PD로 간주되지 않으며, 반응 지정은 림프절 및 림프절외 질환 측정에 따라 달라야 한다.

[0425] 비 CTCL의 피부 병변에 대한 질환 측정은 본 명세서에 기재된 바와 같은 피부 병변의 반응 평가 지침을 따라야 한다.

[0426] ISCL 반응 기준은 CT(또는 PET/CT가 지시된 경우) 영상에 대해 평가된 SS 또는 MF가 있는 대상체에 사용된다. 홍피성 발적은 처음 2개월 동안 질환 진행으로 간주되지 않는다.

[0427] T 세포 림프종 질환 및 반응 평가는 **표 15** 및 **표 16**의 일정에 따라 수행되어야 하며, 하기 기재된 평가를 포함하여야 한다. 모든 반응 카테고리(진행을 포함함)는 임의의 새로운 요법을 시행하기 전에 임의의 시점에서 적어도 1주일 간격으로 이루어진 2회의 연속 평가를 필요로 한다.

[0428] 6.5 CTX130 이전 생검

[0429] T 세포 림프종 하위유형의 조직병리학적 진단은 로컬 및 중앙 실험실 평가에 기초한다.

[0430] 대상체는 스크리닝 시 종양 생검을 받아야 하며, 등록 전 3개월 이내에 그리고 마지막 전신 또는 표적화 요법 후에 생검을 수행하는 경우, 보관 조직이 제공될 수 있다. 보관 조직이 중앙 실험실 요건을 충족하기에 불충분한 부피 또는 품질인 경우, 스크리닝 중에 생검을 수행하여야 한다. 뼈 생검 및 기타 석회화된 조직은 하류 분석의 간섭으로 인해 허용되지 않는다. 조직 생검의 일부는 분석을 위해 중앙 실험실에 제출된다.

[0431] 보관 종양 조직 샘플은 DNA, RNA, 단백질 및 대사 산물의 분석을 포함하여 종양 고유 및 TME-특이적 바이오마커에 대해 분석될 수 있다.

[0432] 6.6 전신 PET/CT 방사선촬영에 의한 질환 평가

[0433] 전신(목을 포함함) 양전자 방출 단층 촬영(PET)/CT 및 MRI 뇌 스캔은 스크리닝 시(즉, CTX130 주입 전 28일 이내) 및 CR이 의심되는 때에 수행되어야 한다. 모든 기준선 FDG-열성 림프종에 대해 **표 15** 및 **표 16**의 평가 일정, 프로토콜-정의 응답 기준(섹션 6.10 및 섹션 6.11 참조) 및 임상적으로 지시된 바와 같이 주입 후 스캔을 수행한다. PET/CT 비 FDG-열성 질환에 뒤이어 CT를 수행할 수 있다.

[0434] CT가 임상적으로 금기이거나 로컬 규정에서 요구하는 경우 CT 부분에 조영제를 이용한 MRI를 사용할 수 있다. 진단용 품질의 CT로 PET를 수행할 수 없는 경우에는 별도의 진단용 CT를 수행하여야 한다.

[0435] 가능하다면 모든 경우에 방사선촬영 질환 평가에 사용되는 영상화 방식, 기계, 및 스캔 매개변수는 연구 동안 일정하게 유지되어야 한다. 효능 분석을 위해, 프로토콜-정의 응답 기준에 따라 방사선촬영 질환 평가를 수행한다.

[0436] 6.7 피부 평가

[0437] **표 15** 및 **표 16**에 명시된 바와 같이 피부 평가를 수행한다. LD 화학 요법의 세 번째 투여 후 및 CTX130 주입 전에 초기 피부 질환 평가를 수행하여야 한다. MF 및 SS의 예후는 피부 병변 및 피부외 질환의 유형 및 정도에 따

라 다르다(Olsen et al., (2011) *J Clin Oncol* 29, 2598-607). 합의 지침(ISCL, 미국 피부 림프종 컨소시엄(United States Cutaneous Lymphoma Consortium; USCLC))에 기초한 권장 사항; 피부, 림프절, 혈액 및 내장의 종양 부담을 평가하기 위한 점수 시스템을 포함하는 EORTC의 피부 림프종 태스크 포스; 피부, 결절, 혈액 및 내장의 반응 정의; 및 종합적인 전반적 반응 점수는 섹션 6.11에 제시되어 있다. 반응 평가는 대표 지역의 사진 문서로 뒷받침되어야 한다.

[0438] 6.8 골수 생검 및 흡인물

[0439] 스크리닝 시 골수 생검 및 흡인물 수집을 모든 대상체에 대해 수행한다. 대상체가 스크리닝 시 BM 침윤에 대해 음성인 경우, 제28일에 BM 생검 및 흡인물 수집만 있다. 그렇지 않은 경우, 스크리닝 시 BM 침윤에 대해 양성인 대상체에 대하여 CR을 확인하기 위한 추가적인 BM 생검 및 흡인물 수집이 이루어진다. PET/CT 스캔에서 결정된 바와 같이 CR을 달성한 BM 관련 이력이 있는 대상체는 반응 평가를 확인하기 위해 BM 생검을 받는다. 대상체가 재발의 징후를 보이면, 생검을 반복하여야 한다.

[0440] CTX130(PCR을 통해 검출됨)의 존재에 대한 샘플은 BM 분석이 수행되는 어느 시점에서든 중앙 실험실 평가를 위해 보내져야 한다. CTX130 주입 후 BM 흡인물 유래의 샘플은 CTX130 PK 및 탐색적 바이오마커를 위해 보내져야 한다. BM 생검에 대한 표준 기관 지침을 따라야 한다. 여분의 샘플(사용 가능한 경우)을 탐색적 연구를 위해 보관할 수 있다.

[0441] 6.9 종양 생검

[0442] 대상체는 스크리닝 시 종양 생검을 받아야 하며, 등록 전 3개월 이내에 그리고 마지막 전신 또는 표적화 요법 후에 진행 후 생검을 수행한 경우 보관 조직이 제공될 수 있다. 보관 조직이 중앙 실험실 요건을 충족하기에 불충분한 부피 또는 품질인 경우, 본 명세서에 기재된 바와 같이 스크리닝 중에 생검을 수행하여야 한다.

[0443] 종양 생검을 제7일(+ 2일, 또는 임상적으로 실현 가능한 한 빨리) 및 제28일(± 2일)에 수행한다. 대상체가 연구 동안 재발이 발생하면, 재발 종양의 생검을 수득하고 중앙 실험실로 보내기 위해 모든 시도를 하여야 한다.

[0444] 생검은 측정 가능하지만 비표적인 병변에서 비롯되어야 한다. 여러 번 생검을 하는 경우, 유사한 조직에서 생검을 수득하기 위해 노력을 하여야 한다. 간 전이는 일반적으로 덜 바람직하다. 뼈 생검 및 기타 탈회된 조직은 하류 분석의 간섭으로 인해 허용되지 않는다. 이 샘플은 CTX130의 존재뿐만 아니라 DNA, RNA, 단백질 및 대사산물의 분석을 포함하는 종양 고유 및 TME-특이적 바이오마커의 존재에 대해 분석된다.

[0445] 6.10 Lugano 반응 기준, 2014

[0446] 다음은 문헌[Cheson et al., (2014) *J Clin Oncol* 32, 3059-68]에서 수정된 것이다.

[0447] **진단**: 세침 흡인물은 초기 진단에 적절하지 않다. 이러한 검사를 위한 적절한 조직을 제공하기 위해 절개 또는 절제 생검이 선호된다. 절제 생검이 불가능하고 재발을 문서화하기 위해 코어-바늘 생검을 고려할 수 있지만; 비진단적 샘플은 절개 또는 절제 생검이 뒤따라야 한다.

[0448] **기준선 부위 침범**: 부위 침범에 대한 기준이 **표 18**에 요약되어 있다.

*표 18*

[0449] **부위 침범을 위한 기준.**

| 조직 부위 | 임상 | FDG 결합성 | 검사 | 양성 소인 |
|---|---|---|---|---|
| 림프절 | 촉진가능 | FDG-열성 조직학<br>비열성 질환 | PET-CT<br><br>CT | FDG 흡수 증가<br>설명되지 않는 결절 비대 |
| 비장 | 촉진가능 | FDG-열성 조직학<br>비열성 질환 | PET-CT<br><br>CT | 미만성 흡수, 고립성 종괴, 속립성 병변, 결절<br>수직 길이 13 cm 초과, 종괴, 결절 |
| 간 | 촉진가능 | FDG-열성 조직학<br>비열성 질환 | PET-CT<br><br>CT | 미만성 흡수, 종괴<br>결절 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| CNS | 징후, 증상 | | CTMRI<br><br>CSF 평가 | 종괴 병변(들)<br>연수막 침윤, 종괴 병변<br>세포학, 유세포분석 |
| 기타(예를 들어, 피부 폐, GI관, 뼈, 골수) | 부위 의존적 | | PET-CT [1], 생검 | 림프종 침범 |

[0450] CSF: 뇌척수액; CT: 컴퓨터 단층 촬영 FDG: 플루오로데옥시글루코스; GI: 위장; MRI: 자기 공명 영상; PET: 양전자 방출 단층 촬영.

[0451] [1] PET-CT는 골수 침범을 결정하는 데 적절하며 다른 림프관외 부위 침범을 강하게 시사하는 것으로 고려될 수 있다. 필요하다면 이들 부위의 생검 확인을 고려할 수 있다.

[0452] **영상화**: 양전자 방출 단층 촬영(PET)-컴퓨터 단층 촬영(CT)은 일상적으로 플루오로데옥시글루코스(FDG)-열성 조직학의 병기를 결정하는 데 사용되어야 한다. 결절 및 결절외 부위의 병소 위치를 기록하는 육안 평가와 함께 스캔을 보고하여야 한다. 이미지는 고정된 표준화된 흡수 값과 색상표로 크기를 조정하여야 하며; 분포 및/또는 CT 특징에 따라 생리학적 흡수 및 기타 질환 패턴과 구별된다.

[0453] PET-CT 스캔은 다음과 같이 수행하여야 한다:

[0454] ● 중간 스캔을 위한 마지막 화학요법을 투여하고 가능한 한 오랜 시간 후

[0455] ● 이상적으로는 치료 종료 시 화학 요법 후 6 내지 8주(최소 3주)

[0456] ● 방사선 치료법 후 3개월 이상

[0457] 조영증강 CT 스캔은 결절 크기를 보다 정확하게 측정하고; 장과 림프절을 보다 정확하게 구별하기 위해; 중앙/종격동 혈관의 압박/혈전의 환경에서 포함될 수 있다. 조영증강 CT는 또한 방사선 치료설계에도 선호된다. 다양한 FDG-열성 조직학은 CT 스캔으로 병기가 결정되어야 한다.

[0458] CT로 병기가 결정된 대상체의 경우, 질환은 **표 19**에 따라 평가되어야 한다.

*표 19*

[0459] **CT-기반 병기 결정을 위한 질환 평가.**

| **측정가능한 결절 부위** | **측정가능한 결절외 질환 부위** | **측정가능하지 않은 질환 부위** |
|---|---|---|
| LDi>1.5 cm | LDi>1.0 cm | · 모든 다른 질환 부위: 결절 결절외<br>· 평가가능한 질환 |
| 최대 6개의 측정가능한 결절/결절외 부위:<br>· 가장 큰 표적 결절, 결절 종괴 또는 다른 림프종 병변<br>· 측정가능한 결절외 질환<br>· 2가지 직경(LDi 및 SDi)으로 측정가능함<br>· 상이한 신체 영역/전반적인 질환 부담을 나타냄<br>· 관련된 경우 종격동 및 후복막 질환을 포함함 | | 예:<br>· 피부, GI, 뼈, 비장, 간, 신장, 삼출 |

[0460] GI: 위장; LDi: 병변의 가장 긴 가로 직경; SDi: LDi에 수직인 가장 짧은 축.

[0461] **종양 덩어리**: 여러 개의 작은 결절과 달리 CT에 의해 결정된 흉추의 임의의 수준에서 경흉부 직경의 1/3보다 10 cm 이상 더 큰 단일 결절 종괴는 호지킨 림프종(HL)에 대한 부피가 큰 질환의 정의이다. 부피를 결정하기 위해 흉부 x-선이 필요하지 않다. HL 및 비호지킨 림프종(NHL)의 경우 CT 스캔에 의한 가장 긴 측정값을 기록하여야 한다.

[0462] 총 종양 부피의 측정은 PET 및 CT를 이용하여 잠재적인 예후 인자로 탐색하여야 한다.

[0463] **비장 간 및 골수 침범**: 비장 및 간 침범은 **표 20**에 기재된 바와 같이 PET-CT에 의해 가장 잘 결정된다.

*표 20*

[0464] **비장 및 간 침범.**

| 비장 | 간 |
|---|---|
| 부피와 연관성이 높은 단일 측정 사용 | 신체 검사 또는 CT 스캔에 의한 간 크기는 림프종에 의한 간 침범의 신뢰할 수 있는 측정이 아님 |
| 대부분의 연구에서는 수직 길이(두개에서 꼬리까지)로 10~12 cm를 사용함 | 국소 또는 파종 결절이 간 침범을 지원하거나 동반하지 않고 광범위하게 증가되거나 국소 흡수됨 |
| Lugano 권장 사항: 비장종대 >13 cm | |

[0465] 골수 침범은 다음과 같이 결정될 수 있다:

[0466] ● HL, PET-CT를 수행하는 경우 골수 생검(BMB)이 필요하지 않다.

[0467] ● DLBCL, PET가 음성인 경우 BMB 및 불일치하는 조직학을 확인하는 것이 대상체 관리에 중요하다.

[0468] ● 스크리닝/기준선에서 면역조직화학 및 유세포 분석과 함께 약 2.5 cm의 편측성 BMB를 사용하는 기타 하위유형이 권장된다.

[0469] ● 기준선에서 관련되지 않은 경우 CR에 대해 정상이어야 하고 완전 대사 반응(CMR)에 대해 골수에서의 FDG-열성 질환의 증거가 있어야 한다.

[0470] **병기 결정 시스템**: 질환 범위에 대한 해부학적 설명에는 수정된 앤아버 병기 결정 시스템을 사용하여야 한다(**표 21**).

*표 21*

[0471] **원발성 결절 림프종에 대한 수정된 병기 결정 시스템**

| 병기 | 침범 | 결절외 상태 |
|---|---|---|
| **제한** | | |
| I기 | 하나의 결절 또는 인접 결절 그룹 | 결절 침범이 없는 단일 결절외 병변 |
| II기 | 횡격막의 같은 쪽에 있는 2개 이상의 결절 그룹 | 인접한 결절외 침범, 제한되지 않는 결절 정도에 의한 I기 또는 II기 |
| II기 대규모 [1] | 대규모 질환이 있는 상기와 같은 II기 | N/A |
| **진행성** | | |
| III기 | 횡경막 양쪽에 있는 결절<br>비장 침범이 있는 횡경막 위의 결절 | N/A |
| IV기 | 추가적인 비연속적 결절외 침범 | N/A |

[0472] 주. 질환의 범위는 열성 림프종에 대한 양전자 방출 단층 촬영-컴퓨터 단층 촬영 및 비열성 조직학에 대한 컴퓨터 단층 촬영에 의해 결정된다. 편도선, Waldeyer의 고리 및 비장은 결절 조직으로 간주된다.

[0473] [1] 병기 II 대규모 질환이 제한적으로 치료되거나 진행된 질환으로 치료되는지 여부는 조직학 및 여러 예후 인자에 의해 결정될 수 있다.

[0474] **반응 평가**: PET-CT는 5점 척도를 사용하여 FDG-열성 조직학의 반응 평가에 사용되어야 하며; CT는 낮거나 가변적인 FDG 결합력에 선호된다.

[0475] 치료 후 모호한 결과가 나온 후에 반복 연구가 고려될 수 있지만 관해 후 감시 스캔, 특히 DLBCL 및 HL의 경우 권장되지 않는다.

[0476] 후속 스캔의 현명한 사용은 복강 내 또는 복막 후 질환이 남아 있는 무통성 림프종에서 고려될 수 있다.

[0477] 반응 기준은 **표 22**에 요약되어 있다.

*표 22*

[0478] **반응 평가를 위한 개정된 기준.**

| **반응 및 부위** | **PET/CT-기반 반응** | **CT-기반 반응** |
|---|---|---|
| **완전** | **완전 대사 반응** | **완전 방사선 반응(다음의 모든 것)** |
| 림프절 & 림프절외 부위 | 5PS[2]에서 잔류 종괴가 있거나 없는 1, 2 또는 3점을 얻음[1]<br><br>생리학적 흡수가 높거나 비장 또는 골수 내 활성화(예를 들어, 화학요법 또는 골수 집락-자극 인자를 이용)가 있는 Waldeyer의 고리 또는 결절외 부위에서 흡수는 정상 종격동 및/또는 간보다 클 수 있는 것으로 인식된다. 이러한 상황에서 조직의 생리적 흡수가 높더라도 초기 침범 부위의 흡수가 주변 정상 조직보다 크지 않으면 완전한 대사 반응을 유추할 수 있다. | 표적 결절/결절 종괴는 ≤1.5 cm의 LDi로 회귀하여야 한다.<br><br>질환의 림프외 부위 없음 |
| 비측정 병변 | 적용불가 | 부재 |
| 기관 비대 | 적용불가 | 정상으로 회귀 |
| 새로운 병변 | 없음 | 없음 |
| 골수 | 골수에서 FDG-열성 질환의 증거 없음 | 형태학에 의한 정상; 결정할 수 없는 경우, IHC 음성 |
| **부분** | **부분 대사 반응** | **부분 관해(다음의 모든 것)** |
| 림프절 & 림프절외 부위 | 임의의 크기의 기준선 및 잔류 종괴와 비교하여 감소된 흡수로 4 또는 5점을 얻음[2]<br><br>중간 분석에서 이러한 발견은 반응 질환을 시사한다.<br><br>치료 종료 시 이러한 발견은 잔류 질환을 나타낸다. | 최대 6개의 표적 측정가능 결절 및 결절외 부위의 SPD ≥ 50% 감소<br><br>병변이 너무 작아 CT에서 측정할 수 없는 경우 5 mm X 5 mm를 디폴트 값으로 지정한다.<br><br>더 이상 보이지 않을 때 0 X 0 mm<br>결절의 경우 >5mm×5mm이지만 작음 |
| 비측정 병변 | 적용불가 | 부재/정상, 퇴행, 증가 없음 |
| 기관 비대 | 적용불가 | 비장이 정상보다 길이가 >50% 이상 퇴행하여야 한다. |
| 새로운 병변 | 없음 | 없음 |
| 골수 | 정상 골수에서의 흡수보다 높지만 기준선과 비교하여 감소된 잔류 흡수(화학요법으로 인한 반응성 변화와 양립 가능한 확산 흡수 허용). 결절 반응과 관련하여 골수에 지속적인 국소 변화가 있는 경우 MRI, 생검 또는 간격 스캔을 이용한 추가 평가를 고려하여야 한다. | 적용불가 |
| **무반응 또는 안정 질환** | **대사 반응 없음** | **안정 질환** |
| 표적 결절/결절 종괴, 결절외 병변 | 치료 중간 또는 종료 시 기준선으로부터 FDG 흡수의 유의미한 변화 없이 4 또는 5점을 얻음 | SPD가 기준선에서 최대 6까지 50% 미만 감소지배적이며 측정가능한 결절 및 결절외 부위; 진행성 질환에 대한 기준이 충족되지 않음 |
| 비측정 병변 | 적용불가 | 진행과 일치하는 증가 없음 |
| 기관 비대 | 적용불가 | 진행과 일치하는 증가 없음 |
| 새로운 병변 | 없음 | 없음 |
| 골수 | 기준선으로부터 변화 없음 | 적용불가 |
| **진행성 질환** | **진행성 대사 질환** | **진행성 질환은 다음 중 적어도 하나를 요구함** |

| | | |
|---|---|---|
| 개별 표적 결절/결절 종괴<br>결절외 병변 | 기준선으로부터 흡수 강도가 증가하면 4 또는 5점을 얻고/얻거나<br><br>중간 또는 치료 종료 평가 시 림프종과 일치하는 새로운 FDG-열성 병소 | PPD 진행:<br><br>다음에 의해 개체 결절/병변은 비정상적이어야 함:<br>· LDi >1.5 cm<br>· PPD 최저치로부터 50% 이상 증가<br>· 최저치로부터 LDi 또는 SDi 증가<br>· 2 cm 이하인 병변에 대해 0.5 cm<br>· 2 cm 초과 병변에 대해 1.0 cm |
| **반응 및 부위** | **PET/CT-기반 반응** | **CT-기반 반응** |
| | | · 비장 비대 설정에서 비장 길이는 기준선을 넘어 이전 증가 범위의 50% 초과만큼 증가해야 한다(예를 들어, 15 cm 비장이 16 cm 초과로 커져야 함). 비장 비대가 없는 경우 기준선에서 적어도 2 cm 커져야 한다.<br>· 신규 또는 재발성 비장종대 |
| 비측정 병변 | 없음 | 기존의 측정되지 않은 병변의 신규 또는 명확한 진행 |
| 새로운 병변 | 다른 병인(예를 들어, 감염, 염증)이 아닌 림프종과 일치하는 새로운 FDG-열성 병소. 새로운 병변의 병인이 불확실한 경우 생검 또는 간격 스캔을 고려할 수 있다. | 이전에 해결된 병변의 재성장<br>· 임의의 축에서 1.5 cm 초과의 새 결절<br>· 임의의 축에서 1.0 cm 초과의 새로운 결절외 부위; 임의의 축에서 1.0 cm 미만인 경우, 그 존재는 명백해야 하고 림프종에 기인해야 한다.<br>· 림프종에 기인하는 것이 분명한 임의의 크기의 평가가능한 질환 |
| 골수 | 새로운 또는 재발 FDG-열성 병소 | 새로운 또는 재발 침입 |

[0479] 5PS: 5점 척도; CT: 컴퓨터 단층 촬영; FDG: 플루오로데옥시글루코스; IHC: 면역조직화학; LDi: 병변의 가장 긴 가로 지름; MRI: 자기 공명 영상; PET: 양전자 방출 단층 촬영; PPD: LDi와 수직 직경의 외적; SDi: LDi에 수직인 가장 짧은 축; SPD: 여러 병변에 대한 수직 직경의 곱의 합.

[0480] [1] 많은 대상체에서 3점은 특히 중간 스캔의 경우 표준 치료로 좋은 예후를 나타낸다. 그러나 단계적 축소가 조사되는 PET 관련 시험에서는 부적절한 반응(과소 치료를 피하기 위해)으로 3점을 고려하는 것이 바람직할 수 있다. 측정된 우성 병변: 최대 6개의 가장 큰 우성 결절, 결절 종괴 및 결절외 병변을 2가지 직경에서 명확하게 측정할 수 있도록 선택한다. 결절은 바람직하게는 신체의 서로 다른 영역에 있어야 하며 적용가능한 경우 종격동 및 후복막 영역을 포함하여야 한다. 비결절성 병변은 고형 장기(예를 들어, 간, 비장, 신장, 폐), GI 침범, 피부 병변 또는 촉진에서 관찰된 병변을 포함한다. 비측정 병변: 측정으로 선택되지 않은 임의의 질환, 우성 질환 및 진정으로 평가가능한 질환은 측정되지 않은 것으로 간주되어야 한다. 이러한 부위는 우성 또는 측정가능한 것으로 선택되지 않았거나 측정가능성에 대한 요구 사항을 충족하지 않지만 여전히 비정상적일 뿐만 아니라 진정으로 평가가능한 질환인 것으로 간주되는 결절, 결절 종괴 및 결절외 부위를 포함하며, 상기 진정으로 평가가능한 질환은 흉수, 복수, 뼈 병변, 연수막 질환, 복부 종괴 및 기타 확인 및 영상 촬영이 불가능한 병변을 포함하여 측정으로 정량적으로 추적하기 어려운, 질환이 의심되는 임의의 부위이다. Waldeyer의 고리 또는 결절외 부위(예를 들어, GI관, 간, 골수)에서 FDG 흡수는 완전한 대사 반응을 보이는 종격동보다 클 수 있지만 주변의 정상적인 생리학적 흡수(예를 들어, 화학요법 또는 골수 성장 인자의 결과로 인한 골수 활성화가 있는 경우)보다 높아서는 안 된다.

[0481] [2] PET 5 점 척도: 1, 배경 위에 흡수 없음; 2, 흡수 ≤ 종격동; 3, 흡수 ≥ 종격동 그러나 ≤ 간; 4, 적당히 흡수 > 간; 5, 간 및/또는 새로운 병변보다 현저하게 높은 흡수; X, 림프종과 관련이 없을 것 같은 새로운 흡수 영역.

[0482] 6.11 국제 피부 림프종 반응 기준 학회, 2011

[0483] 다음은 문헌[Olsen et al., (2011) *J Clin Oncol*. 29, 18:2598-607]에서 수정된 것이다.

[0484] **정의**: 사용할 반점, 플라크 및 종양의 정의는 **표 23**에 개괄되어 있다.

*표 23*

[0485] MF/SS의 TNMB 분류에 대한 수정된 ISCL/EORTC 개정판.

| TNMB 병기 | TNMB의 설명 |
|---|---|
| **피부** [1] | |
| $T_1$ | 피부 표면의 10% 미만을 덮는 제한된 반점, 구진 및/또는 플라크; $T_{1a}$(반점만 해당) v $T_{1b}$(플라크 ± 반점)로 추가 계층화할 수 있다. |
| $T_2$ | 피부 표면의 10% 이상을 덮는 반점, 구진 또는 플라크; $T_{2a}$(반점만 해당) v $T_{2b}$(플라크 ± 반점)로 추가 계층화할 수 있다. |
| $T_3$ | 하나 이상의 종양(≥1cm 직경) |
| $T_4$ | 80% 이상의 체표면적을 덮는 홍반의 합류 |
| **결절** [2] | |
| $N_0$ | 임상적으로 비정상적인 림프절이 없음; 생검 불필요 |
| $N_1$ | 임상적으로 비정상적인 림프절; 조직병리학 네덜란드 1 등급 또는 NCI $LN_{0-2}$ |
| $N_{1a}$ | 클론 음성 |
| $N_{1b}$ | 클론 양성 |
| $N_2$ | 임상적으로 비정상적인 림프절; 조직병리학 네덜란드 2 등급 또는 NCI $LN_3$ |
| $N_{2a}$ | 클론 음성 |
| $N_{2b}$ | 클론 양성 |
| $N_3$ | 임상적으로 비정상적인 림프절; 조직병리학 네덜란드 3 내지 4 등급 또는 NCI $LN_4$; 클론 양성 또는 음성 |
| $N_x$ | 조직학적 확인이 없거나 조직학적 하위 카테고리를 완전히 특성화할 수 없는 임상적으로 비정상적인 림프절 |
| **내장** | |
| $M_0$ | 내장 기관 침범 없음 |
| $M_1$ | 내장 침범(병리학적 확인이 있어야 하고 관련 기관이 명시되어야 함) |
| **혈액** | |
| $B_0$ | 심각한 혈액 침범의 부재: 말초 혈액 림프구의 5% 이하가 비정형(세자리) 세포이다. |
| $B_{0a}$ | 클론 음성 |
| $B_{0b}$ | 클론 양성 |
| $B_1$ | 낮은 혈액 종양 부하: 말초 혈액 림프구의 5% 초과는 비정형(세자리) 세포이지만 $B_2$의 기준을 충족하지 않는다. |
| $B_{1a}$ | 클론 음성 |
| $B_{1b}$ | 클론 양성 |
| $B_2$ | 높은 혈액 종양 부하: 양성 클론이 있는 1,000/μL 이상의 세자리 세포[3]; 다음 중 하나는 세자리 세포로 대체될 수 있다: CD4/CD8 ≥10, CD4+CD7- 세포 ≥40% 또는 CD4+CD26-세포 ≥30% |

[0486] EORTC: 유럽 암 연구 및 치료 기구; ISCL: 피부 림프종에 대한 국제 학회; MF: 균상 식육종; NCI: 국립 암 연구소 SS: Sezary 증후군; TNMB: 종양-결절-전이-혈액.

[0487] [1] 반점 = 경결이 없는 임의의 크기의 병변 또는 관련되지 않은 주변 피부 위의 상당한 융기: 다형피부증이 존재할 수 있다. 플라크 = 융기되거나 경결된 임의의 크기의 병변: 딱지 또는 다형피부증이 존재할 수 있다. 종양 = 피부에 깊은 침윤 및/또는 수직 성장의 증거가 있는 직경 1 cm 이상의 임의의 고형 또는 결절성 병변.

[0488] [2] 림프절 분류는 중앙 결절을 포함하도록 2007 ISCL/EORTC 합의 개정판에서 수정되었다. 림프절은 직경이 1.5 cm 초과인 경우 비정상적인 것으로 간주된다.

[0489] [3] 혈액의 클론은 피부의 클론과 일치하여야 한다. 혈액 내 분리된 클론 또는 피부의 클론과 일치하지 않는 혈액 내 클론의 관련성은 아직 결정되지 않았다.

[0490] **진단**: 조직병리학적 진단은 피부 림프종에 대한 전문 지식을 갖춘 병리학자가 현재 질환을 나타내는 피부 생검에서 확인하여야 한다. 세자리 증후군(SS; T4 + B2 기준을 충족하는 것으로 정의됨)에 있어, 홍피성 피부의 생검 결과가 암시적이지만 진단적 조직병리학적 특성은 나타내지 않는 경우, 진단은 결절 생검 또는 피부와 일치하는 혈액 중 클론을 포함한 $B_2$ 기준의 충족에 기초할 수 있다. 광학현미경 검사에 의한 조직학적 진단이 확인되지 않는 초기 반점 단계의 균상 식육종(MF)의 경우 ISCL에서 권장하는 진단 기준을 사용하여야 한다.

[0491] **평가**:

[0492] ● 치료 전 평가 및 반응 매개변수의 채점은 스크리닝 시가 아니라 기준선(치료 제1일)에서 수행되어야 한다.

[0493] ● 모든 반응 기간은 적어도 4주이어야 한다.

[0494] **피부 평가, 채점 및 반응의 정의**:

[0495] 피부 채점에는 SWAT(Severity Weighted Assessment Tool; 중증도 가중 평가 도구) 또는 수정된 SWAT(mSWAT)를 사용하여야 한다.

[0496] 반응의 정의는 **표 24**에 제시되어 있다.

*표 24*

[0497] **피부에서의 반응.**

| 반응 | 정의 |
|---|---|
| 완전 반응 | 피부 병변의 100% 소거 [1] |
| 부분 반응 | $T_1$, $T_2$ 또는 $T_4$ 단독 피부 질환이 있는 대상체에서 새로운 종양($T_3$)이 없는 기준선으로부터 피부 질환의 50% 내지 99% 소거 |
| 안정 질환 | $T_1$, $T_2$ 또는 $T_4$ 단독 피부 질환이 있는 대상체에서 새로운 종양($T_3$)이 없는 기준선으로부터 피부 질환의 소거율이 25% 미만에서 50% 미만으로 증가 |
| 진행성 질환 [2] | 기준선으로부터 피부 질환 또는 $T_1$, $T_2$ 또는 $T_4$ 단독 피부 질환이 있는 대상체에서 새로운 종양($T_3$) 또는 반응 상실에서 25% 이상 증가: 완전 또는 부분 반응이 있는 대상체에서 최저치 + 50% 기준선 점수의 합보다 더 큰 피부 점수의 증가 |
| 재발 | 완전 반응이 있는 대상체에서 모든 질환 재발 |

[0498] 주. 수정된 중증도 가중 평가 도구 점수에 기초함.

[0499] [1] 정상으로 보이는 피부의 생검은 완전한 반응을 지정하기 위해 필요하지 않다. 그러나, 잔류 질환(지속적인 홍반 또는 색소 변화)이 의심되는 경우 피부의 대표적인 부위에 대해 피부 생검을 수행하여야 하며 그렇지 않으면 완전한 반응이 존재할 것이다. 조직학적 특성이 균상 식육종/세자리 증후군을 의심하거나 암시하는 경우(초기 균상 식육종에 대한 조직학적 기준 참조), 반응은 부분 반응으로만 간주되어야 한다.

[0500] [2] 먼저 발생하는 기준을 바탕으로 함.

[0501] **림프절 평가, 채점 및 반응의 정의**:

[0502] 말초 림프절: 참가자의 전체 종양-결절-전이-혈액(TNMB) 상태를 특성화하여야 하고 컴퓨터 단층 촬영(CT) 영상화가 권장되며 관찰자 간의 상당한 변동성이 존재한다는 경고가 있다. 자기 공명 영상(MRI)은 CT의 대안이다.

[0503] 중앙 림프절: 중앙 림프절이 비대된 증거가 있고(장축에서 1.5 cm 직경 초과 또는 단축에서 1.0 cm 직경 초과로 정의됨) 생검(즉, 절제, 미세 -바늘 흡인 또는 코어 생검)에 의해 MF/SS가 있는 침범의 확인 후, 모든 중앙 결절은 이후 주변 결절과 동일한 방식으로 추적되어야 한다(모든 비대된 결절의 가장 긴 2차원 측정 결과).

[0504] 반응의 정의는 **표 25**에 제시되어 있다.

*표 25*

[0505] **림프절에서의 반응.**

| **반응** | **정의** [1] |
|---|---|
| 완전 반응 | 모든 림프절은 현재 기준선에서 림프절 또는 림프종에 대해 음성인 생검을 평가하는 데 사용되는 방법에 의해 최대 가로(장축) 직경이 1.5 cm 이하임; 추가적으로, $N_3$ 분류이고 기준선에서 장축이 1.5 cm 이하이고 단축이 1 cm 초과였던 림프절은 이제 단축이 1 cm 이하이거나 림프종에 대해 음성이어야 함. |
| 부분 반응 | 기준선에서 각각의 비정상 림프절의 SPD의 50% 이상 누적 감소 및 장축 직경이 1 내지 1.5 cm 이상인 경우 장축의 직경이 1.5 cm을 초과하고 단축 직경이 1.0 cm을 초과하는 새로운 림프절 없음 |
| 안정 질환 | CR, PR, 및 PD에 대한 기준을 충족하지 못함 |
| 진행성 질환 [2] | 림프절 기준선에서 SPD의 50% 이상의 증가 또는 조직학적으로 N3으로 입증된 장축이 1 내지 1.5 cm인 경우 장축이 1.5 cm 초과 또는 단축이 1 cm 초과인 새로운 결절 또는<br>반응 상실: PR이 있는 경우 림프절 SPD의 최저치에서 50% 초과 증가 |
| 재발 | 조직학적으로 $N_3$으로 입증된 CR이 있는 림프절의에서 장축이 1.5 cm 초과인 임의의 새로운 림프절 |

[0506] CR: 완전한 응답; PD: 진행성 질환; PR: 부분 응답; SPD: 최대 선형 치수(장축) × 가장 긴 수직 치수(단축)의 합.

[0507] [1] 말초 및 중심 림프절.

[0508] [2] 먼저 발생하는 기준을 바탕으로 함.

[0509] **내장 질환 평가, 채점 및 반응의 정의**: 영상 연구에 의해 진단될 수 있는 간 및 비장 침범을 제외한 모든 형태의 내장 질환에 대해 기준선에서의 생검 확인이 권장된다. 참고로 골수 흡인/트레핀 생검은 평가나 반응 평가에서 의무적인 것으로 간주되지 않는다. CT 단독으로 내장 내 CR을 확증하는 데에는 한계가 있을 수 있으며, 이러한 경우 확증적 생검이 필요하거나 이것이 없으면 CR 평가를 할 수 없다. 반응의 정의는 **표 26**에 제시되어 있다.

*표 26*

[0510] **내장에서의 반응**

| **반응** | **정의** |
|---|---|
| 완전 반응 | 기준선에서 관련된 것으로 간주되는 간, 비장 또는 임의의 장기는 신체 검사에서 확대되어서는 안 되며 영상으로 정상으로 간주되어야 한다; 간이나 비장의 영상에 결절이 존재하지 않아야 한다. 임의의 후 종괴는 생검에 의해 림프종에 대해 음성인 것으로 결정되어야 한다. |
| 부분 반응 | 임의의 비장 또는 간 결절에서 50% 이상 퇴행, 기준선에서 임의의 비정상적인 임의의 기관에서 측정가능한 질환(SPD); 간 또는 비장의 크기 증가 없음 및 새로운 침범 부위 없음 |
| 안정 질환 | CR, PR, 또는 PD에 대한 기준을 충족하지 못함 |
| 진행성 질환 [2] | 기준선에서 관련된 임의의 기관의 크기(SPD)의 50% 초과 또는 새로운 기관 침범 또는 반응 상실: PR이 있는 대상체의 임의의 이전 기관 관련 크기(SPD)가 최저치에서 50% 초과 증가 |
| 재발 | CR이 있는 대상체에 새로운 장기 침범 |

[0511] CR: 완전한 응답; PR: 부분 응답; SPD: 최대 선형 치수(장축) × 가장 긴 수직 치수(단축)의 합; SD: 안정 질환; PD: 진행성 질환.

[0512] [1] 먼저 발생하는 기준을 바탕으로 함.

[0513] **혈액 평가, 점수 매기기 및 반응의 정의**: 유세포 분석에 의해 결정된 $CD4^+CD26^-$ 세포의 절대 수는 MF/SS에서 잠재적인 혈액 침범의 가장 합리적이고 정량화 가능한 척도이다. $CD26^+$ 대상체에서 $CD4^+CD7^-$ T 세포는 모니터링할 대체 집단이 될 것이다.

[0514] 혈액 내 CD4 세포에 대한 정상값 1,600/μL의 상한선을 기준으로 하여 절대 수치가 250/μL 미만인 $CD4^+/CD26^-$ 또는 $CD4^+CD7^-$ 세포는 이러한 CD4 하위세트에 대한 정상 값으로 보일 것이며 또한 혈액 침범의 부재 또는 정상화를 정의하는 데 사용할 수 있다($B_0$). 대안적으로, 절대 세자리 세포 수는, 250/μL 미만 및 1,000/μL 초과인 세자리 세포가 $B_0$ 및 $B_2$의 합리적인 결정 요인인 단일 자격을 갖춘 판독기에 의해 양질의 도말이 해석될 때 선택적인 방법이다.

[0515] 반응의 정의는 **표 27**에 제시되어 있다.

*표 27*

[0516] 혈액 내 반응 [1]

| 반응 | 정의 |
|---|---|
| 완전 반응 [2] | $B_0$ |
| 부분 반응 [3] | 기준선에서 종양 부담이 높은 환자에서 기준선에서 혈액 종양 부담의 정량적 측정에서 50% 초과 감소($B_2$) |
| 안정 질환 | CR, PR, 또는 PD에 대한 기준을 충족하지 못함 |
| 진행성 질환 [4] | $B_0$에서 $B_2$로 또는 기준선에서 50% 초과 증가 및 적어도 5,000개의 신생물 세포/μL<br>또는<br>반응 상실: 기준선에서 원래 B2였던 PR이 있는 개체에서 최저치에서 50% 초과 증가 및 적어도 5,000개의 신생물 세포/μL |
| 재발 | CR이 있는 개체에서 신생물 혈액 림프구가 $B_1$ 이상으로 증가<br>CR: 완전 |

[0517] CR: 완전한 응답; PR: 부분 응답; SD: 안정 질환; PD: 진행성 질환.

[0518] [1] 신생물 세포의 절대 수/μL에 의해 결정됨.

[0519] [2] 기준선에서 골수 생검을 수행하고 림프종 침범을 분명히 나타내는 것으로 결정된 경우, 혈액 평가가 현재 $B_0$에 대한 기준을 충족하는 전반적 CR을 확인하려면 반복 골수 생검이 잔류 질환을 보이지 않아야 하거나 반응이 PR로만 간주되어야 한다.

[0520] [3] B1을 정의하는 신생물 세포 범위 내의 차이가 유의한 것으로 간주되지 않고 전반적인 객관적 반응의 결정에 영향을 미치지 않아야 하기 때문에 기준선에서 B1 질환이 있는 개체에서 PR은 없다.

[0521] [4] 먼저 발생하는 기준을 바탕으로 함.

[0522] **전반적 반응 점수 정의**: MF/SS에 대한 전반적인 합의 반응 점수는 **표 28**에 제시되어 있다.

*표 28*

[0523] **전반적인 반응 점수.**

| 전반적인 점수[1] | 정의 | 피부 | 결절 | 혈액 | 내장 |
|---|---|---|---|---|---|
| CR | 질환의 모든 임상 증거의 완전한 소멸 | CR | 모든 카테고리에는 CR/NI가 있다. | | |

| | | | |
|---|---|---|---|
| PR | 측정가능한 질환의 퇴행 | CR<br>PR | 모든 카테고리에는 CR/NI가 없고 카테고리에는 PD가 없다.<br>카테고리에 PD가 없고 기준선에 관련된 임의의 카테고리가 있는 경우 적어도 1개에 CR 또는 PR이 있다. |
| SD | 모든 질환을 대표하는 CR, PR, 또는 PD를 달성하지 못함 | PR | 카테고리에 PD가 없고 기준선에 관련된 임의의 카테고리가 있는 경우, 어느 것에도 CR 또는 PR이 없다. |
| PD | 진행성 질환 | SD | 임의의 카테고리의 CR/NI, PR, SD 및 임의의 카테고리에 PD가 있는 카테고리가 없다 |
| 재발 | 이전 CR에서의 재발성 질환 | | 모든 범주에서 재발 |

[0524] CR: 완전한 응답; NI: 관련 없음; PR: 부분 응답; PD: 진행성 질환; SD: 안정적인 질병.

[0525] [1] 반응 또는 좋지 않은 결과를 얻은 대상체의 비율을 계산할 뿐만 아니라 각각의 대상체가 관찰되는 간격의 길이를 설명하는 생명표도 생성하는 것이 좋다.

[0526] **7. 치료**

[0527] 7.1. 림프구 고갈 화학 요법

[0528] 모든 대상체는 CTX130 주입 전에 LD 화학요법을 받는다. LD 화학요법은 다음으로 이루어진다.

[0529] ● 플루다라빈 일일 30 $mg/m^2$ IV(3회 투여 용량), 및

[0530] ● 사이클로포스파마이드 일일 500 $mg/m^2$ IV(3회 투여 용량).

[0531] 중등도의 신기능 장애(CrCl 50-70 mL/min/1.73 $m^2$)가 있는 성인 대상체는 적어도 20% 또는 로컬 처방 정보에 따라 감소된 용량의 플루다라빈을 제공받아야 한다.

[0532] 두 약제 모두 같은 날 시작하여 연속 3일 동안 투여한다. 대상체는 연구 등록 후 7일 이내에 LD 화학요법을 시작하여야 한다.

[0533] LD 화학요법과 연관된 보관, 준비, 투여, 지지 요법 지침 및 독성 관리에 관한 지침에 대해서는 플루다라빈 및 시클로포스파미드에 대한 현재 전체 처방 정보를 참조한다.

[0534] LD 화학요법은 다음 징후 또는 증상 중 하나라도 나타나면 지연될 수 있다.

[0535] ● ECOG >1로 수행 상태의 변화.

[0536] ● LD 화학요법과 연관된 AE의 잠재적 위험을 증가시키는 임상 상태의 유의한 악화, 예를 들어

[0537] ○ 임의의 혈구감소증의 임상적으로 유의한 악화,

[0538] ○ 트랜스아미나제 수준의 임상적으로 유의한 증가(예를 들어, >3 × ULN),

[0539] ○ 총 빌리루빈의 임상적으로 유의한 증가(예를 들어, >2 × ULN), 또는

[0540] ○ 혈청 크레아티닌의 임상적으로 유의한 증가.

[0541] ● 92% 초과의 포화 수준을 유지하기 위한 보충용 산소에 대한 요구.

[0542] ● 새로운 비조절성 심장 부정맥.

[0543] ● 혈관수축제 보조가 필요한 저혈압.

[0544] ● 활동성 감염: 치료에 반응하지 않는 박테리아, 진균 또는 바이러스에 대한 양성 혈액 배양물.

[0545] ● 임의의 급성 신경학적 독성(예를 들어, 2 등급 이상의 급성 신경학적 독성).

[0546] 7.2. CTX130의 투여

[0547] CTX130 주입은 다음 징후 또는 증상 중 하나라도 나타나면 지연되어야 한다.

[0548] ● ECOG >1로 수행 상태의 변화.

[0549] ● 새로운 활동성 비조절성 감염.

[0550] ● 임상 상태가의 현저한 악화는 동종이계 CAR T 세포 주입과 연관된 AE의 잠재적 위험을 증가시며, 예를 들어

[0551] ○ 트랜스아미나제 수준의 임상적으로 유의한 증가(예를 들어, >3 × ULN),

[0552] ○ 총 빌리루빈의 임상적으로 유의한 증가(예를 들어, >2 × ULN), 또는

[0553] ○ 혈청 크레아티닌의 임상적으로 유의한 증가.

[0554] ● 임의의 급성 신경학적 독성(예를 들어, 2 등급 이상의 급성 신경학적 독성).

[0555] CTX130은 LD 화학요법 완료 후 적어도 48시간(단, 7일 이내)에 투여된다.

[0556] 반복 투약으로부터 도출될 수 있는 잠재적인 임상적 이익을 감안할 때, 현재 연구에서는 CTX130 주입 후 2개월째에 최대 2회까지 CTX130을 반복 투약하여 연구에서 최대 3회 투약을 허용한다.

[0557] CTX130 주입 후 3개월째의 반복 투약은 다음 시나리오로 발생할 수 있다:

[0558] ● 진행성 질환 - CTX130 주입 후 2개월째에 새로운 병변 또는 20% 초과의 성장이 관찰되면(Lugano 및 ISCL 반응 기준), 진행 사건이 임상적으로 위협적인 시나리오를 구성하지 않는 경우 재투약을 고려한다.

[0559] ● 안정 질환 또는 부분 반응 - 재투약; 3개월째까지 완전한 관해에 도달하지 못한 경우 재투약이 발생한다.

[0560] ● 완전 관해 - 재투약 없음.

[0561] 일부 예에서, CTX130 세포로 대상체에게 2회 이하의 재투약이 허용될 수 있다. 재투약에 대해 고려할 때, 1) 초기 또는 두 번째 CTX130 주입 후 부분 반응(PR) 또는 완전 반응(CR)을 달성하고 이후 마지막 투약 후 2년 이내에 진행되었거나, 2) 가장 최근의 CTX130 주입 후 1개월째 연구 방문에서 안정 질환(SD)(재투약 결정은 로컬 CT 스캔/평가에 기초할 것임)이어야 한다. 대상체가 재투약받을 수 있는 가장 빠른 시간은 최초 또는 두 번째 CTX130 주입 후 6주이다.

[0562] 재투약을 고려하기 위해 대상체는 다음 기준을 충족해야 한다.

[0563] ○ 용량 증대 동안 DLT가 없음(해당되는 경우).

[0564] ○ CTX130 주입 후 72시간 이내에 2 등급 이하(예를 들어, 2)로 해결되지 않은 3 등급 이상(예를 들어, 4)의 CRS 없음.

[0565] ○ CTX130 주입 후 1 등급 초과의 GVHD 없음.

[0566] ○ CTX130 주입 후 2 등급 이상(예를 들어, 3 이상)의 ICANS가 없음.

[0567] ○ LD 화학요법 및 CTX130 주입에 대한 기준 충족(예를 들어, 혈역학적으로 안정, 활동성 감염 없음).

[0568] ○ 포함/배제 기준에서와 같이 모든 평가변수 기관 기준(예를 들어, 간, 신장, 심장, 폐, 신경) 충족.

[0569] 각각의 투약 사건 이전에, 대상체는 LD 화학요법의 또 다른 용량을 제공받았다. 파트 A 및 B에서 대상체는 연구에서 최대 3회 용량을 갖도록 CTX130 주입 후 3개월째에 최대 2회 재투약받을 수 있다. 파트 A에서 대상체가 이전 용량 수준에서 DLT를 경험하지 않았고 DLT가 DLT 평가 기간 동안 다음의 더 높은 용량 수준에서 관찰되지 않으면, 대상체 내 용량 증대가 허용된다. 대상체 내 용량 증대는, 용량 소거되고, 대상체가 계속 이익을 받으며, 임의의 재투약 기준을 위반하지 않는 경우, 다음의 더 높은 용량 수준으로 1회만 허용된다.

[0570] 7.3 CTX130 주입 후 모니터링

[0571] CTX130 주입 후, 주입 후 2시간 동안 또는 임의의 잠재적인 임상 증상이 해결될 때까지 대상체의 활력을 30분마다 모니터링하여야 한다.

[0572] 파트 A의 대상체는 CTX130 주입 후 최소 7일 동안 입원한다. 파트 A와 B 둘 모두에서, 대상체는 CTX130 주입 후 최소 28일 동안 연구 장소에 근접해 있어야 한다(즉, 이동 시간 1시간의 거리). 급성 CTX130-관련 독성 관리는 연구 장소에서만 이루어져야 한다.

[0573] 평가 일정(**표 15** 및 **표 16**)에 따라 사이토카인 방출 증후군(CRS), 종양 용해 증후군(TLS), 신경독성, 이식편 대

숙주 질환(GvHD), 및 기타 유해 사례(AE)의 징후에 대해 대상체를 모니터링한다. CAR T 세포-관련 독성 관리에 대한 지침은 섹션 8에 기재되어 있다. 대상체는 CTX130-관련 비혈액학적 독성(예를 들어, 발열, 저혈압, 저산소증, 지속적인 신경학적 독성)이 1 등급으로 돌아올 때까지 입원하여야 한다. 대상체는 의료 관리자가 필요하다고 생각하는 경우 더 긴 기간 동안 입원할 수 있다.

[0574] 7.4 선행 및 병용 약제

[0575] 7.4.1 허용되는 약제

[0576] 본 명세서에 기재된 금지 약제를 제외하고, 감염 치료를 위한 IV 항생제, 성장 인자, 혈액 구성요소 등을 포함하여 최적의 진료를 위해 필요한 지지 조치가 연구 전반에 걸쳐 제공된다.

[0577] 비포스포네이트 또는 RANKL 억제제와 같은 골 흡수를 억제하는 약제는 고칼슘혈증을 포함한 대증 요법에 대해 의료 관리자의 재량에 따라 허용된다.

[0578] 처방 및 비처방 약제를 포함한 모든 동시 요법과 의료 절차를 서명된 사전 동의 날짜부터 CTX130 주입 후 3개월까지 기록하여야 한다. CTX130 주입 후 3개월부터 백신 접종, 항암 치료(예를 들어, 화학 요법, 방사선, 면역요법), 면역억제제(스테로이드를 포함함), 및 임의의 연구 작용제와 같은 선택된 병용 약제만 수집한다.

[0579] 7.4.2 금지 약제

[0580] 다음 약제는 하기에 명시된 바와 같이 연구의 특정 기간 동안 금지된다:

[0581] **CTX130 주입 전 28일 및 주입 후 3개월 이내 금지**

[0582] ● 생백신.

[0583] ● 중국 전통 의학의 일부인 생약 또는 처방전 없이 구입할 수 없는 약초 요법.

[0584] **새로운 항암 요법 시작까지 연구 전반에 걸쳐 금지**

[0585] ● CRS 또는 ICANS를 치료하기 위해 권고된 것이 아니거나 이전에 의료 관리자와 논의되고 승인된 것인 임의의 면역억제 요법

[0586] ● 새로운 독성을 치료하거나 CRS 또는 CTX130과 연관된 신경독성 관리의 일부로 의학적으로 지시되지 않는 한 CTX130 투여 후 약리학적 용량(1일 10 mg 초과의 프레드니손 또는 동등한 용량의 다른 코르티코스테로이드) 및 기타 면역억제 약물의 코르티코스테로이드 요법을 피하여야 한다.

[0587] ● 질환 진행 전 LD 화학요법 이외의 임의의 항암 요법(예를 들어, 화학요법, 면역요법, 표적화 요법, 방사선, 또는 기타 연구용 작용제). 증상 관리를 위한 완화 방사선 요법은 범위, 선량 및 부위(들)에 따라 허용된다. 결정을 위해 부위(들), 선량, 및 범위를 정의하고 의료 관리자와 논의하여야 한다.

[0588] **CTX130 주입 후 첫째 달 이내 금지**

[0589] ● CRS의 증상을 악화시킬 가능성으로 인한 과립구-대식세포 집락-자극 인자(GM-CSF); CTX130 주입 후 과립구 집락-자극 인자(G-CSF) 투여에 주의하여야 한다.

[0590] ● DLT 평가 기간(28일) 동안, 대상체가 해열제(예를 들어, 아세트아미노펜, 아스피린)를 이용한 자가-투약.

[0591] **CTX130를 이용한 치료 전 및 동안 3개월, 및 CTX130 주입 후 최대 6개월 금지**

[0592] ● GvHD 위험 증가로 인한 모가물리주맙과 같은 CCR-4 유도 항체.

[0593] **8. 독성 관리**

[0594] 8.1 일반 지침

[0595] 대상체는 CTX130 주입 후 적어도 28일 동안 면밀히 모니터링되어야 한다. 자가 CAR T 세포 요법에서 상당한 독성이 보고되었으며 프로토콜 지침에 따라 모든 유해 사례(AE)를 사전에 모니터링하고 치료해야 한다.

[0596] 다음 일반 권장 사항은 CD70-유도 자가 CAR T 세포 요법에 대한 이전 경험에 기초하여 제공된다.

[0597] ● 발열은 사이토카인 방출 증후군(CRS)의 가장 흔한 초기 증상이지만; 대상체는 또한 첫 출현으로서 쇠약, 저혈압, 또는 착란을 경험할 수 있다.

[0598] ● CRS의 진단은 검사실 값이 아닌 임상 증상에 기초하여야 한다.

[0599] ● CRS-특정 관리에 반응하지 않는 대상체에서, 항상 패혈증 및 내성 감염을 고려한다. 진균 또는 바이러스 감염뿐만 아니라 내성 또는 창발적 박테리아 감염에 대해 대상체를 지속적으로 평가하여야 한다.

[0600] ● CRS, HLH, 및 TLS는 CAR T 세포 주입 후 동시에 발생할 수 있다. 대상체를 모든 병태의 징후 및 증상에 대해 일관되게 모니터링하고 적절하게 관리하여야 한다.

[0601] ● ICANS는 CRS 발병 시, CRS 해결 동안 또는 CRS의 해결 후에 발생할 수 있다. ICANS의 등급화 및 관리를 CRS와 별개로 수행한다.

[0602] ● 지시 시간으로부터 2시간 이내에 토실리주맙을 투여하여야 한다.

[0603] CTX130의 안전성 프로파일을 연구 전반에 걸쳐 지속적으로 평가한다.

[0604] 8.2 독성-특이적 지침

[0605] 8.2.1주입 반응

[0606] 자가 CAR T 세포 시험에서 일시적 발열, 오한, 및/또는 구역질을 포함한 주입-관련 반응이 보고되었으며, 가장 일반적으로 투여 후 12시간 이내에 발생했다. 주입 반응이 발생하면, 필요에 따라 CTX130 주입 후 6시간마다 아세트아미노펜(파라세타몰)과 디펜히드라민 하이드로클로라이드(또는 다른 H1 항히스타민제)를 반복 투여할 수 있다. 대상체에서 아세트아미노펜에 의해 완화되지 않는 발열이 계속되는 경우, 필요에 따라 비스테로이드성 항-염증 약물(NSAID)을 처방할 수 있다. 전신 스테로이드는 생명을 위협하는 응급 상황을 제외하고 투여되지 않아야 하는데, 그 이유는 이러한 개입은 CAR T 세포에 해로운 영향을 미칠 수 있기 때문이다.

[0607] 8.2.2 감염 예방 및 열성 반응

[0608] 감염 예방은 T 세포 또는 B 세포 악성종양 환자에 대한 제도적 치료 표준에 따라 관리되어야 한다. 열성 반응의 경우, 감염에 대한 평가가 개시되어야 하고, 대상체는 항생제, 수액, 및 치료 의사에 의해 의학적으로 지시되고 결정되는 다른 지지 요법으로 적절하게 관리되어야 한다. 발열이 지속되면 대상체의 의학적 관리 전반에 걸쳐 바이러스 및 진균 감염이 고려되어야 한다. 대상체에게 CTX130 주입 후 패혈증 또는 전신성 균혈증이 생기는 경우, 적절한 배양 및 의학적 관리가 개시되어야 한다. 추가적으로, 주입 후 28일 이내에 CTX130 주입 후 발열의 임의의 경우에 CRS를 고려하여야 한다.

[0609] CTX130 제공 후 신경인지 증상을 경험하는 대상체에 대한 감별 진단에서 바이러스성 뇌염(예를 들어, 인간 헤르페스 바이러스[HHV]-6 뇌염)을 고려하여야 한다. 임의의 3 등급 이상의 신경인지 독성에는 요추 천자(LP)가 필요하며 1 등급 및 2 등급 사례에 대해 강력히 권고된다. 요추 천자를 수행할 때마다, 감염성 질환 패널은 다음 평가(최소한)의 데이터를 검토할 것이다: HSV 1&2, 엔테로바이러스, 인간 파레코바이러스, VZV, CMV 및 HHV-6에 대한 정량적 시험. 증상 발생 후 48시간 이내에 요추 천자를 수행하여야 하며 감염성 질환 패널의 결과는 대상체를 적절하게 관리하기 위해 LP 후 4일 이내에 이용가능하여야 한다.

[0610] 8.2.3 종양 용해 증후군(TLS)

[0611] CAR T 세포 요법을 제공받는 대상체에서는 TLS의 위험이 증가할 수 있다. LD 화학요법 시작부터 CTX130 주입 후 28일까지 실험실 평가 및 증상을 통해 TLS에 대해 대상체를 면밀히 모니터링하여야 한다. TLS의 위험이 증가된 대상체는 예방적 알로푸리놀(또는 페북소스타트와 같은 비알로푸리놀 대안) 및/또는 라스부리카제를 제공받고 스크리닝 동안 및 LD 화학요법 개시 전에 증가된 경구/IV 수화를 제공받아야 한다. CTX130 주입 후 28일 후에 또는 TLS의 위험이 지나면 예방을 중단할 수 있다.

[0612] 현장은 제도적 치료 표준에 따라, 또는 발행된 지침에 따라 TLS를 모니터링하고 치료하여야 한다(Cairo and Bishop, (2004) *Br J Haematol*, 127, 3-11). 임상적으로 지시될 때 라스부리카제의 투여를 포함한 TLS 관리를 즉시 시행하여야 한다.

[0613] 8.2.4 사이토카인 방출 증후군(CRS)

[0614] CRS는 사이토카인, 구체적으로 IL-6 및 IL-1의 방출로 인한 CAR T 세포를 포함한 면역 요법과 연관된 독성이다(Norelli et al., 2018). CRS는 표적 항원의 CAR 결합에 대한 반응으로 면역계의 과활성화로 인한 것이며, 이는 빠른 T 세포 자극 및 증식으로 인한 멀티사이토카인 상승을 초래한다(Frey et al., 2014; Maude et al., 2014a).

[0615] CRS의 임상 증상은 경미하고 고온으로 제한되거나 하나 또는 여러 장기 시스템(예를 들어, 심장, 위장[GI], 호흡기, 피부, 중추신경) 및 복합 증상(예를 들어, 고열, 피로, 식욕부진, 구역질, 구토, 발진, 저혈압, 저산소증, 두통, 섬망, 착란)을 포함할 수 있다. CRS는 생명을 위협할 수 있다. 임상적으로, CRS는 전신 감염 또는 심한 경우 패혈성 쇼크로 오인될 수 있다. 종종 가장 초기의 징후는 체온 상승이며, 이를 통해 즉각적인 감별 진단 작업과 적절한 치료의 시기적절한 개시가 촉발되어야 한다.

[0616] CRS 관리의 목표는 CTX130의 잠재적인 항암 효과를 유지하면서 생명을 위협하는 상태와 후유증을 예방하는 것이다. 증상은 보통 혈액 악성종양에서 자가 CAR T 세포 치료 1 내지 14일 후에 발생한다.

[0617] 실험실 측정이 아닌 임상 증상에 기초하여 CRS를 확인하고 기반으로 치료하여야 한다. CRS가 의심되는 경우, ASTCT(이전에는 미국 혈액 및 골수 이식 학회(American Society for Blood and Marrow Transplantation; ASBMT)로 알려짐) 합의 권고 사항(**표 29**, Lee et al., (2019) *Biol Blood Marrow Transplant* 25, 625-638)에 따라 등급을 매겨야 하고, 발행된 지침(Lee et al., (2014) *Blood* 124, 188-95; Lee et al., (2019) *Biol Blood Marrow Transplant* 25, 625-638)을 수정한 **표 30**의 권고 사항에 따라 관리를 수행하여야 한다. 따라서, 신경독성 등급은 ICANS에 대한 ASTCT 기준과 일치한다.

*표 29*

**ASTCT 합의 기준에 따른 CRS 등급(Lee et al., 2019)**

| CRS 매개변수 | 1 등급 | 2 등급 | 3 등급 | 4 등급 |
|---|---|---|---|---|
| 발열 [1] | 체온 ≥38°C | 체온 ≥38°C | 체온 ≥38°C | 체온 ≥38°C |
| 저혈압 동반 | 없음 | 혈관수축제가 필요하지 않음 | 바소프레신을 포함하거나 포함하지 않는 혈관수축제가 필요함 [2] | 다량의 혈관수축제(바소프레신 제외)가 필요함 [2] |
| 및/또는 [3] 저산소증 | 없음 | 저유량 비강 캐뉼라 [4] 또는 블로바이가 필요함 | 고유량 비강 캐뉼라 [4], 페이스마스크, 재호흡 방지 마스크, 또는 벤튜리 마스크가 필요함 | 양압(예를 들어, CPAP, BiPAP, 삽관 및 기계적 환기)이 필요함 |

ASTCT: 미국 이식 및 세포 치료 학회; BiPAP: 이상성 기도 양압(bilevel positive airway pressure); C: 섭씨; CPAP: 지속 기도 양압(continuous positive airway pressure); CRS: 사이토카인 방출 증후군

주: CRS와 연관된 장기 독성은 CTCAE v5.0에 따라 등급이 매겨질 수 있지만 CRS 등급에는 영향을 미치지 않는다.

[1] 발열은 임의의 다른 원인으로 인한 것이 아닌 38°C 이상의 체온으로 정의된다. CRS가 있고 그 다음 해열제 또는 아스토실리주맙 또는 스테로이드와 같은 항사이토카인 요법을 받은 환자에서, 후속 CRS 중증도 등급을 매기기 위해 더 이상 발열이 필요하지 않다. 이 경우, CRS 등급은 저혈압 및/또는 저산소증에 의해 결정된다.

[2] 고용량 혈관수축제에 대한 정보는 **표 28**을 참조한다.

[3] CRS 등급은 더 심각한 사건, 즉 임의의 다른 원인에 기인하지 않는 저혈압 또는 저산소증에 의해 결정된다. 예를 들어, 체온이 39.5°C이고, 1가지 혈관수축제가 필요한 저혈압, 및 저유량 비강 캐뉼라가 필요한 저산소증이 있는 환자는 3 등급 CRS로 분류된다.

[4] 저유량 비강 캐뉼라는 분당 6 L 이하로 전달되는 산소로 정의된다. 저유량은 또한 때때로 소아과에서 사용되는 블로바이 산소 전달을 포함한다. 고유량 비강 캐뉼라는 분당 6 L 초과로 전달되는 산소로 정의된다

[0618]

표 30

사이토카인 방출 증후군 등급 및 관리 지침.

| CRS 중증도[1] | 토실리주맙 | 코르티코스테로이드 | 저혈압 관리 |
|---|---|---|---|
| 1 등급 | 토실리주맙[2]은 고려될 수 있다. | N/A | N/A |
| 2 등급 | 1시간에 걸쳐 토실리주맙 8 mg/kg을 IV 투여한다(800 mg을 초과하지 않음).[2] IV 수액에 반응하지 않거나 보충 산소를 증가시키지 않는 경우 필요에 따라 8시간마다 토실리주맙을 반복한다. 24시간 동안 3회 이하의 용량; 최대 총 4회 용량으로 제한한다. | 초기 토실리주맙 요법 후에 개선이 없으면 기관 지침에 따라 관리한다. 사례가 1 등급 이하가 될 때까지 코르티코스테로이드를 계속 사용한 다음, 적절하게 점감한다. | 기관 지침에 따라 관리한다 |
| 3 등급 | 2 등급에 따른다 | 2 등급에 따른다 | 기관 지침에 따라 관리한다 |
| 4 등급 | 2 등급에 따른다<br>토실리주맙과 스테로이드의 다수 투약에 반응이 없으면, 다른 항사이토카인 요법(예를 들어, 아나킨라)의 사용을 고려한다. | 2 등급에 따른다 | 기관 지침에 따라 관리한다 |

CRS: 사이토카인 방출 증후군; IV: 정맥내; N/A: 해당 없음.

[1] Lee et. al., 2019를 참조한다.

[2] 토실리주맙 처방 정보를 참조한다

[0619]

표 31

[0620] CRS 관리에서 고용량 혈관수축제.

| 승압제 | 용량* |
|---|---|
| 노르에피네프린 단일요법 | ≥20 μg/분 |
| 도파민 단일요법 | ≥10 μg/kg/분 |
| 페닐에프린 단일요법 | ≥200 μg/분 |
| 에피네프린 단일요법 | ≥10 μg/분 |
| 바소프레신 투여 중인 경우 | 바소프레신 + 10 μg/분 이상에 해당하는 노르에피네프린* |
| 혈관수축제(바소프레신 아님)를 병용하는 경우 | 20 μg/분 이상에 해당하는 노르에피네프린** |

[0621] * 모든 용량은 3시간 이상 동안 필요함.

[0622] ** VASST 시험 혈관수축제 등가 방정식: 노르에피네프린 등가 용량 = [노르에피네프린(μg/분)] + [도파민(μg/분) / 2] + [에피네프린(μg/분)] + [페닐에프린μg/분) / 10].

[0623] CRS 기간 동안, 대상체는 해열제, IV 수액, 및 산소로 이루어진 지지 요법을 제공받아야 한다. 2 등급 이상의 CRS를 경험하는 대상체는 지속적인 심장 원격 측정 및 맥박 산소측정으로 모니터링되어야 한다. 3 등급 CRS를

경험하는 대상체의 경우, 심장 기능을 평가하기 위해 심초음파를 수행하는 것을 고려한다. 3 등급 또는 4 등급 CRS의 경우, 집중 치료 지원 요법을 고려한다. 증상(발열, 저혈압, 저산소증)이 유사하기 때문에, 중증 CRS의 경우 기저 감염의 가능성을 고려하여야 한다. CRS의 해결은 발열(체온 ≥38℃), 저산소증 및 저혈압의 해결로 정의된다(Lee et al., (2019) *Biol Blood Marrow Transplant* 25, 625-638).

[0624] 8.2.4.1 저혈압 및 신부전

[0625] CAR T 세포 요법에 의해 저혈압 및 신부전이 보고되었으며 기관의 진료 지침에 따라 생리 식염수 볼루스를 IV 투여하여 치료하여야 한다. 적절한 경우 투석을 고려하여야 한다.

[0626] 8.2.5 면역 이펙터 세포-연관 신경독성 증후군(ICANS)

[0627] 자가 CAR T 세포 요법으로 치료받은 B 세포 악성종양이 있는 대상체에서 신경독성이 문서화되었다. 신경독성은 CRS 발생 시, CRS 해결 동안, 또는 CRS 해결 후 발생할 수 있으며, 이의 병태생리는 불분명하다. 최근의 ASTCT (이전에는 ASBMT로 알려짐) 합의는 ICNS를 내인성 또는 주입된 T 세포 및/또는 기타 면역 이펙터 세포의 활성화 또는 결합을 초래하는 임의의 면역 요법 후 CNS를 포함하는 병리학적 과정을 특징으로 하는 장애로 추가 정의하였다(Lee et al., (2019) *Biol Blood Marrow Transplant* 25, 625-638). 징후 및 증상은 점진적일 수 있으며, 실어증, 의식 수준의 변화, 인지 능력 장애, 운동성 저하, 발작, 및 뇌부종을 포함할 수 있지만, 이로 제한되지 않는다. ICANS 등급화(**표 32**)는 이전에 자가 CAR T 세포 시험에 사용된 CAR T 세포 요법-연관 독성(CARTOX) 연구 그룹 기준에 기초하여 개발되었다(Neelapu et al., (2018) *Nat Rev Clin Oncol* 15, 47-62). ICANS는 면역 이펙터 세포-연관 뇌병증(ICE) 평가 도구로 불리는 수정된 도구를 사용함으로써 의식 수준, 발작의 존재/부재, 운동성 소견, 뇌부종의 존재/부재의 평가, 및 신경학적 영역의 전반적인 평가를 통합한다(**표 17**).

[0628] 새로운 발병 신경독성 평가는 임상적으로 지시된 신경학적 검사(ICE 평가 도구인 **표 17**을 포함함), 뇌 자기 공명 영상(MRI), 및 임상적으로 지시된 CSF 검사를 포함하여야 한다. 신경독성 동안 수행된 요추 천자의 경우, 탐색적 바이오마커 및 CTX130의 존재를 위해 CSF 샘플을 중앙 실험실로 보내야 한다. 뇌 MRI가 불가능한 경우, 모든 대상체는 뇌내 출혈을 배제하기 위해 비-조영 컴퓨터 단층 촬영(CT) 스캔을 받아야 한다. 뇌파도는 또한 임상적으로 지시된 것으로 간주되어야 한다. 심한 경우 기도 보호를 위해 기관 삽관이 필요할 수 있다.

[0629] 비진정, 항발작 예방(예를 들어, 레베티라세탐)은 특히 발작 병력이 있는 대상체에서 CTX130 주입 후 또는 신경학적 증상의 해결 시 적어도 28일 동안 고려되어야 한다(항발작 약제가 해로운 증상에 기여하는 것으로 간주되지 않는 한). 2 등급 이상의 ICANS를 경험한 대상체는 지속적인 심장 원격 측정 및 맥박 산소측정으로 모니터링되어야 한다. 심각하거나 생명을 위협하는 신경학적 독성의 경우, 집중 치료 지원 요법이 제공되어야 한다. 신경과 상담은 항상 고려되어야 한다. 혈소판과 응고병증의 징후를 모니터링하고 뇌내 출혈의 위험을 줄이기 위해 적절하게 혈액 제품을 수혈한다. **표 32**는 신경독성 등급을 제공하고 **표 33**은 관리 지침을 제공한다.

[0630] 3일 초과 동안 적극적인 스테로이드 관리를 받는 대상체의 경우, 장기간 스테로이드 사용으로 인한 중증 감염의 위험을 완화하기 위해 항진균제 및 항바이러스제 예방이 권장된다. 항균제 예방도 또한 고려하여야 한다.

*표 32*

[0631] **ICANS 등급.**

| 신경독성 영역 | 1 등급 | 2 등급 | 3 등급 | 4 등급 |
|---|---|---|---|---|
| ICE 점수 [1] | 7~9 | 3~6 | 0~2 | 0(대상체가 혼수상태이고 ICE 평가를 받을 수 없음) |
| 의식 수준의 저하 [2] | 자발적으로 깨어남 | 음성에 깨어남 | 촉각 자극에만 깨어남 | 대상체가 혼수상태이거나 깨우기 위해 격렬하거나 반복적인 촉각 자극이 필요함; 혼미 또는 혼수 |
| 발작 | N/A | N/A | 빠르게 해결되는 소상 또는 전신의 임의의 임상 발작, 또는 중재로 해결되는 EEG 상의 비경련성 발작 | 생명을 위협하는 지속 발작(5분 초과) 또는 중간에 기준선으로 돌아가지 않는 반복적인 임상 또는 전기 발작 |
| 운동성 소견 [3] | N/A | N/A | N/A | 심부 국소 운동 장애, 예컨대 편측 마비 또는 하반신 마비 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| ICP 상승/뇌부종 | N/A | N/A | 신경 영상에서 소상/국소 부종 [4] | 신경영상에서 미만성 뇌부종, 제뇌 또는제 피질 자세, 뇌신경 VI 마비, 유두부종, 또는 쿠싱 3징후 |

[0632] CTCAE: 유해 사례 공통 용어 기준; EEG: 뇌파도; ICAS: 면역 이펙터 세포-연관 신경독성 증후군; ICE: 면역 이펙터 세포-연관 뇌병증(평가 도구); ICP: 두개내압; N/A: 해당 없음.

[0633] ICANS 등급은 다른 원인에 기인하지 않는 가장 심각한 사건(ICE 점수, 의식 수준, 발작, 운동성 소견, ICP 상승/뇌부종)에 의해 결정된다.

[0634] [1] ICE 점수가 0인 대상체는 전반적 실어증을 갖고 깨어 있는 경우 3 등급 ICANS로 분류될 수 있지만, 혼수상태로 ICE 점수가 0인 대상체는 4 등급 ICANS로 분류될 수 있다.

[0635] [2] 의식 수준의 저하가 다른 원인(예를 들어, 진정 약제)에 기인하지 않아야 한다.

[0636] [3] 면역 이펙터 요법과 연관된 떨림 및 근간대 경련은 CTCAE v5.0에 따라 등급이 매겨져야 하지만 ICAN 등급에는 영향을 미치지 않는다.

*표 33*

[0637] **ICANS 관리 지침.**

| **중증도** | **관리** |
|---|---|
| **1 등급** | 기관 진료에 따른 지지적 치료를 제공한다. |
| **2 등급** | 대상체가 이미 CRS에 대해 동등한 용량의 스테로이드를 투여받고 있는 것이 아니라면 6시간마다 덱사메타손 10 mg(또는 동등한 메틸프레드니솔론)을 IV 투여하는 것을 고려한다.<br>사건이 1 등급 이하가 될 때까지 덱사메타손을 계속 투여하고, 그 다음 3일에 걸쳐 점감한다. |
| **3 등급** | 대상체가 이미 CRS에 대해 동등한 용량의 스테로이드를 투여받고 있는 것이 아니라면, 6시간마다 덱사메타손 10 mg을 IV 투여한다.사건이 1 등급 이하가 될 때까지 덱사메타손을 계속 투여하고, 그 다음 3일에 걸쳐 점감한다. |
| **4 등급** | 3일 동안 하루에 메틸프레드니솔론 1000 mg을 IV 투여하고; 개선된다면, 상기와 같이 관리한다. |

[0638] CRS: 사이토카인 방출 증후군; ICANS: 면역 이펙터 세포-연관 신경독성 증후군; IV: 정맥내.

[0639] 발열의 환경 또는 화학요법 후 발생할 수 있는 두통은 비특이적인 증상이다. 두통만으로는 ICANS의 징후가 아닐 수 있으며, 추가 평가를 수행하여야 한다. 상태악화 및 근육 손실로부터 초래된 쇠약 또는 균형 문제는 ICANS의 정의에서 배제된다. 유사하게, 연관 부종이 존재 또는 부재하는 뇌내 출혈은 이들 대상체에서 응고병증으로 인해 발생할 수 있으며, 또한 ICANS의 규정에서 배제된다. 이들 및 다른 신경독성은 CTCAE v5.0에 따라 포착되어야 한다.

[0640] 8.2.6 혈구탐식성 림프조직구증식증(HLH)

[0641] HLH는 자가 CD19-유도 CAR T 세포를 이용한 치료 후 보고되었다(Barrett et al., (2014) *Curr Opin Pediatr*, 26, 43-49; Maude et al., (2014) *N Engl J Med*, 371, 1507-1517; Maude et al., (2015) *Blood*, 125, 4017-4023; Porter et al., (2015) *Sci Transl Med*, 7, 303ra139; Teachey et al., (2013) *Blood*, 121, 5154-5157). HLH는 활성화된 T 세포로부터의 사이토카인 생산이 과도한 대식세포 활성화를 야기하는 CAR T 세포의 주입 후 염증 반응의 결과인 임상 증후군이다. HLH의 징후 및 증상은 발열, 혈구감소증, 간비장비대, 고빌리루빈혈증을 동반한 간 기능장애, 유의하게 감소된 피브리노겐을 동반한 응고병증, 및 페리틴 및 C-반응성 단백질(CRP)의 현저한 상승을 포함할 수 있다. 신경학적 소인이 또한 관찰되었다(Jordan et al., (2011) *Blood*, 118, 4041-4052; La Rosée, (2015) *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 190-196).

[0642] CRS 및 HLH는 중복되는 임상적 특성 및 병리생리학을 가지는 유사한 임상 증후군을 지닐 수 있다. HLH는 아마도 CRS 발생 시 또는 CRS가 해소될 때 발생할 것이다. CRS의 다른 증거가 있거나 없는 설명할 수 없는 상승된 간 기능 검사 또는 혈구감소증이 있는 경우 HLH가 고려되어야 한다. CRP와 페리틴의 모니터링은 진단을 돕고 임상

경과를 규정할 수 있다. 가능한 경우, 과도한 골수 샘플은 일상적인 관행에 따라 중앙 실험실로 보내져야 한다.

[0643] HLH가 의심되는 경우:

[0644] ● 피브리노겐을 포함한 응고 매개변수를 자주 모니터링한다. 이러한 테스트를 평가 일정에 표시된 것보다 더 자주 수행할 수 있으며, 실험실 소견에 기초하여 빈도를 결정하여야 한다.

[0645] ● 출혈 위험을 감소시키기 위해 피브리노겐을 100 mg/dL 이상 유지하여야 한다.

[0646] ● 응고병증은 혈액 제품으로 교정하여야 한다.

[0647] ● CRS와 중복되는 점을 고려하여, 대상체를 또한 **표 29**의 CRS 치료 지침에 따라 관리하여야 한다.

[0648] 8.2.7장기간의 혈구감소증

[0649] CAR T 세포 주입 후 28일 초과로 지속되는 3 등급 호중구감소증 및 혈소판 감소증이 자가 CAR T 세포 제품으로 치료받은 대상에서 보고되었다(Kymriah US 처방 정보[USPI], 2018; Raje et al., (2019) *N Engl J Med* 380, 1726-37; Yescarta USPI, 2019). 따라서, CTX130을 제공받는 대상체를 이러한 독성에 대해 모니터링하고 적절하게 지원하여야 한다. 혈소판과 응고병증의 징후를 모니터링하고 출혈 위험을 줄이기 위해 적절하게 혈액 제품을 수혈한다. 장기간 호중구감소증이 있는 임의의 대상체에 대해 항균 및 항진균 예방을 고려하여야 한다.

[0650] 활성화된 T 및 B 림프구에서 CD70의 일시적인 발현으로 인해, 바이러스 재활성화와 같은 기회 감염이 발생할 수 있다. 기회 감염은 임상 증상이 발생할 때 고려하여야 한다.

[0651] 용량 증대 동안, CTX130 주입 후 4 등급 호중구감소증의 경우 G-CSF를 고려할 수 있다. 코호트 확장 동안 의료 종사자의 재량에 따라 G-CSF를 신중하게 투여할 수 있다.

[0652] 8.2.8이식편 대 숙주 질환(GvHD)

[0653] GvHD는 동종이계 HSCT의 환경에서 보이며, 수용체(숙주)를 외래로 인식하는 면역적격 공여체 T 세포(이식편)의 결과이다. 후속 면역 반응은 수용체를 공격하도록 공여체 T 세포를 활성화시켜 외래 항원-보유 세포를 제거한다. GvHD는 동종이계 HSCT로부터의 시간과 임상적 증상 둘 모두에 기초하여 급성, 만성 및 중복 증후군으로 나뉜다. 급성 GvHD의 징후는 반구진 발진; 담즙울혈로 이어지는, 작은 담관의 손상으로 인한 황달을 동반한 고빌리루빈혈증; 구역질, 구토 및 거식증; 및 묽은 또는 혈성 설사 및 경련성 복통을 포함할 수 있다(Zeiser and Blazar, (2017) *N Engl J Med*, 377, 2167-2179).

[0654] 제안된 임상 연구를 지원하기 위해, 비임상 GLP-준수 GvHD 및 내약성 연구를 2회 IV 용량, 즉 마우스당 $4\times10^{7}$개 CTX130의 고용량(대략 $1.6\times10^{9}$개 세포/kg) 및 마우스당 $2\times10^{7}$개 세포의 저용량(대략 $0.8\times10^{9}$개 세포/kg)으로 처리한 면역저하 마우스에서 수행하였다. 두 용량 수준 모두 체중에 대해 정규화될 때 제안된 최고 임상 용량을 10배 초과로 초과한다. CTX130으로 처리된 마우스는 12주 연구 과정 동안 치명적인 GvHD가 발생하지 않았다. 부검에서 일부 동물에서 장간막 림프절과 흉선에서 단핵 세포 침윤이 관찰되었다. 일부 동물의 폐에서도 또한 최소에서 경미한 혈관주위 염증이 관찰되었다. 이러한 소견은 가벼운 GvHD와 일치하지만 이 마우스의 임상 증상에서는 나타나지 않았다.

[0655] 또한, TRAC 유전자좌에서 CAR 삽입의 특이성으로 인해, T 세포는 CAR+와 TCR+ 둘 모두일 가능성이 매우 낮다. 나머지 TCR+ 세포는 최종 생성물에서 0.4% 이하의 TCR+ 세포를 달성하도록 항-TCR 항체 컬럼에서 면역친화성 크로마토그래피에 의해 제조 공정 동안 제거된다. 모든 용량 수준에 대해 $7\times10^{4}$개 TCR+ 세포/kg의 용량 제한이 부과된다. 이러한 제한은 홀배수일치 공여체와 함께 SCT 동안 심각한 GvHD를 유발할 수 있는 동종이계 세포의 수에 대하여 게재된 보고서에 기초한 $1\times10^{5}$개 TCR+ 세포/kg의 한도보다 더 낮다(Bertaina et al., (2014) *Blood*, 124, 822-826). 이러한 특정 편집, 정제, 및 엄격한 제품 방출 기준을 통해, CTX130 이후 GvHD의 위험은 낮아야 하지만 실제 발생률은 알려져 있지 않다. 그러나, CAR T 세포 확장이 항원-유도이고 TCR-세포에서만 발생할 가능성이 있다는 점을 고려할 때, TCR+ 세포의 수가 주입된 수보다 현저하게 증가할 수 있는 가능성은 낮다.

[0656] GvHD의 진단 및 등급화는 **표 34**에 개괄된 바와 같이 공개된 기준(Harris et al., (2016) *Biol Blood Marrow Transplant*, 22, 4-10)에 기초하여야 한다.

*표 34*

[0657] **급성 GvHD의 등급화를 위한 기준.**

| 병기 | 피부<br>(활동성 홍반만) | 간<br>(빌리루빈 mg/dL) | 상부 GI | 하부 GI(대변량/일) |
|---|---|---|---|---|
| 0 | 활동성(홍반성) GvHD 발진 없음 | <2 | 구역질, 구토, 또는 거식증이 없거나 간헐적 | <500 ml/일 또는<br><3건/일 |
| 1 | 반구진 발진<br><25% BSA | 2~3 | 구역질, 구토, 또는 거식증 지속 | 500~999 ml/일 또는<br>3~4건/일 |
| 2 | 반구진 발진25~50% BSA | 3.1~6 | - | 1000~1500 ml/일 또는<br>5~7건/일 |
| 3 | 반구진 발진<br>>50% BSA | 6.1~15 | - | >1500 ml/일 또는<br>>7건/일 |
| 4 | 전신 홍피증(>50% BSA) + 수포 형성 및 박리 >5% BSA | >15 | - | 장폐색을 동반하거나 동반하지 않는 중증 복통, 또는 심각한 혈변(대변량과는 무관함) |

[0658] BSA: 체표면적; GI: 위장관; GvHD: 이식편 대 숙주 질환.

[0659] 전체 GvHD 등급은 가장 중증의 표적 기관 침범에 기초하여 결정될 수 있다.

[0660] ● 0 등급: 1 기 내지 4 기의 임의의 기관 없음.

[0661] ● 1 등급: 간, 상부 GI, 또는 하부 GI 침범 없이 1 기 내지 2 기 피부.

[0662] ● 2 등급: 3 기 발진 및/또는 1 기 간 및/또는 1 기 상부 GI 및/또는 1 기 하부 GI.

[0663] ● 3 등급: 0 기 내지 3 기 피부 및/또는 0 기 내지 1 기 상부 GI와 함께, 2 기 내지 3 기 간 및/또는 2 기 내지 3 기 하부 GI.

[0664] ● 4 등급: 0 기 내지 1 기 상부 GI와 함께 4 기 피부, 간, 또는 하부 GI 침범.

[0665] 감염 및 약제에 대한 반응과 같이 GvHD를 모사할 수 있는 잠재적인 혼동 요인은 배제되어야 한다. 치료를 시작하기 전이나 직후에 확인을 위해 피부 및/또는 GI 생검을 얻어야 한다. 간 침범의 경우, 임상적으로 가능하다면 간 생검을 시도하여야 한다.

[0666] 급성 GvHD의 관리를 위한 권고사항은 **표 35**에 개괄되어 있다. 시험의 종료 시 대상체간 비교 가능성을 허용하기 위해, 대상체를 위험하게 할 수 있는 특정 임상 시나리오를 제외하고 이러한 권고사항을 따라야 한다.

*표 35*

[0667] **급성 GvHD 관리**

| 등급 | 관리 |
|---|---|
| 1 | 피부: 국소 스테로이드 또는 면역억제제; 2 기인 경우: 프레드니손 1 mg/kg(또는 동등한 용량). |
| 2~4 | 프레드니손 일일 2 mg/kg(또는 동등한 용량) 개시. 흡수불량이 우려되는 경우 메틸프레드니솔론과 같은 IV 형태의 스테로이드를 고려하여야 한다.스테로이드 점감은 스테로이드 3일 이상 후에 개선이 보인 후에 시작될 수 있다. 점감은 5일마다 총 일일 스테로이드 용량의 50% 감소이어야 한다.<br>GI: 스테로이드에 추가적으로, 표준 관행에 따라 항-설사제를 시작한다. |

[0668] GI: 위장관; IV: 정맥내.

[0669] GvHD가 더 중증인 대상체의 경우에 이차 요법을 개시하기 위한 결정이 더 빨리 내려져야 한다. 예를 들어, 이차 요법은 GvHD의 점진적 발현으로부터 3일 후, 지속성 3 등급 GvHD로부터 1주 후, 또는 지속성 2 등급 GvHD로부터 2주 후에 지시될 수 있다. 이차 전신 요법은 고용량의 글루코코르티코이드 치료를 견딜 수 없는 대상체에서 더

이르게 지시될 수 있다(Martin et al., (2012) *Biol Blood Marrow Transplant*, 18, 1150-1163). 이차 요법의 선택 및 개시 시기는 임상적 판단 및 로컬 관행에 기초하여 결정될 수 있다.불응성 급성 GvHD 또는 만성 GvHD의 관리는 기관 지침에 따를 수 있다. 항-감염 예방 조치는 면역억제제(스테로이드를 포함함)로 대상체를 치료할 때 로컬 지침에 따라 시행되어야 한다.

[0670] 8.2.9. 종양 표적 외 독성

[0671] 8.2.9.1 활성화된 T 및 B 림프구, 수지상 세포에 대한 CTX130의 활성

[0672] 활성화된 T 및 B 림프구는 CD70을 일시적으로 발현하고 수지상 세포뿐만 아니라 흉선 상피 세포는 CD70을 어느 정도 발현한다. 따라서 이들 세포는 활성화된 CTX130의 표적이 될 수 있다.

[0673] 8.2.9.2 조골세포에 대한 CTX130의 활성

[0674] CTX130의 활성은 인간 일차 조골세포의 세포 배양에 대한 비임상 연구에서 검출되었다. 따라서, 칼슘 수준뿐만 아니라, 골 형성 평가에서 가장 유용한 마커로 간주되는 2가지 조골세포-특이적 마커인 I형 프로콜라겐의 아미노-말단 프로펩티드(PINP) 및 뼈-특이적 알칼리 포스파타제(BSAP)를 통해 뼈 회전율을 모니터링한다(Fink et al., (2000) *Osteoporosis* 11, 295-303). 혈청 내 2가지 마커 모두의 평가를 위한 표준화된 분석을 사용할 수 있다. 이들 펩타이드 마커의 농도는 조골세포의 활성과 새로운 뼈 콜라겐의 형성을 반영한다. PINP 및 BSAP는 본 명세서에 개시된 바와 같이 연구의 스크리닝 시, 기준선, 제7일, 제14일, 제21일, 및 제28일, 제3개월, 제6개월, 및 제12개월에 중앙 실험실 평가를 통해 측정된다. 생체리듬이 뼈의 회전율에 미치는 영향이 크기 때문에 명시된 수집일의 동일한 시간(± 2시간)에 샘플을 수집하여야 한다.

[0675] 8.2.9.3 신세뇨관-유사 상피에 대한 CTX130의 활성

[0676] 신세뇨관-유사 상피 세포에 대한 CTX130의 활성은 일차 인간 신장 상피에서 CTX130의 비임상 연구에서 검출되었다. 따라서, 48시간 동안 혈청 크레아티닌이 적어도 0.3 mg/dL(26.5 μmol/L) 증가하거나 이전 7일 내 기준선 값의 1.5배 이상 증가하는지에 대하여 모니터링함으로써 급성 세뇨관 손상에 대해 대상체를 모니터링하여야 한다. 혈청 크레아티닌을 본 명세서에 개시된 바와 같이 CTX130 주입 후 처음 7일 동안 매일, 치료 제8일에서 제14일 사이에 격일로 평가하며, 이후 제28일까지 매주 2회 평가할 것이다(**표 14**). 급성 신세뇨관 손상이 의심되는 경우, 요침사 분석 및 요중 나트륨 분획 배설을 포함한 추가적인 검사를 수행하여야 하고, 신장 전문의와 상담을 개시하여야 한다.

[0677] **9. 통계적 방법**

[0678] 9.1 표본 크기

[0679] 파트 A(용량 증대, 평가된 용량 수준의 수와 DLT의 발생에 따라 샘플 크기는 대략 6 내지 24명의 DLT 평가 가능한 대상체이다.

[0680] 파트 B(코호트 확장)에서는 Simon의 2 단계 Minimax 설계를 사용할 수 있으며 DLBCL이 있는 대상체를 최대 21명까지 등록할 수 있다.

[0681] 9.2 분석 세트

[0682] 파트 A(용량 증대)

[0683] ● DLT 평가 가능 세트는 CTX130을 제공받고 주입 후 또는 DLT를 경험한 후 적어도 28일 동안 추적되는 모든 대상체를 포함한다.

[0684] 파트 A + 파트 B

[0685] ● 안전성 분석 세트(SAS): 등록되어 연구 치료제의 적어도 1회 용량을 받은 모든 대상체. 대상체는 제공받은 치료에 따라 분류되며, 여기서 제공받은 치료는 할당된 용량을 적어도 한 번 제공받은 경우 할당된 용량 수준/일정으로 정의되고 할당된 치료를 받은 적이 없는 경우 제공받은 첫 번째 용량 수준/일정으로 정의된다. SAS는 안전성 데이터 분석을 위한 기본 세트이다.

[0686] ● 전체 분석 세트(FAS): 등록되어 CTX130 주입을 제공받았고 적어도 1회의 기준선 및 1회의 기준선 후 스캔 평가를 받은 모든 대상체. FAS는 임상 활동 평가를 위한 기본 분석 세트이다.

[0687] 9.3 평가변수

[0688] 9.3.1 일차 평가변수

[0689] ● **파트 A(용량 증대):** 용량 제한 독성(DLT)으로 정의되는 유해 사례(AE) 발생률 및 RPBD의 정의.

[0690] ● **파트 B(코호트 확장)**: 독립적인 중앙 방사선 검토에 의해 평가된 DLBCL이 있는 대상체의 경우 Lugano 반응 기준(Cheson et al., (2014) *J Clin Oncol* 32, 3059-68)에 따른 (완전 반응[CR] + 부분 반응[PR])에 따른 객관적 반응률(ORR).

[0691] 9.3.2 이차 평가변수

[0692] 8.3.2.1 효능

[0693] **파트 A**: PTCL-NOS, ALCL, 백혈병 및 림프종성 ATLL, AITL 및 DLBCL이 있는 대상체에 대한 Lugano 반응 기준(Cheson et al., (2014) *J Clin Oncol* 32, 3059-68) 및 SS 또는 MF가 있는 대상체에 대한 ISCL 반응 기준(Olsen et al., 2011)에 따른 효능 평가 기준;

[0694] **파트 B**: DLBCL이 있는 대상체에 대한 Lugan 반응 기준(Cheson et al., (2014) *J Clin Oncol* 32, 3059-68)에 따른 효능 평가:

[0695] ● 대상체의 최대 반응(완전 반응(CR), 부분 반응(PR), 안정 질환(SD), 진행성 질환(PD) 또는 평가 불가(NE)).

[0696] ● CR 또는 PR을 달성한 대상체의 백분율로 정의된 객관적 반응률(ORR).

[0697] ● CTX130 주입 날짜 사이의 첫 번째 문서화된 반응(PR/CR)까지의 시간으로 정의된 반응 시간(TTR).

[0698] ● 반응 기간(DoR)은 PR/CR의 첫 번째 객관적 반응과 질환 진행 날짜 또는 임의의 원인으로 인한 사망 날짜 사이의 시간으로 정의된다. PR/CR 사건이 있었던 대상체에 대해서만 보고되었다.

[0699] ● CTX130 주입 날짜와 질환 진행 날짜 또는 임의의 원인으로 인한 사망 날짜 사이의 차이로 정의되는 무진행 생존율(PFS).

[0700] ● CTX130 주입 날짜와 임의의 원인으로 인한 사망 사이의 시간으로 정의되는 전체 생존기간(OS).

[0701] ● 질병 통제율(DCR), CR, PR 또는 SD를 달성한 대상체의 백분율로 정의됨.

[0702] ● CTX130 주입 날짜와 PD 날짜 간의 차이로 정의되는 종양 진행 시간(TTP).

[0703] 9.3.2.2 안전성

[0704] ● AE 및 임상적으로 유의한 실험실 이상 발생률 및 심각도.

[0705] 9.3.2.3 약동학

[0706] ● 시간 경과에 따른 혈액 내 CTX130 수치.

[0707] 9.3.2.4 탐색적 평가변수(파트 A 및 B)

[0708] ● 조직 내 CTX130 수치.

[0709] ● 혈액 및 기타 조직의 사이토카인 수치.

[0710] ● 항-CTX130 항체의 발생률.

[0711] ● CTX130 증식, CRS 및 반응에 대한 항사이토카인 요법의 영향.

[0712] ● CTX130 요법 후 자가 또는 동종이계 조혈 줄기 세포 이식(HSCT)의 발생률.

[0713] ● 후속 항암 요법의 발생 및 유형.

[0714] ● CTX130 주입 날짜 사이에서 처음 문서화된 CR까지의 시간으로 정의된 반응 완료 시간(CR).

[0715] ● 질환 진행까지의 시간(PD), 질환 진행의 첫 번째 증거까지 CTX130 주입 날짜 사이의 시간으로 정의된다.

[0716] ● CD3, CD4, CD7, CD8, CD25, CD52 및 HTLV-1 프로바이러스 부하와 같은 마커에 기초한 면역표현형으로 모니터링한 ATLL 세포의 말초 혈액 수준 변화.

[0717] ● 중앙 검토를 통한 응답 평가 및 일치율.

[0718] ● CTX130 주입 날짜와 첫 번째 후속 치료 날짜 또는 임의의 원인으로 인한 사망 사이의 시간으로 정의되는 첫 번째 후속 무-치료 생존.

[0719] ● EORTC(유럽 암 연구 및 치료 기구) QLQ-30, EQ-5D-5L 설문지, FACT-G, SS 및 MF에 대한 Skindex-29 설문지, SS 및 MF에 대한 피부과 삶의 질 지수(DLQI) 설문지에 의해 측정된 PRO의 기준선으로부터의 변화.

[0720] ● ICE에 의해 평가된 인지 결과의 기준선으로부터의 변화.

[0721] ● 기타 게놈, 단백질, 대사 또는 약력학적 평가변수.

[0722] **결과**

[0723] 현재까지, 이 연구에 참여한 모든 대상체는 14일 이내에 1 단계(적격성 스크리닝)를 완료하였다. 적격 기준을 충족한 후, 2명의 대상체가 1 단계 완료 후 24시간 이내에 림프구제거 요법을 시작하였다. 모든 적격 대상체는 스크리닝 기간(1 단계)을 완료하고 8일 이내에 LD 화학요법을 시작했으며, 이 때 1명의 대상체는 스크리닝을 완료하고 72시간 이내에 LD 화학요법을 시작하였다. LD 화학요법을 제공받은 1명의 대상체는 LD 화학요법 완료 후 5일 이내에 CTX130의 DL1 용량을 제공받는 것으로 진행되었다.이 연구에서 치료된 대상체 중 어느 누구도 지금까지 DLT를 나타내지 않았다. 유사하게, RCC가 있는 대상체를 치료하는 데 CTX130을 사용한 병행 연구에서는 DTL이 관찰되지 않았다. 예를 들어, 2019년 11월 13일에 출원된 미국 특허 출원 62/934,961 및 2020년 6월 4일에 출원된 미국 특허 출원 63/034,552를 참조한다. 또한, 동종이계 CAR-T 세포 요법은 치료된 인간 대상체에서 주입 후 CAR-T 세포 확장 및 지속성을 포함하여 원하는 약동학적 특성을 나타내었다. 상당한 CAR T 세포 분포, 확장 및 지속성이 DL1 초기에 관찰되었다. 현재까지 평가된 한 T 세포 림프종 대상체에서 $T_0$에 비해 말초 혈액에서 CTX130의 최대 20배 확장이 관찰되었으며 CTX130 세포의 지속성은 주입하고 최대 14일 후에 DL1 대상체에서 검출되었다. CAR T 세포 분포, 확장 및 지속성의 유사한 패턴이 해당 CTX130 RCC 연구에서 관찰되며, 여기서 CTX130의 87배 확장이 관찰되었고 CTX130 세포가 주입하고 적어도 28일 후까지 검출되었다.

[0724] 이 연구에서 적격인 대상체는 큰 세포 형질전환이 있는 MF를 가지고 있다. 첫 번째 T-세포 림프종 대상체로부터 얻은 결과는 아래에 요약되어 있다.

[0725] ● DL1 용량을 제공받은 대상체는 피부 T-세포 림프종 반응 평가에 대한 Olson/ISCL 기준에 따라 사진에 기록된 바와 같이 피부 병변의 상당한 감소를 경험하였다. 또한, 동일한 대상체에서 CTX130 주입 4주 후 PET/CT 스캔에서 결절 및 피부 병변의 급격한 감소가 나타났으며 대부분의 병변이 완전히 사라졌으며 형식적인 부분 대사 반응에 적합했다.

[0726] **기타 구현예**

[0727] 본 명세서에 개시된 모든 특성들은 임의의 조합으로 조합될 수 있다. 본 명세서에 개시된 각각의 특성은 동일하거나, 동등하거나, 유사한 목적을 제공하는 대안적인 특성으로 대체될 수 있다. 따라서, 달리 분명하게 명시되지 않는 한, 개시된 각각의 특성은 단지 포괄적 시리즈의 동등하거나 유사한 특징의 일례이다.

[0728] 상기 설명으로부터, 당업자는 본 발명의 사상 및 범주를 벗어나지 않으면서 본 발명의 본질적인 특징을 용이하게 확인할 수 있고, 다양한 용도 및 조건에 적합하도록 본 발명의 다양한 변경 및 수정을 할 수 있다. 따라서, 다른 구현예도 또한 청구범위 내에 있다.

[0729] **균등물**

[0730] 본 발명의 여러 구현예가 본 명세서원에 기술되고 예시되었지만, 당업자는 기능을 수행하고/하거나 본 명세서에 기재된 결과 및/또는 하나 이상의 이점을 얻기 위한 다양한 다른 수단 및/또는 구조를 용이하게 구상할 것이고, 이러한 각각의 변화 및/또는 수정은 본 명세서에 기재된 본 발명의 구현예의 범주 내에 있는 것으로 여겨진다. 보다 일반적으로, 당업자는 본 명세서에 기재된 모든 매개변수, 치수, 재료, 및 구성이 예시적인 것을 의미하고, 실제 매개변수, 치수, 재료, 및/또는 구성이 특정 적용 또는 본 발명의 교시(들)가 사용되는 적용에 좌우될 것임을 용이하게 인지할 것이다. 당업자는 단지 일상적인 실험을 사용하여 본 명세서에 기재된 구체적인 본 발명의 구현예에 대한 많은 균등물을 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 따라서, 전술한 구현예는 단지 예로서 제시된 것이며, 첨부된 청구범위 및 이에 대한 균등물의 범주 내에서 본 발명의 구현예는 구체적으로 기재되고 청구된 것과 달리 실시될 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 본 개시내용의 창의적 구현예는 본 명세서에 기재된 각각의 개별적인 특성, 시스템, 물품, 재료, 키트, 및/또는 방법에 관한 것이다. 추가적으로, 이러한 특성, 시스템, 물품, 재료, 키트, 및/또는 방법이 서로 모순되지 않는 경우, 둘 이상의 이러한 특성, 시스템, 물

품, 재료, 키트 및/또는 방법의 임의의 조합은 본 개시내용의 발명의 범주 내에 포함된다.

[0731] 본 명세서에 정의되고 사용되는 모든 정의는 사전 정의, 참조로 포함된 문헌의 정의, 및/또는 정의된 용어의 일반적인 의미보다 우선되는 것으로 이해되어야 한다.

[0732] 본 명세서에 개시된 모든 참고문헌, 특허 및 특허 출원은 각각이 인용된 주제와 관련하여 참조로 포함되며, 일부 경우에는 문헌 전체를 포함할 수 있다.

[0733] 본 명세서 및 청구범위에서 본원에 사용되는 단수형 부정 관사는 상반되게 분명히 표시되지 않는 한 "적어도 하나"를 의미하는 것으로 이해되어야 한다.

[0734] 본 명세서 및 청구범위에서 본원에 사용되는 어구 "및/또는"은 이와 같이 결합된 요소, 즉 일부 경우에 결합적으로 존재하고 다른 경우에 별개로 존재하는 요소의 "어느 하나 또는 둘 모두"를 의미하는 것으로 이해되어야 한다. "및/또는"으로 열거된 다수의 요소들은 동일한 방식으로, 즉 이와 같이 결합된 요소 중 "하나 이상"으로 해석되어야 한다. 구체적으로 확인된 요소와 관련이 있는지 여부에 관계없이 "및/또는" 절에 의해 구체적으로 확인된 요소 이외의 다른 요소가 선택적으로 존재할 수 있다. 따라서, 비-제한적 예로서, "A 및/또는 B"에 대한 언급은 "포함하는"과 같은 개방형 언어와 함께 사용될 때, 일 구현예에서, A만(선택적으로 B 이외의 요소를 포함함); 또 다른 구현예에서, B만(선택적으로 A 이외의 요소를 포함함); 추가의 또 다른 구현예에서, A와 B 둘 모두(선택적으로 다른 요소를 포함함) 등을 지칭할 수 있다.

[0735] 본 명세서 및 청구항에서 본원에 사용되는 "또는"은 상기 정의된 바와 같은 "및/또는"과 동일한 의미를 가지는 것으로 이해되어야 한다. 예를 들어, 목록에서 항목을 분리할 때, "또는" 또는 "및/또는"은 포괄적인, 즉 다수의 요소들 또는 요소들의 목록, 및, 선택적으로 추가적인 열거되지 않은 항목 중 하나 초과를 또한 포함하여 적어도 하나의 포함인 것으로 해석되어야 한다. "~ 중 하나만" 또는 "~ 중 정확히 하나"와 같이 상반되게 분명히 지시되는 용어, 또는 청구범위에서 사용되는 경우, "~로 이루어진"만이 다수의 요소들 또는 요소들의 목록 중 정확히 하나의 요소의 포함을 지칭할 것이다. 일반적으로, 본 명세서에서 사용되는 용어 "또는"은 "~ 중 어느 하나", "~ 중 하나", "~ 중 하나만", 또는 "~ 중 정확히 하나"와 같은 배제적인 용어가 선행하는 경우에 배제적인 대안(즉, "둘 모두가 아니라 하나 또는 다른 하나")을 지시하는 것으로만 해석되어야 한다. 청구범위에 사용되는 "~로 본질적으로 이루어진"은 특허법 분야에서 사용되는 바와 같은 일반적인 의미를 가진다.

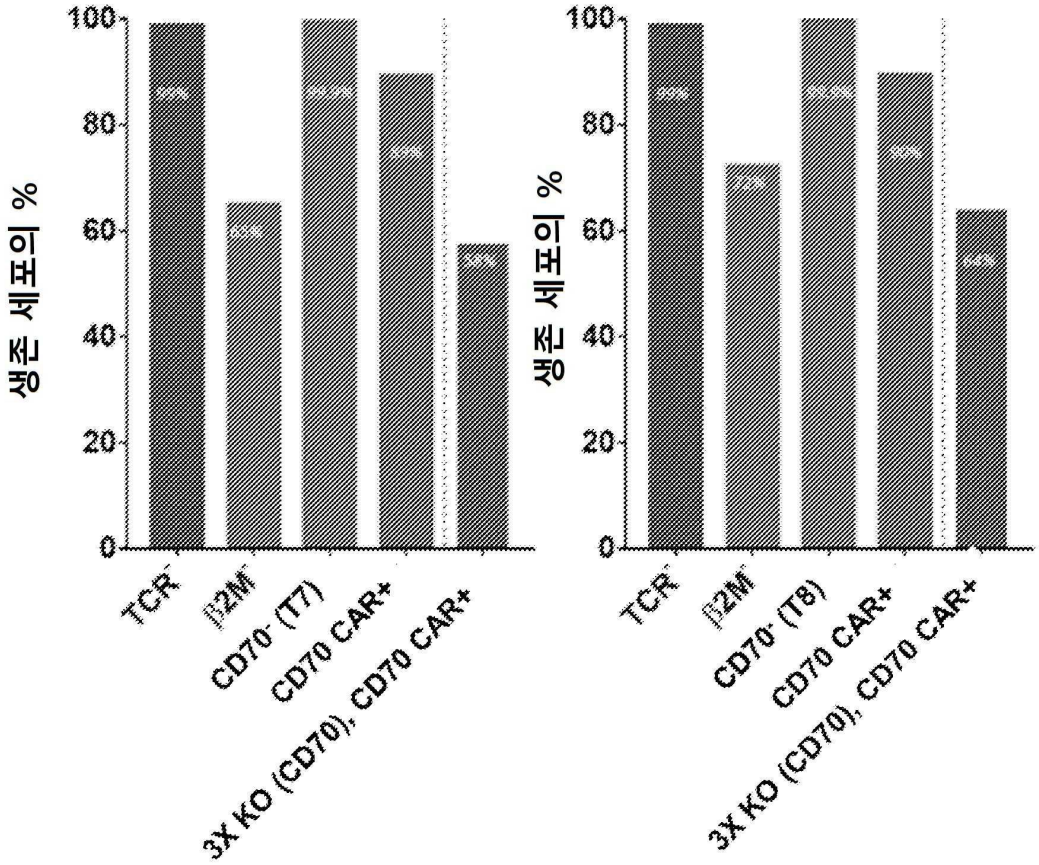
[0736] 본 명세서 및 청구항에서 본원에 사용되는, 하나 이상의 요소의 목록과 관련하여 어구 "적어도 하나"는, 반드시 요소의 목록 내에 구체적으로 열거되고 요소의 목록의 요소의 임의의 조합을 배제하지 않는 각각의 및 모든 요소 중 적어도 하나를 포함하는 것은 아니지만, 요소의 목록에서 요소 중 어느 하나 이상의 요소로부터 선택되는 적어도 하나의 요소를 의미하는 것으로 이해되어야 한다. 이러한 정의는 또한 어구 "적어도 하나"가 지칭하는 요소들의 목록 내에서, 구체적으로 확인된 요소들과 관련이 있든 아니든 간에, 구체적으로 확인된 요소들 이외의 요소들이 선택적으로 존재할 수 있다는 것을 허용한다. 따라서, 비-제한적 예로서, "A 및 B 중 적어도 하나"(또는, 동등하게, "A 또는 B 중 적어도 하나", 또는 동등하게 "A 및/또는 B 중 적어도 하나")는, 일 구현예에서, B가 존재하지 않지 않으면서, 선택적으로 하나 초과를 포함하여 적어도 하나의 A(및 선택적으로 B 이외의 요소를 포함함); 또 다른 구현예에서, A가 존재하지 않지 않으면서, 선택적으로 하나 초과를 포함하여 적어도 하나의 B(및 선택적으로 A 이외의 요소를 포함함); 추가의 또 다른 구현예에서, 선택적으로 하나 초과를 포함하여 적어도 하나의 A, 및 선택적으로 하나 초과를 포함하여 적어도 하나의 B(및 선택적으로 다른 요소를 포함함) 등을 지칭할 수 있다.

[0737] 용어 "약" 또는 "대략"은 당업자에 의해 결정된 특정 값에 대해 허용 가능한 오차 범위 내를 의미하며, 이는 값이 측정 또는 결정되는 방법, 즉 측정 시스템의 제한에 따라 부분적으로 달라질 것이다. 예를 들어, "약"은 당업계의 관행에 따라 허용 가능한 표준 편차 내를 의미할 수 있다. 대안적으로, "약"은 주어진 값의 최대 ± 20%, 바람직하게는 최대 ± 10%, 더 바람직하게는 최대 ± 5%, 훨씬 더 바람직하게는 최대 ± 1%의 범위를 의미할 수 있다. 대안적으로, 특히 생물학적 시스템 또는 과정과 관련하여, 상기 용어는 값의 10배 이내, 바람직하게는 2배 이내를 의미할 수 있다. 특정 값이 출원 및 청구범위에 기재된 경우, 달리 언급되지 않는 한, 용어 "약"은 암시적이며 이 맥락에서 특정 값에 대해 허용 가능한 오차 범위 내를 의미한다.

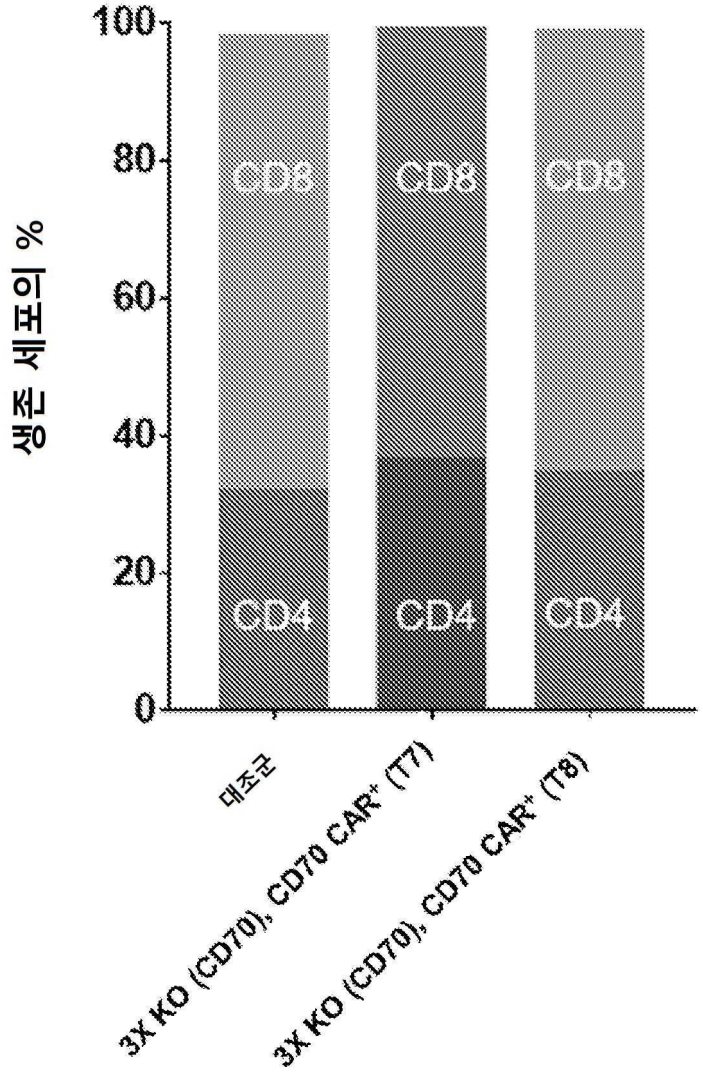
[0738] 또한, 상반되게 분명히 지시되지 않는 한, 하나 초과의 단계 또는 행위를 포함하는 본 명세서에 청구된 임의의 방법에서, 방법의 단계 또는 행위의 순서는 반드시 방법의 단계 또는 행위가 언급되는 순서로 제한되지 않는다는 것이 이해되어야 한다.

도면

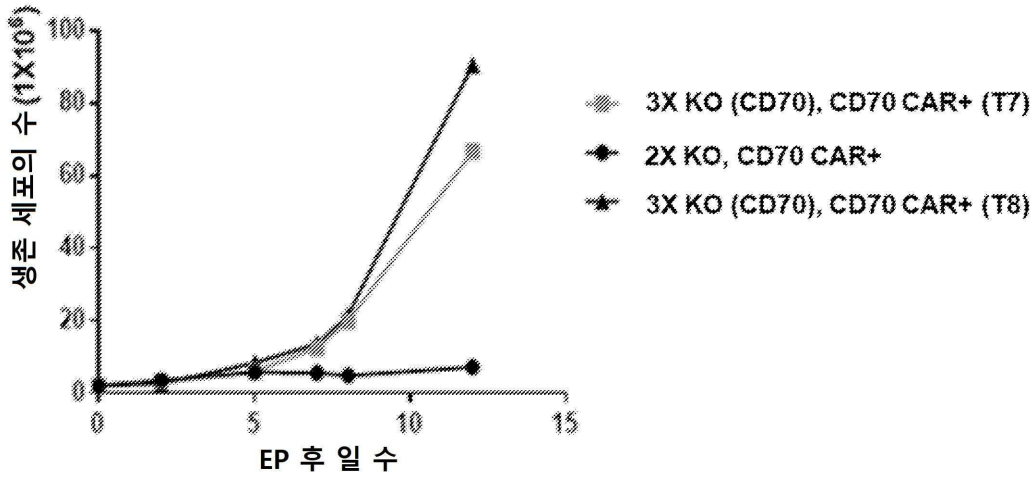
도면1


생존 세포의 %
100
80
60
40
20
0
TCR-
β2M-
CD70- (T7)
CD70 CAR+
3X KO (CD70), CD70 CAR+
생존 세포의 %
100
80
60
40
20
0
TCR-
β2M-
CD70- (T8)
CD70 CAR+
3X KO (CD70), CD70 CAR+

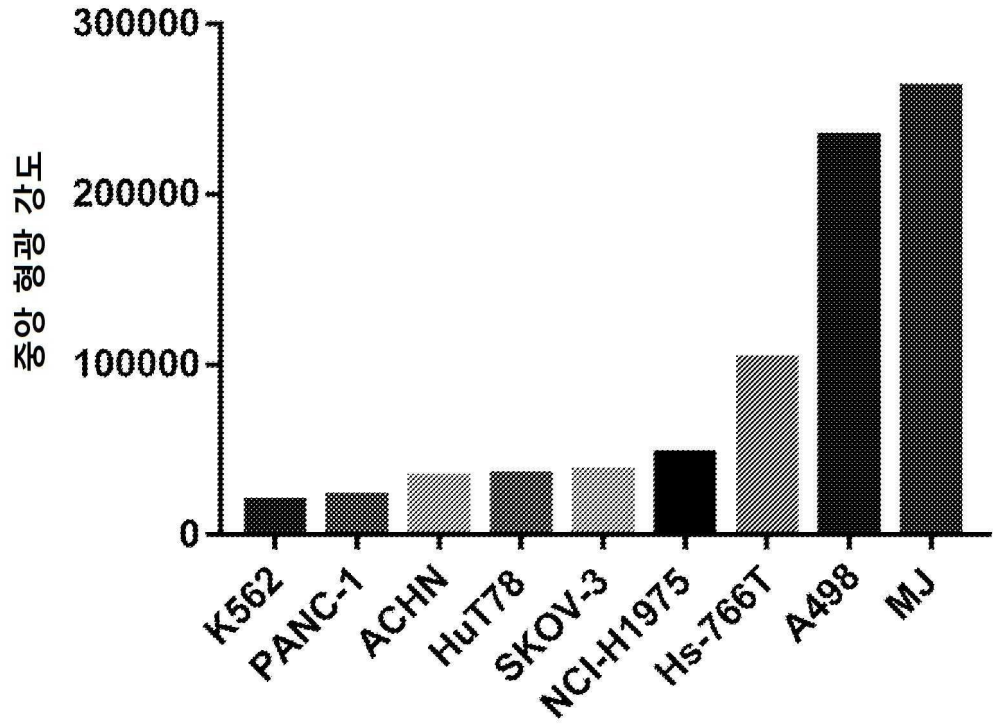
도면2


생존 세포의 %
100
80
60
40
20
0
CD8
CD8
CD8
CD4
CD4
CD4
대조군
3X KO (CD70), CD70 CAR+ (T7)
3X KO (CD70), CD70 CAR+ (T8)

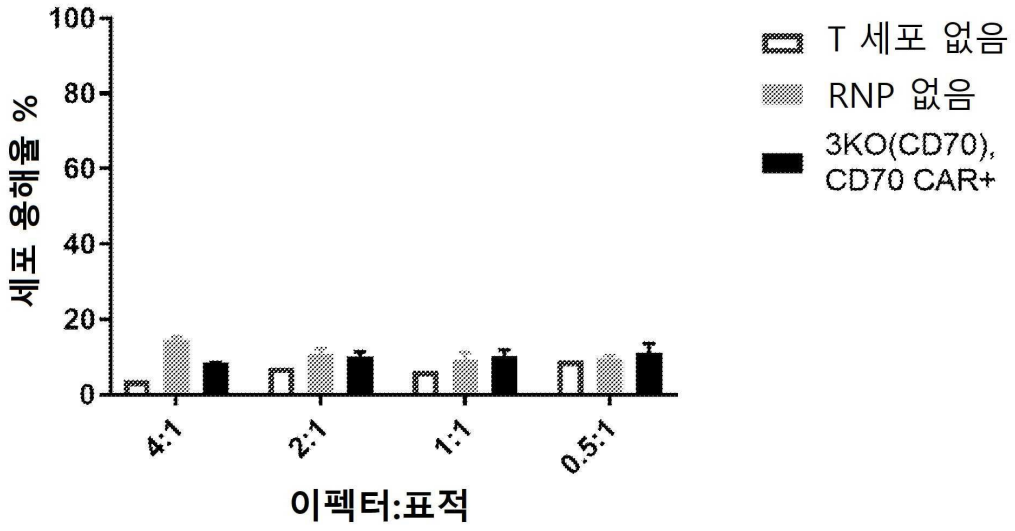
도면3


생존 세포의 수 (1X10⁹)
100
80
60
40
20
0
0
5
10
15
EP 후 일 수
3X KO (CD70), CD70 CAR+ (T7)
2X KO, CD70 CAR+
3X KO (CD70), CD70 CAR+ (T8)

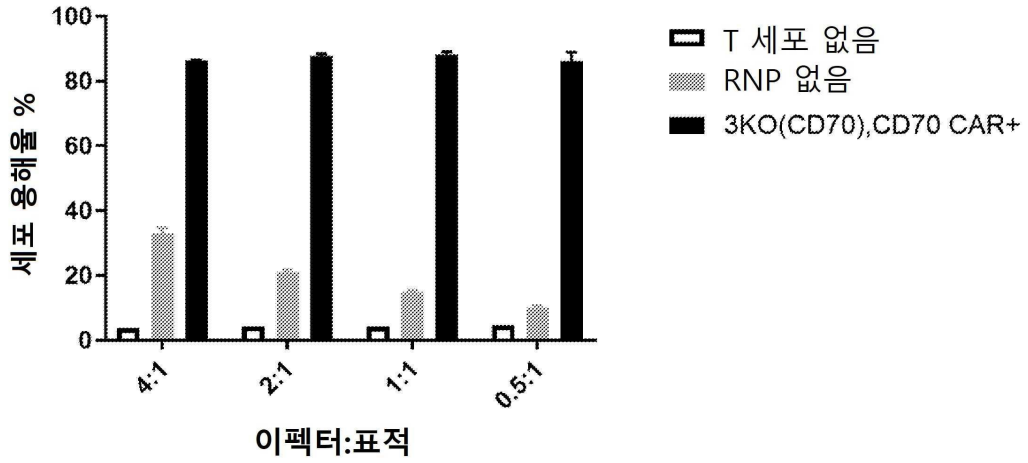
도면4a


300000
200000
100000
0
중앙 형광 강도
K562
PANC-1
ACHN
HuT78
SKOV-3
NCI-H1975
Hs-766T
A498
MJ

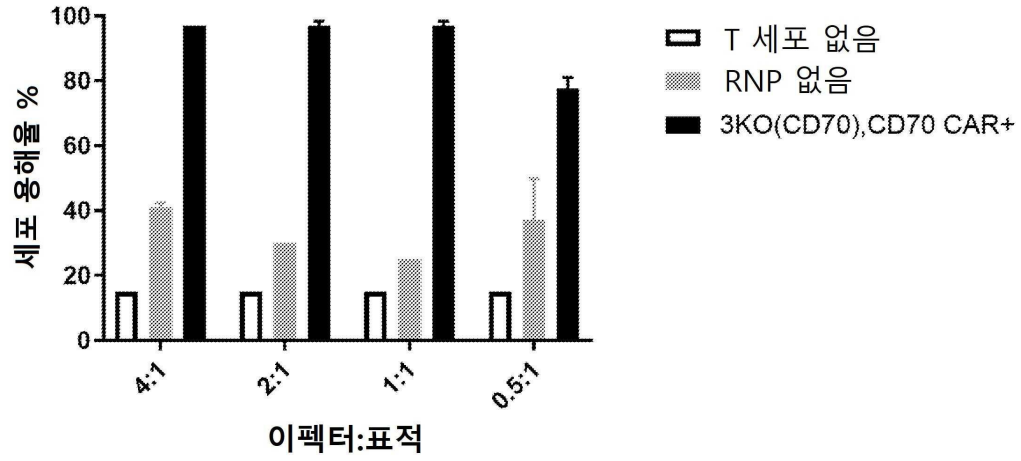
도면4b


100
80
60
40
20
0
세포 용해율 %
4:1
2:1
1:1
0.5:1
이펙터:표적
T 세포 없음
RNP 없음
3KO(CD70), CD70 CAR+

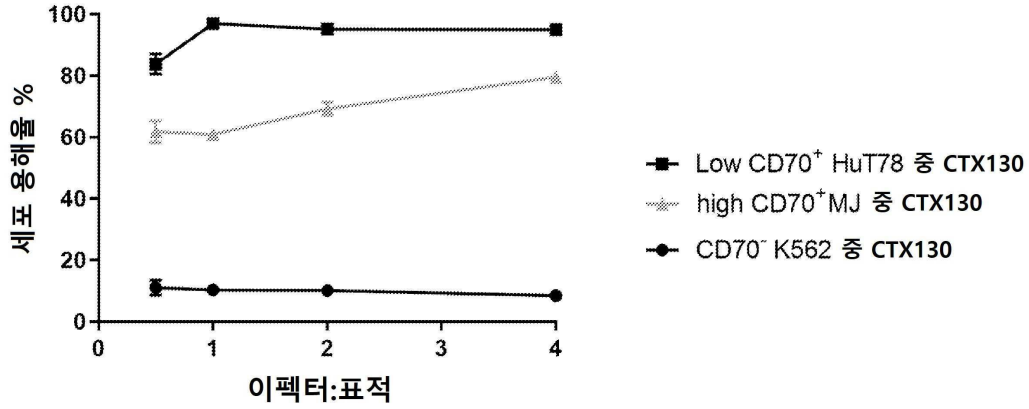
도면4c



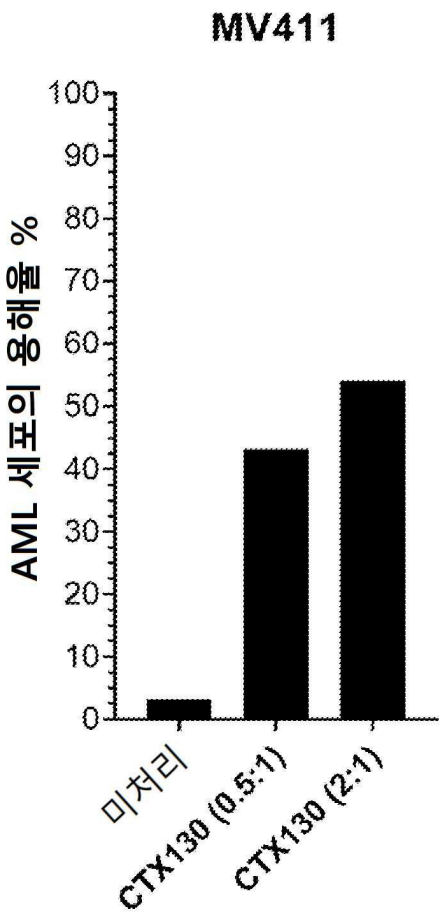

도면4d



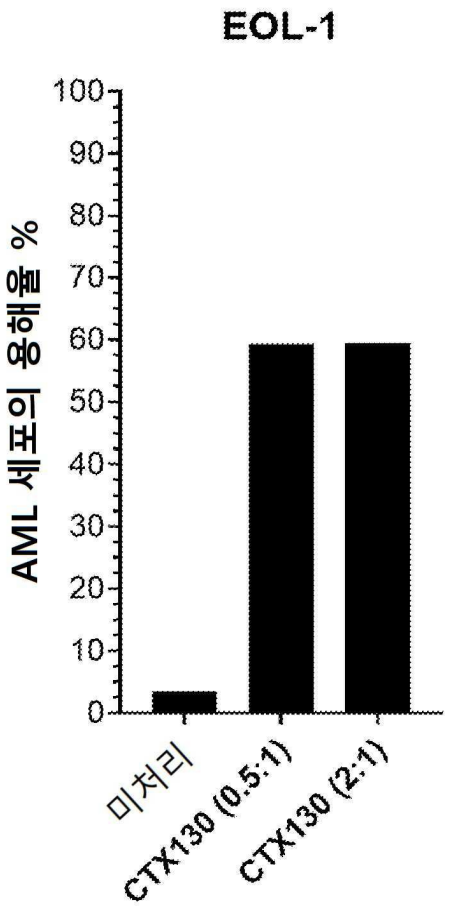

도면4e



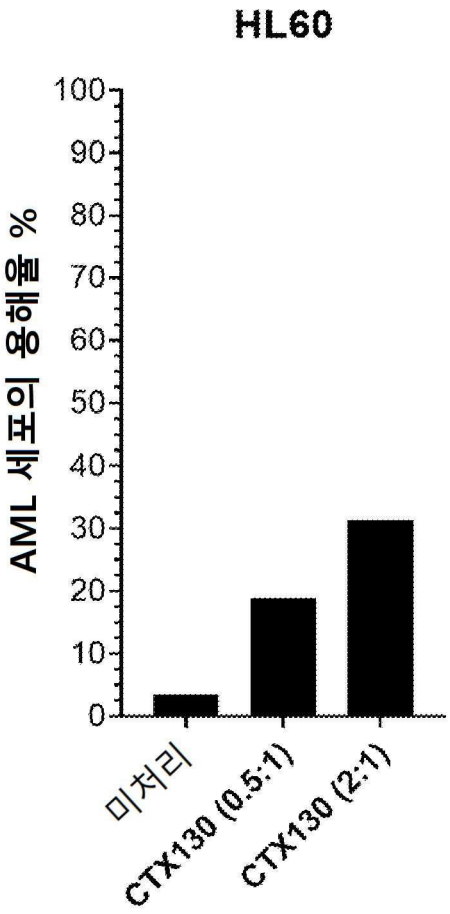
도면4f


MV411
AML 세포의 용해율 %
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
미처리
CTX130 (0.5:1)
CTX130 (2:1)

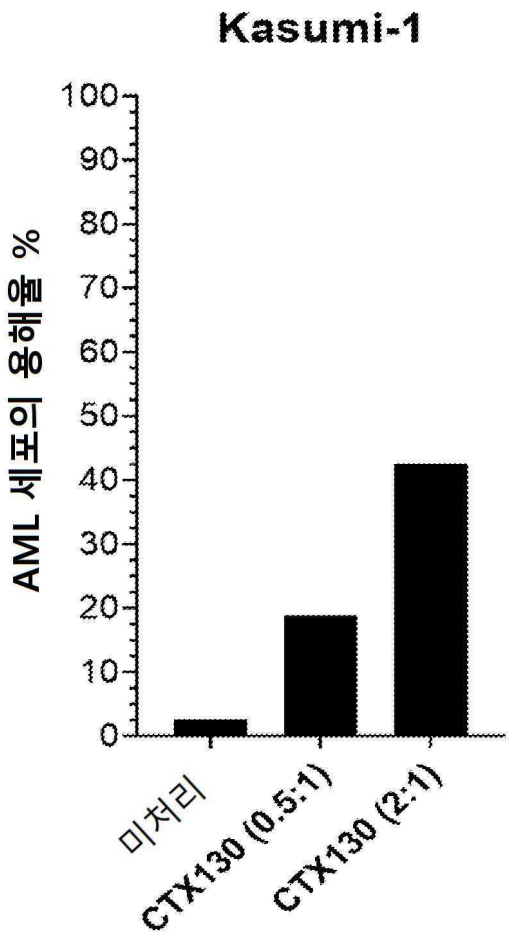
도면4g


EOL-1
AML 세포의 용해율 %
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
미처리
CTX130 (0.5:1)
CTX130 (2:1)

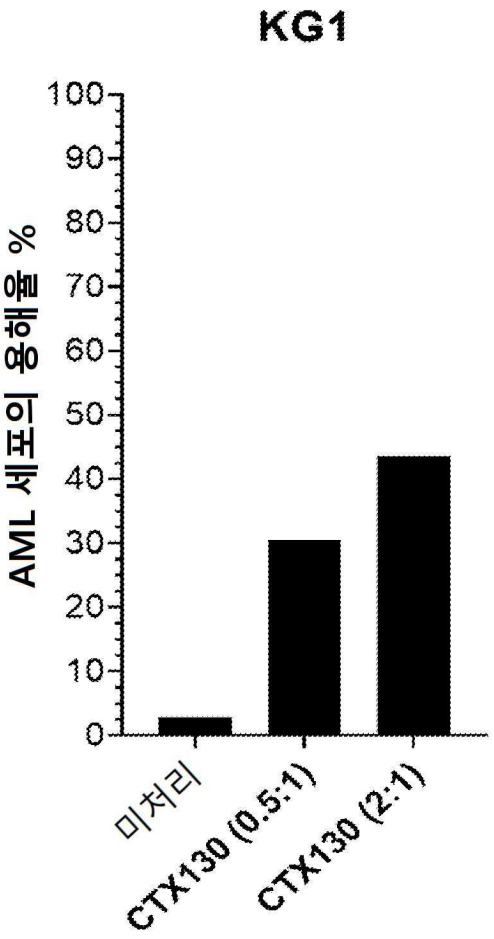
도면4h


HL60
AML 세포의 용해율 %
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
미처리
CTX130 (0.5:1)
CTX130 (2:1)

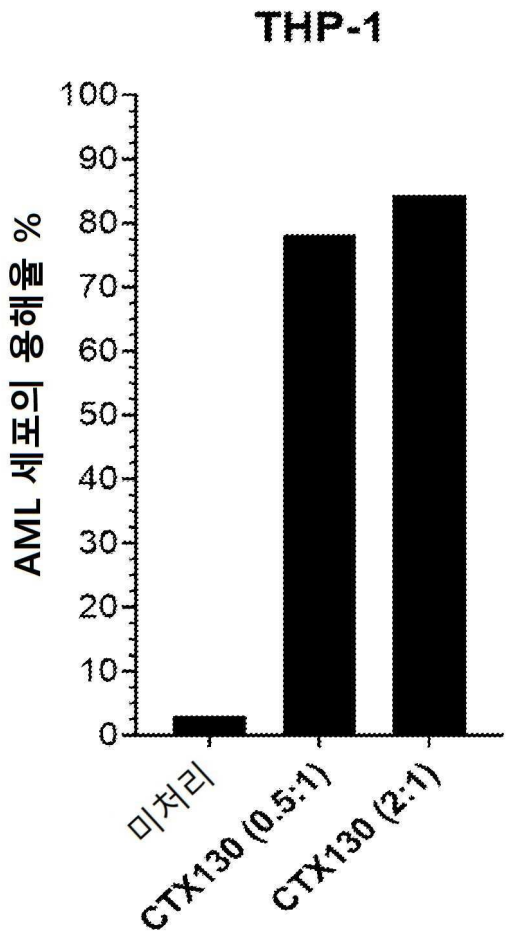
도면4i


Kasumi-1
AML 세포의 용해율 %
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
미처리
CTX130 (0.5:1)
CTX130 (2:1)

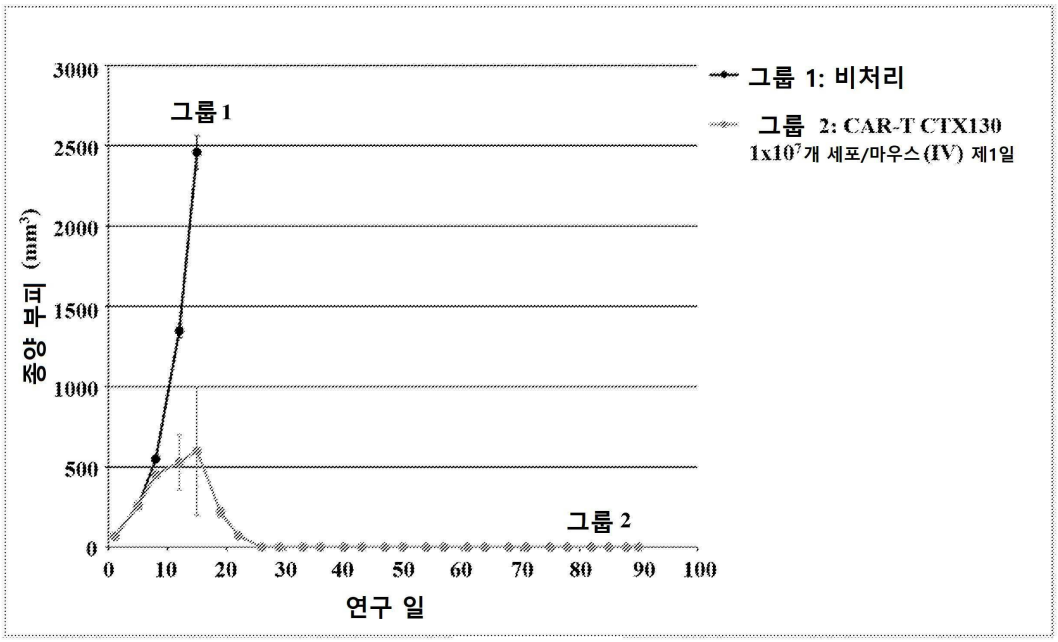
도면4j


KG1
AML 세포의 용해율 %
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
미처리
CTX130 (0.5:1)
CTX130 (2:1)

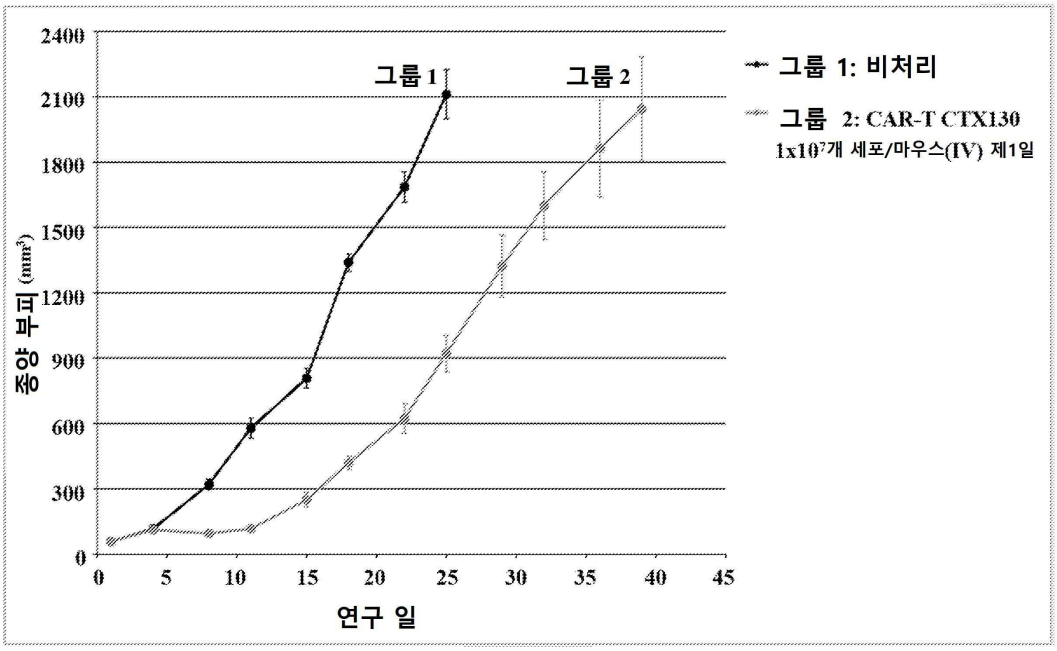
도면4k


THP-1
AML 세포의 용해율 %
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
미처리
CTX130 (0.5:1)
CTX130 (2:1)

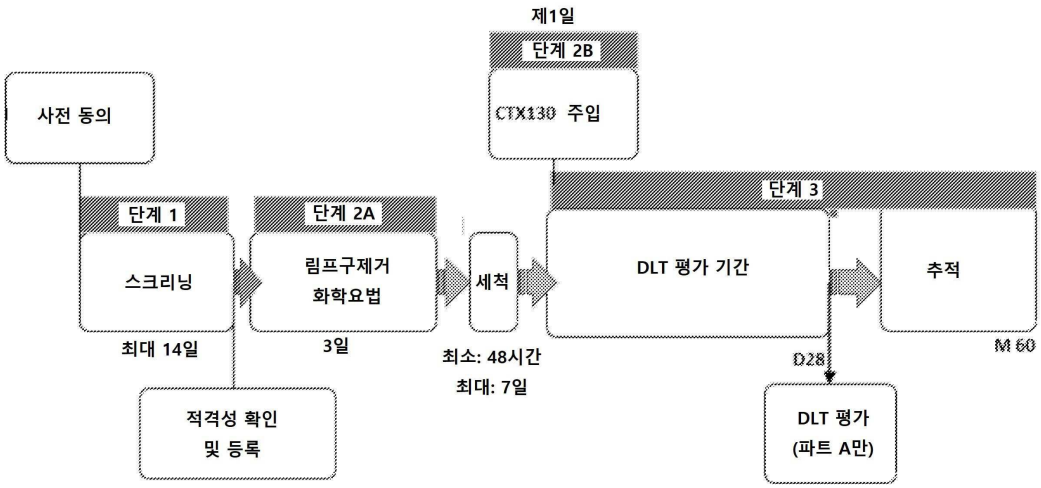
도면5a


종양 부피 (mm³)
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
그룹 1
그룹 2
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
연구 일
그룹 1: 비처리
그룹 2: CAR-T CTX130
1x10⁷개 세포/마우스 (IV) 제1일

도면5b




도면6




## 서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> CRISPR Therapeutics AG

<120> THERAPY FOR T CELL AND B CELL MALIGNANCIES USING GENETICALLY ENGINEERED T CELLS TARGETING CD70

<130> 095136-0188-010WO1

<140> Not Yet Assigned

<141> Concurrently Herewith

<150> US 62/934,945

<151> 2019-11-13

<160> 69

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1368

<212> PRT

<213> Streptococcus pyogenes

<400> 1

Met Asp Lys Lys Tyr Ser Ile Gly Leu Asp Ile Gly Thr Asn Ser Val
1 5 10 15

Gly Trp Ala Val Ile Thr Asp Glu Tyr Lys Val Pro Ser Lys Lys Phe
20 25 30

Lys Val Leu Gly Asn Thr Asp Arg His Ser Ile Lys Lys Asn Leu Ile
35 40 45

Gly Ala Leu Leu Phe Asp Ser Gly Glu Thr Ala Glu Ala Thr Arg Leu
50 55 60

Lys Arg Thr Ala Arg Arg Arg Tyr Thr Arg Arg Lys Asn Arg Ile Cys
65 70 75 80

Tyr Leu Gln Glu Ile Phe Ser Asn Glu Met Ala Lys Val Asp Asp Ser
85 90 95

Phe Phe His Arg Leu Glu Glu Ser Phe Leu Val Glu Glu Asp Lys Lys
100 105 110

His Glu Arg His Pro Ile Phe Gly Asn Ile Val Asp Glu Val Ala Tyr
115 120 125

His Glu Lys Tyr Pro Thr Ile Tyr His Leu Arg Lys Lys Leu Val Asp
130 135 140

Ser Thr Asp Lys Ala Asp Leu Arg Leu Ile Tyr Leu Ala Leu Ala His
145 150 155 160

Met Ile Lys Phe Arg Gly His Phe Leu Ile Glu Gly Asp Leu Asn Pro
165 170 175

Asp Asn Ser Asp Val Asp Lys Leu Phe Ile Gln Leu Val Gln Thr Tyr
180 185 190

Asn Gln Leu Phe Glu Glu Asn Pro Ile Asn Ala Ser Gly Val Asp Ala
195 200 205

Lys Ala Ile Leu Ser Ala Arg Leu Ser Lys Ser Arg Arg Leu Glu Asn
210 215 220
Leu Ile Ala Gln Leu Pro Gly Glu Lys Lys Asn Gly Leu Phe Gly Asn
225 230 235 240
Leu Ile Ala Leu Ser Leu Gly Leu Thr Pro Asn Phe Lys Ser Asn Phe
245 250 255
Asp Leu Ala Glu Asp Ala Lys Leu Gln Leu Ser Lys Asp Thr Tyr Asp
260 265 270

Asp Asp Leu Asp Asn Leu Leu Ala Gln Ile Gly Asp Gln Tyr Ala Asp
275 280 285
Leu Phe Leu Ala Ala Lys Asn Leu Ser Asp Ala Ile Leu Leu Ser Asp
290 295 300
Ile Leu Arg Val Asn Thr Glu Ile Thr Lys Ala Pro Leu Ser Ala Ser
305 310 315 320
Met Ile Lys Arg Tyr Asp Glu His His Gln Asp Leu Thr Leu Leu Lys
325 330 335

Ala Leu Val Arg Gln Gln Leu Pro Glu Lys Tyr Lys Glu Ile Phe Phe
340 345 350
Asp Gln Ser Lys Asn Gly Tyr Ala Gly Tyr Ile Asp Gly Gly Ala Ser
355 360 365
Gln Glu Glu Phe Tyr Lys Phe Ile Lys Pro Ile Leu Glu Lys Met Asp
370 375 380
Gly Thr Glu Glu Leu Leu Val Lys Leu Asn Arg Glu Asp Leu Leu Arg
385 390 395 400

Lys Gln Arg Thr Phe Asp Asn Gly Ser Ile Pro His Gln Ile His Leu
405 410 415
Gly Glu Leu His Ala Ile Leu Arg Arg Gln Glu Asp Phe Tyr Pro Phe
420 425 430
Leu Lys Asp Asn Arg Glu Lys Ile Glu Lys Ile Leu Thr Phe Arg Ile

435 440 445

Pro Tyr Tyr Val Gly Pro Leu Ala Arg Gly Asn Ser Arg Phe Ala Trp

450 455 460

Met Thr Arg Lys Ser Glu Glu Thr Ile Thr Pro Trp Asn Phe Glu Glu

465 470 475 480

Val Val Asp Lys Gly Ala Ser Ala Gln Ser Phe Ile Glu Arg Met Thr

485 490 495

Asn Phe Asp Lys Asn Leu Pro Asn Glu Lys Val Leu Pro Lys His Ser

500 505 510

Leu Leu Tyr Glu Tyr Phe Thr Val Tyr Asn Glu Leu Thr Lys Val Lys

515 520 525

Tyr Val Thr Glu Gly Met Arg Lys Pro Ala Phe Leu Ser Gly Glu Gln

530 535 540

Lys Lys Ala Ile Val Asp Leu Leu Phe Lys Thr Asn Arg Lys Val Thr

545 550 555 560

Val Lys Gln Leu Lys Glu Asp Tyr Phe Lys Lys Ile Glu Cys Phe Asp

565 570 575

Ser Val Glu Ile Ser Gly Val Glu Asp Arg Phe Asn Ala Ser Leu Gly

580 585 590

Thr Tyr His Asp Leu Leu Lys Ile Ile Lys Asp Lys Asp Phe Leu Asp

595 600 605

Asn Glu Glu Asn Glu Asp Ile Leu Glu Asp Ile Val Leu Thr Leu Thr

610 615 620

Leu Phe Glu Asp Arg Glu Met Ile Glu Glu Arg Leu Lys Thr Tyr Ala

625 630 635 640

His Leu Phe Asp Asp Lys Val Met Lys Gln Leu Lys Arg Arg Arg Tyr

645 650 655

Thr Gly Trp Gly Arg Leu Ser Arg Lys Leu Ile Asn Gly Ile Arg Asp

660 665 670

Lys Gln Ser Gly Lys Thr Ile Leu Asp Phe Leu Lys Ser Asp Gly Phe

675 680 685

Ala Asn Arg Asn Phe Met Gln Leu Ile His Asp Asp Ser Leu Thr Phe
690 695 700
Lys Glu Asp Ile Gln Lys Ala Gln Val Ser Gly Gln Gly Asp Ser Leu
705 710 715 720

His Glu His Ile Ala Asn Leu Ala Gly Ser Pro Ala Ile Lys Lys Gly
725 730 735
Ile Leu Gln Thr Val Lys Val Val Asp Glu Leu Val Lys Val Met Gly
740 745 750
Arg His Lys Pro Glu Asn Ile Val Ile Glu Met Ala Arg Glu Asn Gln
755 760 765
Thr Thr Gln Lys Gly Gln Lys Asn Ser Arg Glu Arg Met Lys Arg Ile
770 775 780

Glu Glu Gly Ile Lys Glu Leu Gly Ser Gln Ile Leu Lys Glu His Pro
785 790 795 800
Val Glu Asn Thr Gln Leu Gln Asn Glu Lys Leu Tyr Leu Tyr Tyr Leu
805 810 815
Gln Asn Gly Arg Asp Met Tyr Val Asp Gln Glu Leu Asp Ile Asn Arg
820 825 830
Leu Ser Asp Tyr Asp Val Asp His Ile Val Pro Gln Ser Phe Leu Lys
835 840 845

Asp Asp Ser Ile Asp Asn Lys Val Leu Thr Arg Ser Asp Lys Asn Arg
850 855 860
Gly Lys Ser Asp Asn Val Pro Ser Glu Glu Val Val Lys Lys Met Lys
865 870 875 880
Asn Tyr Trp Arg Gln Leu Leu Asn Ala Lys Leu Ile Thr Gln Arg Lys
885 890 895
Phe Asp Asn Leu Thr Lys Ala Glu Arg Gly Gly Leu Ser Glu Leu Asp
900 905 910

Lys Ala Gly Phe Ile Lys Arg Gln Leu Val Glu Thr Arg Gln Ile Thr
915 920 925
Lys His Val Ala Gln Ile Leu Asp Ser Arg Met Asn Thr Lys Tyr Asp

930 935 940

Glu Asn Asp Lys Leu Ile Arg Glu Val Lys Val Ile Thr Leu Lys Ser

945 950 955 960

Lys Leu Val Ser Asp Phe Arg Lys Asp Phe Gln Phe Tyr Lys Val Arg

965 970 975

Glu Ile Asn Asn Tyr His His Ala His Asp Ala Tyr Leu Asn Ala Val

980 985 990

Val Gly Thr Ala Leu Ile Lys Lys Tyr Pro Lys Leu Glu Ser Glu Phe

995 1000 1005

Val Tyr Gly Asp Tyr Lys Val Tyr Asp Val Arg Lys Met Ile Ala

1010 1015 1020

Lys Ser Glu Gln Glu Ile Gly Lys Ala Thr Ala Lys Tyr Phe Phe

1025 1030 1035

Tyr Ser Asn Ile Met Asn Phe Phe Lys Thr Glu Ile Thr Leu Ala

1040 1045 1050

Asn Gly Glu Ile Arg Lys Arg Pro Leu Ile Glu Thr Asn Gly Glu

1055 1060 1065

Thr Gly Glu Ile Val Trp Asp Lys Gly Arg Asp Phe Ala Thr Val

1070 1075 1080

Arg Lys Val Leu Ser Met Pro Gln Val Asn Ile Val Lys Lys Thr

1085 1090 1095

Glu Val Gln Thr Gly Gly Phe Ser Lys Glu Ser Ile Leu Pro Lys

1100 1105 1110

Arg Asn Ser Asp Lys Leu Ile Ala Arg Lys Lys Asp Trp Asp Pro

1115 1120 1125

Lys Lys Tyr Gly Gly Phe Asp Ser Pro Thr Val Ala Tyr Ser Val

1130 1135 1140

Leu Val Val Ala Lys Val Glu Lys Gly Lys Ser Lys Lys Leu Lys

1145 1150 1155

Ser Val Lys Glu Leu Leu Gly Ile Thr Ile Met Glu Arg Ser Ser

1160 1165 1170

Phe Glu Lys Asn Pro Ile Asp Phe Leu Glu Ala Lys Gly Tyr Lys
1175 1180 1185
Glu Val Lys Lys Asp Leu Ile Ile Lys Leu Pro Lys Tyr Ser Leu
1190 1195 1200
Phe Glu Leu Glu Asn Gly Arg Lys Arg Met Leu Ala Ser Ala Gly
1205 1210 1215

Glu Leu Gln Lys Gly Asn Glu Leu Ala Leu Pro Ser Lys Tyr Val
1220 1225 1230
Asn Phe Leu Tyr Leu Ala Ser His Tyr Glu Lys Leu Lys Gly Ser
1235 1240 1245
Pro Glu Asp Asn Glu Gln Lys Gln Leu Phe Val Glu Gln His Lys
1250 1255 1260
His Tyr Leu Asp Glu Ile Ile Glu Gln Ile Ser Glu Phe Ser Lys
1265 1270 1275

Arg Val Ile Leu Ala Asp Ala Asn Leu Asp Lys Val Leu Ser Ala
1280 1285 1290
Tyr Asn Lys His Arg Asp Lys Pro Ile Arg Glu Gln Ala Glu Asn
1295 1300 1305
Ile Ile His Leu Phe Thr Leu Thr Asn Leu Gly Ala Pro Ala Ala
1310 1315 1320
Phe Lys Tyr Phe Asp Thr Thr Ile Asp Arg Lys Arg Tyr Thr Ser
1325 1330 1335

Thr Lys Glu Val Leu Asp Ala Thr Leu Ile His Gln Ser Ile Thr
1340 1345 1350
Gly Leu Tyr Glu Thr Arg Ile Asp Leu Ser Gln Leu Gly Gly Asp
1355 1360 1365
<210> 2
<211> 100
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<220><221> misc_feature

<222> (1)..(4)

<223> modified with 2'-O-methyl phosphorothioate

<220><221> misc_feature

<222> (97)..(100)

<223> modified with 2'-O-methyl phosphorothioate

<400> 2

gcuuuggucc cauuggucgc guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 3

<211> 100

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 3

gcuuuggucc cauuggucgc guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 4

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220

><221> misc_feature

<222> (1)..(4)

<223> modified with 2'-O-methyl phosphorothioate

<400> 4

gcuuuggucc cauuggucgc 20

<210> 5

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 5

gcuuuggucc cauuggucgc 20

<210> 6

<211> 100

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(4)

<223> modified with 2'-O-methyl phosphorothioate

<220><221> misc_feature

<222> (97)..(100)

<223> modified with 2'-O-methyl phosphorothioate

<400> 6

agagcaacag ugcuguggcc guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 7

<211> 100

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 7

agagcaacag ugcuguggcc guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 8

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(4)

<223> modified with 2'-O-methyl phosphorothioate

<400> 8

agagcaacag ugcuguggcc 20

<210> 9

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 9

agagcaacag ugcuguggcc 20

<210> 10

<211> 100

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(4)

<223> modified with 2'-O-methyl phosphorothioate

<220><221> misc_feature

<222> (97)..(100)

<223> modified with 2'-O-methyl phosphorothioate

<400> 10

gcuacucucu cuuucuggcc guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 11

<211> 100

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 11

gcuacucucu cuuucuggcc guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 12

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(4)

<223> modified with 2'-O-methyl phosphorothioate

<400> 12

gcuacucucu cuuucuggcc 20

<210> 13

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 13

gcuacucucu cuuucuggcc 20

<210> 14

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 14

gctttggtcc cattggtcgc ggg 23

<210> 15

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 15

gctttggtcc cattggtcgc 20

<210> 16

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 16

agagcaacag tgctgtggcc tgg 23

<210> 17

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 17

agagcaacag tgctgtggcc 20

<210> 18

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 18

gctactctct ctttctggcc tgg 23

<210> 19

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 19

gctactctct ctttctggcc 20

<210> 20

<211> 100

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(20)

<223> n is a, c, g, or u

<400> 20

nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 21

<211> 96

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(20)

<223> n is a, c, g, or u

<400> 21

nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugc 96

<210> 22

<211> 114

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(17)

<223> n is a, c, g, or u

<220><221> misc_feature

<222> (18)..(30)

<223> may be absent

<220><221> misc_feature

<222> (109)..(114)

<223> may be absent

<400> 22

nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau 60

aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu uuuu 114

<210> 23

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 23

aagagcaaca aatctgact 19

<210> 24

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 24

aagagcaaca gtgctgtgcc tggagcaaca aatctgact 39

<210> 25

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 25

aagagcaaca gtgctggagc aacaaatctg act 33

<210> 26

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 26

aagagcaaca gtgcctggag caacaaatct gact 34

<210> 27

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 27

aagagcaaca gtgctgact 19

<210> 28

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 28

aagagcaaca gtgctgtggg cctggagcaa caaatctgac t 41

<210> 29

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 29

aagagcaaca gtgctggcct ggagcaacaa atctgact 38

<210> 30

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 30

aagagcaaca gtgctgtgtg cctggagcaa caaatctgac t 41

<210> 31

<211> 79

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 31

cgtggcctta gctgtgctcg cgctactctc tctttctgcc tggaggctat ccagcgtgag 60

tctctcctac cctcccgct 79

<210> 32

<211> 78

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 32

cgtggcctta gctgtgctcg cgctactctc tctttcgcct ggaggctatc cagcgtgagt 60

ctctcctacc ctcccgct 78

<210> 33

<211> 75

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 33

cgtggcctta gctgtgctcg cgctactctc tctttctgga ggctatccag cgtgagtctc 60

tcctaccctc ccgct 75

<210> 34

<211> 84

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 34

cgtggcctta gctgtgctcg cgctactctc tctttctgga tagcctggag gctatccagc 60

gtgagtctct cctaccctcc cgct 84

<210> 35

<211> 55

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 35

cgtggcctta gctgtgctcg cgctatccag cgtgagtctc tcctaccctc ccgct 55

<210> 36

<211> 82

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 36

cgtggcctta gctgtgctcg cgctactctc tctttctgtg gcctggaggc tatccagcgt 60

gagtctctcc taccctcccg ct 82

<210> 37

<211> 58

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 37

cacaccacga ggcagatcac caagcccgcg caatgggacc aaagcagccc gcaggacg 58

<210> 38

<211> 61

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 38

cacaccacga ggcagatcac caagcccgcg aaccaatggg accaaagcag cccgcaggac 60

g 61

<210> 39

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 39

cacaccacga ggcagatcac caatgggacc aaagcagccc gcaggacg 48

<210> 40

<211> 59

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 40

cacaccacga ggcagatcac caagcccgcg ccaatgggac caaagcagcc cgcaggacg 59

<210> 41

<211> 59

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 41

cacaccacga ggcagatcac caagcccgca ccaatgggac caaagcagcc cgcaggacg 59

<210> 42

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 42

cacaccacga ggcagatcac caagcccgca ggacg 35

<210> 43

<211> 4688

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 43

cctgcaggca gctgcgcgct cgctcgctca ctgaggccgc ccgggcgtcg ggcgaccttt 60

ggtcgcccgg cctcagtgag cgagcgagcg cgcagagagg gagtggccaa ctccatcact 120

aggggttcct gcggccgcac gcgtgagatg taaggagctg ctgtgacttg ctcaaggcct 180

tatatcgagt aaacggtagt gctggggctt agacgcaggt gttctgattt atagttcaaa 240

acctctatca atgagagagc aatctcctgg taatgtgata gatttcccaa cttaatgcca 300

acataccata aacctcccat tctgctaatg cccagcctaa gttggggaga ccactccaga 360

ttccaagatg tacagtttgc tttgctgggc ctttttccca tgcctgcctt tactctgcca 420

gagttatatt gctggggttt tgaagaagat cctattaaat aaaagaataa gcagtattat 480

taagtagccc tgcatttcag gtttccttga gtggcaggcc aggcctggcc gtgaacgttc 540

actgaaatca tggcctcttg gccaagattg atagcttgtg cctgtccctg agtcccagtc 600

catcacgagc agctggtttc taagatgcta tttcccgtat aaagcatgag accgtgactt 660

gccagcccca cagagccccg cccttgtcca tcactggcat ctggactcca gcctgggttg 720

gggcaaagag ggaaatgaga tcatgtccta accctgatcc tcttgtccca cagatatcca 780

gaaccctgac cctgccgtgt accagctgag agactctaaa tccagtgaca agtctgtctg 840

cctattcacc gattttgatt ctcaaacaaa tgtgtcacaa agtaaggatt ctgatgtgta 900

tatcacagac aaaactgtgc tagacatgag gtctatggac ttcaggctcc ggtgcccgtc 960

agtgggcaga gcgcacatcg cccacagtcc ccgagaagtt gggggggaggg gtcggcaatt 1020

gaaccggtgc ctagagaagg tggcgcgggg taaactggga aagtgatgtc gtgtactggc 1080

tccgcctttt tcccgagggt gggggagaac cgtatataag tgcagtagtc gccgtgaacg 1140

ttctttttcg caacgggttt gccgccagaa cacaggtaag tgccgtgtgt ggttcccgcg 1200

ggcctggcct ctttacgggt tatggccctt gcgtgccttg aattacttcc actggctgca 1260

gtacgtgatt cttgatcccg agcttcgggt tggaagtggg tgggagagtt cgaggccttg 1320

cgcttaagga gccccttcgc ctcgtgcttg agttgaggcc tggcctgggc gctggggccg 1380

ccgcgtgcga atctggtggc accttcgcgc ctgtctcgct gctttcgata agtctctagc 1440

catttaaaat ttttgatgac ctgctgcgac gctttttttc tggcaagata gtcttgtaaa 1500

tgcgggccaa gatctgcaca ctggtatttc ggtttttggg gccgcgggcg gcgacggggc 1560

ccgtgcgtcc cagcgcacat gttcggcgag gcggggcctg cgagcgcggc caccgagaat 1620

cggacggggg tagtctcaag ctggccggcc tgctctggtg cctggcctcg cgccgccgtg 1680

tatcgccccg ccctgggcgg caaggctggc ccggtcggca ccagttgcgt gagcggaaag 1740

atggccgctt cccggccctg ctgcagggag ctcaaaatgg aggacgcggc gctcgggaga 1800

gcgggcgggt gagtcaccca cacaaaggaa aagggccttt ccgtcctcag ccgtcgcttc 1860

atgtgactcc acggagtacc gggcgccgtc caggcacctc gattagttct cgagcttttg 1920

gagtacgtcg tctttaggtt gggggggaggg gttttatgcg atggagtttc cccacactga 1980

gtgggtggag actgaagtta ggccagcttg gcacttgatg taattctcct tggaatttgc 2040

ccttttgag tttggatctt ggttcattct caagcctcag acagtggttc aaagtttttt 2100

tcttccattt caggtgtcgt gaccaccatg gcgcttccgg tgacagcact gctcctcccc 2160

ttggcgctgt tgctccacgc agcaaggccg caggtccagt tggtgcaaag cggggcggag 2220

gtgaaaaaac ccggcgcttc cgtgaaggtg tcctgtaagg cgtccggtta tacgttcacg 2280

aactacggga tgaattgggt tcgccaagcg ccggggcagg gactgaaatg gatggggtgg 2340

ataaatacct acaccggcga acctacatac gccgacgctt ttaaagggcg agtcactatg 2400

acgcgcgata ccagcatatc caccgcatac atggagctgt cccgactccg gtcagacgac 2460

acggctgtct actattgtgc tcgggactat ggcgattatg gcatggacta ctggggtcag 2520

ggtacgactg taacagttag tagtggtgga ggcggcagtg gcgggggggg aagcggagga 2580

gggggttctg gtgacatagt tatgacccaa tccccagata gtttggcggt ttctctgggc 2640

gagagggcaa cgattaattg tcgcgcatca aagagcgttt caacgagcgg atattctttt 2700

atgcattggt accagcaaaa acccggacaa ccgccgaagc tgctgatcta cttggcttca 2760

aatcttgagt ctggggtgcc ggaccgattt tctggtagtg gaagcggaac tgactttacg 2820

ctcacgatca gttcactgca ggctgaggat gtagcggtct attattgcca gcacagtaga 2880

gaagtcccct ggaccttcgg tcaaggcacg aaagtagaaa ttaaaagtgc tgctgccttt 2940

gtcccggtat ttctcccagc caaaccgacc acgactcccg ccccgcgccc tccgacaccc 3000

gctcccacca tcgcctctca acctcttagt cttcgccccg aggcatgccg acccgccgcc 3060

ggggggtgctg ttcatacgag gggcttggac ttcgcttgtg atatttacat ttgggctccg 3120
ttggcgggta cgtgcggcgt ccttttgttg tcactcgtta ttactttgta ttgtaatcac 3180
aggaatcgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga 3240
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa 3300
ggaggatgtg aactgcgagt gaagttttcc cgaagcgcag acgctccggc atatcagcaa 3360
ggacagaatc agctgtataa cgaactgaat ttgggacgcc gcgaggagta tgacgtgctt 3420
gataaacgcc gggggagaga cccggaaatg gggggtaaac cccgaagaaa gaatccccaa 3480

gaaggactct acaatgaact ccagaaggat aagatggcgg aggcctactc agaaataggt 3540
atgaagggcg aacgacgacg gggaaaaggt cacgatggcc tctaccaagg gttgagtacg 3600
gcaaccaaag atacgtacga tgcactgcat atgcaggccc tgcctcccag ataataataa 3660
aatcgctatc catcgaagat ggatgtgtgt tggttttttg tgtgtggagc aacaaatctg 3720
actttgcatg tgcaaacgcc ttcaacaaca gcattattcc agaagacacc ttcttcccca 3780
gcccaggtaa gggcagcttt ggtgccttcg caggctgttt ccttgcttca ggaatggcca 3840
ggttctgccc agagctctgg tcaatgatgt ctaaaactcc tctgattggt ggtctcggcc 3900

ttatccattg ccaccaaaac cctcttttta ctaagaaaca gtgagccttg ttctggcagt 3960
ccagagaatg acacgggaaa aaagcagatg aagagaaggt ggcaggagag ggcacgtggc 4020
ccagcctcag tctctccaac tgagttcctg cctgcctgcc tttgctcaga ctgtttgccc 4080
cttactgctc ttctaggcct cattctaagc cccttctcca agttgcctct ccttatttct 4140
ccctgtctgc caaaaaatct ttcccagctc actaagtcag tctcacgcag tcactcatta 4200
acccaccaat cactgattgt gccggcacat gaatgcacca ggtgttgaag tggaggaatt 4260
aaaaagtcag atgaggggtg tgcccagagg aagcaccatt ctagttgggg gagcccatct 4320

gtcagctggg aaaagtccaa ataacttcag attggaatgt gttttaactc agggttgaga 4380
aaacagctac cttcaggaca aaagtcaggg aagggctctc tgaagaaatg ctacttgaag 4440
ataccagccc taccaagggc agggagagga ccctatagag gcctgggaca ggagctcaat 4500
gagaaaggta accacgtgcg gaccgaggct gcagcgtcgt cctccctagg aacccctagt 4560
gatggagttg gccactccct ctctgcgcgc tcgctcgctc actgaggccg ggcgaccaaa 4620
ggtcgcccga cgcccgggct ttgcccgggc ggcctcagtg agcgagcgag cgcgcagctg 4680
cctgcagg 4688

<210> 44

<211> 4364

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 44

gagatgtaag gagctgctgt gacttgctca aggccttata tcgagtaaac ggtagtgctg 60

gggcttagac gcaggtgttc tgatttatag ttcaaaacct ctatcaatga gagagcaatc 120

tcctggtaat gtgatagatt tcccaactta atgccaacat accataaacc tcccattctg 180

ctaatgccca gcctaagttg gggagaccac tccagattcc aagatgtaca gtttgctttg 240

ctgggccttt ttcccatgcc tgcctttact ctgccagagt tatattgctg gggttttgaa 300

gaagatccta ttaaataaaa gaataagcag tattattaag tagccctgca tttcaggttt 360

ccttgagtgg caggccaggc ctggccgtga acgttcactg aaatcatggc ctcttggcca 420

agattgatag cttgtgcctg tccctgagtc ccagtccatc acgagcagct ggtttctaag 480

atgctatttc ccgtataaag catgagaccg tgacttgcca gccccacaga gccccgccct 540

tgtccatcac tggcatctgg actccagcct gggttggggc aaagagggaa atgagatcat 600

gtcctaaccc tgatcctctt gtcccacaga tatccagaac cctgaccctg ccgtgtacca 660

gctgagagac tctaaatcca gtgacaagtc tgtctgccta ttcaccgatt ttgattctca 720

aacaaatgtg tcacaaagta aggattctga tgtgtatatc acagacaaaa ctgtgctaga 780

catgaggtct atggacttca ggctccggtg cccgtcagtg ggcagagcgc acatcgccca 840

cagtccccga gaagttgggg ggaggggtcg gcaattgaac cggtgcctag agaaggtggc 900

gcggggtaaa ctgggaaagt gatgtcgtgt actggctccg cctttttccc gagggtgggg 960

gagaaccgta tataagtgca gtagtcgccg tgaacgttct ttttcgcaac gggtttgccg 1020

ccagaacaca ggtaagtgcc gtgtgtggtt cccgcgggcc tggcctcttt acgggttatg 1080

gcccttgcgt gccttgaatt acttccactg gctgcagtac gtgattcttg atcccgagct 1140

tcgggttgga agtgggtggg agagttcgag gccttgcgct taaggagccc cttcgcctcg 1200

tgcttgagtt gaggcctggc ctgggcgctg gggccgccgc gtgcgaatct ggtggcacct 1260

tcgcgcctgt ctcgctgctt tcgataagtc tctagccatt taaaattttt gatgacctgc 1320

tgcgacgctt tttttctggc aagatagtct tgtaaatgcg ggccaagatc tgcacactgg 1380

tatttcggtt tttggggccg cgggcggcga cggggcccgt gcgtcccagc gcacatgttc 1440

ggcgaggcgg ggcctgcgag cgcggccacc gagaatcgga cgggggtagt ctcaagctgg 1500

ccggcctgct ctggtgcctg gcctcgcgcc gccgtgtatc gccccgccct gggcggcaag 1560

gctggcccgg tcggcaccag ttgcgtgagc ggaaagatgg ccgcttcccg gccctgctgc 1620

agggagctca aaatggagga cgcggcgctc gggagagcgg gcgggtgagt cacccacaca 1680
aaggaaaagg gcctttccgt cctcagccgt cgcttcatgt gactccacgg agtaccgggc 1740
gccgtccagg cacctcgatt agttctcgag cttttggagt acgtcgtctt taggttgggg 1800
ggaggggttt tatgcgatgg agtttcccca cactgagtgg gtggagactg aagttaggcc 1860
agcttggcac ttgatgtaat tctccttgga atttgccctt tttgagtttg gatcttggtt 1920
cattctcaag cctcagacag tggttcaaag tttttttctt ccatttcagg tgtcgtgacc 1980
accatggcgc ttccggtgac agcactgctc ctccccttgg cgctgttgct ccacgcagca 2040

aggccgcagg tccagttggt gcaaagcggg gcggaggtga aaaaacccgg cgcttccgtg 2100
aaggtgtcct gtaaggcgtc cggttatacg ttcacgaact acgggatgaa ttgggttcgc 2160
caagcgccgg ggcagggact gaaatggatg gggtggataa atacctacac cggcgaacct 2220
acatacgccg acgcttttaa agggcgagtc actatgacgc gcgataccag catatccacc 2280
gcatacatgg agctgtcccg actccggtca gacgacacgg ctgtctacta ttgtgctcgg 2340
gactatggcg attatggcat ggactactgg ggtcagggta cgactgtaac agttagtagt 2400
ggtggaggcg gcagtggcgg ggggggaagc ggaggagggg gttctggtga catagttatg 2460

acccaatccc cagatagttt ggcggtttct ctgggcgaga gggcaacgat taattgtcgc 2520
gcatcaaaga gcgtttcaac gagcggatat tcttttatgc attggtacca gcaaaaaccc 2580
ggacaaccgc cgaagctgct gatctacttg gcttcaaatc ttgagtctgg ggtgccggac 2640
cgattttctg gtagtggaag cggaactgac tttacgctca cgatcagttc actgcaggct 2700
gaggatgtag cggtctatta ttgccagcac agtagagaag tcccctggac cttcggtcaa 2760
ggcacgaaag tagaaattaa aagtgctgct gcctttgtcc cggtatttct cccagccaaa 2820
ccgaccacga ctcccgcccc gcgccctccg acacccgctc ccaccatcgc ctctcaacct 2880

cttagtcttc gccccgaggc atgccgaccc gccgccgggg gtgctgttca tacgaggggc 2940
ttggacttcg cttgtgatat ttacatttgg gctccgttgg cgggtacgtg cggcgtcctt 3000
ttgttgtcac tcgttattac tttgtattgt aatcacagga atcgcaaacg gggcagaaag 3060
aaactcctgt atatattcaa acaaccattt atgagaccag tacaaactac tcaagaggaa 3120
gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa gaagaaggag gatgtgaact gcgagtgaag 3180
ttttcccgaa gcgcagacgc tccggcatat cagcaaggac agaatcagct gtataacgaa 3240
ctgaatttgg gacgccgcga ggagtatgac gtgcttgata aacgccgggg gagagacccg 3300

gaaatggggg gtaaaccccg aagaaagaat ccccaagaag gactctacaa tgaactccag 3360

aaggataaga tggcggaggc ctactcagaa ataggtatga agggcgaacg acgacgggga 3420

aaaggtcacg atggcctcta ccaagggttg agtacggcaa ccaaagatac gtacgatgca 3480

ctgcatatgc aggccctgcc tcccagataa taataaaatc gctatccatc gaagatggat 3540

gtgtgttggt tttttgtgtg tggagcaaca aatctgactt tgcatgtgca aacgccttca 3600

acaacagcat tattccagaa gacaccttct tccccagccc aggtaagggc agctttggtg 3660

ccttcgcagg ctgtttcctt gcttcaggaa tggccaggtt ctgcccagag ctctggtcaa 3720

tgatgtctaa aactcctctg attggtggtc tcggccttat ccattgccac caaaaccctc 3780

tttttactaa gaaacagtga gccttgttct ggcagtccag agaatgacac gggaaaaaag 3840

cagatgaaga gaaggtggca ggagagggca cgtggcccag cctcagtctc tccaactgag 3900

ttcctgcctg cctgcctttg ctcagactgt ttgcccctta ctgctcttct aggcctcatt 3960

ctaagcccct tctccaagtt gcctctcctt atttctccct gtctgccaaa aaatctttcc 4020

cagctcacta agtcagtctc acgcagtcac tcattaaccc accaatcact gattgtgccg 4080

gcacatgaat gcaccaggtg ttgaagtgga ggaattaaaa agtcagatga ggggtgtgcc 4140

cagaggaagc accattctag ttgggggagc ccatctgtca gctgggaaaa gtccaaataa 4200

cttcagattg gaatgtgttt taactcaggg ttgagaaaac agctaccttc aggacaaaag 4260

tcagggaagg gctctctgaa gaaatgctac ttgaagatac cagccctacc aagggcaggg 4320

agaggaccct atagaggcct gggacaggag ctcaatgaga aagg 4364

<210> 45

<211> 1527

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 45

atggcgcttc cggtgacagc actgctcctc cccttggcgc tgttgctcca cgcagcaagg 60

ccgcaggtcc agttggtgca aagcggggcg gaggtgaaaa aacccggcgc ttccgtgaag 120

gtgtcctgta aggcgtccgg ttatacgttc acgaactacg ggatgaattg ggttcgccaa 180

gcgccggggc agggactgaa atggatgggg tggataaata cctacaccgg cgaacctaca 240

tacgccgacg cttttaaagg gcgagtcact atgacgcgcg ataccagcat atccaccgca 300

tacatggagc tgtcccgact ccggtcagac gacacggctg tctactattg tgctcgggac 360

tatggcgatt atggcatgga ctactggggt cagggtacga ctgtaacagt tagtagtggt 420

ggaggcggca gtggcggggg gggaagcgga ggagggggtt ctggtgacat agttatgacc 480

caatccccag atagtttggc ggtttctctg ggcgagaggg caacgattaa ttgtcgcgca 540

tcaaagagcg tttcaacgag cggatattct tttatgcatt ggtaccagca aaaacccgga 600

caaccgccga agctgctgat ctacttggct tcaaatcttg agtctggggt gccggaccga 660

ttttctggta gtggaagcgg aactgacttt acgctcacga tcagttcact gcaggctgag 720

gatgtagcgg tctattattg ccagcacagt agagaagtcc cctggacctt cggtcaaggc 780

acgaaagtag aaattaaaag tgctgctgcc tttgtcccgg tatttctccc agccaaaccg 840

accacgactc ccgccccgcg ccctccgaca cccgctccca ccatcgcctc tcaacctctt 900

agtcttcgcc ccgaggcatg ccgacccgcc gccgggggtg ctgttcatac gaggggcttg 960

gacttcgctt gtgatattta catttgggct ccgttggcgg gtacgtgcgg cgtccttttg 1020

ttgtcactcg ttattacttt gtattgtaat cacaggaatc gcaaacgggg cagaaagaaa 1080

ctcctgtata tattcaaaca accatttatg agaccagtac aaactactca agaggaagat 1140

ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa gaaggaggat gtgaactgcg agtgaagttt 1200

tcccgaagcg cagacgctcc ggcatatcag caaggacaga atcagctgta taacgaactg 1260

aatttgggac gccgcgagga gtatgacgtg cttgataaac gccgggggag agacccggaa 1320

atgggggta aaccccgaag aaagaatccc caagaaggac tctacaatga actccagaag 1380

gataagatgg cggaggccta ctcagaaata ggtatgaagg gcgaacgacg acggggaaaa 1440

ggtcacgatg gcctctacca agggttgagt acggcaacca aagatacgta cgatgcactg 1500

catatgcagg ccctgcctcc cagataa 1527

<210> 46

<211> 508

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 46

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val

20 25 30

Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr

35 40 45

Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln

50 55 60

Gly Leu Lys Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr

65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ala Phe Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser

85 90 95

Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Asp Tyr Gly Met Asp Tyr

115 120 125

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser

130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asp Ile Val Met Thr

145 150 155 160

Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile

165 170 175

Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Phe Met

180 185 190

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

195 200 205

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser

210 215 220

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu

225 230 235 240

Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg Glu Val Pro Trp Thr

245 250 255

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Ala Ala Ala Phe Val

260 265 270

Pro Val Phe Leu Pro Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro

275 280 285

Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro

290 295 300

Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu
305 310 315 320
Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys
325 330 335
Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Asn His Arg

340 345 350
Asn Arg Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
355 360 365
Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
370 375 380
Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
385 390 395 400
Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu

405 410 415
Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
420 425 430
Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
435 440 445
Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
450 455 460
Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys

465 470 475 480
Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
485 490 495
Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
500 505

<210> 47
<211> 735
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 47

caggtccagt tggtgcaaag cggggcggag gtgaaaaaac ccggcgcttc cgtgaaggtg 60

tcctgtaagg cgtccggtta tacgttcacg aactacggga tgaattgggt tcgccaagcg 120

ccggggcagg gactgaaatg gatggggtgg ataaatacct acaccggcga acctacatac 180

gccgacgctt ttaaagggcg agtcactatg acgcgcgata ccagcatatc caccgcatac 240

atggagctgt cccgactccg gtcagacgac acggctgtct actattgtgc tcgggactat 300

ggcgattatg gcatggacta ctggggtcag ggtacgactg taacagttag tagtggtgga 360

ggcggcagtg gcgggggggg aagcggagga gggggttctg gtgacatagt tatgacccaa 420

tccccagata gtttggcggt ttctctgggc gagagggcaa cgattaattg tcgcgcatca 480

aagagcgttt caacgagcgg atattctttt atgcattggt accagcaaaa acccggacaa 540

ccgccgaagc tgctgatcta cttggcttca aatcttgagt ctggggtgcc ggaccgattt 600

tctggtagtg gaagcggaac tgactttacg ctcacgatca gttcactgca ggctgaggat 660

gtagcggtct attattgcca gcacagtaga gaagtcccct ggaccttcgg tcaaggcacg 720

aaagtagaaa ttaaa 735

<210> 48

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 48

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Ala Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Gly Asp Tyr Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser
130 135 140

Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser
145 150 155 160
Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln
165 170 175
Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu
180 185 190
Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
195 200 205

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr
210 215 220
Tyr Cys Gln His Ser Arg Glu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240
Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 49
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 49
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Ala Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Tyr Gly Asp Tyr Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 50
<211> 111
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 50
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30
Gly Tyr Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
85 90 95
Glu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 51
<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 51

ggggsggggs ggggsg 16

<210> 52

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

Synthetic

<400> 52

Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro

1 5 10 15

Ala Phe Leu Leu Ile Pro

20

<210> 53

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 53

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro

20

<210> 54

<211> 84

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 54

Phe Val Pro Val Phe Leu Pro Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro

1 5 10 15

Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu
20 25 30
Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
35 40 45
Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly

50 55 60
Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Asn
65 70 75 80
His Arg Asn Arg

<210> 55
<211> 23
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 55
Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu
1 5 10 15
Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr
20

<210> 56
<211> 126
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 56
aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa 60
actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 120
gaactg 126
<210> 57
<211> 42
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 57

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
1 5 10 15

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
20 25 30

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
35 40

<210> 58

<211> 120

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 58

tcaaagcgga gtaggttgtt gcattccgat tacatgaata tgactcctcg ccggcctggg 60

ccgacaagaa aacattacca accctatgcc cccccacgag acttcgctgc gtacaggtcc 120

<210> 59

<211> 40

<212> PRT

<

213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 59

Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro
1 5 10 15

Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro
20 25 30

Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
35 40

<210> 60

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 60

cgagtgaagt tttcccgaag cgcagacgct ccggcatatc agcaaggaca gaatcagctg 60

tataacgaac tgaatttggg acgccgcgag gagtatgacg tgcttgataa acgccggggg 120

agagacccgg aaatgggggg taaaccccga agaaagaatc cccaagaagg actctacaat 180

gaactccaga aggataagat ggcggaggcc tactcagaaa taggtatgaa gggcgaacga 240

cgacggggaa aaggtcacga tggcctctac caagggttga gtacggcaac caaagatacg 300

tacgatgcac tgcatatgca ggccctgcct cccaga 336

<210> 61

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 61

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly

1 5 10 15

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr

20 25 30

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys

35 40 45

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys

50 55 60

Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg

65 70 75 80

Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala

85 90 95

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

100 105 110

<210> 62

<211> 800

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 62

gagatgtaag gagctgctgt gacttgctca aggccttata tcgagtaaac ggtagtgctg 60

gggcttagac gcaggtgttc tgatttatag ttcaaaacct ctatcaatga gagagcaatc 120

tcctggtaat gtgatagatt tcccaactta atgccaacat accataaacc tcccattctg 180

ctaatgccca gcctaagttg gggagaccac tccagattcc aagatgtaca gtttgctttg 240

ctgggccttt ttcccatgcc tgcctttact ctgccagagt tatattgctg gggttttgaa 300

gaagatccta ttaaataaaa gaataagcag tattattaag tagccctgca tttcaggttt 360

ccttgagtgg caggccaggc ctggccgtga acgttcactg aaatcatggc ctcttggcca 420

agattgatag cttgtgcctg tccctgagtc ccagtccatc acgagcagct ggtttctaag 480

atgctatttc ccgtataaag catgagaccg tgacttgcca gccccacaga gccccgccct 540

tgtccatcac tggcatctgg actccagcct gggttggggc aaagagggaa atgagatcat 600

gtcctaaccc tgatcctctt gtcccacaga tatccagaac cctgaccctg ccgtgtacca 660

gctgagagac tctaaatcca gtgacaagtc tgtctgccta ttcaccgatt ttgattctca 720

aacaaatgtg tcacaaagta aggattctga tgtgtatatc acagacaaaa ctgtgctaga 780

catgaggtct atggacttca 800

<210> 63

<211> 1178

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 63

ggctccggtg cccgtcagtg ggcagagcgc acatcgccca cagtccccga gaagttgggg 60

ggaggggtcg gcaattgaac cggtgcctag agaaggtggc gcggggtaaa ctgggaaagt 120

gatgtcgtgt actggctccg cctttttccc gagggtgggg gagaaccgta tataagtgca 180

gtagtcgccg tgaacgttct ttttcgcaac gggtttgccg ccagaacaca ggtaagtgcc 240

gtgtgtggtt cccgcgggcc tggcctcttt acgggttatg gcccttgcgt gccttgaatt 300

acttccactg gctgcagtac gtgattcttg atcccgagct tcgggttgga agtgggtggg 360

agagttcgag gccttgcgct taaggagccc cttcgcctcg tgcttgagtt gaggcctggc 420

ctgggcgctg gggccgccgc gtgcgaatct ggtggcacct tcgcgcctgt ctcgctgctt 480

tcgataagtc tctagccatt taaaattttt gatgacctgc tgcgacgctt tttttctggc 540

aagatagtct tgtaaatgcg ggccaagatc tgcacactgg tatttcggtt tttggggccg 600

cgggcggcga cggggcccgt gcgtcccagc gcacatgttc ggcgaggcgg ggcctgcgag 660

cgcggccacc gagaatcgga cgggggtagt ctcaagctgg ccggcctgct ctggtgcctg 720

gcctcgcgcc gccgtgtatc gccccgccct gggcggcaag gctggcccgg tcggcaccag 780

ttgcgtgagc ggaaagatgg ccgcttcccg gccctgctgc agggagctca aaatggagga 840

cgcggcgctc gggagagcgg gcgggtgagt cacccacaca aaggaaaagg gcctttccgt 900

cctcagccgt cgcttcatgt gactccacgg agtaccgggc gccgtccagg cacctcgatt 960

agttctcgag cttttggagt acgtcgtctt taggttgggg ggaggggttt tatgcgatgg 1020

agtttcccca cactgagtgg gtggagactg aagttaggcc agcttggcac ttgatgtaat 1080

tctccttgga atttgccctt tttgagtttg gatcttggtt cattctcaag cctcagacag 1140

tggttcaaag tttttttctt ccatttcagg tgtcgtga 1178

<210> 64

<211> 49

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 64

aataaaatcg ctatccatcg aagatggatg tgtgttggtt ttttgtgtg 49

<210> 65

<211> 804

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 65

tggagcaaca aatctgactt tgcatgtgca aacgccttca acaacagcat tattccagaa 60

gacaccttct tccccagccc aggtaagggc agctttggtg ccttcgcagg ctgtttcctt 120

gcttcaggaa tggccaggtt ctgcccagag ctctggtcaa tgatgtctaa aactcctctg 180

attggtggtc tcggccttat ccattgccac caaaaccctc tttttactaa gaaacagtga 240

gccttgttct ggcagtccag agaatgacac gggaaaaaag cagatgaaga gaaggtggca 300

ggagagggca cgtggcccag cctcagtctc tccaactgag ttcctgcctg cctgcctttg 360

ctcagactgt ttgcccctta ctgctcttct aggcctcatt ctaagcccct tctccaagtt 420

gcctctcctt atttctccct gtctgccaaa aaatctttcc cagctcacta agtcagtctc 480

acgcagtcac tcattaaccc accaatcact gattgtgccg gcacatgaat gcaccaggtg 540

ttgaagtgga ggaattaaaa agtcagatga ggggtgtgcc cagaggaagc accattctag 600

ttgggggagc ccatctgtca gctgggaaaa gtccaaataa cttcagattg gaatgtgttt 660

taactcaggg ttgagaaaac agctaccttc aggacaaaag tcagggaagg gctctctgaa 720

gaaatgctac ttgaagatac cagccctacc aagggcaggg agaggaccct atagaggcct 780

gggacaggag ctcaatgaga aagg 804

<210> 66

<211> 100

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(4)

<223> modified with 2'-O-methyl phosphorothioate

<220><221> misc_feature

<222> (97)..(100)

<223> modified with 2'-O-methyl phosphorothioate

<400> 66

gcccgcagga cgcacccaua guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 67

<211> 100

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 67

gcccgcagga cgcacccaua guuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 68

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(4)

<223> modified with 2'-O-methyl phosphorothioate

<400> 68

gcccgcagga cgcacccaua 20

<210> 69

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 69

gcccgcagga cgcacccaua 20