



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년06월11일

(11) 등록번호 10-2121492

(24) 등록일자 2020년06월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 38/20 (2006.01) A61K 35/14 (2015.01)

A61P 37/04 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-7032017

(22) 출원일자(국제) 2012년05월02일

심사청구일자 2017년04월11일

(85) 번역문제출일자 2013년12월02일

(65) 공개번호 10-2014-0041517

(43) 공개일자 2014년04월04일

(86) 국제출원번호 PCT/US2012/036123

(87) 국제공개번호 WO 2012/151279

국제공개일자 2012년11월08일

(30) 우선권주장

61/482,009 2011년05월03일 미국(US)

(뒷면에 계속)

(56) 선행기술조사문헌

W02001062092 A1\*

US20080112975 A1\*

\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

이뮤노베이티브 테라피스, 엘티디.

이스라엘 96951 예루살렘 퍼스트 플로어 빌딩 넘버 1 말하 테크놀로지 파크

(72) 발명자

하-노이, 마이클

이스라엘 96431 예루살렘 홀리랜드 기테온 하우스너 54

(74) 대리인

윤의섭, 김수진

전체 청구항 수 : 총 10 항

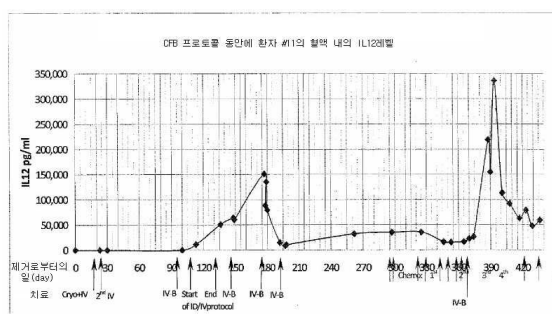
심사관 : 이예리

(54) 발명의 명칭 면역치료를 사용하는 IL-12의 유도

## (57) 요약

본 발명은 환자 내의 IL-12의 유도를 촉진하는 조성물 및 방법에 관한 것이다. 조성물은 암과 같은 질환을 갖는 환자들에 투여되는 활성화된 동종의 세포들을 포함한다. 조성물의 투여는 환자의 면역 반응을 Th1 환경으로 바꾸고 어떠한 IL-12 관련 독성 없이 환자의 혈장 내의 검출가능한 레벨의 IL-12를 생산한다.

대표도 - 도1



(30) 우선권주장

61/528,484	2011년08월29일	미국(US)
61/564,551	2011년11월29일	미국(US)
61/582,881	2012년01월04일	미국(US)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

외부 항원으로서, 교차 결합제와 함께 CD3와 CD28의 교차 결합에 의해, 활성화된 동종 Th1-세포;

Th1 사이토카인으로서, 활성화된 동종 Th1-세포를 통해 자연스럽게 제공되는 인터페론-감마; 및

수지상 세포 성숙 분자로서, 활성화된 Th1 세포의 표면에 발현된 CD40L

를 포함하는, 환자 자신의 면역 시스템에 의해 합성되는 혈장 내의 IL-12의 출현을 야기할 수 있는, 암 치료용 조성물에 있어서,

상기 조성물은 내인성 IL-12의 생성을 촉진하는 조성물로서, 암이 있는 환자에게 조성물을 투여로부터 약 90일 후 IL-12가 검출될 수 있고, 환자 플라스마에서 내인성 IL-12의 농도는 8000pg/ml-200,000pg/ml인 것을 특징으로 하는 암 치료용 조성물.

#### 청구항 2

삭제

#### 청구항 3

삭제

#### 청구항 4

삭제

#### 청구항 5

삭제

#### 청구항 6

삭제

#### 청구항 7

삭제

#### 청구항 8

삭제

#### 청구항 9

삭제

#### 청구항 10

삭제

#### 청구항 11

삭제

#### 청구항 12

삭제

#### 청구항 13

제 1항에 있어서, 상기 활성화 Th1-세포들은 주사기 또는 유연성 컨테이너 내에 패키징되는 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 14

제 1항에 있어서, 상기 세포들은  $1 \times 10^7$  cells/ml 또는 그 이상의 농도로 존재하는 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 15

제 14항에 있어서, 상기 세포들은 비-영양 배지 내에 현탁되는 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 16

제1항, 제13항, 제14항, 및 제15항 중의 어느 한 항에 있어서, 환자 플라즈마에서 내인성 IL-12의 농도를 특정했을 때 200,00pg/ml 이상인 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 17

제1항, 제13항, 제14항, 및 제15항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물은 피내, 종양 내 또는 정맥 내 투여 제형을 갖는 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 18

제1항, 제13항, 제14항, 및 제15항 중의 어느 한 항에 있어서, 항CD3 및 항-CD28의 단클론 항체인 교차 결합제가 사용되는 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 19

제1항, 제13항, 제14항, 및 제15항 중의 어느 한 항에 있어서, 활성화 Th1-세포들을 통해 자연적으로 제공되는 IL-2 또는 GM-CSF, 또는 둘 다를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 20

제1항, 제13항, 제14항, 및 제15항 중의 어느 한 항에 있어서, 교차 결합제는 마이크로 또는 나노-비드 입자의 표면에 고정되는 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 21

제20항에 있어서, 교차 결합제는 마이크로 또는 나노-비드 입자의 표면은 생분해 가능한 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 면역 세포들을 사용하는 치료에 관한 것이다. 더 구체적으로, 본 발명은 환자 내의 IL-12 생산을 촉진하는 면역 세포 치료에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0002] 알려진 가장 정확하고, 강력하며 안전한 질환 예방과 치료 메커니즘은 의료 개입 없이 다양한 외부 병원균을 제거하기 위하여 선천성 및 적응적(adaptive) 면역 모두의 요소를 결합시키는 자연 "멸균(sterizing)" 면역 반응이다. 면역 시스템은 재감염 상의 면역 반응을 신속하게 시작하기 위하여 제거된 외부 항원들을 기억하도록 디자인된다. 면역 시스템들, 심지어 암 환자들의 면역 시스템들도 신체로부터 그것들을 완전히 파괴하고 제거하기에 충분한 바이러스와 박테리아들에서 발견되는 것과 같은 외부 항원들에 대한 반응을 인식하고 고정한다. 이러한 멸균 면역 반응의 특이성은 부적절하게 억제된 면역 시스템이 자가 조직들만을 남기고 신장, 간 또는 심장과 같은 상당히 이식된 조직을 완전히 파괴할 수 있는 방식으로 목격될 수 있다. 외부 항원들에 대항하는 이러한 면역력의 파괴 효과는 만일 이러한 효과가 환자에 의한 불충분한 면역 반응에 기인하여 탈출하는 종양들 및/또는 다른 항원들에 전용될 수 있으면 유익할 것이다.

[0003] 면역치료는 암을 포함하는 다양한 감염성 및 비감염성 질환들에 대항하여 면역 반응을 이용하고, 안내하고 제어하는 방법들을 개발하는데 전념한다. 치료 백신들은 면역 시스템을 교육하도록 디자인된 면역치료의 한 형태이다. 암이 존재하는 환자에 있어서, 백신들은 환자의 면역 시스템이 종양 세포들을 외부 세포들로 인식하도록 디자인된다. 만일 종양들이 면역 시스템에 의해 외부 병원균으로 인식되면, 면역 세포들이 많은 종양을 파괴하도

록 야기하고 그것들이 체내에 존재할 때마다 전이성(metastatic) 종양 세포들을 찾아서 파괴할 수 있는 면역 반응이 이론적으로 유도될 수 있다. 성공적인 면역치료 후에, 제거된 외부 세포들을 "기억"하는 면역 시스템의 능력은 면역 시스템이 기회 감염으로부터 보호하는 것과 매우 유사하게, 어떠한 부가적인 치료 없이 면역 시스템이 어떠한 반복되는 암 세포들도 제거하는 것을 가능하게 할 수 있다.

[0004] 질환 또는 질환 조직들에 대한 개별 면역 시스템 반응은 Th1 반응 또는 Th2 반응일 수 있다. Th1 반응에 있어서, CD4+ T 세포들이 Th1 세포들을 향하여 분극화되고(polarized) 반대로, Th2 반응에 있어서, CD4+ T 세포들은 Th2 세포들을 향하여 분극화된다. 이러한 점점 대중적인 분류 방법들은 Th1/Th2 균형으로서 언급된다. Th1 세포들은 세포-매개 면역력을 촉진하며, Th2 세포들은 체액성 면역(humoral immunity)을 유도한다. 세포 면역(Th1)은 감염 부위로서 비정상 세포들과 미생물을 공격하기 위하여 자연 살해 세포(natural killer cell)들, T-세포들 및 대식세포(macrophage)와 관련된다. 체액성 면역(Th2)은 외부 침입자들을 중화하도록 사용되는 항체들의 생산을 야기한다. 일반적으로, CD4+ T 세포들의 Th2 분극화는 대부분의 인간과 동물 암 연구에서 종양 퇴화(tumor regression)와 관련된다.

[0005] 개별, Th1/Th2 균형의 면역 반응은 개별 내의 사이토카인(cytokine)들의 균형을 통하여 평가될 수 있다. 사이토카인들은 작은 세포 신호(cell-signaling) 단백질 분자들이다. 용어 사이토카인은 나노- 내지 피코몰(picomolar) 농도에서 정상적으로 조절자로서 작용하고, 정상 또는 병리적 환경 하에서 개별 세포들과 조직들의 기능적 활성을 조절하는 다양한 그룹의 가용성(soluble) 단백질 및 펩티드의 포괄적인 명칭으로서 사용된다. 이러한 단백질들은 또한 세포들 사이의 상호작용을 직접적으로 매개하고 세포의 환경에서 발생하는 과정들을 조절한다. 인터루킨(interleukine)은 면역조절과 관련된 사이토카인들의 그룹이고 면역 시스템 내의 다양한 세포들에 의해 합성될 수 있다. IL-2, IL-4, IL-10 및 IL-12와 같은 다수의 인터루킨이 존재하며, 이러한 각각의 인터루킨은 면역 시스템 내에서 특정 역할을 갖는다.

[0006] Th1 세포들은 염증성 반응들에 관련된 1형(type 1) 사이토카인들을 생산한다. 1형 사이토카인들은 예를 들면, IL-2, IL-12, IL-15, 인터페론-감마(IFN-gamma), 종양 괴사 인자-알파(TNF-alpha), 종양 괴사 인자-베타, 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF) 및 C-C 케모카인(C-C chemokine)들을 포함한다. Th2 세포들은 체액성 면역 반응들과 관련된 2형 사이토카인들을 생산한다. Th2 사이토카인들은 예를 들면, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 및 형질전환 성장 인자-베타(TGF-beta)를 포함한다. Th1 및 Th2 면역 반응들은 증가된 1형 반응들이 2형 반응들을 하향조절하고(downregulate) 증가된 2형 반응들이 1형 반응들을 하향조절하는 것과 같은, 대응-조절식(counter-regulatory)이다.

[0007] IL-12는 p35와 p40으로 구성되는 헤테로다이머(heterodimer)이다. 이는 주로 항원 제시 세포(Antigen Presenting Cell, APC)들에 의해 생산된다. IL-12는 또한 단핵구(monocyte)들, 대식세포들, 수지상 세포(dendritic cell)들 및 B-세포들에 의해 생산될 수 있다. IL-12는 T-세포들과 자연 살해 세포들에 대한 면역중재 효과(immunomodulatory effect)를 발휘한다. 내인성(endogenous) IL-12는 최적 Th1 반응들을 발생시키는데 관련되는 것으로 알려졌고 세포내 병원균에 대항하여 세포 매개 면역력에 중요한 역할을 할 수 있다.

[0008] IL-12는 그것이 면역 시스템의 중요한 성분들을 조절하기 때문에 강력한 연구의 주제가 되어 왔으며 실험실과 동물 연구에서 인상적인 항종양 효과들을 갖는 것으로 나타났다. IL-12는 예를 들면, 인간 폐 선암(lung adenocarcinoma)과 급성 골수성 백혈병의 성장을 저해하는 것으로 나타났다. 그러나, 치료 요법으로의 외인성(exogenous) IL-12의 사용은 인간에 대한 높은 독성에 의해 제한되어 왔다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0009] 본 발명은 환자의 혈장(plasma) 내의 IL-12의 검출가능한 레벨들에 이르게 하는 조성물 및 방법들에 관한 것이다. 본 발명은 환자에 투여될 때, 어떠한 중요한 독성 없이 환자의 혈장 내의 내인성 IL-12의 검출가능한 레벨들의 생산에 이르게 할 수 있는 조성물을 포함한다. 내인성 IL-12는 놀랍게도 암을 갖는 환자들에서 검출된다. 조성물은 바람직하게는 동종의(allogeneic) 활성화된 T-세포들을 포함한다. T-세포들은 IL-12를 생산할 수 없으며, 따라서 환자에 투여되는 T-세포 조성물은 환자 고유의 항원 제시 세포에 의한 IL-12의 생산을 유도한다.

## 과제의 해결 수단

- [0010] 본 발명은 또한 환자 고유의 면역 시스템에 의해 환자 내의 내인성 IL-12의 생산을 유도하는 방법을 포함한다. 방법은 동종의 물질의 조성물, 바람직하게는 동종의 활성화된 T-세포들을 투여하는 단계를 포함한다. 조성물은 일화 투여 또는 다중 투여로 투여될 수 있다. 바람직하게는, 동종의 활성화된 T-세포들은 빈번한 낮은 투여로 투여된다. 내인성 세포들은 피내(intradermal), 정맥내(intravenous) 또는 병소내(intralesional) 경로에 의해 투여될 수 있다. 바람직하게는, 빈도는 매 3일 이상이다. 이러한 조성물이 투여될 때, 환자 고유의 면역 시스템은 암을 갖는 환자에서도, 혈장 내의 내인성 IL-12의 검출가능한 레벨을 생산하도록 유도될 수 있다. 일반적으로 IL-12는 암을 갖는 환자들에서는 발견되지 않는데 그 이유는 종양들이 IL-12의 발현을 저해하기 때문이다. 놀랍게도, 여기에 설명되는 방법들은 이러한 저해를 극복할 수 있으며 오랜 기간 동안, 예를 들면, 수개월 또는 1년 동안 혈장 내의 IL-12의 발현을 유도하는데 충분한 환경을 생성할 수 있다. 게다가, 혈장 내의 내인성 IL-12의 존재는 환자 내의 중요한 독성에 이르게 하지 않으며 약제로서 외인성 IL-12의 투여도 마찬가지이다.
- [0011] 내인성 IL-12에 의해, 이는 IL-12가 환자 고유의 면역 시스템에 의해 환자 내에서 합성된다는 것을 의미한다. 구체적으로, IL-12는 환자의 항원 제시 세포(antigen presenting cell, APC)들에 의해 합성될 수 있다. 항원 제시 세포는 단핵구들과 대식세포들, 수지상 세포들과 B 세포들을 포함할 수 있다. 외인성 IL-12에 의해, 이는 IL-12가 환자 고유의 면역 시스템에 의해 합성되지 않는다는 것을 의미한다. 외인성 IL-12는 IL-12를 위한 유전자를 포함하는 DNA 구조체(들)에 의해 발현되는 또 다른 개별 또는 IL-12로부터 분리된 IL-12 및/또는 정제된 IL-12를 포함한다.
- [0012] 바람직하게는, 환자 내의 내인성 IL-12의 체계적 생산은 환자에 대한 최소 독성 또는 무독성에 이르게 한다. 환자는 일시적 독감 유사 증상과 같은 일시적 증상을 경험할 수 있다. 일반적으로, 외인성 IL-12가 환자에 투여될 때, 독성 효과가 치료 환경에서의 사용을 제한하여 왔다. 독성 없이 혈장 내의 IL-12의 체계적으로 검출가능한 레벨의 IL-12에 이르게 할 수 있는 IL-12의 내인성 생산을 촉진하기 위하여 여기에 설명된 방법들의 능력은 놀랍다. 이러한 결과는 종양들과 암성 세포들의 감소 및/또는 제거를 향한 IL-12의 존재로부터 생성되는 이득을 활용하기 위한 환자 고유의 면역 시스템의 사용을 가능하게 한다.
- [0013] 이러한 방법들의 사용은 또한 Th1 환경, 특히 IL-12에 유리하게 반응하는 다른 질환들의 감소 및/또는 제거에 적용가능할 수 있다. 그러한 질환들은 암, B형 간염, C형 간염, 인간 면역결핍 바이러스(HIV)1, 인간 면역결핍 바이러스2, 인체 T-림프영양성 바이러스(HTLV)1, 인체 T-림프영양성 바이러스2, 인두유종바이러스(HPV), 결핵균(mycobacterium tuberculosis), 치근막염(periodontal disease)과 같은 만성 바이러스성 및 세포내 박테리아 또는 결핵균 질환을 포함하는 감염성 질환, 및 아토피성 천식과 같은 알레르기성 질환을 포함한다. 게다가, IL-12의 내인성 생산을 촉진하기 위한 방법은 세포 면역력의 유지에 의한 노화방지 효과들을 가질 수 있다. 정상 개체들 내의 Th2 세포들에 대한 Th1의 균형은 노화 과정의 일부로서 감소시키는데, 이는 노인들이 감염성 질환들과 암에 더 민감하도록 만든다. 내인성 IL-12 생산의 촉진은 Th1/Th2 비율을 증가시킬 수 있으며, 따라서 질환에 대한 취약성으로부터 보호할 수 있다.
- [0014] 본 발명의 조성물들은 일반적으로 외부 항원들, 바람직하게는 동종항원(alloantigen)들을 포함한다. 조성물들은 또한 적어도 하나의 Th1 사이토카인 및/또는 IL-12를 생산하도록 수지상 세포의 성숙을 유도할 수 있는 적어도 하나의 수지상 세포 효과기(DC effector) 분자를 포함한다. 치료 조성물은 일반적으로 적어도 하나의 Th1 사이토카인, 및/또는 동종항원과 함께 결합되는 적어도 하나의 수지상 세포 효과기 분자를 포함한다. 조성물은 바람직하게는 단일 세포 형태로 조성물의 각각의 성분을 제공할 수 있는 살아있는 동종의 활성화된 T-세포들을 포함한다. 바람직한 실시 예들에서, 인터페론 감마, 종양 괴사 인자-알파 및 인터루킨-2와 같은 Th1 사이토카인들을 생산하고 세포 표면 상에 수지상 세포 성숙 효과기 분자 CD40L을 발현하도록 활성화되는 살아있는 동종의 Th1 세포들이 사용된다. 대안으로서, 조성물의 3가지 성분은 하나 이상의 세포형(cell type)으로부터 공급될 수 있다. 예를 들면, Th1 사이토카인들은 조성물 내의 하나의 세포형으로부터 공급될 수 있고 동종항원은 개별 세포형으로부터 공급될 수 있으며 수지상 세포 효과기 분자들은 제 3 세포형으로부터 공급될 수 있다. 대안으로서 하나의 세포형은 성분들 중 어느 두 개를 포함할 수 있고 제 2 세포형은 제 3을 포함할 수 있다. 세포형들은 조성물의 필요한 성분들의 소스를 제공하는 한 살아있을 필요가 없다.
- [0015] 대안으로서, 조성물 성분들은 자연 또는 생물공학 단백질로부터 공급될 수 있다. 예를 들면, 제조합 혹은 정제 Th1 사이토카인들 또는 수지상 세포 성숙 분자들 또는 동종항원들은 함께 또는 살아있는 세포 성분들과 결합하여 사용될 수 있다. 조성물 성분들은 "칩(chip)" 또는 생분해가능한 플랫폼(platform) 상에 결합될 수 있다. 성분들은 환자에 동시에 전달될 필요는 없으며, 어떠한 순서로도 전달될 수 있다.

- [0016] 치료 조성물들 내의 동종항원들은 T-세포들로 처리되거나 제시되도록 하기 위하여 항원이 면역 시스템에 빠져들거나 제시될 수 있는 방식으로 제공되어야만 한다. 항원은 살아있는 세포들의 자연스러운 부분일 수 있거나 또는 분자 생물학적 기술들을 사용하여 변경되거나 생물공학적으로 만들어질 수 있다. 항원은 가용성이거나 또는 표면, 살아있는 생물 또는 세포의 온전한 부분, 혹은 약독화 생물의 일부분 상에 고정화될 수 있다. 바람직한 실시 예들에서, 동종항원들은 동종의 T-세포들이며 더 바람직한 실시 예들에서, 동종의 활성화된 T-세포들이다.
- [0017] 바람직한 일 실시 예에서, 치료 조성물은 T-세포들 상에 발현되는 동종항원들을 포함한다. T-세포들은 바람직하게는 CD4+ T-세포들이며, 더 바람직하게는 Th1 세포들이다. Th1 세포들은 정상 현혈자로부터 유래하는 미경험(naive) CD4+ 전구체 세포들로부터 체외(in vitro) 분화될 수 있고, 증식될 수 있으며 활성화될 수 있다. 바람직하게는, 세포들은 CD3/CD28 표면 분자들로 전달되는 단일클론 항체들의 교차 결합에 의해 활성화된다. 교차결합은 바람직하게는 표면 상의 CD3/CD28 단일클론 항체의 고정화에 의해 야기된다. 바람직하게는 표면은 마이크로- 또는 나노비드(nanobead) 입자이다. 비드들은 생분해가능한 비드들일 수 있다. 이러한 세포들은 상당한 양의 염증성 Th1 사이토카인들을 생산할 수 있고 CD40L과 같은, 세포 표면 상에 효과기 분자들을 발현할 수 있는데, 이는 내인성 IL-12 생산을 야기함으로써 Th1 면역력의 발생을 촉진하는데 도움을 준다.
- [0018] 바람직한 실시 예들에서, 치료 조성물은 활성화된 동종의 Th1 세포들을 포함한다. 이러한 활성화된 Th1 세포들은 강력한 염증성 물질들일 수 있다. 이러한 활성화된 동종의 Th1 세포들과 이를 제조하기 위한 방법들은 예를 들면, 미국특허 제 7,435,592, 7,678,572, 7,402,431 및 7,592,431에 설명되고 여기에 참조로써 통합된다. 활성화된 내인성 Th1 세포들은 환자에 고의로 불일치(mismatch)된다.
- [0019] 다양한 Th1 염증성 사이토카인들이 치료 조성물에 포함될 수 있다. 염증성 사이토카인들의 예들은 IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, IL-15, 인터페론-감마, 종양 괴사 인자-알파, 종양 괴사 인자-베타, 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자 및 C-C 케모카인들을 포함하나 한정되지 않는 성장 인자-베타, IL-4 또는 IL-10을 포함하지는 않는다. 사이토카인 성분은 자연적인 또는 재조합 사이토카인들일 수 있거나 혹은 사이토카인을 위한 수용체와 상호작용하도록 디자인되는 생물공학적으로 만들어진 분자들일 수 있다. 사이토카인들은 치료 조성물들 내에 직접 포함될 수 있다. 대안으로서, 치료 조성물들은 사이토카인을 생산하고 분비하는 살아있는 세포들 또는 다른 성분들을 포함할 수 있다. 바람직하게는 활성화된 세포 소스를 통하여 자연적으로 사이토카인들이 제공되는데, 그 이유는 외인성 사이토카인들은 환자에게 매우 독성인 경향이 있으나 내인성 사이토카인들은 그렇지 않기 때문이다. 일부 바람직한 실시 예들에서, 치료 조성물들은 염증성 Th1 사이토카인들을 생산하고 분비하는 활성화된 상태에서 T-세포들을 포함하며, 따라서 치료 조성물들 내의 이러한 사이토카인들의 소스의 역할을 할 수 있다.
- [0020] 치료 조성물은 미성숙 수지상 세포들의 성숙을 야기하는 인자 또는 인자들을 포함할 수 있다. 구체적으로, 수지상 세포1 세포 성숙 및 IL-12 생산을 촉진하는 성숙 인자들은 인터페론 감마 생산 및 Th1 적응적 면역력에 이르게 한다. 수지상 세포들은 미성숙의 항원-포획(antigen-capturing) 세포들을, 항원들을 면역원들로 전환하고 면역 반응을 개시하는데 필요한 사이토카인들, 케모카인들, 상호자극적(costimulatory) 분자들을 발현하는 성숙의 항원-보유, T 세포-priming 세포들로 진화할 수 있다. 유도되는 T-세포 매개 면역 반응들(Th1 대 Th2)의 형태는 주위의 마이크로환경으로부터 수신되는 활성 신호들에 따라 다양하다. 항종양 및 항감염 질병 면역력과 같은 면역력을 조절하는 수지상 세포들의 능력은 Th1 면역력을 촉진하는 수지상 세포 성숙에 의존한다. 인간 수지상 세포들은 상동(homogenous) 개체군이 아니다. 항종양 면역력의 유도 외에, 수지상 세포들은 아네르기(anergy) 또는 내성을 유도할 수 있다. 수지상 세포들은 CD34+ 조혈 줄기 세포(hematopoietic stem cell, HSC)들로부터 기원한다. 골수성 수지상 세포(DC1)들 및 형질세포양(plasmacytoid) 수지상 세포들이 인간 수지상 세포들의 2가지 주요 서브개체군이며, 그것들의 특징은 표현형, 이동, 및 기능이 매우 다양하다. 수지상 세포1 세포들은 효과적인 T-세포 자극기들이며, 종양 특이 면역 반응을 유도한다. CD11c+수지상 세포1 세포들은 주로 Th1 분화를 유사하며, 반면에 IL-3(CD123)를 위한 수용체를 발현하는 수지상 세포2 세포들은 주로 Th2 반응을 촉진한다. 두 수지상 세포 개체군은 건강한 기증자들에서보다 암을 갖는 환자들에서 상당히 낮다. 수지상 세포1 세포들은 성숙 상의 IL-12를 생산하고 수지상 세포2 세포들은 IL-10을 생산한다.
- [0021] 수지상 세포 성숙 과정 동안에 IL-10 및 IL-12와 같은 사이토카인들의 생산은 Th1 또는 Th2 면역 반응의 수지상 세포 유도에 영향을 미친다. 높은 레벨의 항원-제시 분자들과 동시자극적 분자들의 발현에 더하여, 성숙 수지상 세포들은 Th1 면역반을 자극하기 위하여 상당한 양의 IL-12를 방출해야만 한다. IL-10의 방출은 동시자극적 분자들의 상향 조절과 IL-12의 생산을 방해함으로써 수지상 세포 성숙 과정을 차단하고, 그 뒤에 Th1 반응을 개시하도록 수지상 세포들의 능력을 한정한다.
- [0022] 다양한 인자들이 전체 박테리아 또는 박테리아 유래 항원들(예를 들면, 리포다당류(LPS)), 인터페론-감마, 종양

괴사 인자-알파, IL-1, 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자와 같은 감염성 사이토카인들, 선택 세포 표면 수용체들(예를 들면, CD40)의 결합(ligation), 바이러스 산물(예를 들면, 이중 가닥 RNA)을 포함하는 항원 섭취 및 처리를 뒤따르는 수지상 세포1, IL-12 생산 세포들이 되도록 수지상 세포의 성숙을 유도할 수 있다. 미성숙 수지상 세포들 상의 Fas 관여는 예를 들면, IL-1 베타와 인터페론-감마의 성숙 및 방출 모두를 유도한다. CD40의 결합은 상호자극적 분자들 B7-1/CD80과 B7-2/CD86의 상호조절 및 IL-12 분비와 케모카인들(예를 들면, IL-8, MIP-1 알파, MIP-1 베타)의 방출을 촉진한다.

[0023] 일부 바람직한 실시 예들에서, CD40L은 수지상 세포들의 성숙을 위한 인자로서 유도된다. 수지상 세포들의 성숙을 야기하는 다른 인자들의 포함이 또한 본 발명의 범위 내에 존재한다. 일부 바람직한 실시 예들에서, 치료 조성물들은 표면 상에 고밀도 CD40L을 발현하는 활성화된 상태로 T-세포들을 포함한다. CD40L은 IL-12를 생산하는 수지상 세포 성숙을 위한 강력한 효과기이다.

[0024] 바람직한 일 실시 예에서, 치료 조성물은 활성화된 내인성 T-세포들, 적어도 하나의 1형 사이토카인 및 수지상 세포들의 성숙을 야기하는 적어도 하나의 인자를 포함한다. 이러한 성분들을 포함하는 조성물들은 예를 들면, 2010년 12월 14일에 출원된, 출원중인 미국특허출원 제 12/967,910에서 설명되며 이는 여기에 참조로써 통합된다.

[0025] 종양 관련 항원들을 미세환경 내로 방출하기 위하여 종양 세포들 중 일부를 제거한 후에 치료 조성물들의 종양내 투여는 IL-12를 생산하고 1형 항종양 면역력의 발생 및 종양 면역회피 메커니즘들의 하향 조절을 촉진하는 수지상 세포1 표현형으로의 수지상 세포의 성숙을 위한 강력한 보조 효과를 제공할 수 있다. 치료 조성물의 투여는 또한 예를 들면, 정맥내, 피내, 척수내(intrathecal), 복강내(intraperitoneal), 병소내, 흉강내(intrapleural) 투여 등을 포함하는 다른 방법들에 의해 달성될 수 있다. 바람직하게는, 조성물은 우선 피내로 투여되는데, 그 이유는 피부가 랑게르한스 세포(Langerhans cell)들로 불리는 미성숙 수지상 세포들이 풍부하기 때문이다. 인터페론-감마, 종양 괴사 인자-알파, IL-2 및 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자와 같은, 염증성 Th1 세포들 및 CD40L과 같은, 수지상 세포 성숙 인자의 존재 하에서, 랑게르한스 세포들은 동종항원을 흡수하고 수지상 세포1, IL-12 생산 세포들로 성숙한다. 이러한 성숙 세포들은 림프절로 이동하고 Th1 면역력의 발생을 촉진한다.

[0026] 조성물의 피내 주입은 조성물 내의 동종항원들에 면역되도록 환자를 "대비시킬(prime)" 수 있다. 다중 피내 주입은 환자의 혈액순환 내의 동종항원들에 특이적인 Th1 기억 세포들의 수를 증가시킬 수 있다.  $1 \times 10^6$  세포들 내지  $1 \times 10^7$  동종의 활성화된 Th1 세포들의 주입이 바람직한 피내 투여량이고, 1mL의 유체 내의  $1 \times 10^7$  세포들이 가장 바람직하다. 피내 투여량은 바람직하게는 순환하는 Th1 기억 세포들의 수를 키우도록 하기 위하여 다중 시간 반복된다. 피내 투여 빈도는 바람직하게는 매 7일마다 약 3-4회, 더 바람직하게는 매 3-4일마다이다.

[0027] 바람직한 실시 예들에서, 피내 투여 다음에 인-사이투(in situ) 백신을 생산하기 위하여 조성물의 종양내 투여가 뒤따른다. 종양내 투여는 바람직하게는 표적 병소 내의 일부 종양 세포들의 인-사이투 제거 후에 수행된다. 제거는 바람직하게는 극단의 냉각(동결 절제) 또는 열(방사선)에 의해 야기되나, 또한 알코올 제거, 화학요법 및/또는 단일클론 항체 약물들을 포함하는 다양한 방법들을 사용하여 수행될 수 있다. 바람직한 종양내 투여량은 약  $1 \times 10^7$  및  $1 \times 10^8$  세포 사이, 가장 바람직하게는 약  $3 \times 10^7$  세포이다. 첫 번째 종양내 투여량은 제거 후에 즉시 주입되고 두 번째는 약 7일 내에, 바람직하게는 첫 번째 주입 후 약 3-4일 내에 주입되는 것이 바람직하다. 제거 후에 뒤따르는 이러한 조성물의 종양내 주입 과정은 필요한 만큼 반복될 수 있다.

[0028] 방법은 또한 바람직하게는 숙주 면역 세포들(선천성 및 적응적 모두)의 활성화 및 종양 위치들을 포함하는, 염증 부위들로의 그것들의 유출(extravasation)을 야기하기 위하여 조성물을 정맥내 투여하는 단계를 포함한다. 동종의 활성화된 Th1 세포들의 조성물의 정맥내 투여량은 바람직하게는 약  $1 \times 10^7$  내지  $1 \times 10^9$  세포, 더 바람직하게는 약  $5 \times 10^7$  내지  $1 \times 10^8$  세포를 포함한다. 정맥내 투입은 여러 번, 바람직하게는 월 단위로 반복될 수 있다.

[0029] 조성물의 내인성 Th1 세포들은 바람직하게는 다량의 1형 사이토카인들: IL 2, 인터페론-감마, 종양 괴사 인자-알파 및 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자를 생산한다. 미성숙 수지상 세포들이 항원들을 둘러싸고 처리하는 미세환경 내의 염증성 Th1 사이토카인들의 존재는 수지상 세포1, 수지상 세포를 생산하는 IL-12로의 성숙을 촉진하는데 도움을 준다. IL-12는 차례로 Th1 면역력의 촉진에 이르게 할 수 있는 인터페론-감마의 레벨을 자극할 수 있다. 인터페론-감마는 1형 항종양 면역력을 촉진하는데 필요한 중추적 1형 사이토카인이다. 인터페론-감마는 종양 세포 성장을 직접적으로 저해하고 T-세포 매개 항종양 반응들을 유도함으로써 항종양 효과들을 매개할

수 있다. 인터페론-감마 분비는 자연 살해 세포 반응에 독립적으로 기여할 수 있고 IL-12에 의해 활성화되는 자연 살해 세포 반응을 향상시킬 수 있다.

[0030] 활성화된 동종의 Th1 세포들을 포함하는 바람직한 약제는 정상의, 확인된 헌혈자들로부터 정제된 전구체들로부터 유래할 수 있다. 세포들은 피내 또는 종양내 주입, 혹은 정맥내 주입을 위하여 제형화되고 멸균된, 낮은 내독소 투여량으로서 공급되어야만 한다. 세포들은 또한 복강내, 흉부내 또는 경막외(epidural) 주입을 위하여 제형화될 수 있다. 기증자들은 바람직하게는 인간 면역결핍 바이러스1, 인간 면역결핍 바이러스2, 인체 T-림프영양성 바이러스1, 인체 T-림프영양성 바이러스2, B형 간염 바이러스, C형 간염 바이러스, 급속 혈장 리아진(매독)에 대하여 음성으로 검사되며, 세포들은 바람직하게는 마이코플라즈마(mycoplasma), 엡스타인 바 바이러스(Epstein Barr virus, EBV) 및 거대세포바이러스(Cytomegalovirus, CMV)에 대하여 음성으로 검사된다. 바람직한 실시 예들에서, 활성화된 동종의 세포들은 환자와 인체 백혈구 항원(HLA) 불일치된다.

[0031] 본 발명의 방법들은 일반적으로 환자의 혈장 내의 검출가능한 레벨의 내인성 IL-12의 생산에 관한 것이다. 방법들은 환자의 혈장 내의 검출가능한 레벨로 내인성 IL-12를 생산하도록 환자의 면역 시스템을 조작하기 위한 것과 같은 방법으로 본 발명의 조성물들을 투여하는 단계를 포함한다. 여기에 설명되는 방법들은 암 환자들 내의 Th1 면역 세포들의 순환 수를 증가시킬 수 있고 Th2 환경으로부터 Th1 환경으로의 균형을 이동시킬 수 있다. 부가적으로, 방법들은 또한 항종양 특이 Th1 면역력을 유도하거나 및/또는 종양 면역회피를 하향 조절하기 위하여 지속적인 Th1 사이토카인 환경을 발생시키도록 선천적 및 적응적 면역 반응의 성분들을 활성화하는 단계들을 포함할 수 있다.

[0032] 본 발명의 방법들은 외부 항원에 대항하여 환자의 Th1 면역력을 촉진하기 위하여 외부 항원을 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 방법은 또한 적어도 일부 종양 괴사를 야기하는 종양 전체 또는 일부분을 제거하는 단계를 포함할 수 있다. 환자 내의 종양 괴사를 발생시키기 위하여 다양한 방법들이 사용될 수 있다. 방법은 또한 종양 괴사의 부위, 즉, 종양 병소의 부위에 근접한 염증성 미세환경을 생성하는 단계를 포함할 수 있다. 게다가, 방법은 또한 오래 지속하는 Th1 환경을 유지하도록 환자의 적응 및 선천적 면역 세포들을 활성화하는 단계를 포함할 수 있다. 바람직한 실시 예들에서, 방법의 주요 성분은 위에서 설명된 것과 같은 활성화된 동종의 T 세포들을 포함하는 약제 또는 조성물의 사용을 포함한다.

[0033] 대부분의 인간 암 환자들은 일반적으로 분극화된 Th2 면역력과 함께 존재하기 때문에, 치료의 본 방법의 목적은 일반적으로 암 환자들 내의 순환하는 Th1 세포들의 양을 증가시키는 것이다. 순환하는 Th1 세포들의 수는 위에서 설명된 치료 조성물 중 하나를 외부 항원을 포함하는 환자에 투여함으로써 암 환자들에서 증가시킬 수 있다.

[0034] 바람직한 일 실시 예에서, 환자에 피내로 주입되는 활성화된 동종의 Th1 세포들이 투여된다. 바람직한 실시 예들에서, 피내 주입은 약 3-4주 동안 매주 1회씩 주 단위로 투여된다. 피내 주입은 매 2일마다 또는 1년까지 투여될 수 있다. 주입 스케줄은 순환 내의 Th1 기억 세포들의 풋프린트(footprint)를 향상시키도록 디자인되어야 한다. 외부 세포들 상에 발현되는 동종항원들은 강력한 면역 거부 반응을 자극할 수 있다. 게다가, 조성물 내의 Th1 사이토카인들의 존재 또는 동종의 세포들에 의한 Th1 사이토카인들의 발현은 Th1 기억 면역력을 향한 동종항원들에 대한 면역 반응을 조종하는데 필요한 염증성 보조 환경을 제공할 수 있다. 이는 동종의 Th1 세포들 내에 포함되는 동종항원들에 특이적인 환자의 순환 내의 Th1 기억 세포들의 증가된 풀(pool)을 생산할 수 있다. 다중 투여는 부스터 샷(booster shot)으로서 작용할 수 있는데, 이는 동종항원들에 특이적인 순환하는 기억 Th1 세포들의 수를 증가시킨다.

[0035] 일부 실시 예들에서, 동종의 활성화된 T 세포들의 투여는 환자의 반응을 향상시키기 위한 부가적인 단계들을 뒤따르게 할 수 있다. 이러한 단계들은 예를 들면, 추가적인 동종의 활성화된 T 세포들의 종양내 투여와 함께 종양 괴사를 야기하는 종양을 제거하는 단계를 포함할 수 있다. 동종의 활성화된 T 세포들의 부가적인 투여가 또한 실행될 수 있다. 이러한 방법들은 Har-Noy의 미국특허 제 7,972,594에 설명되며 이는 여기에 참조로써 통합된다.

[0036] 여기에 설명된 방법들을 사용하는 치료 조성물들 또는 약제들의 투여는 환자 고유의 면역 시스템에 의해 환자 내의 IL-12의 체계적 생산을 촉진할 수 있다. 환자 내의 내인성 IL-12의 농도는 IL-12가 환자의 혈장 내에 검출될 수 있을 정도로 충분하다. 검출가능한 레벨의 IL-12는 내인성이고 치료 조성물 내에 존재할 수 있는 어떠한 것의 결과는 아닌데 그 이유는 일반적으로 내인성 물질의 투여에 의해 유도되는 거부 반응에서 조성물의 성분들이 환자의 면역 시스템에 의해 제거되기 때문이다. 바람직한 실시 예들에서, 조성물은 IL-12를 생산할 수 없는 T-세포들을 포함한다. 따라서, 환자의 혈장 내에 검출되는 어떠한 IL-12도 환자 고유의 면역 시스템에 의해 생산되는 IL-12의 결과이다.

- [0037] 바람직하게는, IL-12는 환자의 면역 세포들. 예를 들면, 환자 고유의 단핵구들, 자연 살해 세포들 및 수지상 세포들에 의해 생산된다. 이러한 세포들은 여기에 설명된 조성물들의 투여에 의해 발생하는 염증성 또는 1형 사이토카인들 하에서 성숙할 것이다. 환자의 혈장 내의 IL-12의 농도는 다양할 수 있으나 일반적으로 적어도 약 8,000 pg/ml이다. 환자의 혈장 내의 IL-12의 농도는 바람직하게는 약 8,000 pg/ml 내지 200,000 pg/ml 사이이다. 여기에 설명된 것과 같이, 환자의 혈장 내의 IL-12의 농도는 독성 문제에 이르게 하지 않는다. 그러나, 외인성 IL-12의 투여는 환자들에 유독한 것으로 알려졌다. 혈장 내의 IL-12 발현에 혈청전환된(seroconvert) 환자들은 그들의 혈장 내에 IL-12를 발현하지 않은 환자들과 비교하여 증가된 생존율을 갖는다. IL-12의 레벨은 생존율과 연관되지 않으며, IL-12의 존재만이 중요하다.
- [0038] IL-12의 증가는 일반적으로 조성물의 투여 후 일정 기간 후에 검출된다. 바람직하게는, 치료 조성물로의 투여 약 3-4주 후에, IL-12가 혈장 내에 검출될 수 있다. 최종 조성물의 투여 후 약 90-120일 동안 IL-12 혈청전환에서의 지연이 존재할 수 있다.
- [0039] 혈장 내의 IL-12는 다양한 방법을 사용하여 검출될 수 있다. IL-12는 p40과 p35 체인이라 불리는 두 개의 서브유닛을 가지며 p40에 특이적인 항체들이 검출을 위하여 바람직하다. IL-12의 존재를 검출하기 위한 일부 방법들이 이용가능하다. IL-12의 검출은 예를 들면, 효소면역측정법(ELISA), 및 사이토카인 비드 어레이(cytokine bead array)를 포함할 수 있다.
- [0040] 여기에 설명된 방법들은 인간을 포함하는, 다양한 환자들에 적합할 수 있다. 방법들은 또한 다른 포유류 상에서 사용될 수 있다.

### 발명의 효과

- [0041] 본 발명은 또한 환자의 질환을 치료하는 방법을 포함한다. 질환들은 위에서 설명된 것과 같은 암성 종양들, 혈액성 악성종양뿐만 아니라, 병원체(pathogenic agent)들에 의해 야기되는 질환들을 포함할 수 있다. 환자 내의 Th1 반응에 민감한 다른 질환들이 또한 여기서 설명된 방법들을 사용하여 치료될 수 있다. 여기서 설명된 방법에 따라 환자에 동종의 조성물이 투여된다. 그리고 나서 IL-12의 존재를 위하여 환자의 혈장이 모니터된다. 내인성 IL-12의 검출은 질환에 대한 환자의 면역 반응으로 나타낼 수 있다. IL-12 레벨의 유지를 위하여 치료 조성물의 추가적인 투여가 실행될 수 있으며 그렇게 함으로써 질환 항원들에 대항하여 환자의 면역 반응을 유지할 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

- [0042] 도 1은 1년 이상에 걸쳐 환자의 혈장 내의 IL-12 레벨을 도시한 그래프이다. 동종의, 활성화된 Th-1 세포들이 다양한 투여 방식을 사용하여 다양한 시간에서 환자에 투여되었다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0043] 실시 예들
- [0044] 동종의, 활성화된 Th1 세포들로 처리된 환자의 혈장 내의 IL-12의 레벨을 모니터하기 위하여 연구가 수행되었다. 이러한 활성화된 동종의 Th1 세포들 및 이들을 제조하기 위한 방법들은 미국특허 제 7,435,592에서 설명된다. 활성화된 동종의 Th1 세포들은 환자에 고의로 불일치되었다.
- [0045] **피내 주입-** 활성화된 동종의 Th1 세포들의 피내 주입이 투여되었다. 세포들은  $1 \times 10^7$  cells/ml의 밀도로 1ml 내에 현탁되었다.
- [0046] **종양내 주입-** 제거 후 1시간 내에 제거된 종양의 피사 종양에 종양내 주입이 투여되었다.
- [0047] CryoCare-28 Percutaneous Probe system(Endocare사, 미국 캘리포니아주)의 사용으로 동결 절제가 수행되었다. 시스템은 폐쇄 시스템에서 냉동프로브(cryoprobe)의 단부를 냉각하기 위하여 줄-톰슨 효과(Joule-Thomson effect)를 사용하였다. 가스 계수 및 노즐의 체적에 따라, 서로 다른 가스성 원소들이 노즐에 가까운 영역에서 서로 다른 열 교환 이벤트들을 발생시킨다. 냉각(-187℃)을 위하여 아르곤 가스가 사용되었으며 가열(67℃)을 위하여 헬륨(helium)이 사용되었다.

[0048] 컴퓨터 단층촬영(CT) 이미지 유도 하에서 계획된 표적 종양 병소가 확인되고 위치되었다. 살균장(sterile field)이 생성되었고 국소 마취가 계획된 프로브 삽입 부위로 투여되었다. 가이드 프로브(guide probe)가 경피적으로(percutaneously) 삽입되었고 컴퓨터 단층촬영에 의해 표적 종양 병소 내에 존재하는지를 확인하였다. 1회 또는 2회의 동결-융해 사이클이 실행되었다. 표적 종양의 크기에 따라 2- 또는 5-mm의 단일 프로브가 사용되었다. 동결 시간은 컴퓨터 단층촬영에서 보이는, "아이스-볼(ice-ball)"의 달성에 따라 약 5-20분이었다. 제 2 동결 과정이 개시되기 전에 동결 시간과 동등한 기간 동안에 헬륨의 입력에 의해 융해가 달성되었다. 과정은 종양 병소의 샘플의 제거를 필요로 하나 종양이 없는 주변부를 갖는 완전한 제거를 필요로 하지는 않는다.

[0049] 병소는 내인성 활성화된 Th1 세포들의 주입 전에 다음의 제 2 동결 사이클을 냉각시키도록 허용된다.

[0050] 테이블 1, 2 및 3은 특정 처리들의 시간 및 표시된 기간 동안 환자의 혈장 내의 IL-12의 레벨을 도시한다. 도 1은 본 연구 동안에 환자의 면역 시스템에 의한 IL-12 발현을 도시한 그래프이다.

[0051] 테이블 1

환자 #1			
제거로부터의 주 (week)	제거로부터의 일 (day)	치료	IL12 pg/ml
0	0	Base	0
3w+2d	23	Cryo+IT+IV	0
4w+2d	30	post-2nd IV	0
14w+2d	100	post-IV-B	0
16w+1d	113	pre-1st ID in ID/IV prot.	11,317
	136	post-3rd IV in ID/IV prot.	50,725
21w+1d	148	pre-IV-B in ID/IV prot.	64,117
	149	post-IV-B in ID/IV prot.	60,301
25w+2d	177	Pre-IV-B 60D IV/ID (T) 14APR10	151,048
	178	Post-IV-B 60D (T) 15APR10	88,362
	179	48h Post-IV-B 60D (T) 16APR10	135,169
	180	72h Post-IV-B 60D (T) 17APR10	79,476
27w+3d	192	F/U	14,840
	197	Pre-IV-B	8,867
	198	Post-IV-B	10,610
37w+3d	262	F/U D240	32,188
42w+3d	297	pre-chemo	35,115
46w+3d	325		35,552
49w+3d	346		16,265
50w+3d	353		15,584
52w+1d	365		16,546
52w+6d	370	혈장	22,626

[0052]

[0053] 테이블 2

치료	제거로부터의 일 (day)	IL12 pg/ml
Base	0	0
Cryo+IT+IV	23	0
post-2nd IV	30	0
post-IV-B	100	0
pre-1st ID in ID/IV prot.	113	11,317
post-3rd IV in ID/IV prot.	136	50,725
pre-IV-B in ID/IV prot.	148	64,117
post-IV-B in ID/IV prot.	149	60,301
Pre-IV-B 60D IV/ID (T) 14APR10	177	151,048
Post-IV-B 60D (T) 15APR10	178	88,362
48h Post-IV-B 60D (T) 16APR10	179	135,169
72h Post-IV-B 60D (T) 17APR10	180	79,476
F/U	192	14,840
Pre-IV-B	197	8,867
Post-IV-B	198	10,610
F/U D240	262	32,188
pre-chemo	297	35,115
	325	35,552
	346	16,265
	353	15,584
	365	16,546
pre-IV-B	370	22,626
F/U	374	26,405
F/U	388	219,275
F/U	390	155,023
F/U	394	336,141
F/U	401	113,513
F/U	408	92,122
F/U	417	63,357
F/U	423	79,075
F/U	429	48,038
F/U	436	59,471

[0054]

[0055] 테이블 3

Chemo	제거로부터의 일 (day)	
1st	296	start
	301	stop
2nd	324	start
	331	stop
3 <sup>rd</sup>	345	start
	352	stop
4 <sup>th</sup>	359	start
	364	stop
5 <sup>th</sup>	408	start
	415	
	422	stop
6 <sup>th</sup>	436	start

[0056]

[0057] 비록 바람직한 실시 예들을 참조하여 본 발명이 설명되었으나, 통상의 지식을 가진 자들은 본 발명의 정신과 범위를 벗어나지 않고 형태들과 세부사항들에서 변경들이 만들어질 수 있다는 것을 이해할 것이다.

도면

도면1

