



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년01월27일

(11) 등록번호 10-2491343

(24) 등록일자 2023년01월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 35/14 (2015.01) A61K 35/12 (2020.01)
A61K 35/22 (2015.01) A61K 35/28 (2015.01)
A61K 38/19 (2006.01) A61K 41/00 (2020.01)
A61K 45/06 (2006.01) C12N 5/078 (2010.01)
C12N 5/0789 (2010.01)

(52) CPC특허분류

A61K 35/14 (2013.01)
A61K 35/22 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-7007196(분할)

(22) 출원일자(국제) 2014년02월07일

심사청구일자 2021년03월10일

(85) 번역문제출일자 2021년03월10일

(65) 공개번호 10-2021-0030501

(43) 공개일자 2021년03월17일

(62) 원출원 특허 10-2015-7026288

원출원일자(국제) 2014년02월07일

심사청구일자 2019년01월31일

(86) 국제출원번호 PCT/US2014/015394

(87) 국제공개번호 WO 2014/133729

국제공개일자 2014년09월04일

(30) 우선권주장

61/769,596 2013년02월26일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

WO2011068829 A1*

US20110110909 A1

ARBAB et al., "Efficient Magnetic Cell Labeling with Protamine Sulfate Complexed to Ferumoxides for Cellular MRI," Blood, online ISSN 1528-0020, Pgs. 1-22. 20 April 2004

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

더 보드 오브 트러스티스 오브 더 리랜드 스탠포드 유니버시티

미국 캘리포니아 94305-2038 스탠포드 피오박스
20386 메인 퀴드 오피스 오브 더 제너럴 카운셀
빌딩170 3층

(72) 발명자

스트로버 사무엘

미국 캘리포니아 94305 스탠포드 씨씨에스알 빌딩
룸 2215-씨

로우스키 로버트

미국 캘리포니아 94305 스탠포드 블레이크 월버
드라이브 이스트 875

(74) 대리인

특허법인와이에스장

전체 청구항 수 : 총 10 항

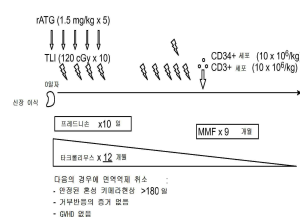
심사관 : 최원철

(54) 발명의 명칭 이식편의 이식 관용을 위한 합동된 장기와 조혈 세포

(57) 요약

수용자에 실질 장기와 조혈 세포의 합동된 이식을 위한 방법과 조성물이 제공되고, 여기서 이식편에 대한 관용은 지속 혼합된 키메라현상의 발달을 통해 확립된다. 통상적으로 최소한 6 개월의 기간 동안 지속 혼합된 키메라현상을 갖는 개체는 관용을 확립하는데 충분한 기간 후에 면역억제 약물의 이용을 취소할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 35/28 (2013.01)

A61K 38/193 (2013.01)

A61K 41/00 (2013.01)

A61K 45/06 (2013.01)

C12N 5/0634 (2013.01)

C12N 5/0647 (2013.01)

A61K 2035/124 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

가공된 조혈 세포의 조성물을 제조하는 방법에 있어서, 상기 방법은 다음을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법:

개체로부터 분리된 성분채집술 산물을 얻는 것으로서, 상기 성분채집술 산물은 $CD34^+$ 세포 및 $CD3^+$ 세포를 포함하고;

상기 성분채집술 산물로부터 적혈구 및 혈소판을 제거하고;

상기 성분채집술 산물로부터 수집된 $CD34^+$ 세포의 양을 농축하고;

수집된 $CD34^+$ 세포의 적어도 일부를 $CD3^+$ 세포를 포함하는 성분채집술 산물에 재첨가하여 가공된 조혈 세포의 조성물을 준비하고;

이때, 상기 성분채집술 산물에 재첨가되는 상기 수집된 $CD34^+$ 세포의 일부는 수용자 중량 기준이고, 상기 수집된 $CD34^+$ 세포는 최소한 3×10^6 $CD34^+$ 세포/kg 수용자 중량 및 최소한 50×10^6 $CD3^+$ 세포/kg 수용자 중량을 포함하는 가공된 조혈 세포 조성물을 생성하는 양으로 성분채집술 산물에 재첨가된다.

청구항 2

제1 항에 있어서, 상기 가공된 조혈 세포의 조성물은 냉동보존 매체로 냉동보존되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 3

제2 항에 있어서, 상기 냉동보존 매체는 디메틸설폭사이드(DMSO)인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4

제3 항에 있어서, 상기 DMSO는 10 부피 % 이하로 존재하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

제1 항에 있어서, 상기 성분채집술 산물은 수용자에 대하여 HLA 정합인 개체로부터 얻는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 6

제5 항에 있어서, 상기 조성물은 공여자-유래의 최소한 10.0×10^6 $CD34^+$ 세포/kg 수용자 중량을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

제1 항에 있어서, 상기 성분채집술 산물은 수용자에 대하여 HLA 부정합인 개체로부터 얻는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 8

제7 항에 있어서, 상기 조성물은 공여자-유래의 최소한 10.0×10^6 $CD34^+$ 세포/kg 수용자 중량을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 9

삭제

청구항 10

제1 항에 있어서, 상기 가공된 조혈 세포의 조성물은 수용자에게 사용하기 위한 것이고, 상기 수용자는 장기 이식을 경험하였고, 비-골수소멸성 조건화로 치료받은 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 11

제10 항에 있어서, 상기 비-골수소멸성 조건화는 T 세포 고갈성 항체 또는 약물과 합동으로 림프구양 조직 방사선조사를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 교차 참조

[0002] 본 출원은 2013년 2월 26일자 제출된 U.S. 특허가출원 번호 61/769,596에 우선권을 주장하고, 상기 출원은 전체 적으로 본원에 참조로서 편입된다.

배경 기술

- [0003] 수술 기법에서 진전 및 감염과 거부반응을 예방하는 향상된 약물은 실질 장기의 이식이 많은 질환에 대한 효과적인 치료가 되도록 허용하였다. 이식된 장기는 심장, 장, 간, 폐, 췌장과 신장을 포함한다. 신장 이식, 또는 신장 이식은 말기 신장병을 앓는 환자 내로 신장의 장기 이식이다. 신장 이식은 사망한 또는 생체 공여자 이식으로서 분류될 수 있고, 그리고 공여자와 수용자 사이에 관계의 정도에 따라 관련된 또는 비관련된 것으로 더욱 분류될 수 있고, 그리고 인간 백혈구 항원 (HLA)-정합 또는 HLA-부정합의 숫자에 따라 더욱 분류될 수 있다.
- [0004] 신장 이식에 대한 징조는 일차적 원인에 상관없이, 미리 결정된 수준 아래에 사구체 여과율로서 규정되는 말기 신장병 (ESRD)이다. ESRD를 야기하는 통상적인 질환은 악성 고혈압, 감염, 진성 당뇨병, 그리고 국소 분절 사구체경화증을 포함한다; 유전자 원인은 다낭 신장병, 다수의 선천 대사 장애, 그리고 자가면역 상태, 예를 들면, 루푸스를 포함한다. 당뇨병은 신장 이식의 일반적인 원인이고, 미국에서 이들의 대략 25%를 차지한다. 대다수의 신장 이식조직 수용자는 이식의 시점에서 투석 단계에 있다.
- [0005] 유전적으로 비동일한 환자 사이에 장기 이식에 대한 주요 장벽은 수용자의 면역계에 있는데, 이들은 이식된 신장에 "비자기"로서 반응하고 이를 거부할 수 있다. 따라서, 면역계를 억제하는 약제를 복용하는 것이 필수적이지만, 개체의 면역계를 억제하는 것은 이들 약제의 부작용에 더하여, 개체를 감염과 암의 더욱 큰 위험에 놓이게 한다. 수용자는 통상적으로, 칼시뉴린 저해제, 예를 들면, 시클로스포린 A, 타크롤리무스 또는 시롤리무스; 프레드니손; 그리고 핵산 합성의 저해제, 예를 들면, 미코페놀레이트 모페틸을 포함하는 3가지 유지 면역억제 약물의 혼합물을 투여받는다. 후자 약물은 장기간 환자 장애와 이식편 상실의 원인이 되는 고혈압, 신독성, 감염, 그리고 심장병을 포함하는 부작용을 갖는다. 현대적인 면역억제 약물에도 불구하고, 일부 센터에서 급성 거부반응은 이식 후에 인구의 10-25%에서 일어날 수 있다.
- [0006] 일반적으로, 이식조직 수용자는 이식된 신장이 기능하는 기간 내내 면역억제 항거부 약물을 섭취할 것이다. 폭넓게 이용되는 면역억제제의 혼합물의 경우에도 비용이 높을 수 있다.
- [0007] 전임상 연구는 전체 림프구양 방사선조사 (TLI) 및 항-흉선세포 글로블린 (ATG)으로 조건화가 합동된 장기와 골수 이식술 후에 관용을 유도하는데 유리하다는 것을 보여주었는데, 그 이유는 이러한 조건화 섭생이 전신 조사 (TBI)와 비교하여 이식편 대 숙주 질환 (GVHD)을 예방하기 때문이다. 검토를 위해, Strober et al. (2011) Seminars in Immunology 23:273-281을 참조한다.
- [0008] 이런 이유로, GVHD의 유도 없이 성체 이식 환자에서 면역억제 약물의 관용과 완전한 취소를 달성하는 치료적 섭생을 개발하는 것은 임상적으로 많은 주목을 받고 있다.

발명의 내용

- [0009] 수용자에 실질 장기와 조혈 세포의 합동된 이식을 위한 방법과 조성물이 본원에서 제공되고, 여기서 이식편에 대한 관용은 안정된 혼합된 키메라의 발달을 통해 확립된다. 바람직하게는, 실질 장기는 신장이다. 통상적으로 최소한 6 개월의 기간 동안 안정된 혼합된 키메라현상을 갖는 개체는 관용을 확립하는데 충분한 기간 후에 면역억제 약물의 이용을 취소할 수 있다.
- [0010] 장기 이식을 위한 방법이 본원에서 개시된다. 본원에서 제공된 방법은 일부 경우에, HLA-정합된 또는 HLA-부정합된 실질 장기의 이식 이후에, 수용자에 공여자-유래된 조혈 줄기 세포의 투여를 설명한다. 일부 경우에, 공여자-유래된 조혈 줄기 세포는 가공된 조혈 세포 조성물로서 조제에 앞서 최소한 70% 순수하도록 제조될 수 있다.
- [0011] 일부 경우에, 공여자로부터 HLA-부정합된 실질 인간 장기를 수용자 인체에서 이식하고, 수용자를 비-골수조형 조건화로 치료하고, 최소한 1×10^6 CD34⁺ 세포/kg 및 최소한 1.0×10^7 CD3⁺ 세포/kg를 포함하는 가공된 조혈 세포 조성물을 수용자에 주입하고, 그리고 최소한 6 개월 동안 혼합된 키메라현상을 발달시키는데 충분한 기간 동안 면역억제 섭생에서 수용자를 유지하는 것을 포함하는, 공여자로부터 HLA-부정합된 실질 장기의 이식을 위한 방법이 개시된다.
- [0012] 일부 경우에, 이들 방법은 최소한 10×10^6 CD34⁺ 세포/kg 수용자 체중 및 최소한 1.0×10^6 CD3⁺ 세포/kg을 수용자 내로 주입하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 최소한 10×10^6 CD34⁺ 세포/kg 수용자 체중 및 최소한 1.0×10^7 CD3⁺ 세포/kg이 수용자 내로 주입된다. 일부 경우에, 최소한 10×10^6 CD34⁺ 세포/kg 수용자 체중 및 1.0 내지 5.0×10^6 CD3⁺ 세포/kg이 수용자 내로 주입된다. 일부 경우에, 15×10^6 보다 적은 CD34⁺ 세포/kg 수용자 체중 및 최소한 50×10^6 CD3⁺ 세포/kg이 수용자 내로 주입된다.

- [0013] 일부 경우에, 실질 장기의 이식을 위한 방법이 제공되고, 공여자로부터 실질 인간 장기를 수용자 인체에서 이식하고, 그리고 최소한 6 개월의 기간 동안 상기 수용자에서 면역억제 약물의 취소를 허용하는데 충분한 기간 동안, 공여자-유래된 $CD34^{+}$ 세포와 $CD3^{+}$ 세포를 포함하는 동종이계 조혈 세포 조성물을 수용자에게 주입하는 것을 포함하는 방법이 개시된다. 예로서, 공여자-유래된 $CD34^{+}$ 세포에서 철 (가령, 결합된 또는 내재화된)의 세포 농도 및/또는 공여자-유래된 $CD3^{+}$ 세포에서 철의 세포 농도는 5 내지 100pg일 수 있다.
- [0014] 일부 경우에, 실질 장기의 이식을 위한 방법이 제공되고, 상기 방법은 공여자로부터 실질 인간 장기를 수용자 인체에서 이식하고; 그리고 최소한 6 개월의 기간 동안 상기 수용자에서 면역억제 약물의 취소를 허용하는데 충분한 기간 동안, 최소한 70% 순도의 공여자-유래된 $CD34^{+}$ 세포와 $CD3^{+}$ 세포를 포함하는 동종이계 조혈 세포 조성물을 수용자에게 주입하는 것을 포함한다.
- [0015] 일부 경우에, 이들 방법은 최소한 하나의 성분채집술 산물, 2개의 성분채집술 산물, 3개의 성분채집술 산물, 4개의 성분채집술 산물 또는 5개의 성분채집술 산물로부터 $CD34^{+}$ 세포의 단리를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 성분채집술 산물은 실질 장기 공여자로부터 단리된다. 일부 경우에, $CD3^{+}$ 세포는 성분채집술 산물의 $CD34$ -고갈된 분획물로부터 단리된다. 일부 경우에, 성분채집술 산물의 $CD34$ -고갈된 분획물은 친화성 칼럼으로부터 $CD34$ -고갈된 판류 분획물이다.
- [0016] 일부 경우에, 이들 방법은 공여자로부터 실질 장기의 수용자로의 이식을 포함할 수 있고, 여기서 실질 장기는 심장, 장, 간, 폐, 췌장과 신장으로 구성된 군에서 선택된다. 실질 장기는 전체 장기의 부분일 수 있고, 생체 공여자 또는 사망한 공여자로부터 획득될 수 있고 및/또는 수용자에 관련되거나 또는 비관련될 수 있다.
- [0017] 일부 경우에, 이들 방법은 공여자와 수용자 각각에서 HLA-A, HLA-B와 HLA-DR의 6가지 HLA 대립형질을 형결정함으로써, 공여자와 수용자가 HLA-정합 또는 HLA-부정합되는 지를 결정하는 것을 포함할 수 있다. HLA-정합된 세포는 6가지 HLA 대립형질 모두 공여자와 수용자 사이에 동일한 것들이다. HLA-부정합된 세포는 6가지 중에서 최소한 하나의 HLA 대립형질이 공여자와 수용자 사이에 상이한 것들이다.
- [0018] 일부 경우에, 이들 방법은 수용자가 비-골수소멸성 조건화를 겪는 것을 포함할 수 있고, 상기 조건화는 세포 조성물을 주입하기에 앞서, T 세포 고갈성 항체 또는 약물과 합동으로 림프구양 조직 방사선조사를 포함한다. 일부 경우에, 이들 방법은 수용자가 최소한 6 개월의 기간 동안 칼시뉴린 저해제, 그리고 퓨린 대사 저해제가 포함될 수 있지만 이들에 한정되지 않는 면역억제 섭생을 겪는 것을 포함할 수 있다.
- [0019] 일부 경우에, 이들 방법은 또한, 안정된 혼합된 키메라현상에 대해 수용자를 모니터링하는 것을 포함할 수 있다. 혼합된 키메라현상은 최소한 1% 및 95%보다 적은 순환하는 공여자 조혈 및/또는 면역 세포를 갖는 개체로서 규정된다. 일부 경우에, 안정된 혼합된 키메라현상은 일정한 기간 동안, 예를 들면, 최소한 1 개월, 최소한 2 개월, 최소한 3 개월, 최소한 4 개월, 최소한 5 개월, 최소한 6 개월 동안 최소한 1% 및 10%보다 적은 순환하는 공여자 조혈 및/또는 면역 세포, 15%보다 적은, 20%보다 적은, 25%보다 적은, 30%보다 적은, 35%보다 적은, 40%보다 적은, 45%보다 적은, 50%보다 적은, 55%보다 적은, 60%보다 적은, 65%보다 적은, 70%보다 적은, 75%보다 적은, 80%보다 적은, 85%보다 적은 또는 90%보다 적은 순환하는 공여자 조혈 및/또는 면역 세포를 갖는 것으로 규정된다.
- [0020] 일부 경우에, 이들 방법은 최소한 3 개월, 최소한 6 개월 또는 최소한 12 개월 동안 혼합된 키메라현상을 갖는 것으로 밝혀진 개체로부터 면역억제의 취소를 포함할 수 있다.
- [0021] 장기 이식에서 이용을 위한 조성물이 본원에서 개시된다. 본원에서 제공된 조성물은 일부 경우에, HLA-정합된 또는 HLA-부정합된 실질 장기의 이식 이후에 수용자에 공여자-유래된 조혈 줄기 세포의 조성물의 투여를 위한 용도를 발견한다. 일부 경우에, 이런 조성물은 공여자-유래된 조혈 줄기 세포를 포함하고, 이들은 최소한 70% 순수할 수 있다. 일부 경우에, 동종이계 조혈 세포 조성물은 공여자-유래된 $CD34^{+}$ 세포 및 공여자-유래된 $CD3^{+}$ 세포를 포함하고, 각각의 공여자-유래된 세포에서 철의 세포 농도는 5 내지 100 pg이고, 여기서 세포의 숫자는 실질 장기 이식 이후에 최소한 1년에 수용자에서 이식될 때 면역억제 약물의 취소를 허용하는데 충분한 양이다.
- [0022] 일부 경우에, 이들 조성물은 수용자 내로 최소한 10×10^6 $CD34^{+}$ 세포/kg 수용자 체중 및 최소한 1.0×10^6 $CD3^{+}$ 세포/kg의 주입을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 최소한 10×10^6 $CD34^{+}$ 세포/kg 수용자 체중 및 최소한 1.0×10^7 $CD3^{+}$ 세포/kg이 수용자 내로 주입된다. 일부 경우에, 최소한 10×10^6 $CD34^{+}$ 세포/kg 수용자 체중 및 1.0

내지 5.0×10^6 $CD3^+$ 세포/kg이 수용자 내로 주입된다. 일부 경우에, 15×10^6 보다 적은 $CD34^+$ 세포/kg 수용자 체중 및 최소한 50×10^6 $CD3^+$ 세포/kg이 수용자 내로 주입된다.

- [0023] 일부 경우에, 실질 장기는 HLA-정합되거나 또는 HLA-부정합된다. 일부 경우에, 실질 장기는 심장, 장, 간, 폐, 췌장과 신장으로 구성된 군에서 선택된다.
- [0024] 일부 경우에, 이들 조성물은 공여자로부터 실질 장기의 수용자로의 이식과 함께 투여될 수 있고, 여기서 실질 장기는 심장, 장, 간, 폐, 췌장과 신장으로 구성된 군에서 선택된다. 실질 장기는 전체 장기의 부분일 수 있고, 생체 공여자 또는 사망한 공여자로부터 획득될 수 있고 및/또는 수용자에 관련되거나 또는 비관련될 수 있다.
- [0025] 일부 경우에, 이들 조성물은 공여자와 수용자에서 HLA 대립형질 HLA-A, HLA-B와 HLA-DR을 형결정함으로써, 공여자와 수용자가 HLA-정합되거나 또는 HLA-부정합되는 지를 결정한 이후에 투여될 수 있다. "HLA-정합된"은 HLA-A, HLA-B와 HLA-DR에서 각각의 HLA 대립형질이 공여자와 수용자 사이에 동일한 정합을 지칭할 수 있다. "HLA-부정합된"은 HLA-A, HLA-B와 HLA-DR에서 최소한 하나의 HLA 대립형질이 공여자와 수용자 사이에 상이한 정합을 지칭할 수 있다.
- [0026] 일부 경우에, 수용자에 투여를 위해 조제된 단리된 조혈 세포의 조성물은 공여자-유래된 성분채집술 산물로부터 단리된 최소한 1×10^6 /kg 의도된 수용자의 $CD34^+$ 세포, 여기서 $CD34^+$ 세포에서 철의 세포 농도는 세포당 5 내지 100pg의 철이고, 그리고 공여자-유래된 성분채집술 산물로부터 단리된 최소한 1×10^7 /kg 의도된 수용자의 $CD3^+$ T 세포, 여기서 $CD3^+$ 세포에서 철의 세포 농도는 세포당 5 내지 100pg의 철이고, 그리고 약학적 담체를 포함할 수 있다. 의도된 수용자의 체중은 가공된 산물의 조제에 앞서 결정될 수 있다. 대안으로, 산물은 적절한 숫자 또는 비율의 $CD34^+$ 세포와 $CD3^+$ 세포로 조제될 수 있고, 그리고 적절한 부피의 산물이 수용자에 투여될 수 있다.
- [0027] 일부 경우에, 조성물은 최소한 10 마이크로그램/kg의 G-CSF로 처리된 공여자로부터 유래되는 성분채집술 산물로부터 산출될 수 있다. 일부 경우에, G-CSF는 2회 분량에서 공여자에 투여된다. 일부 경우에, 성분채집술 산물은 두 번째 분량의 G-CSF 후 5 시간 이내에 공여자로부터 단리된다.
- [0028] 일부 경우에, 조성물은 최소한 친화성 작용제와 칼륨을 이용하여 성분채집술 산물로부터 단리된 $CD34^+$ 세포와 $CD3^+$ 세포, 칼륨으로부터 용출물에서 위치된 $CD34^+$ 세포, 그리고 칼륨으로부터 $CD34^+$ 세포 고갈된 관류 분획물에서 위치된 $CD3^+$ 세포를 포함할 수 있다.
- [0029] 일부 경우에, 조성물 내에 $CD34^+$ 세포에서 철의 세포 농도는 세포당 5 내지 100pg, 예를 들면, 세포당 5 내지 10pg의 철, 세포당 7.5 내지 15pg의 철, 세포당 10 내지 20pg의 철, 세포당 15 내지 30pg의 철, 세포당 20 내지 40pg의 철, 세포당 30 내지 50pg의 철, 세포당 40 내지 60pg의 철, 세포당 50 내지 70pg의 철, 세포당 60 내지 80pg의 철, 세포당 70 내지 90pg의 철 또는 세포당 80 내지 100pg의 철이다.
- [0030] 일부 경우에, 조성물 내에 $CD3^+$ 세포에서 철의 세포 농도는 세포당 5 내지 10pg의 철, 세포당 7.5 내지 15pg의 철, 세포당 10 내지 20pg의 철, 세포당 15 내지 30pg의 철, 세포당 20 내지 40pg의 철, 세포당 30 내지 50pg의 철, 세포당 40 내지 60pg의 철, 세포당 50 내지 70pg의 철, 세포당 60 내지 80pg의 철, 세포당 70 내지 90pg의 철 또는 세포당 80 내지 100pg의 철이다.
- [0031] 일부 경우에, 조혈 세포 조성물의 $CD34^+$ 세포는 조혈 세포 조성물의 조제에 앞서 최소한 70% 순수하다. 일부 경우에, 조성물은 $CD34^+$ 세포와 $CD3^+$ 세포에 HLA-정합되거나, 또는 $CD34^+$ 세포와 $CD3^+$ 세포에 HLA-부정합된 수용자에 투여된다. 일부 경우에, 조성물의 세포는 공여자와 수용자에서 HLA 대립형질 HLA-A, HLA-B와 HLA-DR을 형결정함으로써, HLA-정합된 또는 HLA-부정합된 것으로 결정된다.
- [0032] 일부 경우에, 세포 조성물은 HLA-정합된 조혈 세포로부터 산출되고, 여기서 HLA 대립형질 HLA-A, HLA-B, HLA-DR은 공여자와 수용자 사이에 동일하다. 일부 경우에, 조성물은 HLA-부정합된 조혈 세포로부터 산출되고, 여기서 HLA-A, HLA-B, HLA-DR의 최소한 하나의 HLA 대립형질은 공여자와 수용자 사이에 상이하다. 일부 경우에, 조성물은 수용자에 관련되거나 또는 비관련되는 공여자로부터 채취된 성분채집술 산물로부터 산출된다.
- [0033] 일부 경우에, 이들 조성물은 최소한 하나의 성분채집술 산물, 2개의 성분채집술 산물, 3개의 성분채집술 산물, 4개의 성분채집술 산물 또는 5개의 성분채집술 산물로부터 단리되는 $CD34^+$ 세포를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 성분채집술 산물은 실질 장기 공여자로부터 단리된다. 일부 경우에, $CD3^+$ 세포는 성분채집술 산물의

CD34-고갈된 분획물로부터 분리된다. 일부 경우에, 성분채집술 산물의 CD34-고갈된 분획물은 친화성 칼럼으로부터 CD34-고갈된 판류 분획물이다.

[0034] 장기 이식을 위한 키트가 본원에서 개시된다. 본원에서 제공된 키트는 일부 경우에, HLA-정합된 또는 HLA-부정합된 실질 장기의 이식 이후에 수용자에 투여될 수 있는 조혈 줄기 세포의 조성물의 제조를 설명한다. 일부 경우에, 가공된 조혈 세포 조성물을 제조하는데 이용할 수 있는 성분 부분의 키트는 CD34에 대한 최소한 하나의 친화성 시약, 복수의 세포로부터 CD34+ 세포를 분리하기 위한 최소한 하나의 장치, CD3+ 세포의 숫자를 결정하기 위한 최소한 하나의 작용제; 그리고 CD34+ 세포를 복수의 세포로부터 분리하고, 그리고 가공된 조혈 세포 조성물을 산출하기 위해 키트의 최소한 성분 부분을 이용하여 CD3+ 세포의 숫자를 결정하기 위한 사용설명서를 포함한다.

[0035] **참조로서 편입**

[0036] 본 명세서에서 언급된 모든 간행물, 특허, 그리고 특허 출원은 마치 각 개별 간행물, 특허 또는 특허 출원이 참조로서 편입되는 것으로 구체적으로 및 개별적으로 지시되는 것처럼 본원에 참조로서 편입된다.

도면의 간단한 설명

[0037] 본 발명의 신규한 특징은 첨부된 청구항에서 특수하게 진술된다. 본 발명의 특징과 이점의 더욱 충분한 이해는 본 발명의 원리가 활용되는 예시적인 실례를 진술하는 아래의 상술된 설명, 그리고 첨부 도면을 참조함으로써 획득될 것이다:

도 1은 일배체형 정합된 공여자와 수용자에 대한 신장과 조혈 세포 이식을 위한 프로토콜을 예증한다.

도 2는 일배체형 정합된 장기 이식으로부터 결과의 표이다.

도 3은 도 2로부터 환자 #2에서 일배체형 정합된 합동된 장기 이식 이후에 키메라현상의 그래프 사정을 제공한다.

도 4A-4D는 4명의 상이한 수용자에 대한 키메라현상의 그래프 사정을 제공한다. 각 수용자는 패널 A, B, C와 D 중에서 한 가지에서 도시된다. 수용자에 투여된 CD34+와 CD3+ 세포의 숫자는 그래프 위에 도시된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0038] 본 발명의 바람직한 양상이 본원에서 나타나고 설명되긴 했지만, 본 발명은 아래에 설명된 본 발명의 특정 양상에 한정되지 않는 것으로 이해되는데, 그 이유는 특정 양상의 변이가 만들어질 수 있고, 그리고 첨부된 청구항의 범위에 여전히 들어가기 때문이다. 이용된 용어는 본 발명의 특정 양상을 설명하는 것을 목적으로 하고, 그리고 제한하는 것으로 의도되지 않는 것으로 또한 이해된다. 대신에, 본 발명의 범위는 첨부된 청구항에 의해 확립된다. 본 명세서 및 첨부된 특허청구범위에서, 단수 형태 ("a", "an" 및 "the")는 문맥에서 달리 지시되지 않으면, 복수 지시대상을 포함한다.

[0039] **정의**

[0040] 값의 범위가 제공되는 경우에, 문맥에서 달리 명시되지 않으면, 상기 범위의 상한선과 하한선 사이에 하한선의 단위의 1/10까지 각 개재성 값, 그리고 언급된 범위에서 임의의 다른 언급된 또는 개재성 값은 본 발명의 범위 안에 포괄되는 것으로 이해된다. 이들 더욱 작은 범위의 상하선과 하한선은 더욱 작은 범위 내에 독립적으로 포함될 수 있고, 그리고 또한, 본 발명의 범위 안에 포괄되고, 언급된 범위 내에 임의의 특정적으로 배제된 한계에 종속된다. 언급된 범위가 한계 중에서 한쪽 또는 양쪽을 포함하는 경우에, 이들 포함된 한계의 한쪽 또는 양쪽을 배제하는 범위 역시 본 발명에서 포함된다.

[0041] 달리 정의되지 않으면, 본원에서 이용된 모든 기술 용어와 과학 용어는 본 발명이 속하는 당해 분야의 평균적 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 비록 본원에서 설명된 것들과 유사하거나 동등한 임의의 방법, 장치와 재료가 본 발명의 실시 또는 시험에 이용될 수 있지만, 바람직한 방법, 장치와 재료가 여기에 설명된다.

[0042] "주요 조직적합성 복합체 항원" ("MHC", 또한 "인간 백혈구 항원", HLA으로 불림)은 이들 세포에 독특한 항원성 실체를 부여하는 세포의 표면 상에서 발현된 단백질 분자이다. MHC/HLA 항원은 면역 작동체 세포와 조혈 줄기 세포의 동일한 공급원으로부터 유래된 ("자기") 또는 조혈 재구성 세포의 다른 공급원으로부터 유래된 ("비자기") 것으로 T-세포와 자연 킬러 (NK) 세포에 의해 인식되는 표적 분자이다. HLA 항원의 2가지 주요 부류

가 인식된다: HLA 부류 I과 HLA 부류 II. HLA 부류 I 항원 (인간에서 A, B, 그리고 C)은 각 세포가 "자기"로서 인식가능하게 만들고, 반면 HLA 부류 II 항원 (인간에서 DR, DP, 그리고 DQ)은 림프구와 항원 제시 세포 사이에 반응에 관련된다. 둘 모두 이식된 장기의 거부반응에 연루되었다.

[0043] HLA 유전자 시스템의 중요한 양상은 이의 다형성이다. 각 유전자, MHC 부류 I (A, B와 C) 및 MHC 부류 II (DP, DQ와 DR)는 상이한 대립형질에서 존재한다. HLA 대립형질은 숫자와 아래첨자에 의해 지정된다. 예로서, 2명의 관련 없는 개체는 각각, 부류 I HLA-B, 유전자 B5, 그리고 Bw41을 운반할 수 있다. 대립유전자 산물은 α 및/또는 β 도메인(들)에서 하나 또는 그 이상의 아미노산에서 다르다. 큰 패널의 특이적 항체 또는 핵산 시약이 부류 I과 부류 II 분자를 발현하는 백혈구를 이용하여, 개체의 HLA 일배체형을 형결정하는데 이용된다. HLA 형결정을 위해 가장 중요한 유전자는 6개의 MHC 부류 I과 부류 II 단백질, 각 HLA-A에 대한 2개의 대립형질; HLA-B와 HLA-DR이다.

[0044] HLA 유전자는 염색체 위치 6p21에서 존재하는 "슈퍼 좌위"에서 군집되고, 이것은 면역계의 조절에서 뿐만 아니라 일부 다른 근본적인 분자와 세포 과정에서 중요한 역할을 갖는 6개의 고전적 이식 HLA 유전자 및 최소한 132개 단백질 코딩 유전자를 인코딩한다. 완전한 좌위는 크기가 거의 3.6 Mb이고, 최소한 224개의 유전자 좌위를 갖는다. 이러한 군집화의 한 가지 효과는 "일배체형", 다시 말하면, 한 부모로부터 유전되는, 단일 염색체 상에 존재하는 대립형질의 세트가 하나의 군으로서 유전되는 경향이 있다는 것이다. 각 부모로부터 유전된 대립형질의 세트가 일배체형을 형성하고, 여기서 일부 대립형질은 서로 연관되는 경향이 있다. 환자의 일배체형을 확인하는 것은 적합 공여자를 발견하는 확률을 예측하는데 도움을 주고 검색 전략을 개발하는데 보조할 수 있는데, 그 이유는 일부 대립형질과 일배체형이 다른 것들보다 더욱 통상적이고, 그리고 이들이 상이한 민족 군과 인종 군에서 상이한 빈도로 분포되기 때문이다.

[0045] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "HLA 정합된"은 HLA 항원 중에서 어느 것도 공여자와 수용자 사이에 부정합되지 않는 공여자 수용자 쌍을 지칭한다. HLA 정합된 (즉, 6개 대립형질 모두 정합된다) 공여자/수용자 쌍은 부정합된 쌍 (즉, 6개 대립형질 중에서 최소한 하나가 부정합된다)에 비하여 이식편 대 숙주 질환 (GVHD)의 줄어든 위험을 갖는다.

[0046] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "HLA 부정합된"은 특히 HLA-A, HLA-B와 HLA-DR에 대하여 최소한 하나의 HLA 항원이 공여자와 수용자 사이에 부정합되는 공여자 수용자 쌍을 지칭한다. 일부 경우에, 한 일배체형은 정합되고, 그리고 다른 것은 부정합된다. 이러한 환경은 살아있는 또는 사망한 공여자로부터 장기에서 빈번하게 발견된다. HLA 부정합된 공여자/수용자 쌍은 완벽하게 정합된 쌍 (즉, 6개 대립형질 모두 정합된다)에 비하여 GVHD의 증가된 위험을 갖는다.

[0047] HLA 대립형질은 전형적으로, 다양한 수준의 상세에서 언급된다. 대부분의 지명은 HLA- 및 좌위 명칭으로 시작하고, 이후 * 및 대립형질을 명시하는 일부 한 자리 숫자 (짝수)가 뒤따른다. 처음 2개의 숫자는 대립형질의 군을 명시한다. 더욱 오래된 형결정 방법론은 종종, 대립형질을 완전하게 식별할 수 없었고, 따라서 이러한 수준에서 중지되었다. 세 번째 내지 네 번째 숫자는 동의의 대립형질을 명시한다. 다섯 번째 내지 여섯 번째 숫자는 유전자의 코딩 프레임 내에서 임의의 동의의 돌연변이를 표시한다. 일곱 번째와 여덟 번째 숫자는 코딩 영역 외부에 돌연변이를 식별한다. 문자, 예를 들면, L, N, Q, 또는 S가 발현 수준 또는 이에 관해 공지된 다른 비계놈 데이터를 명시하기 위해 대립형질의 지명을 뒤따를 수 있다. 따라서, 완전하게 설명된 대립형질은 HLA-접두사와 좌위 표기법을 포함하지 않고 최대 9개 숫자일 수 있다.

[0048] 본원에서 이용된 바와 같이, "수용자"는 통상적으로 동일한 종의 다른 개체 (공여자)로부터 장기, 조직 또는 세포가 이전되는 개체이다. 본 발명의 목적으로, 수용자와 공여자는 HLA-정합되거나 또는 HLA-부정합된다.

[0049] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "실질 장기 이식"은 상기 용어의 전통적인 의미에 따라 이용되는데, 여기서 살아있는 또는 사망한 공여자로부터 장기는 수용자 내로 생리학적으로 통합되는 적절한 위치와 심혈관 결합에서 수용자의 신체 내로 배치될 수 있다. 신장의 이식이 본 발명의 방법을 위해 특히 관심되지만, 이들 방법은 다른 장기, 예를 들면, 췌장 도세포를 비롯한 췌장; 심장; 폐, 장, 간, 그리고 당분야에 공지된 바와 같은 기타 등등의 이식을 배제하지 않는다. 이식된 장기는 "이식편"으로서 지칭될 수 있고, 그리고 장기의 생리학적 통합은 이식으로서 지칭될 수 있다.

[0050] 조혈 줄기 세포 이식 (HCT)은 통상적으로, 골수, 말초혈, 또는 체대혈로부터 유래되는 다능성 조혈 줄기 세포의 이식이다. 본 발명의 방법의 경우에, 조혈 세포는 2가지 산물 중에서 한 가지로 가공될 수 있다. 조혈 세포는 특정한 미리 결정한 숫자의 정제된 (가령, $\geq 70\%$ 순도) CD34+ 선조체 세포와 CD3+ T 세포를 갖는 주입을 위한

산물로 가공된다. 조혈 세포는 실질 장기 공여자로부터 획득될 수 있고, 그리고 따라서 실질 장기 HLA-정합되고 장기 수용자에 HLA-부정합된다. 조혈 세포는 실질 장기 공여자로부터 획득될 수 있고, 그리고 따라서 실질 장기에 HLA-정합되고, 그리고 장기 수용자에 HLA-정합된다.

- [0051] 공여자가 사망한 경우에, 조혈 세포는 골수 (가령, 척추골, 골반 뼈 등)로부터 획득될 수 있다. 공여자가 생체 공여자인 경우에, 조혈 세포가 동원되고 (가령, G-CSF로), 그리고 성분채집술 또는 유사한 방법에 의해 수집될 수 있다. 대안으로, 세포는 골수 (가령, 골반 뼈 등)로부터 획득될 수 있다.
- [0052] 조혈 세포는 유의미한 숫자의 세포를 손상시키지 않으면서 연장된 기간 동안 동결(가령, 냉동보존)될 수 있다. HSC를 냉동보존하기 위해, 보존제, DMSO가 첨가되어야 하고, 그리고 이들 세포는 얼음 결정 형성 동안 삼투성 세포 손상을 예방하기 위해 제어된-속도 냉동기에서 매우 천천히 냉각되어야 한다. HSC는 저온냉동기에서 수년 동안 보관될 수 있는데, 이것은 전형적으로, 액체 질소를 이용한다.
- [0053] 수용자의 면역계는 조혈 세포의 주입에 앞서 비-골수소멸성 시술로 조건화된다. 비-골수소멸성 이식조직은 수용자의 모든 골수 세포를 근절하기에는 너무 낮은 항체와 방사의 분량을 이용하고, 따라서 수용자와 공여자 HSC 둘 모두 골수 공간에서 공존하는 안정된 혼합된 키메라현상의 원하는 목적을 실시가능하게 한다. 조건화 섭생은 통상적으로 약 10 내지 12 일의 기간 동안 (가령, 약 11 일 동안) 항-흉선세포 글로불린 (ATG); 전체 림프구양 방사선조사, 그리고 코르티코스테로이드 (가령, 프레드니손)로 치료하는 것을 포함한다.
- [0054] "면역억제"는 본원에서 이용된 바와 같이, 일차적으로 이식편에 대하여 숙주 면역계의 면역 반응을 축소하는 작용제로 이식편 수용자의 치료를 지칭하는데, 하지만 이들 작용제는 또한, 공여자 조혈 세포의 GVHD를 축소할 수도 있다. 예시적인 면역억제 섭생은 본원에서 더욱 상세하게 설명되지만, 일반적으로 약 6 내지 12 개월의 기간이 전통적일 것이다. 수용자는 조혈계의 혼합된 키메라현상에 대해 검사되고, 그리고 최소한 6 개월 후에 혼합된 키메라현상을 유지하는 것으로 밝혀지면, 면역억제가 점점 줄어드는 것이다.
- [0055] 이식 환자의 면역억제 치료는 유도 시기에서, 수술전후에 및 이식 직후에 시작한다. 유지 용법은 이후, 개체가 안정된 혼합된 키메라현상을 보여주는 것이 취소될 때까지 계속된다. 유도과 유지 전략은 이식 환자에게 장기간 이식편 생존을 위한 최선의 희망을 제공하는 표적 치료적 수준을 달성하기 위해 특정한 분량 또는 조정된 분량에서 상이한 약제를 이용한다.
- [0056] 일차성 면역억제제는 칼시뉴린 저해제를 포함하는데, 이들은 결합 단백질과 합동하여 칼시뉴린 활성을 저해하고, 그리고 이들은 예로서, 타크롤리무스, 시클로스포린 A 등을 포함한다. 시클로스포린과 타크롤리무스 둘 모두의 수준이 세심하게 모니터링되어야 한다. 초기에, 수준은 10-20 ng/mL의 범위에서 유지될 수 있지만, 3 개월 후에, 수준은 신독성의 위험을 감소시키기 위해 더욱 낮게 (5-10 ng/mL) 유지될 수 있다.
- [0057] 어쥬번트 작용제는 칼시뉴린 저해제와 통상적으로 합동되고, 그리고 스테로이드, 아자티오프린, 미코페놀레이트 모페틸, 그리고 시롤리무스를 포함한다. 관심되는 프로토콜은 미코페놀레이트 모페틸과 함께 칼시뉴린 저해제를 포함한다. 어쥬번트 작용제의 이용은 임상이가 개별 작용제의 분량과 독성을 줄이면서 적합한 면역억제를 달성하도록 허용한다. 신장 이식조직 수용자에서 미코페놀레이트 모페틸은 여러 임상 시험이 아자티오프린과 비교하여 급성 세포 거부반응의 현저하게 줄어드는 이환율 및 1-년 치료 실패에서 감소를 보여준 후에, 면역억제에서 중요한 역할을 떠맡았다.
- [0058] 항체-기초된 요법은 단일클론 (가령, 뮤로모납-CD3) 또는 다중클론 항체 또는 항-CD25 항체 (가령, 바실릭시맙, 다클리주맙)를 이용하고 초기 이식후 기간 (8 주까지)에 투여된다. 항체-기초된 요법은 칼시뉴린 저해제의 회피 또는 분량 감소를 허용하고, 신독성의 위험을 아마도 감소시킨다. 다중클론과 단일클론 항체의 부정적인 효과 프로파일은 일부 환자에서 이들의 용도를 제한한다.
- [0059] 이식편-대-숙주 질환 (GVHD)은 조혈 세포의 이식에 특유한 염증성 질환이다. 이것은 수용자의 조직에 대하여 공여자 골수의 면역 세포의 공격이다. GVHD는 HLA-정합된 이식과 -부정합된 이식 둘 모두에 대한 위협이다. GVHD는 심지어 공여자와 수용자가 HLA-정합되는 경우에도 일어날 수 있는데, 그 이유는 면역계가 그들의 조직 사이에 다른 차이를 여전히 인식할 수 있기 때문이다. GVHD는 통상적으로, T 세포에 의해 매개되는데, 이들은 숙주의 MHC 상에 제공된 외래 펩티드에 반응한다. GVHD의 위험은 완전한 대신에 혼합된 키메라현상을 갖는 환자에서 현저하게 감소되고, 그리고 이런 이유로, 혼합된 키메라현상을 달성하는 것이 바람직하다. 이에 더하여, 면역결핍과 감염은 혼합된 키메라현상과 대비하여 완전한 키메라현상에서 더욱 빈번하게 관찰된다.
- [0060] 2가지 유형, 급성과 만성 GVHD가 있다. 급성 GVHD는 전형적으로, 이식 후 첫 3 개월 내에 발생하고 피부, 장,

또는 간을 수반할 수 있다. 고분량 코르티코스테로이드, 예를 들면, 프레드니손이 표준 치료이다.

- [0061] 만성 GVHD는 또한, 일배체형 정합된 이식 후에 발달할 수 있고, 그리고 전형적으로, 이식 이후에 첫 3 개월 후에 발생한다. 이것은 후기 치료-관련된 합병증의 주요 출처이긴 하지만, 덜 빈번하게는 사망을 유발한다. 염증에 더하여, 만성 GVHD는 경피증과 유사한 섬유증, 또는 반흔 조직의 발달을 야기할 수 있다; 이것은 기능적 장애를 유발하고 연장된 면역억제 요법을 필요로 할 수 있다.
- [0062] "급성 이식 거부반응"은 이식된 장기의 면역계에 의한 거부반응이다. 급성 거부반응은 수용자의 면역 세포에 의한 이식된 조직의 침윤에 의해 특징화되는데, 이들 면역 세포는 그들의 작동체 기능을 실행하고 이식된 조직을 파괴한다. 급성 거부반응의 개시는 급속하고 일반적으로, 이식 수술 후 수 주 내에 인간에서 발생한다.
- [0063] 일반적으로, 급성 거부반응은 면역억제 약물로 저해되거나 또는 억제된다. 스테로이드는 급성 거부반응 에피소드에 대한 요법의 주축이다. 전형적인 용량은 3-5 일 동안 3-5 mg/kg/일인데, 이것은 이후, 유지 용량까지 점점 줄어든다. ATG와 류로모넵-CD3 역시 용도를 발견한다.
- [0064] "만성 이식 거부반응"은 일반적으로, 급성 거부반응의 성공적인 면역억제의 존재에서도 이식 후 수개월 내지 수년 이내에 인간에서 발생한다. 섬유증은 모든 유형의 장기 이식의 만성 거부반응에서 공통 인자이다. 만성 거부반응은 전형적으로, 특정 장기의 특징을 이루는 다양한 특정한 장애에 의해 설명될 수 있다. 예로서, 폐 이식에서, 이런 장애는 기도의 섬유증식성 파괴 (폐쇄세기관지염)을 포함한다; 심장 이식 또는 심장 조직의 이식, 예를 들면 판막치환술에서, 이런 장애는 섬유증 죽상경화증을 포함한다; 신장 이식에서, 이런 장애는 폐쇄성 신병증, 신장경화증, 세뇨관간질성 신병증을 포함한다; 그리고 간 이식에서, 이런 장애는 담도 소실 증후군을 포함한다.
- [0065] 만성 거부반응은 허혈성 손상, 이식된 조직의 탈신경, 고지질혈증 및 면역억제 약물과 연관된 고혈압에 의해 또한 특징화될 수 있다. 부적당한 면역억제가 거부반응의 원인이 아니면, 면역억제 요법에서 변화는 일반적으로, 만성 거부반응을 역전시키는데 효과적이지 않다. 혈압의 제어, 고지질혈증의 치료, 그리고 당뇨병의 관리는 이식편 보존을 위한 치료의 현재 주축이다.
- [0066] 용어 "이식 거부반응"은 급성과 만성 이식 거부반응 둘 모두를 포괄한다. 이식 거부반응에서, 이식된 조직은 수용자의 면역계에 의해 거부되고 파괴된다. 급성 거부반응은 일관성 쌍둥이의 경우 또는 면역억제 동안을 제외하고, 모든 이식조직에서 어느 정도까지 일어날 수 있다. 급성 거부반응은 빠르면, 이식 후 1 주에 시작할 수 있다, 그리고 급성 거부반응의 발달에 대한 최대 위험은 이식 이후에 첫 3 개월 내에 발생한다. 만성 거부반응은 이식된 장기의 장기 기능 상실이다.
- [0067] 조혈 세포 이식조직 상실은 동종이식 후 +45 일자에 공여자 기원의 조혈 재구성의 부재 (일차성 이식편 거부반응) 또는 공여자-기원 조혈의 일시적인 이식 후 공여자 세포의 확증된 상실이다. 신장 이식편 실패는 10 ml/분보다 적게 퇴조하는 크레아티닌 소실을 또는 환자의 투석으로의 복귀, 또는 환자의 재이식을 위한 이식 목록으로의 복귀이다.
- [0068] 키메라현상은 본원에서 이용된 바와 같이, 달리 언급되지 않으면 조혈계의 키메라현상을 일반적으로 지칭한다. 개체가 완전한 키메라, 혼합된 키메라, 또는 비키메라가 되는 지의 결정은 당분야에 공지된 바와 같이, 이식편 수용자로부터 조혈 세포 표본, 예를 들면, 말초혈, 골수 등의 분석에 의해 만들어진다. 분석은 형결정의 임의의 편의한 방법에 의해 완료될 수 있다. 일부 구체예에서, 모든 단핵 세포, T 세포, B 세포, CD56+ NK 세포, 그리고 CD15+ 호중구 사이에서 키메라현상의 정도는 미소부수체 분석을 위한 프로브로 PCR을 이용하여, 규칙적으로 모니터링된다. 예로서, 공여자와 숙주 기원의 짧은 말단 반복 길이에서 다형성을 식별하는 상업적인 키트가 사용하다. 자동화된 판독기는 인공 공여자와 숙주 세포 혼합물로부터 표준 곡선에 기초하여 공여자 유형 세포의 백분율을 제공한다.
- [0069] 이식후 임의의 시점에서 이런 분석에 의해 소정의 혈액 세포 계통에서 95%보다 큰 공여자 세포를 전시한 개체는 이러한 이식 환자 군에서 완전한 공여자 키메라현상을 갖는 것으로서 지칭된다. 혼합된 키메라현상은 이런 분석에서 1%보다 큰 공여자, 하지만 95%보다 적은 공여자 DNA로서 규정된다. 혼합된 키메라현상을 전시하는 개체는 키메라현상의 진화에 따라 더욱 분류될 수 있는데, 여기서 혼합된 키메라현상을 향상시키는 것은 최소한 6-개월 기간에 걸쳐 공여자 세포의 비율에서 연속적 증가로서 규정된다. 안정된 혼합된 키메라현상은 공여자 세포의 완전한 상실 없이, 시간의 흐름에서 수용자 세포의 백분율에서 변동으로서 규정된다. 면역억제의 취소에 대한 후보는 이식후 최소한 6 개월까지 혼합된 키메라현상을 갖는다.
- [0070] "진단"은 본원에서 이용된 바와 같이, 일반적으로 질환 또는 장애에 대한 개체의 감수성의 결정, 개체가 질환

또는 장애에 의해 현재 영향을 받는 지에 대한 결정, 질환 또는 장애에 의해 영향을 받은 개체의 예후 (가령, 전전이상 또는 전이상 암성 상태, 암의 시기, 또는 요법에 대한 암의 반응성의 확인), 그리고 테라메트릭스 (therametrics)의 이용 (가령, 요법의 효과 또는 효능에 관한 정보를 제공하기 위해 개체의 상태를 모니터링)을 포함한다.

[0071] 용어 "생물학적 표본"은 생물체로부터 획득된 다양한 표본 유형을 포괄하고, 그리고 진단적 검정 또는 모니터링 검정에서 이용될 수 있다. 상기 용어는 혈액 및 생물학적 기원의 다른 액체 표본, 고체 조직 표본, 예를 들면, 생검 검체 또는 조직 배양 또는 그것으로부터 유래된 세포 및 이들의 자손을 포괄한다. 상기 용어는 예로서, 시약으로 처리, 용해화, 또는 일정한 성분에 대한 농축에 의해, 그들의 구입 후에 어떤 방식으로든 조작된 표본을 포괄한다. 상기 용어는 임상적 표본을 포괄하고, 그리고 또한, 세포 배양액, 세포 상층액, 세포 용해물, 혈청, 혈장, 생물학적 유체, 그리고 조직 표본에서 세포를 포함한다.

[0072] 용어 "치료", "치료하는", "치료하다" 등은 원하는 약리학적 및/또는 생리학적 효과를 획득하는 것을 지칭하기 위해 본원에서 이용된다. 효과는 질환 또는 이의 증상을 완전하게 또는 부분적으로 예방한다는 관점에서 예방적 및/또는 질환 및/또는 질환에 기인한 부작용에 대한 부분적인 또는 완전한 안정화 또는 치유의 관점에서 치료적 일 수 있다.

[0073] 본원에서 이용된 바와 같은 "치료"는 포유동물, 특히, 인간에서 질환의 임의의 치료를 포괄하고, 그리고 (a) 질환 또는 증상에 대한 소인이 있지만 이를 앓는 것으로 아직 진단되지 않은 개체에서 질환 또는 증상이 발생하는 것을 예방하거나; (b) 질환 증상을 저해하거나, 다시 말하면, 이의 발달을 중지시키거나; 또는 (c) 질환 증상을 경감하는, 다시 말하면, 질환 또는 증상의 관해를 유발하는 것을 포함한다.

[0074] 용어 "개체," "피험체," "숙주," 그리고 "환자"는 본원에서 교체가능하게 이용되고 진단, 치료, 또는 요법이 요망되는 임의의 포유류 개체, 특히 인간을 지칭한다.

[0075] 용어 "이식편 관리"는 신장 이식에 한정되지 않는 실질 장기의 수복 이식을 유도하고 및/또는 증진하는 치료 방법을 지칭한다.

[0076] 용어 "제약학적으로 허용되는"은 본원에서 이용된 바와 같이, 수용자의 생존력이 악화될 정도까지 수용자 인간 또는 동물의 생리학을 손상시키지 않을 화합물 또는 화합물의 조합을 지칭한다. 바람직하게는, 투여된 화합물 또는 화합물의 조합은 기껏해야, 수용자 인간 또는 동물의 건강에 대한 일시적인 유해한 효과만을 이끌어낼 것이다.

[0077] 용어 "담체"는 본원에서 이용된 바와 같이, 치료적 조성물이 피부 상처에 직접적으로 투여되도록 허용하는, 작용제의 임의의 제약학적으로 허용되는 용매를 지칭한다. 담체는 조성물이 이식을 위한 장기의 노출된 표면 및 장기가 배치되는 수용자의 부위에 국소적으로 적용되도록 허용할 것이다. 본원에서 이용된 바와 같은 "담체"는 이런 이유로, 이런 용매를 지칭하지만, 물, 식염수, 오일-물 유체, 또는 수용자 인간 또는 동물에게 제약학적으로 및 생리학적으로 허용되는 담체자에게 공지된 임의의 다른 용매 또는 용매와 화합물의 조합에 한정되지 않는다.

[0078] 용어 "사정하는" 및 "평가하는"은 임의의 형태의 계측을 지칭하기 위해 교체가능하게 이용되고, 그리고 원소가 존재하는지의 여부를 결정하는 것을 포함한다. 용어 "결정하는," "계측하는," "사정하는," 및 "검정하는"은 교체가능하게 이용되고 정량적 결정과 정성적 결정 둘 모두를 포함한다. 사정하는 것은 상대적 또는 절대적일 수 있다. "존재를 사정하는"은 존재하는 무언간의 양을 결정하는 것뿐만 아니라 이것이 존재하는지 또는 부재하는지를 결정하는 것을 포함한다.

[0079] **방법**

[0080] 본 발명의 방법은 아래에 상세하게 논의된다. 일부 경우에, 본원에서 설명된 방법은 다음의 단계를 포함할 수 있다: 공여자와 수용자를 HLA 형결정하여 HLA-정합된 또는 HLA-부정합된 쌍을 결정하는 단계. "HLA-정합된"은 6개 HLA 항원 (가령, HLA-A, B, DR) 모두 공여자와 수용자 사이에 정합된다는 것을 지시한다. "HLA-부정합된"은 6개 HLA 항원 (가령, HLA-A, B, DR) 중에서 최소한 1개, 최소한 2개, 최소한 3개가 부정합된다는 것을 지시한다. 일반적으로, 6개 HLA 항원 (가령, HLA-A, B, DR) 중에서 최소한 일부가 정합된다, 예를 들면, 최소한 1개, 최소한 2개, 최소한 3개, 최소한 4개, 최소한 6개가 정합된다.

[0081] 일부 경우에, 이들 방법은 최소한 다음의 단계를 포함할 수 있다: 실질 장기와 조혈 세포를 공여자로부터 획득하는 단계; 적절한 유형과 분량의 조혈 세포를 단리하는 단계; 실질 장기를 이식하는 단계; 실질 장기의 이식

이후에 및 가공된 조혈 세포의 주입에 앞서 수용자에서 조건화 섭생을 수행하는 단계; 수용자를 최소한 6 개월 동안 면역억제 섭생에 유지하는 단계; 수용자를 조혈계의 혼합된 키메라현상에 대해 모니터링하는 단계; 그리고 수용자가 안정된 혼합된 키메라현상을 보여주면 면역억제를 취소하는 단계. 본원에서 설명된 방법은 HLA-정합된 이식 상태와 HLA-부정합된 이식 상태 둘 모두에 적용된다.

[0082] 본원에서 설명된 방법을 위해 선별된 개체는 (i) 실질 장기 이식편을 필요로 하고; 그리고 (ii) 실질 장기와 조혈 세포가 획득될 수 있는 HLA-정합된 또는 HLA-부정합된 공여자를 확보하는 규준에 부합할 수 있다. 비-골수소멸성 조건화와 합동으로, 개체에 적절한 실질 장기와 가공된 조혈 세포 주입의 합동된 이식을 수행함으로써, 환자는 최소한 6 개월 동안 지속된 혼합된 키메라현상이 발달하는 높은 확률을 가질 수 있다. 최소한 6 개월 동안 존속하는 혼합된 키메라현상은 시간의 흐름에서 면역억제의 취소를 허용할 수 있다.

[0083] 인간 백혈구 항원의 형결정

[0084] 당분야에서 공지된 임의의 방법이 공여자-유래된 세포 및 수용자로부터 표본을 형결정하는데 이용될 수 있다. 예로서, 3가지 주요 절차가 HLA 형결정을 수행하는데 이용될 수 있다. 첫 번째는 전통적인 혈청학적 세포독성 방법인데, 여기서 림프구의 표본 (가령, 혈액 또는 비장으로부터 채취됨)이 Terasaki 평판에 첨가된다. 일부 경우에, B 림프구가 부류 II 형결정을 위해 이용될 수 있다. 다른 경우에, 부류 I 형결정이 나머지 백혈구로 수행될 수 있다. 자성 비드가 혈액 또는 비장으로부터 세포를 정제하는데 이용될 수 있다.

[0085] 일부 경우에, Terasaki 평판의 각 웰은 복수의 항체 (가령, 모성 혈청 또는 제조된 단일클론 항체로부터)를 내포할 수 있다. 일부 경우에, 세포에 의해 발현된 HLA 항원은 웰 내에서 항체에 결합한다. 보체의 첨가 후, HLA 항원과 항체가 결합되었던 웰에서 위치된 세포는 사멸될 수 있다. 일부 경우에, 세포 사멸의 패턴이 웰로부터 결정될 수 있다. 이러한 패턴은 본래 조직 상에서 존재하였던 HLA 항원의 조합의 추론을 허용할 수 있다. 일부 경우에, HLA 항원의 조합의 추론은 HLA 항원의 형결정을 유발할 수 있다.

[0086] HLA 형결정을 위해 이용될 수 있는 다른 방법은 유세포분석법이다. 전통적인 혈청학적 세포독성 방법과 달리, 유세포분석법은 하나 또는 그 이상의 HLA 대립형질을 확인하는데 이용될 수 있다. 이러한 방법에서, 백혈구는 관심되는 HLA 유형에 결합하는 항체와 합동될 수 있다. 일부 경우에, 항체는 단일클론 또는 다중클론일 수 있다. 일부 경우에, 항체는 검출가능한 라벨을 내포할 수 있다. 일부 경우에, 항체는 검출가능한 라벨에 직접적으로 접합될 수 있다. 다른 경우에, 검출가능한 라벨을 갖는 상이한 항체가 HLA 항체에 결합하고, 그리고 복합체가 이후 검출된다. 유세포분석법에 의한 HLA 형결정에 이용될 수 있는 검출가능한 라벨의 유형은 쉽게 가용하고 당업자에게 공지된다. 표본은 어떤 HLA 항체가 세포에 결합하였는 지를 결정하기 위해 분석될 수 있다.

[0087] HLA 형결정을 위해 이용될 수 있는 또 다른 방법은 DNA 형결정이다. 일부 경우에, DNA 형결정은 DNA를 세포로부터 추출하고, 그리고 서열 데이터를 산출하는 중합효소 연쇄 반응 기술을 이용하여 HLA 펩티드를 인코딩하는 유전자를 증폭하는 것을 수반한다. 중합효소 연쇄 반응 기술은 당업자에게 알려져 있는 서열 데이터를 산출하는 임의의 중합효소 연쇄 반응 기술을 포함할 수 있다.

[0088] 일부 경우에, 유전자의 서열은 여러 유전자 (가령, 유전자 은행) 데이터베이스 중에서 최소한 하나에서 위치된 HLA 대립형질의 공지된 뉴클레오타이드 서열과 정합될 수 있다. 일부 경우에, 유전자 은행 데이터베이스는 IMGT/HLA (International Immunogenetics Project) 데이터베이스일 수 있다.

[0089] 실질 장기 이식

[0090] 실질 장기는 상기 장기가 수용자 신체 내에 적절한 위치에서 배치되도록 공여자로부터 수용자로 이식될 수 있다. 일부 경우에, 실질 장기 사이에 심혈관 연결은 수용자 신체 내로 생리학적으로 통합될 수 있다. 일부 경우에, 장기는 생체 공여자로부터 유래될 수 있다. 다른 경우에, 장기는 사망한 공여자로부터 유래될 수 있다. 일부 경우에, 실질 장기는 공여자와 수용자 사이에 HLA-정합될 수 있다. 다른 경우에, 실질 장기는 공여자와 수용자 사이에 HLA-부정합될 수 있다.

[0091] 장기 이식을 위해 이용될 수 있는 임의의 실질 장기가 본원에서 설명된 방법에서 이용될 수 있다. 일부 경우에, 장기는 신장, 폐, 췌장, 췌장 도세포, 심장, 장, 결장, 간, 피부, 근육, 잇몸, 눈, 치아 및 당업자에게 공지된 기타 등등일 수 있다. 일부 경우에, 장기는 완전한 장기일 수 있다. 다른 경우에, 장기는 장기의 부분일 수 있다. 다른 경우에, 장기는 장기의 조직으로부터 세포일 수 있다.

[0092] 본원에서 설명된 방법을 이용하여, 실질 장기가 전통적인 실시예에 따라 수확되고 이식된다. 일부 경우에, 실질 장기는 가공된 조혈 세포의 주입에 앞서 최소한 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17,

18, 19 또는 최소한 20 일에 이식될 수 있다.

[0093] 이식을 위한 조혈 줄기 세포 획득

[0094] 조혈 줄기 세포 이식 (HCT)은 공여자로부터 수용자로 다능성 조혈 줄기 세포의 이식을 포함한다. 본원에서 설명된 방법을 위해, HCT는 실질 장기 이식과 합동될 수 있다. 일부 경우에, 조혈 줄기 세포는 공여자와 수용자 사이에 HLA-정합될 수 있다. 다른 경우에, 조혈 줄기 세포는 공여자와 수용자 사이에 HLA-부정합될 수 있다.

[0095] 일부 경우에, 조혈 줄기 세포는 단리되고 실질 장기 공여자로부터 정제된다. 실질 장기 공여자는 살아있거나 또는 사망할 수 있다. 생체 공여자의 경우에, 조혈 세포는 생체 공여자로부터 동원 말초혈의 성분채집술; 사망한 공여자의 골수로부터 조혈 세포 수확, 기타 등등을 비롯한 당업자에게 공지된 다양한 방법 중에서 한 가지를 이용하여 실질 장기 공여자로부터 획득될 수 있다. 사망한 공여자의 경우에, 조혈 세포는 골수로부터 획득될 수 있다. 예로서, 세포는 조혈 세포가 추출되는 충분한 골수를 내포하는 척추골, 골반 뼈, 대퇴골 또는 임의의 다른 뼈에서 골수로부터 획득될 수 있다.

[0096] 일부 경우에, 조혈 세포는 단리와 정제에 앞서 동원될 수 있다. 일부 경우에, 조혈 세포는 공여자를 과립구 집락 자극 인자 (G-CSF)로 처리함으로써 동원될 수 있다. 예로서, 공여자는 조혈 세포를 단리하고 정제하기에 앞서 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10회 또는 10회보다 많은 분량의 G-CSF로 처리될 수 있다.

[0097] 일부 경우에, G-CSF의 분량은 단일 일자 (가령, 하루 24 시간)에 또는 복수 일의 코스에 걸쳐 공여자에 전달될 수 있다. 예로서, 복수 일은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10보다 많은 일자를 포함할 수 있다. 바람직한 사례에서, 공여자는 하루에 2회 분량을 받는다.

[0098] 일부 사례에서, 공여자에 전달된 G-CSF의 각 분량은 16 마이크로그램/공여자 체중의 kg이다. 다른 사례에서, 공여자에 전달된 G-CSF의 각 분량은 8 마이크로그램/공여자 체중의 kg이다. 예로서, G-CSF의 각 분량은 1 마이크로그램/공여자 체중의 kg, 2 마이크로그램/공여자 체중의 kg, 3 마이크로그램/공여자 체중의 kg, 4 마이크로그램/공여자 체중의 kg, 5 마이크로그램/공여자 체중의 kg, 6 마이크로그램/공여자 체중의 kg, 7 마이크로그램/공여자 체중의 kg, 8 마이크로그램/공여자 체중의 kg, 9 마이크로그램/공여자 체중의 kg, 10 마이크로그램/공여자 체중의 kg, 11 마이크로그램/공여자 체중의 kg, 12 마이크로그램/공여자 체중의 kg, 13 마이크로그램/공여자 체중의 kg, 14 마이크로그램/공여자 체중의 kg, 15 마이크로그램/공여자 체중의 kg, 16 마이크로그램/공여자 체중의 kg, 17 마이크로그램/공여자 체중의 kg, 18 마이크로그램/공여자 체중의 kg, 19 마이크로그램/공여자 체중의 kg, 20 마이크로그램/공여자 체중의 kg, 또는 20 마이크로그램/공여자 체중의 kg보다 많을 수 있다. 바람직한 사례에서, 공여자에 전달된 G-CSF의 각 분량은 8 마이크로그램/공여자 체중의 kg이다.

[0099] 일부 경우에, 성분채집술은 공여자가 G-CSF의 단일 분량을 받은 이후에 수행될 수 있다. 예로서, 성분채집술은 공여자가 G-CSF의 단일 분량을 받은 이후에 1 시간, 2 시간, 3 시간, 4 시간, 5 시간, 6 시간, 7 시간, 8 시간, 9 시간, 10 시간, 11 시간, 12 시간, 13 시간, 14 시간, 15 시간, 16 시간, 17 시간, 18 시간, 19 시간, 20 시간, 21 시간, 22 시간, 23 시간, 24 시간, 25 시간, 26 시간, 27 시간, 28 시간, 29 시간, 30 시간, 31 시간, 32 시간, 33 시간, 34 시간, 35 시간, 36 시간, 37 시간, 38 시간, 39 시간, 40 시간, 41 시간, 42 시간, 43 시간, 44 시간, 45 시간, 46 시간, 47 시간, 48 시간, 또는 48보다 많은 시간에 수행될 수 있다.

[0100] 일부 경우에, 성분채집술은 공여자가 G-CSF의 복수 분량의 최종 분량을 받은 이후에 수행될 수 있다. 예로서, 성분채집술은 공여자가 G-CSF의 복수 분량의 최종 분량을 받은 이후에 1 시간, 2 시간, 3 시간, 4 시간, 5 시간, 6 시간, 7 시간, 8 시간, 9 시간, 10 시간, 11 시간, 12 시간, 13 시간, 14 시간, 15 시간, 16 시간, 17 시간, 18 시간, 19 시간, 20 시간, 21 시간, 22 시간, 23 시간, 24 시간, 25 시간, 26 시간, 27 시간, 28 시간, 29 시간, 30 시간, 31 시간, 32 시간, 33 시간, 34 시간, 35 시간, 36 시간, 37 시간, 38 시간, 39 시간, 40 시간, 41 시간, 42 시간, 43 시간, 44 시간, 45 시간, 46 시간, 47 시간, 48 시간, 또는 48보다 많은 시간에 수행될 수 있다.

[0101] 일부 경우에, 성분채집술이 공여자로부터 성분채집술 산물을 획득하기 위해 수행될 수 있다. 예로서, 최소한 하나의 성분채집술 산물, 2개의 성분채집술 산물, 3개의 성분채집술 산물, 4개의 성분채집술 산물 또는 5개의 성분채집술 산물이 공여자로부터 획득될 수 있다. 일부 경우에, 최소한 2개의 성분채집술 산물, 3개의 성분채집술 산물, 4개의 성분채집술 산물, 5개의 성분채집술 산물, 6개의 성분채집술 산물, 7개의 성분채집술 산물, 8개의 성분채집술 산물, 9개의 성분채집술 산물, 10개의 성분채집술 산물, 11개의 성분채집술 산물, 12개의 성분채집술 산물, 13개의 성분채집술 산물, 14개의 성분채집술 산물 또는 최소한 15개의 성분채집술 산물이 공여자로부터 획득될 수 있다.

- [0102] 일부 경우에, 조혈 세포는 수용자에 HLA-정합된 실질 장기 공여자로부터 획득될 수 있다. 이러한 경우에, 조혈 세포는 실질 장기와 실질 장기 수용자에 HLA-정합된다. 일부 경우에, 조혈 세포는 수용자에 HLA-부정합된 실질 장기 공여자로부터 획득될 수 있다. 이러한 경우에, 조혈 세포는 실질 장기에 HLA-정합되고, 그리고 실질 장기 수용자에 HLA-부정합된다.
- [0103] 본원에서 설명된 방법을 위해, 조혈 세포는 실질 장기 공여자로부터 단리 후에 또는 단리와 정제 후에 동결 (가령, 냉동보존)될 수 있다. 일부 경우에, 조혈 세포는 냉동보존 매체 및 당업자에게 공지된 냉동보존의 방법을 이용하여 냉동보존될 수 있다. 일부 경우에, 조혈 세포는 디메틸설폭시드 (DMSO), 노르모솔, 헤타스타치 및 인간 혈청 알부민 (HSA)을 내포하는 냉동보존 매체를 이용하여 냉동보존될 수 있다.
- [0104] 일부 경우에, 냉동보존 매체에서 DMSO의 농도는 0.1% DMSO, 0.2% DMSO, 0.3% DMSO, 0.4% DMSO, 0.5% DMSO, 0.6% DMSO, 0.7% DMSO, 0.8% DMSO, 0.9% DMSO, 1.0% DMSO, 1.1% DMSO, 1.2% DMSO, 1.3% DMSO, 1.4% DMSO, 1.5% DMSO, 1.6% DMSO, 1.7% DMSO, 1.8% DMSO, 1.9% DMSO, 2.0% DMSO, 2.1% DMSO, 2.2% DMSO, 2.3% DMSO, 2.4% DMSO, 2.5% DMSO, 2.6% DMSO, 2.7% DMSO, 2.8% DMSO, 2.9% DMSO, 3.0% DMSO, 3.1% DMSO, 3.2% DMSO, 3.3% DMSO, 3.4% DMSO, 3.5% DMSO, 3.6% DMSO, 3.7% DMSO, 3.8% DMSO, 3.9% DMSO, 4.0% DMSO, 4.1% DMSO, 4.2% DMSO, 4.3% DMSO, 4.4% DMSO, 4.5% DMSO, 4.6% DMSO, 4.7% DMSO, 4.8% DMSO, 4.9% DMSO, 5.0% DMSO, 5.1% DMSO, 5.2% DMSO, 5.3% DMSO, 5.4% DMSO, 5.5% DMSO, 5.6% DMSO, 5.7% DMSO, 5.8% DMSO, 5.9% DMSO, 6.0% DMSO, 6.1% DMSO, 6.2% DMSO, 6.3% DMSO, 6.4% DMSO, 6.5% DMSO, 6.6% DMSO, 6.7% DMSO, 6.8% DMSO, 6.9% DMSO, 7.0% DMSO, 7.1% DMSO, 7.2% DMSO, 7.3% DMSO, 7.4% DMSO, 7.5% DMSO, 7.6% DMSO, 7.7% DMSO, 7.8% DMSO, 7.9% DMSO, 8.0% DMSO, 8.1% DMSO, 8.2% DMSO, 8.3% DMSO, 8.4% DMSO, 8.5% DMSO, 8.6% DMSO, 8.7% DMSO, 8.8% DMSO, 8.9% DMSO, 9.0% DMSO, 9.1% DMSO, 9.2% DMSO, 9.3% DMSO, 9.4% DMSO, 9.5% DMSO, 9.6% DMSO, 9.7% DMSO, 9.8% DMSO, 9.9% DMSO, 10% DMSO, 10.5% DMSO, 11% DMSO, 11.5% DMSO, 12% DMSO, 12.5% DMSO, 13% DMSO, 13.5% DMSO, 14% DMSO, 14.5% DMSO, 15% DMSO, 15.5% DMSO, 16% DMSO, 16.5% DMSO, 17% DMSO, 17.5% DMSO, 18% DMSO, 18.5% DMSO, 19% DMSO, 20% DMSO, 20.5% DMSO, 21% DMSO, 21.5% DMSO, 22% DMSO, 22.5% DMSO, 23% DMSO, 23.5% DMSO, 24% DMSO, 24.5% DMSO, 25% DMSO, 25.5% DMSO, 26% DMSO, 26.5% DMSO, 27% DMSO, 27.5% DMSO, 28% DMSO, 28.5% DMSO, 29% DMSO, 29.5% DMSO, 30% DMSO, 40% DMSO 또는 50% DMSO보다 적을 수 있다.
- [0105] 일부 경우에, 냉동보존 매체에서 노르모솔의 농도는 0.1% 노르모솔, 0.2% 노르모솔, 0.3% 노르모솔, 0.4% 노르모솔, 0.5% 노르모솔, 0.6% 노르모솔, 0.7% 노르모솔, 0.8% 노르모솔, 0.9% 노르모솔, 1.0% 노르모솔, 1.1% 노르모솔, 1.2% 노르모솔, 1.3% 노르모솔, 1.4% 노르모솔, 1.5% 노르모솔, 1.6% 노르모솔, 1.7% 노르모솔, 1.8% 노르모솔, 1.9% 노르모솔, 2.0% 노르모솔, 2.1% 노르모솔, 2.2% 노르모솔, 2.3% 노르모솔, 2.4% 노르모솔, 2.5% 노르모솔, 2.6% 노르모솔, 2.7% 노르모솔, 2.8% 노르모솔, 2.9% 노르모솔, 3.0% 노르모솔, 3.1% 노르모솔, 3.2% 노르모솔, 3.3% 노르모솔, 3.4% 노르모솔, 3.5% 노르모솔, 3.6% 노르모솔, 3.7% 노르모솔, 3.8% 노르모솔, 3.9% 노르모솔, 4.0% 노르모솔, 4.1% 노르모솔, 4.2% 노르모솔, 4.3% 노르모솔, 4.4% 노르모솔, 4.5% 노르모솔, 4.6% 노르모솔, 4.7% 노르모솔, 4.8% 노르모솔, 4.9% 노르모솔, 5.0% 노르모솔, 5.1% 노르모솔, 5.2% 노르모솔, 5.3% 노르모솔, 5.4% 노르모솔, 5.5% 노르모솔, 5.6% 노르모솔, 5.7% 노르모솔, 5.8% 노르모솔, 5.9% 노르모솔, 6.0% 노르모솔, 6.1% 노르모솔, 6.2% 노르모솔, 6.3% 노르모솔, 6.4% 노르모솔, 6.5% 노르모솔, 6.6% 노르모솔, 6.7% 노르모솔, 6.8% 노르모솔, 6.9% 노르모솔, 7.0% 노르모솔, 7.1% 노르모솔, 7.2% 노르모솔, 7.3% 노르모솔, 7.4% 노르모솔, 7.5% 노르모솔, 7.6% 노르모솔, 7.7% 노르모솔, 7.8% 노르모솔, 7.9% 노르모솔, 8.0% 노르모솔, 8.1% 노르모솔, 8.2% 노르모솔, 8.3% 노르모솔, 8.4% 노르모솔, 8.5% 노르모솔, 8.6% 노르모솔, 8.7% 노르모솔, 8.8% 노르모솔, 8.9% 노르모솔, 9.0% 노르모솔, 9.1% 노르모솔, 9.2% 노르모솔, 9.3% 노르모솔, 9.4% 노르모솔, 9.5% 노르모솔, 9.6% 노르모솔, 9.7% 노르모솔, 9.8% 노르모솔, 9.9% 노르모솔, 10% 노르모솔, 10.5% 노르모솔, 11% 노르모솔, 11.5% 노르모솔, 12% 노르모솔, 12.5% 노르모솔, 13% 노르모솔, 13.5% 노르모솔, 14% 노르모솔, 14.5% 노르모솔, 15% 노르모솔, 15.5% 노르모솔, 16% 노르모솔, 16.5% 노르모솔, 17% 노르모솔, 17.5% 노르모솔, 18% 노르모솔, 18.5% 노르모솔, 19% 노르모솔, 20% 노르모솔, 20.5% 노르모솔, 21% 노르모솔, 21.5% 노르모솔, 22% 노르모솔, 22.5% 노르모솔, 23% 노르모솔, 23.5% 노르모솔, 24% 노르모솔, 24.5% 노르모솔, 25% 노르모솔, 25.5% 노르모솔, 26% 노르모솔, 26.5% 노르모솔, 27% 노르모솔, 27.5% 노르모솔, 28% 노르모솔, 28.5% 노르모솔, 29% 노르모솔, 29.5% 노르모솔, 30% 노르모솔, 40% 노르모솔 또는 50% 노르모솔보다 적을 수 있다.
- [0106] 일부 경우에, 냉동보존 매체에서 헤타스타치의 농도는 0.1% 헤타스타치, 0.2% 헤타스타치, 0.3% 헤타스타치, 0.4% 헤타스타치, 0.5% 헤타스타치, 0.6% 헤타스타치, 0.7% 헤타스타치, 0.8% 헤타스타치, 0.9% 헤타스타치,

1.0% 헤타스타치, 1.1% 헤타스타치, 1.2% 헤타스타치, 1.3% 헤타스타치, 1.4% 헤타스타치, 1.5% 헤타스타치, 1.6% 헤타스타치, 1.7% 헤타스타치, 1.8% 헤타스타치, 1.9% 헤타스타치, 2.0% 헤타스타치, 2.1% 헤타스타치, 2.2% 헤타스타치, 2.3% 헤타스타치, 2.4% 헤타스타치, 2.5% 헤타스타치, 2.6% 헤타스타치, 2.7% 헤타스타치, 2.8% 헤타스타치, 2.9% 헤타스타치, 3.0% 헤타스타치, 3.1% 헤타스타치, 3.2% 헤타스타치, 3.3% 헤타스타치, 3.4% 헤타스타치, 3.5% 헤타스타치, 3.6% 헤타스타치, 3.7% 헤타스타치, 3.8% 헤타스타치, 3.9% 헤타스타치, 4.0% 헤타스타치, 4.1% 헤타스타치, 4.2% 헤타스타치, 4.3% 헤타스타치, 4.4% 헤타스타치, 4.5% 헤타스타치, 4.6% 헤타스타치, 4.7% 헤타스타치, 4.8% 헤타스타치, 4.9% 헤타스타치, 5.0% 헤타스타치, 5.1% 헤타스타치, 5.2% 헤타스타치, 5.3% 헤타스타치, 5.4% 헤타스타치, 5.5% 헤타스타치, 5.6% 헤타스타치, 5.7% 헤타스타치, 5.8% 헤타스타치, 5.9% 헤타스타치, 6.0% 헤타스타치, 6.1% 헤타스타치, 6.2% 헤타스타치, 6.3% 헤타스타치, 6.4% 헤타스타치, 6.5% 헤타스타치, 6.6% 헤타스타치, 6.7% 헤타스타치, 6.8% 헤타스타치, 6.9% 헤타스타치, 7.0% 헤타스타치, 7.1% 헤타스타치, 7.2% 헤타스타치, 7.3% 헤타스타치, 7.4% 헤타스타치, 7.5% 헤타스타치, 7.6% 헤타스타치, 7.7% 헤타스타치, 7.8% 헤타스타치, 7.9% 헤타스타치, 8.0% 헤타스타치, 8.1% 헤타스타치, 8.2% 헤타스타치, 8.3% 헤타스타치, 8.4% 헤타스타치, 8.5% 헤타스타치, 8.6% 헤타스타치, 8.7% 헤타스타치, 8.8% 헤타스타치, 8.9% 헤타스타치, 9.0% 헤타스타치, 9.1% 헤타스타치, 9.2% 헤타스타치, 9.3% 헤타스타치, 9.4% 헤타스타치, 9.5% 헤타스타치, 9.6% 헤타스타치, 9.7% 헤타스타치, 9.8% 헤타스타치, 9.9% 헤타스타치, 10% 헤타스타치, 10.5% 헤타스타치, 11% 헤타스타치, 11.5% 헤타스타치, 12% 헤타스타치, 12.5% 헤타스타치, 13% 헤타스타치, 13.5% 헤타스타치, 14% 헤타스타치, 14.5% 헤타스타치, 15% 헤타스타치, 15.5% 헤타스타치, 16% 헤타스타치, 16.5% 헤타스타치, 17% 헤타스타치, 17.5% 헤타스타치, 18% 헤타스타치, 18.5% 헤타스타치, 19% 헤타스타치, 20% 헤타스타치, 20.5% 헤타스타치, 21% 헤타스타치, 21.5% 헤타스타치, 22% 헤타스타치, 22.5% 헤타스타치, 23% 헤타스타치, 23.5% 헤타스타치, 24% 헤타스타치, 24.5% 헤타스타치, 25% 헤타스타치, 25.5% 헤타스타치, 26% 헤타스타치, 26.5% 헤타스타치, 27% 헤타스타치, 27.5% 헤타스타치, 28% 헤타스타치, 28.5% 헤타스타치, 29% 헤타스타치, 29.5% 헤타스타치, 30% 헤타스타치, 40% 헤타스타치 또는 50% 헤타스타치보다 적을 수 있다.

[0107] 일부 경우에, 냉동보존 매체에서 HSA의 농도는 0.1% HSA, 0.2% HSA, 0.3% HSA, 0.4% HSA, 0.5% HSA, 0.6% HSA, 0.7% HSA, 0.8% HSA, 0.9% HSA, 1.0% HSA, 1.1% HSA, 1.2% HSA, 1.3% HSA, 1.4% HSA, 1.5% HSA, 1.6% HSA, 1.7% HSA, 1.8% HSA, 1.9% HSA, 2.0% HSA, 2.1% HSA, 2.2% HSA, 2.3% HSA, 2.4% HSA, 2.5% HSA, 2.6% HSA, 2.7% HSA, 2.8% HSA, 2.9% HSA, 3.0% HSA, 3.1% HSA, 3.2% HSA, 3.3% HSA, 3.4% HSA, 3.5% HSA, 3.6% HSA, 3.7% HSA, 3.8% HSA, 3.9% HSA, 4.0% HSA, 4.1% HSA, 4.2% HSA, 4.3% HSA, 4.4% HSA, 4.5% HSA, 4.6% HSA, 4.7% HSA, 4.8% HSA, 4.9% HSA, 5.0% HSA, 5.1% HSA, 5.2% HSA, 5.3% HSA, 5.4% HSA, 5.5% HSA, 5.6% HSA, 5.7% HSA, 5.8% HSA, 5.9% HSA, 6.0% HSA, 6.1% HSA, 6.2% HSA, 6.3% HSA, 6.4% HSA, 6.5% HSA, 6.6% HSA, 6.7% HSA, 6.8% HSA, 6.9% HSA, 7.0% HSA, 7.1% HSA, 7.2% HSA, 7.3% HSA, 7.4% HSA, 7.5% HSA, 7.6% HSA, 7.7% HSA, 7.8% HSA, 7.9% HSA, 8.0% HSA, 8.1% HSA, 8.2% HSA, 8.3% HSA, 8.4% HSA, 8.5% HSA, 8.6% HSA, 8.7% HSA, 8.8% HSA, 8.9% HSA, 9.0% HSA, 9.1% HSA, 9.2% HSA, 9.3% HSA, 9.4% HSA, 9.5% HSA, 9.6% HSA, 9.7% HSA, 9.8% HSA, 9.9% HSA, 10% HSA, 10.5% HSA, 11% HSA, 11.5% HSA, 12% HSA, 12.5% HSA, 13% HSA, 13.5% HSA, 14% HSA, 14.5% HSA, 15% HSA, 15.5% HSA, 16% HSA, 16.5% HSA, 17% HSA, 17.5% HSA, 18% HSA, 18.5% HSA, 19% HSA, 20% HSA, 20.5% HSA, 21% HSA, 21.5% HSA, 22% HSA, 22.5% HSA, 23% HSA, 23.5% HSA, 24% HSA, 24.5% HSA, 25% HSA, 25.5% HSA, 26% HSA, 26.5% HSA, 27% HSA, 27.5% HSA, 28% HSA, 28.5% HSA, 29% HSA, 29.5% HSA, 30% HSA, 40% HSA 또는 50% HSA보다 적을 수 있다.

[0108] 일부 경우에, 냉동보존 매체는 본원에서 설명된 방법에 따라서, 그리고 이들 방법에서 이용을 위해, 조혈 세포를 냉동보존하기 위해 다른 성분을 내포할 수 있다.

[0109] 본원에서 설명된 방법을 위해, 조혈 세포는 실질 장기 공여자로부터 단리 후에 또는 단리와 정제 후에 동결 (가령, 냉동보존)될 수 있다. 일부 경우에, 조혈 세포는 냉동보존 매체 및 당업자에게 공지된 냉동보존의 방법을 이용하여 냉동보존될 수 있다. 일부 경우에, 조혈 세포는 디메틸설폭시드 (DMSO), 소 태아 혈청 (FCS) 및 RPMI 매체를 내포하는 냉동보존 매체를 이용하여 냉동보존될 수 있다.

[0110] 일부 경우에, 냉동보존 매체에서 DMSO의 농도는 0.1% DMSO, 0.2% DMSO, 0.3% DMSO, 0.4% DMSO, 0.5% DMSO, 0.6% DMSO, 0.7% DMSO, 0.8% DMSO, 0.9% DMSO, 1.0% DMSO, 1.1% DMSO, 1.2% DMSO, 1.3% DMSO, 1.4% DMSO, 1.5% DMSO, 1.6% DMSO, 1.7% DMSO, 1.8% DMSO, 1.9% DMSO, 2.0% DMSO, 2.1% DMSO, 2.2% DMSO, 2.3% DMSO, 2.4% DMSO, 2.5% DMSO, 2.6% DMSO, 2.7% DMSO, 2.8% DMSO, 2.9% DMSO, 3.0% DMSO, 3.1% DMSO, 3.2% DMSO, 3.3% DMSO, 3.4% DMSO, 3.5% DMSO, 3.6% DMSO, 3.7% DMSO, 3.8% DMSO, 3.9% DMSO, 4.0% DMSO, 4.1% DMSO,

4.2% DMSO, 4.3% DMSO, 4.4% DMSO, 4.5% DMSO, 4.6% DMSO, 4.7% DMSO, 4.8% DMSO, 4.9% DMSO, 5.0% DMSO, 5.1% DMSO, 5.2% DMSO, 5.3% DMSO, 5.4% DMSO, 5.5% DMSO, 5.6% DMSO, 5.7% DMSO, 5.8% DMSO, 5.9% DMSO, 6.0% DMSO, 6.1% DMSO, 6.2% DMSO, 6.3% DMSO, 6.4% DMSO, 6.5% DMSO, 6.6% DMSO, 6.7% DMSO, 6.8% DMSO, 6.9% DMSO, 7.0% DMSO, 7.1% DMSO, 7.2% DMSO, 7.3% DMSO, 7.4% DMSO, 7.5% DMSO, 7.6% DMSO, 7.7% DMSO, 7.8% DMSO, 7.9% DMSO, 8.0% DMSO, 8.1% DMSO, 8.2% DMSO, 8.3% DMSO, 8.4% DMSO, 8.5% DMSO, 8.6% DMSO, 8.7% DMSO, 8.8% DMSO, 8.9% DMSO, 9.0% DMSO, 9.1% DMSO, 9.2% DMSO, 9.3% DMSO, 9.4% DMSO, 9.5% DMSO, 9.6% DMSO, 9.7% DMSO, 9.8% DMSO, 9.9% DMSO, 10% DMSO, 10.5% DMSO, 11% DMSO, 11.5% DMSO, 12% DMSO, 12.5% DMSO, 13% DMSO, 13.5% DMSO, 14% DMSO, 14.5% DMSO, 15% DMSO, 15.5% DMSO, 16% DMSO, 16.5% DMSO, 17% DMSO, 17.5% DMSO, 18% DMSO, 18.5% DMSO, 19% DMSO, 20% DMSO, 20.5% DMSO, 21% DMSO, 21.5% DMSO, 22% DMSO, 22.5% DMSO, 23% DMSO, 23.5% DMSO, 24% DMSO, 24.5% DMSO, 25% DMSO, 25.5% DMSO, 26% DMSO, 26.5% DMSO, 27% DMSO, 27.5% DMSO, 28% DMSO, 28.5% DMSO, 29% DMSO, 29.5% DMSO, 30% DMSO, 40% DMSO 또는 50% DMSO보다 적을 수 있다.

[0111] 일부 경우에, 냉동보존 매체에서 FCS의 농도는 1.0% FCS, 2.0% FCS, 3.0% FCS, 4.0% FCS, 5.0% FCS, 6.0% FCS, 7.0% FCS, 8.0% FCS, 9.0% FCS, 10% FCS, 10.5% FCS, 11% FCS, 11.5% FCS, 12% FCS, 12.5% FCS, 13% FCS, 13.5% FCS, 14% FCS, 14.5% FCS, 15% FCS, 15.5% FCS, 16% FCS, 16.5% FCS, 17% FCS, 17.5% FCS, 18% FCS, 18.5% FCS, 19% FCS, 20% FCS, 20.5% FCS, 21% FCS, 21.5% FCS, 22% FCS, 22.5% FCS, 23% FCS, 23.5% FCS, 24% FCS, 24.5% FCS, 25% FCS, 25.5% FCS, 26% FCS, 26.5% FCS, 27% FCS, 27.5% FCS, 28% FCS, 28.5% FCS, 29% FCS, 29.5% FCS, 30% FCS, 30.5% FCS, 31% FCS, 31.5% FCS, 32% FCS, 32.5% FCS, 33% FCS, 33.5% FCS, 34% FCS, 34.5% FCS, 35% FCS, 35.5% FCS, 36% FCS, 36.5% FCS, 37% FCS, 37.5% FCS, 38% FCS, 38.5% FCS, 39% FCS, 40% FCS, 40.5% FCS, 41% FCS, 41.5% FCS, 42% FCS, 42.5% FCS, 43% FCS, 43.5% FCS, 44% FCS, 44.5% FCS, 45% FCS, 45.5% FCS, 46% FCS, 46.5% FCS, 47% FCS, 47.5% FCS, 48% FCS, 48.5% FCS, 49% FCS, 50% FCS, 50.5% FCS, 51% FCS, 51.5% FCS, 52% FCS, 52.5% FCS, 53% FCS, 53.5% FCS, 54% FCS, 54.5% FCS, 55% FCS, 55.5% FCS, 56% FCS, 56.5% FCS, 57% FCS, 57.5% FCS, 58% FCS, 58.5% FCS, 59% FCS, 60% FCS, 60.5% FCS, 61% FCS, 61.5% FCS, 62% FCS, 62.5% FCS, 63% FCS, 63.5% FCS, 64% FCS, 64.5% FCS, 65% FCS, 65.5% FCS, 66% FCS, 66.5% FCS, 67% FCS, 67.5% FCS, 68% FCS, 68.5% FCS, 69% FCS, 70% FCS, 70.5% FCS, 71% FCS, 71.5% FCS, 72% FCS, 72.5% FCS, 73% FCS, 73.5% FCS, 74% FCS, 74.5% FCS, 75% FCS, 75.5% FCS, 76% FCS, 76.5% FCS, 77% FCS, 77.5% FCS, 78% FCS, 78.5% FCS, 79% FCS 또는 80% FCS보다 클 수 있다.

[0112] 일부 경우에, 냉동보존 매체에서 RPMI의 농도는 1.0% RPMI, 2.0% RPMI, 3.0% RPMI, 4.0% RPMI, 5.0% RPMI, 6.0% RPMI, 7.0% RPMI, 8.0% RPMI, 9.0% RPMI, 10% RPMI, 10.5% RPMI, 11% RPMI, 11.5% RPMI, 12% RPMI, 12.5% RPMI, 13% RPMI, 13.5% RPMI, 14% RPMI, 14.5% RPMI, 15% RPMI, 15.5% RPMI, 16% RPMI, 16.5% RPMI, 17% RPMI, 17.5% RPMI, 18% RPMI, 18.5% RPMI, 19% RPMI, 20% RPMI, 20.5% RPMI, 21% RPMI, 21.5% RPMI, 22% RPMI, 22.5% RPMI, 23% RPMI, 23.5% RPMI, 24% RPMI, 24.5% RPMI, 25% RPMI, 25.5% RPMI, 26% RPMI, 26.5% RPMI, 27% RPMI, 27.5% RPMI, 28% RPMI, 28.5% RPMI, 29% RPMI, 29.5% RPMI, 30% RPMI, 30.5% RPMI, 31% RPMI, 31.5% RPMI, 32% RPMI, 32.5% RPMI, 33% RPMI, 33.5% RPMI, 34% RPMI, 34.5% RPMI, 35% RPMI, 35.5% RPMI, 36% RPMI, 36.5% RPMI, 37% RPMI, 37.5% RPMI, 38% RPMI, 38.5% RPMI, 39% RPMI, 40% RPMI, 40.5% RPMI, 41% RPMI, 41.5% RPMI, 42% RPMI, 42.5% RPMI, 43% RPMI, 43.5% RPMI, 44% RPMI, 44.5% RPMI, 45% RPMI, 45.5% RPMI, 46% RPMI, 46.5% RPMI, 47% RPMI, 47.5% RPMI, 48% RPMI, 48.5% RPMI, 49% RPMI, 50% RPMI, 50.5% RPMI, 51% RPMI, 51.5% RPMI, 52% RPMI, 52.5% RPMI, 53% RPMI, 53.5% RPMI, 54% RPMI, 54.5% RPMI, 55% RPMI, 55.5% RPMI, 56% RPMI, 56.5% RPMI, 57% RPMI, 57.5% RPMI, 58% RPMI, 58.5% RPMI, 59% RPMI, 60% RPMI, 60.5% RPMI, 61% RPMI, 61.5% RPMI, 62% RPMI, 62.5% RPMI, 63% RPMI, 63.5% RPMI, 64% RPMI, 64.5% RPMI, 65% RPMI, 65.5% RPMI, 66% RPMI, 66.5% RPMI, 67% RPMI, 67.5% RPMI, 68% RPMI, 68.5% RPMI, 69% RPMI, 70% RPMI, 70.5% RPMI, 71% RPMI, 71.5% RPMI, 72% RPMI, 72.5% RPMI, 73% RPMI, 73.5% RPMI, 74% RPMI, 74.5% RPMI, 75% RPMI, 75.5% RPMI, 76% RPMI, 76.5% RPMI, 77% RPMI, 77.5% RPMI, 78% RPMI, 78.5% RPMI, 79% RPMI 또는 80% RPMI보다 클 수 있다.

[0113] 일부 경우에, 냉동보존 매체는 본원에서 설명된 방법에 따라서, 그리고 이들 방법에서 이용을 위해, 조혈 세포를 냉동보존하기 위해 다른 성분을 내포할 수 있다.

[0114] 조혈 세포의 냉동보존은 일단 냉동보존 매체 내에 내포되면, 세포를 제어된 속도 냉동하는 과정을 포함한다. 일부 경우에, 제어된 속도 냉동의 속도와 온도를 제어하기 위한 컴퓨터가 장비된 저온냉동기가 조혈 세포의 냉동보존을 수행하는데 이용될 수 있다. 예로서, 조혈 세포는 6.5 °C에서 또는 그 미만에서 챔버 온도를 갖는 저온

냉동기에서 배치될 수 있다. 컴퓨터는 저온냉동기가 최소한 -130°C 또는 그 미만의 온도에 도달하고 조혈 세포가 본원에서 설명된 방법에 따른 방식에서 보존되도록 제어된 속도 냉동의 속도와 온도를 제어할 수 있다. 일부 경우에, 저온냉동기는 조혈 세포가 보관되는 냉동기의 온도를 제어하기 위해 액체 질소를 이용한다.

[0115] 일부 경우에, 조혈 세포는 수용자에 전달에 앞서 저온냉동기에서 냉동보존되고 보관될 수 있다. 일부 경우에, 조혈 세포는 1 일, 2 일, 3 일, 4 일, 5 일, 6 일, 7 일, 8 일, 9 일, 10 일, 11 일, 12 일, 13 일, 14 일, 15 일, 16 일, 17 일, 18 일, 19 일, 20 일, 21 일, 22 일, 23 일, 24 일, 25 일, 26 일, 27 일, 28 일, 29 일, 30 일, 31 일, 32 일, 33 일, 34 일, 35 일, 36 일, 37 일, 38 일, 39 일, 40 일, 41 일, 42 일, 43 일, 44 일, 45 일, 46 일, 47 일, 48 일, 49 일, 50 일, 51 일, 52 일, 53 일, 54 일, 55 일, 56 일, 57 일, 58 일, 59 일 또는 60 일보다 적은 기간 동안 냉동보존될 수 있다.

[0116] 일부 경우에, 조혈 세포는 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 7 개월, 8 개월, 9 개월, 10 개월, 11 개월, 12 개월, 13 개월, 14 개월, 15 개월, 16 개월, 17 개월, 18 개월, 19 개월, 20 개월, 21 개월, 22 개월, 23 개월, 24 개월, 25 개월, 26 개월, 27 개월, 28 개월, 29 개월, 30 개월, 31 개월, 32 개월, 33 개월, 34 개월, 35 개월, 36 개월, 37 개월, 38 개월, 39 개월, 40 개월, 41 개월, 42 개월, 43 개월, 44 개월, 45 개월, 46 개월, 47 개월, 48 개월, 49 개월, 50 개월, 51 개월, 52 개월, 53 개월, 54 개월, 55 개월, 56 개월, 57 개월, 58 개월, 59 개월 또는 60 개월보다 적은 기간 동안 냉동보존될 수 있다.

[0117] 일부 경우에, 조혈 세포는 1 년, 2 년, 3 년, 4 년, 5 년, 6 년, 7 년, 8 년, 9 년, 10 년, 11 년, 12 년, 13 년, 14 년, 15 년, 16 년, 17 년, 18 년, 19 년, 20 년, 21 년, 22 년, 23 년, 24 년, 25 년, 26 년, 27 년, 28 년, 29 년, 30 년, 31 년, 32 년, 33 년, 34 년, 35 년, 36 년, 37 년, 38 년, 39 년, 40 년, 41 년, 42 년, 43 년, 44 년, 45 년, 46 년, 47 년, 48 년, 49 년, 50 년, 51 년, 52 년, 53 년, 54 년, 55 년, 56 년, 57 년, 58 년, 59 년 또는 60 년보다 적은 기간 동안 냉동보존될 수 있다.

[0118] 일부 경우에, 조혈 세포는 1 일, 2 일, 3 일, 4 일, 5 일, 6 일, 7 일, 8 일, 9 일, 10 일, 11 일, 12 일, 13 일, 14 일, 15 일, 16 일, 17 일, 18 일, 19 일, 20 일, 21 일, 22 일, 23 일, 24 일, 25 일, 26 일, 27 일, 28 일, 29 일, 30 일, 31 일, 32 일, 33 일, 34 일, 35 일, 36 일, 37 일, 38 일, 39 일, 40 일, 41 일, 42 일, 43 일, 44 일, 45 일, 46 일, 47 일, 48 일, 49 일, 50 일, 51 일, 52 일, 53 일, 54 일, 55 일, 56 일, 57 일, 58 일, 59 일 또는 60 일보다 많은 기간 동안 냉동보존될 수 있다.

[0119] 일부 경우에, 조혈 세포는 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 7 개월, 8 개월, 9 개월, 10 개월, 11 개월, 12 개월, 13 개월, 14 개월, 15 개월, 16 개월, 17 개월, 18 개월, 19 개월, 20 개월, 21 개월, 22 개월, 23 개월, 24 개월, 25 개월, 26 개월, 27 개월, 28 개월, 29 개월, 30 개월, 31 개월, 32 개월, 33 개월, 34 개월, 35 개월, 36 개월, 37 개월, 38 개월, 39 개월, 40 개월, 41 개월, 42 개월, 43 개월, 44 개월, 45 개월, 46 개월, 47 개월, 48 개월, 49 개월, 50 개월, 51 개월, 52 개월, 53 개월, 54 개월, 55 개월, 56 개월, 57 개월, 58 개월, 59 개월 또는 60 개월보다 많은 기간 동안 냉동보존될 수 있다.

[0120] 일부 경우에, 조혈 세포는 1 년, 2 년, 3 년, 4 년, 5 년, 6 년, 7 년, 8 년, 9 년, 10 년, 11 년, 12 년, 13 년, 14 년, 15 년, 16 년, 17 년, 18 년, 19 년, 20 년, 21 년, 22 년, 23 년, 24 년, 25 년, 26 년, 27 년, 28 년, 29 년, 30 년, 31 년, 32 년, 33 년, 34 년, 35 년, 36 년, 37 년, 38 년, 39 년, 40 년, 41 년, 42 년, 43 년, 44 년, 45 년, 46 년, 47 년, 48 년, 49 년, 50 년, 51 년, 52 년, 53 년, 54 년, 55 년, 56 년, 57 년, 58 년, 59 년 또는 60 년보다 많은 기간 동안 냉동보존될 수 있다.

[0121] 일부 경우에, 냉동보존은 조혈 세포 사멸을 유발할 수 있는데, 이것은 수용자 내로 주입에 앞서 세포의 해동 시에 결정된다. 당업자에게 공지된, 세포 사멸을 결정하는 전통적인 방법 (가령, 트리판 블루 염색, 유세포분석법 등)을 이용하여, 냉동보존된 조혈 세포의 배치에서 죽은 세포의 퍼센트가 결정될 수 있다. 일부 경우에, 냉동보존된 세포를 해동한 후에, 죽은 세포는 0.1% 죽은 세포, 0.2% 죽은 세포, 0.3% 죽은 세포, 0.4% 죽은 세포, 0.5% 죽은 세포, 0.6% 죽은 세포, 0.7% 죽은 세포, 0.8% 죽은 세포, 0.9% 죽은 세포, 1.0% 죽은 세포, 1.1% 죽은 세포, 1.2% 죽은 세포, 1.3% 죽은 세포, 1.4% 죽은 세포, 1.5% 죽은 세포, 1.6% 죽은 세포, 1.7% 죽은 세포, 1.8% 죽은 세포, 1.9% 죽은 세포, 2.0% 죽은 세포, 2.1% 죽은 세포, 2.2% 죽은 세포, 2.3% 죽은 세포, 2.4% 죽은 세포, 2.5% 죽은 세포, 2.6% 죽은 세포, 2.7% 죽은 세포, 2.8% 죽은 세포, 2.9% 죽은 세포, 3.0% 죽은 세포, 3.1% 죽은 세포, 3.2% 죽은 세포, 3.3% 죽은 세포, 3.4% 죽은 세포, 3.5% 죽은 세포, 3.6% 죽은 세포, 3.7% 죽은 세포, 3.8% 죽은 세포, 3.9% 죽은 세포, 4.0% 죽은 세포, 4.1% 죽은 세포, 4.2% 죽은 세포, 4.3% 죽은 세포, 4.4% 죽은 세포, 4.5% 죽은 세포, 4.6% 죽은 세포, 4.7% 죽은 세포, 4.8% 죽은 세포, 4.9% 죽은 세포, 5.0% 죽은 세포, 5.1% 죽은 세포, 5.2% 죽은 세포, 5.3% 죽은 세포, 5.4% 죽은 세포, 5.5% 죽은

세포, 5.6% 죽은 세포, 5.7% 죽은 세포, 5.8% 죽은 세포, 5.9% 죽은 세포, 6.0% 죽은 세포, 6.1% 죽은 세포, 6.2% 죽은 세포, 6.3% 죽은 세포, 6.4% 죽은 세포, 6.5% 죽은 세포, 6.6% 죽은 세포, 6.7% 죽은 세포, 6.8% 죽은 세포, 6.9% 죽은 세포, 7.0% 죽은 세포, 7.1% 죽은 세포, 7.2% 죽은 세포, 7.3% 죽은 세포, 7.4% 죽은 세포, 7.5% 죽은 세포, 7.6% 죽은 세포, 7.7% 죽은 세포, 7.8% 죽은 세포, 7.9% 죽은 세포, 8.0% 죽은 세포, 8.1% 죽은 세포, 8.2% 죽은 세포, 8.3% 죽은 세포, 8.4% 죽은 세포, 8.5% 죽은 세포, 8.6% 죽은 세포, 8.7% 죽은 세포, 8.8% 죽은 세포, 8.9% 죽은 세포, 9.0% 죽은 세포, 9.1% 죽은 세포, 9.2% 죽은 세포, 9.3% 죽은 세포, 9.4% 죽은 세포, 9.5% 죽은 세포, 9.6% 죽은 세포, 9.7% 죽은 세포, 9.8% 죽은 세포, 9.9% 죽은 세포, 10% 죽은 세포, 10.5% 죽은 세포, 11% 죽은 세포, 11.5% 죽은 세포, 12% 죽은 세포, 12.5% 죽은 세포, 13% 죽은 세포, 13.5% 죽은 세포, 14% 죽은 세포, 14.5% 죽은 세포, 15% 죽은 세포, 15.5% 죽은 세포, 16% 죽은 세포, 16.5% 죽은 세포, 17% 죽은 세포, 17.5% 죽은 세포, 18% 죽은 세포, 18.5% 죽은 세포, 19% 죽은 세포, 20% 죽은 세포, 20.5% 죽은 세포, 21% 죽은 세포, 21.5% 죽은 세포, 22% 죽은 세포, 22.5% 죽은 세포, 23% 죽은 세포, 23.5% 죽은 세포, 24% 죽은 세포, 24.5% 죽은 세포, 25% 죽은 세포, 25.5% 죽은 세포, 26% 죽은 세포, 26.5% 죽은 세포, 27% 죽은 세포, 27.5% 죽은 세포, 28% 죽은 세포, 28.5% 죽은 세포, 29% 죽은 세포, 29.5% 죽은 세포, 30% 죽은 세포, 40% 죽은 세포 또는 50% 죽은 세포보다 적을 수 있다.

[0122] **조혈 줄기 세포의 단리와 정제**

[0123] 본원에서 설명된 방법을 위해, 조혈 줄기 세포는 골수, 말초혈, 또는 체대혈로부터 유래될 수 있다. 일부 경우에, 조혈 줄기 세포는 공여자와 수용자 사이에 HLA-정합될 수 있다. 다른 경우에, 조혈 줄기 세포는 공여자와 수용자 사이에 HLA-부정합될 수 있다.

[0124] 일부 경우에, 특정한 유형의 세포는 조혈 줄기 세포로부터 단리되고 정제될 수 있다. 일부 경우에, 조혈 줄기 세포로부터 단리되고 정제될 수 있는 세포는 CD34+ 세포와 CD3+ 세포이다. 일부 경우에, CD34+와 CD3+ 세포는 조혈 줄기 세포의 동일한 분획물로부터 단리된다. 일부 경우에, CD34+와 CD3+ 세포는 조혈 줄기 세포의 상이한 분획물로부터 단리된다. 일부 경우에, CD34+ 세포는 선조체 세포이다. 일부 경우에, CD3+ 세포는 T 세포이다.

[0125] 일부 경우에, CD34+ 세포는 공여자 조혈 세포로부터 단리되고 정제된다. 예로서, CD34+ 세포는 적합한 CD34 친화성 시약에 선별적으로 결합함으로써 공여자 조혈 세포로부터 단리되고 정제될 수 있다. 일부 경우에, CD34 친화성 시약은 항체, 전장 항체, 항체의 단편, 자연발생 항체, 합성 항체, 가공된 항체, 전장 어피바디, 어피바디의 단편, 전장 아필린, 아필린의 단편, 전장 안티칼린, 안티칼린의 단편, 전장 아비머, 아비머의 단편, 전장 DARPin, DARPin의 단편, 전장 피노머, 피노머의 단편, 전장 쿠니츠 도메인 펩티드, 쿠니츠 도메인 펩티드의 단편, 전장 모노바디, 모노바디의 단편, 펩티드, 폴리아미노산, 기타 등등일 수 있다.

[0126] 일부 경우에, 친화성 시약은 검출 시약 및/또는 정제 시약에 직접적으로 접합된다. 일부 경우에, 검출 시약과 정제 시약은 동일하다. 다른 경우에, 검출 시약과 정제 시약은 상이하다. 예로서, 검출 시약 및/또는 정제 시약은 형광, 자성 등이다. 일부 경우에, 검출 시약 및/또는 정제 시약은 칼럼 정제를 위한 자성 입자이다. 예로서, 자성 칼럼 정제는 당업자에게 공지된 칼럼, 항체, 완충액, 제조 물질과 시약, 기타 등등의 Miltenyi 시스템을 이용하여 수행될 수 있다.

[0127] 일부 경우에, 자성 입자를 이용하여 단리되고 정제된 CD34+ 세포는 철을 내포할 수 있다. 단리되고 정제된 CD34+ 세포의 철 함량은 단리와 정제에 앞서 CD34+ 세포에서 철 함량보다 자성 입자를 이용한 단리와 정제 후에 더욱 클 수 있다. 예로서, 단리되고 정제된 CD34+ 세포는 500 pg의 철/세포, 450 pg의 철/세포, 400 pg의 철/세포, 350 pg의 철/세포, 300 pg의 철/세포, 250 pg의 철/세포, 225 pg의 철/세포, 200 pg의 철/세포, 190 pg의 철/세포, 180 pg의 철/세포, 170 pg의 철/세포, 160 pg의 철/세포, 150 pg의 철/세포, 140 pg의 철/세포, 130 pg의 철/세포, 120 pg의 철/세포, 110 pg의 철/세포, 109 pg의 철/세포, 108 pg의 철/세포, 107 pg의 철/세포, 106 pg의 철/세포, 105 pg의 철/세포, 104 pg의 철/세포, 103 pg의 철/세포, 102 pg의 철/세포, 101 pg의 철/세포, 100 pg의 철/세포, 99 pg의 철/세포, 98 pg의 철/세포, 97 pg의 철/세포, 96 pg의 철/세포, 95 pg의 철/세포, 94 pg의 철/세포, 93 pg의 철/세포, 92 pg의 철/세포, 91 pg의 철/세포, 90 pg의 철/세포, 89 pg의 철/세포, 88 pg의 철/세포, 87 pg의 철/세포, 86 pg의 철/세포, 85 pg의 철/세포, 84 pg의 철/세포, 83 pg의 철/세포, 82 pg의 철/세포, 81 pg의 철/세포, 80 pg의 철/세포, 79 pg의 철/세포, 78 pg의 철/세포, 77 pg의 철/세포, 76 pg의 철/세포, 75 pg의 철/세포, 74 pg의 철/세포, 73 pg의 철/세포, 72 pg의 철/세포, 71 pg의 철/세포, 70 pg의 철/세포, 69 pg의 철/세포, 68 pg의 철/세포, 67 pg의 철/세포, 66 pg의 철/세포, 65 pg의 철/세포, 64 pg의 철/세포, 63 pg의 철/세포, 62 pg의 철/세포, 61 pg의 철/세포, 60 pg의 철/세포, 59 pg의 철/세포, 58 pg의 철/세포, 57 pg의 철/세포, 56 pg의 철/세포, 55 pg의 철/세포, 54 pg의 철/세포, 53 pg의 철/

세포, 52 pg의 철/세포, 51 pg의 철/세포, 50 pg의 철/세포, 49 pg의 철/세포, 48 pg의 철/세포, 47 pg의 철/세포, 46 pg의 철/세포, 45 pg의 철/세포, 44 pg의 철/세포, 43 pg의 철/세포, 42 pg의 철/세포, 41 pg의 철/세포, 40 pg의 철/세포, 39 pg의 철/세포, 38 pg의 철/세포, 37 pg의 철/세포, 36 pg의 철/세포, 35 pg의 철/세포, 34 pg의 철/세포, 33 pg의 철/세포, 32 pg의 철/세포, 31 pg의 철/세포, 30 pg의 철/세포, 29 pg의 철/세포, 28 pg의 철/세포, 27 pg의 철/세포, 26 pg의 철/세포, 25 pg의 철/세포, 24 pg의 철/세포, 23 pg의 철/세포, 22 pg의 철/세포, 21 pg의 철/세포, 20 pg의 철/세포, 19 pg의 철/세포, 18 pg의 철/세포, 17 pg의 철/세포, 16 pg의 철/세포, 15 pg의 철/세포, 14 pg의 철/세포, 13 pg의 철/세포, 12 pg의 철/세포, 11 pg의 철/세포, 10 pg의 철/세포, 9 pg의 철/세포, 8 pg의 철/세포, 7 pg의 철/세포, 6 pg의 철/세포, 5 pg의 철/세포, 4 pg의 철/세포, 3 pg의 철/세포, 2 pg의 철/세포, 또는 1 pg의 철/세포보다 적은 함량을 내포할 수 있다.

[0128] 일부 경우에, CD3+ 세포는 공여자 조혈 세포로부터 단리되고 정제된다. 예로서, CD3+ 세포는 적합한 CD3 친화성 시약에 선별적으로 결합함으로써 공여자 조혈 세포로부터 단리되고 정제될 수 있다. 일부 경우에, CD3 친화성 시약은 항체, 전장 항체, 항체의 단편, 자연발생 항체, 합성 항체, 가공된 항체, 전장 어피바디, 어피바디의 단편, 전장 아필린, 아필린의 단편, 전장 안티칼린, 안티칼린의 단편, 전장 아비머, 아비머의 단편, 전장 DARPIn, DARPIn의 단편, 전장 피노머, 피노머의 단편, 전장 쿠니츠 도메인 펩티드, 쿠니츠 도메인 펩티드의 단편, 전장 모노바디, 모노바디의 단편, 펩티드, 폴리아미노산, 기타 등등일 수 있다.

[0129] 일부 경우에, 친화성 시약은 검출 시약 및/또는 정제 시약에 직접적으로 접합된다. 일부 경우에, 검출 시약과 정제 시약은 동일하다. 다른 경우에, 검출 시약과 정제 시약은 상이하다. 예로서, 검출 시약 및/또는 정제 시약은 형광, 자성 등이다. 일부 경우에, 검출 시약 및/또는 정제 시약은 칼럼 정제를 위한 자성 입자이다. 예로서, 자성 칼럼 정제는 당업자에게 공지된 칼럼, 항체, 완충액, 제조 물질과 시약, 기타 등등의 Miltenyi 시스템을 이용하여 수행될 수 있다.

[0130] CD3+ 세포는 2가지 세포 개체군 중에서 한 가지에서 선택될 수 있다. 일부 경우에, 성분채집술 산물은 2가지 부분, CD3+ 세포를 단리하고 정제하는데 이용된 한쪽 부분 및 CD34+ 세포를 단리하고 정제하기 위한 다른 부분으로 분할될 수 있다. 일부 경우에, CD34+ 세포는 성분채집술 산물로부터 단리되고 정제되어 CD34-음성 세포 분획물이 창출된다. 일부 경우에, CD34-음성 분획물 내에 CD3+ 세포의 숫자가 결정될 수 있고, 그리고 적절한 분량의 CD3 세포를 내포하는 CD34-음성 분획물의 부피가 단리되고 정제된 CD34+ 세포의 부피와 합동된다. 예로서, CD34+ 세포와 CD3+ 세포는 최소한 친화성 작용제와 칼럼을 이용하여 최소한 하나의 성분채집술 산물로부터 단리되고, CD34+ 세포는 칼럼으로부터 용출물에서 위치되고, 그리고 CD3+ 세포는 칼럼으로부터 CD34- 세포 고갈된 관류 분획물에서 위치된다. 다른 실례에서, 성분채집술 산물의 CD34-고갈된 분획물은 친화성 칼럼으로부터 CD34-고갈된 관류 분획물이다.

[0131] 일부 경우에, 음성 분획물에서 CD3+ 세포의 숫자는 CD3+에 대한 친화성 시약을 이용하여 결정될 수 있다. 예로서, 친화성 시약은 본 발명에서 앞서 설명된 항체, 펩티드 등일 수 있다. 일부 경우에, 친화성 시약은 검출 모이어티를 포함할 수 있다. 예로서, 검출 모이어티는 본 발명에서 앞서 설명된 형광, 자성 등일 수 있다.

[0132] 일부 경우에, 자성 입자를 이용하여 단리되고 정제된 CD3+ 세포는 철을 내포할 수 있다. 단리되고 정제된 CD3+ 세포의 철 함량은 단리와 정제에 앞서 CD3+ 세포에서 철 함량보다 자성 입자를 이용한 단리와 정제 후에 더욱 클 수 있다. 예로서, 단리되고 정제된 CD3+ 세포는 500 pg의 철/세포, 450 pg의 철/세포, 400 pg의 철/세포, 350 pg의 철/세포, 300 pg의 철/세포, 250 pg의 철/세포, 225 pg의 철/세포, 200 pg의 철/세포, 190 pg의 철/세포, 180 pg의 철/세포, 170 pg의 철/세포, 160 pg의 철/세포, 150 pg의 철/세포, 140 pg의 철/세포, 130 pg의 철/세포, 120 pg의 철/세포, 110 pg의 철/세포, 109 pg의 철/세포, 108 pg의 철/세포, 107 pg의 철/세포, 106 pg의 철/세포, 105 pg의 철/세포, 104 pg의 철/세포, 103 pg의 철/세포, 102 pg의 철/세포, 101 pg의 철/세포, 100 pg의 철/세포, 99 pg의 철/세포, 98 pg의 철/세포, 97 pg의 철/세포, 96 pg의 철/세포, 95 pg의 철/세포, 94 pg의 철/세포, 93 pg의 철/세포, 92 pg의 철/세포, 91 pg의 철/세포, 90 pg의 철/세포, 89 pg의 철/세포, 88 pg의 철/세포, 87 pg의 철/세포, 86 pg의 철/세포, 85 pg의 철/세포, 84 pg의 철/세포, 83 pg의 철/세포, 82 pg의 철/세포, 81 pg의 철/세포, 80 pg의 철/세포, 79 pg의 철/세포, 78 pg의 철/세포, 77 pg의 철/세포, 76 pg의 철/세포, 75 pg의 철/세포, 74 pg의 철/세포, 73 pg의 철/세포, 72 pg의 철/세포, 71 pg의 철/세포, 70 pg의 철/세포, 69 pg의 철/세포, 68 pg의 철/세포, 67 pg의 철/세포, 66 pg의 철/세포, 65 pg의 철/세포, 64 pg의 철/세포, 63 pg의 철/세포, 62 pg의 철/세포, 61 pg의 철/세포, 60 pg의 철/세포, 59 pg의 철/세포, 58 pg의 철/세포, 57 pg의 철/세포, 56 pg의 철/세포, 55 pg의 철/세포, 54 pg의 철/세포, 53 pg의 철/세포, 52 pg의 철/세포, 51 pg의 철/세포, 50 pg의 철/세포, 49 pg의 철/세포, 48 pg의 철/세포, 47 pg의 철/세포, 46 pg의 철/세포, 45 pg의 철/세포, 44 pg의 철/세포, 43 pg의 철/세포, 42 pg의 철/세포, 41 pg의 철/

세포, 40 pg의 철/세포, 39 pg의 철/세포, 38 pg의 철/세포, 37 pg의 철/세포, 36 pg의 철/세포, 35 pg의 철/세포, 34 pg의 철/세포, 33 pg의 철/세포, 32 pg의 철/세포, 31 pg의 철/세포, 30 pg의 철/세포, 29 pg의 철/세포, 28 pg의 철/세포, 27 pg의 철/세포, 26 pg의 철/세포, 25 pg의 철/세포, 24 pg의 철/세포, 23 pg의 철/세포, 22 pg의 철/세포, 21 pg의 철/세포, 20 pg의 철/세포, 19 pg의 철/세포, 18 pg의 철/세포, 17 pg의 철/세포, 16 pg의 철/세포, 15 pg의 철/세포, 14 pg의 철/세포, 13 pg의 철/세포, 12 pg의 철/세포, 11 pg의 철/세포, 10 pg의 철/세포, 9 pg의 철/세포, 8 pg의 철/세포, 7 pg의 철/세포, 6 pg의 철/세포, 5 pg의 철/세포, 4 pg의 철/세포, 3 pg의 철/세포, 2 pg의 철/세포, 또는 1 pg의 철/세포보다 적은 함량을 내포할 수 있다.

[0133] 일부 경우에, 자성 입자를 이용하여 분리되고 정제된 CD34+와 CD3+ 세포 둘 모두 철을 내포할 수 있다. 분리되고 정제된 CD34+와 CD3+ 세포의 철 함량은 분리와 정제에 앞서 CD34+와 CD3+ 세포에서 철 함량보다 자성 입자를 이용한 분리와 정제 후에 더욱 클 수 있다. 예로서, 분리되고 정제된 CD34+와 CD3+ 세포는 500 pg의 철/세포, 450 pg의 철/세포, 400 pg의 철/세포, 350 pg의 철/세포, 300 pg의 철/세포, 250 pg의 철/세포, 225 pg의 철/세포, 200 pg의 철/세포, 190 pg의 철/세포, 180 pg의 철/세포, 170 pg의 철/세포, 160 pg의 철/세포, 150 pg의 철/세포, 140 pg의 철/세포, 130 pg의 철/세포, 120 pg의 철/세포, 110 pg의 철/세포, 109 pg의 철/세포, 108 pg의 철/세포, 107 pg의 철/세포, 106 pg의 철/세포, 105 pg의 철/세포, 104 pg의 철/세포, 103 pg의 철/세포, 102 pg의 철/세포, 101 pg의 철/세포, 100 pg의 철/세포, 99 pg의 철/세포, 98 pg의 철/세포, 97 pg의 철/세포, 96 pg의 철/세포, 95 pg의 철/세포, 94 pg의 철/세포, 93 pg의 철/세포, 92 pg의 철/세포, 91 pg의 철/세포, 90 pg의 철/세포, 89 pg의 철/세포, 88 pg의 철/세포, 87 pg의 철/세포, 86 pg의 철/세포, 85 pg의 철/세포, 84 pg의 철/세포, 83 pg의 철/세포, 82 pg의 철/세포, 81 pg의 철/세포, 80 pg의 철/세포, 79 pg의 철/세포, 78 pg의 철/세포, 77 pg의 철/세포, 76 pg의 철/세포, 75 pg의 철/세포, 74 pg의 철/세포, 73 pg의 철/세포, 72 pg의 철/세포, 71 pg의 철/세포, 70 pg의 철/세포, 69 pg의 철/세포, 68 pg의 철/세포, 67 pg의 철/세포, 66 pg의 철/세포, 65 pg의 철/세포, 64 pg의 철/세포, 63 pg의 철/세포, 62 pg의 철/세포, 61 pg의 철/세포, 60 pg의 철/세포, 59 pg의 철/세포, 58 pg의 철/세포, 57 pg의 철/세포, 56 pg의 철/세포, 55 pg의 철/세포, 54 pg의 철/세포, 53 pg의 철/세포, 52 pg의 철/세포, 51 pg의 철/세포, 50 pg의 철/세포, 49 pg의 철/세포, 48 pg의 철/세포, 47 pg의 철/세포, 46 pg의 철/세포, 45 pg의 철/세포, 44 pg의 철/세포, 43 pg의 철/세포, 42 pg의 철/세포, 41 pg의 철/세포, 40 pg의 철/세포, 39 pg의 철/세포, 38 pg의 철/세포, 37 pg의 철/세포, 36 pg의 철/세포, 35 pg의 철/세포, 34 pg의 철/세포, 33 pg의 철/세포, 32 pg의 철/세포, 31 pg의 철/세포, 30 pg의 철/세포, 29 pg의 철/세포, 28 pg의 철/세포, 27 pg의 철/세포, 26 pg의 철/세포, 25 pg의 철/세포, 24 pg의 철/세포, 23 pg의 철/세포, 22 pg의 철/세포, 21 pg의 철/세포, 20 pg의 철/세포, 19 pg의 철/세포, 18 pg의 철/세포, 17 pg의 철/세포, 16 pg의 철/세포, 15 pg의 철/세포, 14 pg의 철/세포, 13 pg의 철/세포, 12 pg의 철/세포, 11 pg의 철/세포, 10 pg의 철/세포, 9 pg의 철/세포, 8 pg의 철/세포, 7 pg의 철/세포, 6 pg의 철/세포, 5 pg의 철/세포, 4 pg의 철/세포, 3 pg의 철/세포, 2 pg의 철/세포, 또는 1 pg의 철/세포보다 적은 함량을 내포할 수 있다.

[0134] **제약학적 조성물을 위한 조혈 줄기 세포의 가공과 제조**

[0135] 본원에서 설명된 방법을 이용하여 공여자로부터 유래된 CD34+와 CD3+ 세포의 조합은 실질 장기 수용자에 투여를 위한 제약학적 조성물로 가공될 수 있다. 일부 경우에, 조혈 세포는 수용자 내로 주입을 위한 단일 제약학적 조성물로 가공될 수 있다. 다른 경우에, 조혈 세포는 수용자 내로 주입을 위한 복수 제약학적 조성물로 가공될 수 있다. 일부 경우에, CD34+와 CD3+ 세포는 공여자와 수용자 사이에 HLA-정합될 수 있다. 다른 경우에, CD34+와 CD3+ 세포는 공여자와 수용자 사이에 HLA-부정합될 수 있다.

[0136] 일부 경우에, 조혈 세포는 미리 결정된 순도의 CD34+ 조혈 세포를 갖는 제약학적 조성물로 가공될 수 있다. 예로서, 가공된 조혈 세포에서 CD34+ 선조체 세포의 순도는 $\geq 30\%$ 순도, $\geq 40\%$ 순도, $\geq 50\%$ 순도, $\geq 55\%$ 순도, $\geq 60\%$ 순도, $\geq 65\%$ 순도, $\geq 70\%$ 순도, $\geq 75\%$ 순도, $\geq 80\%$ 순도, $\geq 85\%$ 순도, $\geq 90\%$ 순도, $\geq 95\%$ 순도 또는 $\geq 98\%$ 순도일 수 있다. 다른 실험에서, 가공된 조혈 세포에서 CD34+ 선조체 세포의 순도는 10 내지 30% 순도, 15 내지 35% 순도, 20 내지 40% 순도, 25 내지 45% 순도, 30 내지 50% 순도, 35 내지 55% 순도, 40 내지 60% 순도, 45 내지 65% 순도, 50 내지 70% 순도, 55 내지 75% 순도, 60 내지 80% 순도, 65 내지 85% 순도, 70 내지 90% 순도, 75 내지 95% 순도, 그리고 80 내지 100% 순도일 수 있다. 예시적인 사례에서, 가공된 조혈 세포에서 CD34+ 선조체 세포의 순도는 $\geq 70\%$ 순도이다.

[0137] 예로서, 가공된 조혈 세포에서 CD3+ 세포의 순도는 $\geq 30\%$ 순도, $\geq 40\%$ 순도, $\geq 50\%$ 순도, $\geq 55\%$ 순도, $\geq 60\%$ 순도, $\geq 65\%$ 순도, $\geq 70\%$ 순도, $\geq 75\%$ 순도, $\geq 80\%$ 순도, $\geq 85\%$ 순도, $\geq 90\%$ 순도, $\geq 95\%$ 순도 또는 $\geq 98\%$ 순도일 수 있다. 다른 실험에서, 가공된 조혈 세포에서 CD3+ 세포의 순도는 10 내지 30% 순도, 15 내

지 35% 순도, 20 내지 40% 순도, 25 내지 45% 순도, 30 내지 50% 순도, 35 내지 55% 순도, 40 내지 60% 순도, 45 내지 65% 순도, 50 내지 70% 순도, 55 내지 75% 순도, 60 내지 80% 순도, 65 내지 85% 순도, 70 내지 90% 순도, 75 내지 95% 순도, 그리고 80 내지 100% 순도일 수 있다. 예시적인 사례에서, 가공된 조혈 세포에서 CD3+ 세포의 순도는 CD34+ 세포와 합동하기에 앞서 $\geq 70\%$ 순도이다.

[0138] 일부 경우에, 조혈 세포는 미리 결정된 순도의 CD34+ 선조체 세포를 갖는 산물로 가공될 수 있다. 예로서, 가공된 조혈 세포에서 CD34+ 선조체 세포의 순도는 $\geq 30\%$ 순도, $\geq 40\%$ 순도, $\geq 50\%$ 순도, $\geq 55\%$ 순도, $\geq 60\%$ 순도, $\geq 65\%$ 순도, $\geq 70\%$ 순도, $\geq 75\%$ 순도, $\geq 80\%$ 순도, $\geq 85\%$ 순도, $\geq 90\%$ 순도, $\geq 95\%$ 순도 또는 $\geq 98\%$ 순도일 수 있다. 다른 실례에서, 가공된 조혈 세포에서 CD34+ 선조체 세포의 순도는 10 내지 30% 순도, 15 내지 35% 순도, 20 내지 40% 순도, 25 내지 45% 순도, 30 내지 50% 순도, 35 내지 55% 순도, 40 내지 60% 순도, 45 내지 65% 순도, 50 내지 70% 순도, 55 내지 75% 순도, 60 내지 80% 순도, 65 내지 85% 순도, 70 내지 90% 순도, 75 내지 95% 순도, 그리고 80 내지 100% 순도일 수 있다. 예시적인 사례에서, 가공된 조혈 세포에서 CD34+ 선조체 세포의 순도는 CD3+ 세포와 합동하기에 앞서 $\geq 70\%$ 순도이다.

[0139] 가공된 조혈 세포는 수용자 내로 주사를 위한 특정한 숫자의 CD34+ 세포를 내포할 수 있다. 일부 경우에, 수용자 내로 주사되는 CD34+ 세포의 표적 분량은 $\geq 10 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 15 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 20 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 25 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 30 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 35 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 40 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 45 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 50 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 55 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 60 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 65 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 70 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 75 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 80 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 85 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 90 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 95 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 10 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 15 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 20 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 25 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 30 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 35 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 40 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 45 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 50 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 55 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 60 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 65 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 70 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 75 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 80 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 85 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 90 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 95 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 10 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 15 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 20 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 25 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 30 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 35 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 40 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 45 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 50 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 55 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 60 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 65 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 70 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 75 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 80 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 85 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 90 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 95 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 10 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 15 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 20 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 25 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 30 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 35 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 40 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 45 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 50 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 55 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 60 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 65 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 70 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 75 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 80 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 85 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 90 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 95 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 10 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 15 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 20 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 25 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 30 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 35 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 40 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 45 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 50 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 55 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 60 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 65 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 70 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 75 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 80 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 85 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 90 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 95 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 10 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 15 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 20 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 25 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 30 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 35 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 40 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 45 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 50 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 55 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 60 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 65 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 70 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 75 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 80 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 85 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 90 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 95 \times 10^8$ 세포/체중 kg 또는 $\geq 10 \times 10^9$ 세포/체중 kg이다.

[0140] 가공된 조혈 세포는 수용자 내로 주사를 위한 특정한 숫자의 CD3+ 세포를 내포할 수 있다. 일부 경우에, 수용자

내로 주사되는 CD3⁺ 세포의 표적 분량은 $\geq 10 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 15 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 20 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 25 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 30 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 35 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 40 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 45 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 50 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 55 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 60 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 65 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 70 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 75 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 80 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 85 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 90 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 95 \times 10^3$ 세포/체중 kg, $\geq 10 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 15 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 20 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 25 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 30 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 35 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 40 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 45 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 50 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 55 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 60 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 65 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 70 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 75 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 80 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 85 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 90 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 95 \times 10^4$ 세포/체중 kg, $\geq 10 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 15 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 20 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 25 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 30 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 35 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 40 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 45 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 50 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 55 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 60 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 65 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 70 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 75 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 80 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 85 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 90 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 95 \times 10^5$ 세포/체중 kg, $\geq 10 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 15 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 20 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 25 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 30 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 35 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 40 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 45 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 50 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 55 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 60 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 65 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 70 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 75 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 80 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 85 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 90 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 95 \times 10^6$ 세포/체중 kg, $\geq 10 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 15 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 20 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 25 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 30 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 35 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 40 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 45 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 50 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 55 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 60 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 65 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 70 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 75 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 80 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 85 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 90 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 95 \times 10^7$ 세포/체중 kg, $\geq 10 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 15 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 20 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 25 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 30 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 35 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 40 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 45 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 50 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 55 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 60 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 65 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 70 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 75 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 80 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 85 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 90 \times 10^8$ 세포/체중 kg, $\geq 95 \times 10^8$ 세포/체중 kg 또는 $\geq 10 \times 10^9$ 세포/체중 kg이다.

[0141] 일부 경우에, 가공된 조혈 세포는 HLA-정합된 또는 HLA-부정합된 수용자 내로 주입을 위한 CD34⁺와 CD3⁺ 세포의 조합을 내포할 수 있다. 한 가지 경우에, 최소한 10×10^6 CD34⁺ 세포/kg 수용자 체중 및 최소한 1.0×10^6 CD3⁺ 세포/kg이 수용자 내로 주입된다. 다른 경우에, 최소한 10×10^6 CD34⁺ 세포/kg 수용자 체중 및 최소한 1.0×10^7 CD3⁺ 세포/kg이 수용자 내로 주입된다. 다른 경우에, 최소한 10×10^6 CD34⁺ 세포/kg 수용자 체중 및 1.0 내지 5.0×10^6 CD3⁺ 세포/kg이 수용자 내로 주입된다. 다른 경우에, 15×10^6 보다 적은 CD34⁺ 세포/kg 수용자 체중 및 최소한 50×10^6 CD3⁺ 세포/kg이 수용자 내로 주입된다.

[0142] 분리되고 정제된 CD34⁺ 세포와 CD3⁺ 세포는 가공된 조혈 세포 조성물에서 이용에 앞서 새로 분리되거나 또는 동결 (가령, 냉동보존)될 수 있다. 일부 경우에, CD34⁺ 세포는 가공된 조혈 세포 조성물을 제조하기 위한 새로 분리된 또는 동결된 세포로서 이용에 앞서 CD3⁺ 세포와 합동될 수 있다.

[0143] 일부 경우에, CD34⁺와 CD3⁺ 세포는 새로 분리된 세포로서 또는 냉동보존된 세포로서 독립적으로 유지된다. 예로서, 새로 유지된 CD34⁺ 세포와 CD3⁺ 세포는 CD34⁺와 CD3⁺ 세포의 표적 분량이 주입을 위한 가공된 조성물에서 달성되도록 합동될 수 있다. 다른 경우에, 냉동보존된 CD34⁺와 CD3⁺ 세포는 독립적으로 해동될 수 있고, 그리고

각 세포 유형의 표적 분량이 해동 후에 결정될 수 있다. 해동된 CD34+와 CD3+ 세포는 CD34+와 CD3+ 세포의 표적 분량이 주입을 위한 가공된 조성물에서 달성되도록 합동될 수 있다.

[0144] **제약학적 조성물을 위한 가공된 조혈 세포의 처리**

[0145] 가공된 조혈 세포 (가령, CD34+와 CD3+ 세포)는 수용자에 투여를 위한 제약학적 조성물을 산출하기에 앞서 새로 제조되거나 또는 이전에 동결 (가령, 냉동보존)될 수 있다. 일부 경우에, CD34+와 CD3+ 세포는 공여자와 수용자 사이에 HLA-정합될 수 있다. 다른 경우에, CD34+와 CD3+ 세포는 공여자와 수용자 사이에 HLA-부정합될 수 있다.

[0146] 냉동보존의 방법은 본원의 다른 곳에서 설명된다. 일부 경우에, 1 분취량의 CD34+ 세포가 해동된다. 다른 경우에, 1보다 많은 분취량의 CD34+ 세포가 해동된다. 예로서, 최소한 1 분취량, 2 분취량, 3 분취량, 4 분취량, 5 분취량, 6분취량, 7 분취량, 8 분취량, 9 분취량, 10 분취량, 11 분취량, 12 분취량, 13 분취량, 14 분취량, 15 분취량, 16 분취량, 17 분취량, 18 분취량, 19 분취량, 20 분취량, 21 분취량, 22 분취량, 23 분취량, 24 분취량, 25 분취량, 26 분취량, 27 분취량, 28 분취량, 29 분취량, 30 분취량, 31 분취량, 32 분취량, 33 분취량, 34 분취량, 35 분취량, 36 분취량, 37 분취량, 38 분취량, 39 분취량, 40 분취량, 41 분취량, 42 분취량, 43 분취량, 44 분취량, 45 분취량, 46 분취량, 47 분취량, 48 분취량, 49 분취량, 50 분취량 또는 50보다 많은 분취량이 해동된다.

[0147] 일부 경우에, 1 분취량의 CD3+ 세포가 해동된다. 다른 경우에, 1보다 많은 분취량의 CD3+ 세포가 해동된다. 예로서, 최소한 1 분취량, 2 분취량, 3 분취량, 4 분취량, 5 분취량, 6분취량, 7 분취량, 8 분취량, 9 분취량, 10 분취량, 11 분취량, 12 분취량, 13 분취량, 14 분취량, 15 분취량, 16 분취량, 17 분취량, 18 분취량, 19 분취량, 20 분취량, 21 분취량, 22 분취량, 23 분취량, 24 분취량, 25 분취량, 26 분취량, 27 분취량, 28 분취량, 29 분취량, 30 분취량, 31 분취량, 32 분취량, 33 분취량, 34 분취량, 35 분취량, 36 분취량, 37 분취량, 38 분취량, 39 분취량, 40 분취량, 41 분취량, 42 분취량, 43 분취량, 44 분취량, 45 분취량, 46 분취량, 47 분취량, 48 분취량, 49 분취량, 50 분취량 또는 50보다 많은 분취량이 해동된다.

[0148] 일부 경우에, 1 분취량의 CD34+ 세포와 CD3+ 세포의 조합이 해동된다. 다른 경우에, 1보다 많은 분취량의 CD34+ 세포와 CD3+ 세포가 해동된다. 예로서, 최소한 1 분취량, 2 분취량, 3 분취량, 4 분취량, 5 분취량, 6분취량, 7 분취량, 8 분취량, 9 분취량, 10 분취량, 11 분취량, 12 분취량, 13 분취량, 14 분취량, 15 분취량, 16 분취량, 17 분취량, 18 분취량, 19 분취량, 20 분취량, 21 분취량, 22 분취량, 23 분취량, 24 분취량, 25 분취량, 26 분취량, 27 분취량, 28 분취량, 29 분취량, 30 분취량, 31 분취량, 32 분취량, 33 분취량, 34 분취량, 35 분취량, 36 분취량, 37 분취량, 38 분취량, 39 분취량, 40 분취량, 41 분취량, 42 분취량, 43 분취량, 44 분취량, 45 분취량, 46 분취량, 47 분취량, 48 분취량, 49 분취량, 50 분취량 또는 50보다 많은 분취량이 해동된다.

[0149] 일부 경우에, 새로 제조된 가공된 조혈 세포는 당업자에게 공지된 방법을 이용하여 탈체에서 확대될 수 있다. 다른 경우에, 이전에 동결된 가공된 조혈 세포가 당업자에게 공지된 방법을 이용하여 탈체에서 확대될 수 있다. 일부 경우에, 새로 제조된 또는 이전에 동결된 가공된 조혈 세포는 최소한 하나의 성장 인자의 이용에 의해 탈체에서 확대될 수 있다. 일부 경우에, 하나 이상의 성장 인자가 세포를 확대하는데 이용될 수 있다. 예로서, 성장 인자는 액티빈 A, ADAM-10, 안지오텐신, 안지오프이오텐-1, 안지오프이오텐-2, 안지오프이오텐-3, 안지오프이오텐-4, BIO, 뼈 형태형성 단백질-2, 뼈 형태형성 단백질-3, 뼈 형태형성 단백질-4, 뼈 형태형성 단백질-5, 뼈 형태형성 단백질-6, 뼈 형태형성 단백질-7, 뇌-유래된 신경영양 인자, E-카드헤린, Fc 키메라, 카텝신 G, ch2 저해제 II, 표피 성장 인자, 에오타신, 에오타신-2, 에오타신-3, Fas, 섬유모세포 성장 인자-4, 섬유모세포 성장 인자-5, 섬유모세포 성장 인자-6, 섬유모세포 성장 인자-8b, 섬유모세포 성장 인자-8c, 섬유모세포 성장 인자-9, 섬유모세포 성장 인자-10, 섬유모세포 성장 인자-17, 섬유모세포 성장 인자-18, 섬유모세포 성장 인자, 섬유모세포 성장 인자 산성, 섬유모세포 성장 인자 염기성, 섬유모세포 성장 인자 염기성 단편 1-24 소, 섬유모세포 성장 인자 수용체 1a, 섬유모세포 성장 인자 수용체 1b, 섬유모세포 성장 인자 수용체 2a, 섬유모세포 성장 인자 수용체 2b 섬유모세포 성장 인자 수용체 3a, 섬유모세포 성장 인자 수용체 4, flt-3, flk-2 리간드, 파립구 집락 자극 인자, 파립구-대식세포 집락 자극 인자, GROa, GROb, 헤파린-결합 EGF-유사 성장 인자, 헤레굴린-a1 EGF 도메인, 헤레굴린-b1 EGF 도메인, 헤레굴린 B, 인슐린-유사 성장 인자-1, 인슐린-유사 성장 인자-II 단편 33-40, 인슐린-유사 성장 인자 결합 단백질-2, 인슐린-유사 성장 인자-1, 인슐린-유사 성장 인자 II, 인터페론 a, 인터페론 aA, 인터페론 aA/D, 인터페론 b, 인터페론 g, 인터페론, 인터페론 g 수용체 1, 인터류킨-1a, 인터류킨-1b, 인터류킨 가용성 수용체 유형 II, 인터류킨-2, 인터류킨-2 가용성 수용체 a, 인터류킨-2 가용성 수용체 b, 인터류킨-2 가용성 수용체 g, 인터류킨-3, 인터류킨-5, 인터류킨-6, 인터류킨-6 가용성 수용체, 인터류킨-7, 인터류킨-8, 인터류킨-11, 인터류킨-12, 백혈병 저해성 인자, LONG EGF, LONG R2 IGF-1, LYN A, 대식

세포 염증성 단백질-1a, 대식세포 염증성 단백질-1b, 대식세포 염증성 단백질-1g, 매트릭스 금속단백질가수분해 효소-1, 매트릭스 금속단백질가수분해효소-2, 매트릭스 금속단백질가수분해효소-9, MIG, 단핵구 화학주성 단백질-1, 단핵구 화학주성 단백질-3, 단핵구 화학주성 단백질-4, 단핵구 화학주성 단백질-5, 신경 성장 인자 수용체, 뉴로트로핀-3, 뉴로트로핀-4, 노킨, 노치-1, 온코스타틴 M, 온코스타틴 M 수용체 b, 오스테오폰틴, 오스테오프로테제린, 페닐아르신 산화물, 혈소판 유래 성장 인자, 혈소판 유래 성장 인자-AB, 혈소판 유래 성장 인자-BB, 혈소판 유래 성장 인자 가용성 수용체 a, 혈소판 유래된 성장 인자 수용체 b, 항-POU5F1, oct4, RANTES, SCF 가용성 수용체, L-셀렉틴, 줄기 세포 인자, 간질 세포-유래된 인자 1a, 간질 세포-유래된 인자 1b, 트롬보포이에틴, Tie-1, 금속단백질가수분해효소-2의 조직 저해제, 전환 성장 인자-a, 전환 성장 인자-b1, 전환 성장 인자-b2, 전환 성장 인자-b3, 전환 성장 인자-b1 수용체 II 가용성 단편, 전환 성장 인자-b 가용성 수용체 III, TrkB, 혈관 내피 성장 인자 120, 혈관 내피 성장 인자 121, 혈관 내피 성장 인자 164, VEGF 수용체-2/F1k1/KDR 및/또는 VEGF 수용체-3/Flt-4일 수 있다. 탈체 확장에 이용된 각 성장 인자의 양은 당업자에게 알려져 있고 본원에서 설명된 방법에서 이용에 적합하다.

[0150] 일부 경우에, 새로 제조되거나 또는 이전에 동결된 가공된 조혈 세포는 최소한 하나의 유형의 배양보조 세포의 이용에 의해 탈체에서 확대될 수 있다. 배양보조 세포가 가공된 조혈 세포의 생존력을 유지하고, 그리고 가공된 조혈 세포 증식과 분화를 증진하도록, 임의의 유형의 배양보조 세포가 이용될 수 있다. 일부 경우에, 배양보조 세포가 가공된 조혈 세포의 생존력을 유지하고, 그리고 가공된 조혈 세포 증식과 분화를 증진하도록, 최소한 하나의 배양보조 세포와 합동된 최소한 하나의 성장 인자가 이용될 수 있다. 일부 경우에, 배양보조 세포는 유사 분열적으로 비활성일 수 있다. 일부 경우에, 하나 이상의 유형의 배양보조 세포가 세포를 확대하는데 이용될 수 있다. 일부 경우에, 배양보조 세포의 유형은 성체 생쥐 내피 세포, 배아 생쥐 내피 세포, 성체 생쥐 섬유모세포, 배아 생쥐 섬유모세포, 성인 내피 세포, 배아 인간 내피 세포, 성인 섬유모세포, 배아 인간 섬유모세포, 성체 비-인간 영장류 내피 세포, 배아 비-인간 영장류 내피 세포, 성체 비-인간 영장류 섬유모세포, 배아 비-인간 영장류 섬유모세포, 성체 소 내피 세포, 배아 소 내피 세포, 성체 소 섬유모세포, 배아 소 섬유모세포, 성체 돼지 내피 세포, 배아 돼지 내피 세포, 성체 돼지 섬유모세포, 배아 돼지 섬유모세포, 기타 등등으로부터 유래될 수 있다.

[0151] 일부 경우에, 배양보조 세포는 변형될 수 있다. 예로서, 변형은 유전적일 수 있다. 일부 경우에, 배양보조 세포는 비선천적 유전자를 발현하거나, 선천적 유전자의 발현을 억제하거나 또는 선천적 유전자를 과발현할 수 있다. 예로서, 배양보조 세포는 LacZ, GFP, RFP 등을 발현할 수 있다.

[0152] 조혈 줄기 세포의 조성

[0153] 본원에서 제공된 방법의 조혈 줄기 세포와 이들의 조성물은 인간 투여를 위해 충분히 무균 상태 하에 제조된 등장성 부형제를 포함하는 제약학적 조성물의 형태에서 공급될 수 있다. 세포 부형제 및 조성물의 임의의 동행하는 원소의 선택은 투여를 위해 이용된 루트와 장치에 따라 적합된다. 약물 제제에서 일반적인 원리를 위해, 독자는 Cell Therapy: Stem Cell Transplantation, Gene Therapy, and Cellular Immunotherapy, by G. Morstyn & W. Sheridan eds, Cambridge University Press, 1996; 그리고 Hematopoietic Stem Cell Therapy, E. D. Ball, J. Lister & P. Law, Churchill Livingstone, 2000을 참조한다.

[0154] 일부 경우에, 조혈 줄기 세포는 공여자와 수용자 사이에 HLA-정합될 수 있다. 다른 경우에, 조혈 줄기 세포는 공여자와 수용자 사이에 HLA-부정합될 수 있다.

[0155] 일부 경우에, 제약학적 조성물은 수용자에서 조혈 세포의 이식을 증강하는 작용제를 내포할 수 있다. 다른 경우에, 제약학적 조성물은 수용자에서 조혈 세포의 이식에 영향을 주지 않는 작용제를 내포할 수 있다. 일부 경우에, 제약학적 조성물은 조혈 세포에 대한 수용자의 부정적인 반응을 예방하는 작용제를 내포할 수 있다. 예로서, 앞서 언급된 바와 같은 임의의 작용제는 사이토킨, 케모킨, 성장 인자, 부형제, 담체, 비활성 분자, 항체 또는 이의 단편, 소형 분자, 약물, 효연제, 길항제, 화학약품 또는 기타 유사한 것일 수 있다. 수용자에서 조혈 세포의 제약학적 조성물에서 이용된 임의의 작용제는 생리학적으로 허용된다.

[0156] 다양한 방법이 조혈 세포를 수용자에 전달하는데 이용될 수 있고, 그리고 당업자에게 공지된 임의의 방법이 본원에서 설명된 조혈 세포에 적용될 수 있다. 예로서, 조혈 세포는 바늘, 카테터, 중심 라인 또는 기타 유사한 것을 이용한 주사에 의해 수용자에 전달될 수 있다. 일부 경우에, 조혈 세포는 혈관내, 정맥내, 동맥내, 두개내, 복막내, 피하, 근육내, 안와내, 또는 조혈 세포가 수용자에서 존속하고, 재건하고, 분화하도록 조혈 세포가 수용자 내에 적절한 부위로 귀소하는 것을 허용하는 임의의 공급원을 통해 전달될 수 있다.

- [0157] 가공된 조혈 세포의 조성물은 또한, 세포의 이식 또는 기능적 동원을 용이하게 하는 하나 또는 그 이상의 다른 성분을 포함하거나 또는 동반할 수 있다. 예로서, 성분은 세포를 뒷받침하고, 세포 또는 상보성 세포 유형 (가령, 내피 세포)의 부착을 증진하는 기질 단백질을 포함할 수 있다.
- [0158] 일부 경우에, 조혈 세포는 수용자 내에 장기, 조직 또는 세포 유형에 귀소할 수 있다. 예로서, 장기는 뇌, 갑상선, 눈, 피부, 폐, 췌장, 비장, 방광, 전립선, 신장, 위, 간, 심장, 부신, 기관지, 대장, 소장, 척수, 뼈, 골수, 뇌하수체, 타액선, 담낭, 후두, 림프절, 전립선, 골격근, 충수, 식도, 부갑상선, 기도, 요도, 난소, 고환, 자궁, 요관, 난관, 또는 체내에서 임의의 샘일 수 있다. 일부 경우에, 조직 또는 세포 유형은 장기의 부분일 수 있다. 일부 경우에, 조직 또는 세포 유형은 장기로부터 유래될 수 있다. 일부 경우에, 조직 또는 세포 유형은 장기로부터 단리될 수 있다.
- [0159] 일부 경우에, 조혈 줄기 세포의 수용자는 실질 장기 이식을 받지 못했을 수 있다. 다른 경우에, 수용자는 실질 장기 이식을 받았을 수 있다. 일부 경우에, 실질 장기 이식은 수용자에 가공된 조혈 줄기 세포의 투여에 앞서, 최소한 0.1 일, 0.2 일, 0.3 일, 0.4 일, 0.5 일, 0.6 일, 0.7 일, 0.8 일, 0.9 일, 1.0 일, 1.1 일, 1.2 일, 1.3 일, 1.4 일, 1.5 일, 1.6 일, 1.7 일, 1.8 일, 1.9 일, 2.0 일, 2.1 일, 2.2 일, 2.3 일, 2.4 일, 2.5 일, 2.6 일, 2.7 일, 2.8 일, 2.9 일, 3.0 일, 3.1 일, 3.2 일, 3.3 일, 3.4 일, 3.5 일, 3.6 일, 3.7 일, 3.8 일, 3.9 일, 4.0 일, 4.1 일, 4.2 일, 4.3 일, 4.4 일, 4.5 일, 4.6 일, 4.7 일, 4.8 일, 4.9 일, 5.0 일, 5.1 일, 5.2 일, 5.3 일, 5.4 일, 5.5 일, 5.6 일, 5.7 일, 5.8 일, 5.9 일, 6.0 일, 6.1 일, 6.2 일, 6.3 일, 6.4 일, 6.5 일, 6.6 일, 6.7 일, 6.8 일, 6.9 일, 7.0 일, 7.1 일, 7.2 일, 7.3 일, 7.4 일, 7.5 일, 7.6 일, 7.7 일, 7.8 일, 7.9 일, 8.0 일, 8.1 일, 8.2 일, 8.3 일, 8.4 일, 8.5 일, 8.6 일, 8.7 일, 8.8 일, 8.9 일, 9.0 일, 9.1 일, 9.2 일, 9.3 일, 9.4 일, 9.5 일, 9.6 일, 9.7 일, 9.8 일, 9.9 일, 10 일, 10.5 일, 11 일, 11.5 일, 12 일, 12.5 일, 13 일, 13.5 일, 14 일, 14.5 일, 15 일, 15.5 일, 16 일, 16.5 일, 17 일, 17.5 일, 18 일, 18.5 일, 19 일, 20 일, 20.5 일, 21 일, 21.5 일, 22 일, 22.5 일, 23 일, 23.5 일, 24 일, 24.5 일, 25 일, 25.5 일, 26 일, 26.5 일, 27 일, 27.5 일, 28 일, 28.5 일, 29 일, 30 일, 30.5 일, 31 일, 31.5 일, 32 일, 32.5 일, 33 일, 33.5 일, 34 일, 34.5 일, 35 일, 35.5 일, 36 일, 36.5 일, 37 일, 37.5 일, 38 일, 38.5 일, 39 일, 40 일, 40.5 일, 41 일, 41.5 일, 42 일, 42.5 일, 43 일, 43.5 일, 44 일, 44.5 일, 45 일, 45.5 일, 46 일, 46.5 일, 47 일, 47.5 일, 48 일, 48.5 일, 49 일 또는 50 일에 수행될 수 있다.
- [0160] 일부 경우에, 실질 장기 이식 수용자는 1회 분량의 가공된 조혈 줄기 세포가 투여될 수 있다. 다른 경우에, 실질 장기 이식 수용자는 1회보다 많은 분량의 가공된 조혈 줄기 세포가 투여될 수 있다. 일부 경우에, 각 분량의 가공된 조혈 줄기 세포 사이에 경과된 시간은 동일할 수 있다. 다른 경우에, 각 분량의 가공된 조혈 줄기 세포 사이에 경과된 시간은 상이할 수 있다.
- [0161] 예로서, 실질 장기 이식 수용자는 실질 장기 이식 이후 최소한 0.1 일, 0.2 일, 0.3 일, 0.4 일, 0.5 일, 0.6 일, 0.7 일, 0.8 일, 0.9 일, 1.0 일, 1.1 일, 1.2 일, 1.3 일, 1.4 일, 1.5 일, 1.6 일, 1.7 일, 1.8 일, 1.9 일, 2.0 일, 2.1 일, 2.2 일, 2.3 일, 2.4 일, 2.5 일, 2.6 일, 2.7 일, 2.8 일, 2.9 일, 3.0 일, 3.1 일, 3.2 일, 3.3 일, 3.4 일, 3.5 일, 3.6 일, 3.7 일, 3.8 일, 3.9 일, 4.0 일, 4.1 일, 4.2 일, 4.3 일, 4.4 일, 4.5 일, 4.6 일, 4.7 일, 4.8 일, 4.9 일, 5.0 일, 5.1 일, 5.2 일, 5.3 일, 5.4 일, 5.5 일, 5.6 일, 5.7 일, 5.8 일, 5.9 일, 6.0 일, 6.1 일, 6.2 일, 6.3 일, 6.4 일, 6.5 일, 6.6 일, 6.7 일, 6.8 일, 6.9 일, 7.0 일, 7.1 일, 7.2 일, 7.3 일, 7.4 일, 7.5 일, 7.6 일, 7.7 일, 7.8 일, 7.9 일, 8.0 일, 8.1 일, 8.2 일, 8.3 일, 8.4 일, 8.5 일, 8.6 일, 8.7 일, 8.8 일, 8.9 일, 9.0 일, 9.1 일, 9.2 일, 9.3 일, 9.4 일, 9.5 일, 9.6 일, 9.7 일, 9.8 일, 9.9 일, 10 일, 10.5 일, 11 일, 11.5 일, 12 일, 12.5 일, 13 일, 13.5 일, 14 일, 14.5 일, 15 일, 15.5 일, 16 일, 16.5 일, 17 일, 17.5 일, 18 일, 18.5 일, 19 일, 20 일, 20.5 일, 21 일, 21.5 일, 22 일, 22.5 일, 23 일, 23.5 일, 24 일, 24.5 일, 25 일, 25.5 일, 26 일, 26.5 일, 27 일, 27.5 일, 28 일, 28.5 일, 29 일, 30 일, 30.5 일, 31 일, 31.5 일, 32 일, 32.5 일, 33 일, 33.5 일, 34 일, 34.5 일, 35 일, 35.5 일, 36 일, 36.5 일, 37 일, 37.5 일, 38 일, 38.5 일, 39 일, 40 일, 40.5 일, 41 일, 41.5 일, 42 일, 42.5 일, 43 일, 43.5 일, 44 일, 44.5 일, 45 일, 45.5 일, 46 일, 46.5 일, 47 일, 47.5 일, 48 일, 48.5 일, 49 일 또는 50 일에 첫 번째 분량의 가공된 조혈 줄기 세포가 투여될 수 있다.
- [0162] 일부 경우에, 두 번째 분량의 가공된 조혈 줄기 세포가 수용자에 최소한 투여될 수 있다. 일부 경우에, 실질 장기 이식은 가공된 조혈 줄기 세포의 투여가 반복되도록 첫 번째 분량의 가공된 조혈 줄기 세포 후 최소한 0.1 일, 0.2 일, 0.3 일, 0.4 일, 0.5 일, 0.6 일, 0.7 일, 0.8 일, 0.9 일, 1.0 일, 1.1 일, 1.2 일, 1.3 일, 1.4 일, 1.5 일, 1.6 일, 1.7 일, 1.8 일, 1.9 일, 2.0 일, 2.1 일, 2.2 일, 2.3 일, 2.4 일, 2.5 일, 2.6 일, 2.7 일, 2.8 일, 2.9 일, 3.0 일, 3.1 일, 3.2 일, 3.3 일, 3.4 일, 3.5 일, 3.6 일, 3.7 일, 3.8 일, 3.9 일, 4.0

일, 4.1 일, 4.2 일, 4.3 일, 4.4 일, 4.5 일, 4.6 일, 4.7 일, 4.8 일, 4.9 일, 5.0 일, 5.1 일, 5.2 일, 5.3 일, 5.4 일, 5.5 일, 5.6 일, 5.7 일, 5.8 일, 5.9 일, 6.0 일, 6.1 일, 6.2 일, 6.3 일, 6.4 일, 6.5 일, 6.6 일, 6.7 일, 6.8 일, 6.9 일, 7.0 일, 7.1 일, 7.2 일, 7.3 일, 7.4 일, 7.5 일, 7.6 일, 7.7 일, 7.8 일, 7.9 일, 8.0 일, 8.1 일, 8.2 일, 8.3 일, 8.4 일, 8.5 일, 8.6 일, 8.7 일, 8.8 일, 8.9 일, 9.0 일, 9.1 일, 9.2 일, 9.3 일, 9.4 일, 9.5 일, 9.6 일, 9.7 일, 9.8 일, 9.9 일, 10 일, 10.5 일, 11 일, 11.5d ays, 12 일, 12.5 일, 13 일, 13.5 일, 14 일, 14.5 일, 15 일, 15.5 일, 16 일, 16.5 일, 17 일, 17.5 일, 18 일, 18.5 일, 19 일, 20 일, 20.5 일, 21 일, 21.5 일, 22 일, 22.5 일, 23 일, 23.5 일, 24 일, 24.5 일, 25 일, 25.5 일, 26 일, 26.5 일, 27 일, 27.5 일, 28 일, 28.5 일, 29 일, 30 일, 30.5 일, 31 일, 31.5 일, 32 일, 32.5 일, 33 일, 33.5 일, 34 일, 34.5 일, 35 일, 35.5 일, 36 일, 36.5 일, 37 일, 37.5 일, 38 일, 38.5 일, 39 일, 40 일, 40.5 일, 41 일, 41.5 일, 42 일, 42.5 일, 43 일, 43.5 일, 44 일, 44.5 일, 45 일, 45.5 일, 46 일, 46.5 일, 47 일, 47.5 일, 48 일, 48.5 일, 49 일 또는 50 일에 수행될 수 있다.

[0163] 일부 경우에, 2회 이상 분량의 가공된 조혈 줄기 세포가 실질 장기 이식 수용자에 투여될 수 있다. 예로서, 가공된 조혈 줄기 세포의 투여가 반복되도록 두 번째 분량과 세 번째 분량의 가공된 조혈 줄기 세포의 투여 사이에 최소한 .1 일, 0.2 일, 0.3 일, 0.4 일, 0.5 일, 0.6 일, 0.7 일, 0.8 일, 0.9 일, 1.0 일, 1.1 일, 1.2 일, 1.3 일, 1.4 일, 1.5 일, 1.6 일, 1.7 일, 1.8 일, 1.9 일, 2.0 일, 2.1 일, 2.2 일, 2.3 일, 2.4 일, 2.5 일, 2.6 일, 2.7 일, 2.8 일, 2.9 일, 3.0 일, 3.1 일, 3.2 일, 3.3 일, 3.4 일, 3.5 일, 3.6 일, 3.7 일, 3.8 일, 3.9 일, 4.0 일, 4.1 일, 4.2 일, 4.3 일, 4.4 일, 4.5 일, 4.6 일, 4.7 일, 4.8 일, 4.9 일, 5.0 일, 5.1 일, 5.2 일, 5.3 일, 5.4 일, 5.5 일, 5.6 일, 5.7 일, 5.8 일, 5.9 일, 6.0 일, 6.1 일, 6.2 일, 6.3 일, 6.4 일, 6.5 일, 6.6 일, 6.7 일, 6.8 일, 6.9 일, 7.0 일, 7.1 일, 7.2 일, 7.3 일, 7.4 일, 7.5 일, 7.6 일, 7.7 일, 7.8 일, 7.9 일, 8.0 일, 8.1 일, 8.2 일, 8.3 일, 8.4 일, 8.5 일, 8.6 일, 8.7 일, 8.8 일, 8.9 일, 9.0 일, 9.1 일, 9.2 일, 9.3 일, 9.4 일, 9.5 일, 9.6 일, 9.7 일, 9.8 일, 9.9 일, 10 일, 10.5 일, 11 일, 11.5 일, 12 일, 12.5 일, 13 일, 13.5 일, 14 일, 14.5 일, 15 일, 15.5 일, 16 일, 16.5 일, 17 일, 17.5 일, 18 일, 18.5 일, 19 일, 20 일, 20.5 일, 21 일, 21.5 일, 22 일, 22.5 일, 23 일, 23.5 일, 24 일, 24.5 일, 25 일, 25.5 일, 26 일, 26.5 일, 27 일, 27.5 일, 28 일, 28.5 일, 29 일, 30 일, 30.5 일, 31 일, 31.5 일, 32 일, 32.5 일, 33 일, 33.5 일, 34 일, 34.5 일, 35 일, 35.5 일, 36 일, 36.5 일, 37 일, 37.5 일, 38 일, 38.5 일, 39 일, 40 일, 40.5 일, 41 일, 41.5 일, 42 일, 42.5 일, 43 일, 43.5 일, 44 일, 44.5 일, 45 일, 45.5 일, 46 일, 46.5 일, 47 일, 47.5 일, 48 일, 48.5 일, 49 일 또는 50 일이 지나갈 수 있다.

[0164] 전술한 시간 프레임 중에서 한 가지는 또한, 세 번째와 네 번째 분량, 네 번째와 다섯 번째 분량, 다섯 번째와 여섯 번째 분량, 여섯 번째와 일곱 번째 분량, 일곱 번째와 여덟 번째 분량, 여덟 번째와 아홉 번째 분량, 아홉 번째와 열 번째 분량, 기타 등등 사이에서 지나갈 수 있다.

[0165] 비-골수소멸성 조건화

[0166] HLA-정합된 또는 HLA-부정합된 실질 장기의 이식 이후에, 수용자는 비-골수소멸성 조건화로 치료될 수 있다. 일부 경우에, 비-골수소멸성 조건화는 당업자에게 공지된 방법을 이용하여 수행될 수 있다. 다른 경우에, 수용자는 복수의 작용제를 포함하는 비-골수소멸성 조건화를 받을 수 있다. 일부 경우에, 작용제는 티모글로불린(ATG), T 세포 고갈성 작용제 및/또는 방사를 포함할 수 있다.

[0167] 일부 경우에, ATG는 정맥내 전달될 수 있다. 일부 경우에, 단일 분량의 ATG가 수용자에 전달될 수 있다. 다른 경우에, 수용자는 1회 이상 분량의 ATG를 받을 수 있다. 예로서, 수용자는 최소한 1회 분량의 ATG, 2회 분량의 ATG, 3회 분량의 ATG, 4회 분량의 ATG, 5회 분량의 ATG, 6회 분량의 ATG, 7회 분량의 ATG, 8회 분량의 ATG, 9회 분량의 ATG, 10회 분량의 ATG, 11회 분량의 ATG, 12회 분량의 ATG, 13회 분량의 ATG, 14회 분량의 ATG, 15회 분량의 ATG, 16회 분량의 ATG, 17회 분량의 ATG, 18회 분량의 ATG, 19회 분량의 ATG, 또는 20회 분량의 ATG를 받을 수 있다.

[0168] 일부 경우에, 각 분량의 ATG는 최소한 0.1mg/kg, 0.2mg/kg, 0.3mg/kg, 0.4mg/kg, 0.5mg/kg, 0.6mg/kg, 0.7mg/kg, 0.8mg/kg, 0.9mg/kg, 1.0mg/kg, 1.1mg/kg, 1.2mg/kg, 1.3mg/kg, 1.4mg/kg, 1.5mg/kg, 1.6mg/kg, 1.7mg/kg, 1.8mg/kg, 1.9mg/kg, 2.0mg/kg, 2.1mg/kg, 2.2mg/kg, 2.3mg/kg, 2.4mg/kg, 2.5mg/kg, 2.6mg/kg, 2.7mg/kg, 2.8mg/kg, 2.9mg/kg, 3.0mg/kg, 3.1mg/kg, 3.2mg/kg, 3.3mg/kg, 3.4mg/kg, 3.5mg/kg, 3.6mg/kg, 3.7mg/kg, 3.8mg/kg, 3.9mg/kg, 4.0mg/kg, 4.1mg/kg, 4.2mg/kg, 4.3mg/kg, 4.4mg/kg, 4.5mg/kg, 4.6mg/kg, 4.7mg/kg, 4.8mg/kg, 4.9mg/kg, 5.0mg/kg, 5.1mg/kg, 5.2mg/kg, 5.3mg/kg, 5.4mg/kg, 5.5mg/kg, 5.6mg/kg, 5.7mg/kg, 5.8mg/kg, 5.9mg/kg, 6.0mg/kg, 6.1mg/kg, 6.2mg/kg, 6.3mg/kg, 6.4mg/kg, 6.5mg/kg, 6.6mg/kg,

6.7mg/kg, 6.8mg/kg, 6.9mg/kg, 7.0mg/kg, 7.1mg/kg, 7.2mg/kg, 7.3mg/kg, 7.4mg/kg, 7.5mg/kg, 7.6mg/kg, 7.7mg/kg, 7.8mg/kg, 7.9mg/kg, 8.0mg/kg, 8.1mg/kg, 8.2mg/kg, 8.3mg/kg, 8.4mg/kg, 8.5mg/kg, 8.6mg/kg, 8.7mg/kg, 8.8mg/kg, 8.9mg/kg, 9.0mg/kg, 9.1mg/kg, 9.2mg/kg, 9.3mg/kg, 9.4mg/kg, 9.5mg/kg, 9.6mg/kg, 9.7mg/kg, 9.8mg/kg, 9.9mg/kg, 10mg/kg, 10.5mg/kg, 11mg/kg, 11.5mg/kg, 12mg/kg, 12.5mg/kg, 13mg/kg, 13.5mg/kg, 14mg/kg, 14.5mg/kg, 15mg/kg, 15.5mg/kg, 16mg/kg, 16.5mg/kg, 17mg/kg, 17.5mg/kg, 18mg/kg, 18.5mg/kg, 19mg/kg 또는 20mg/kg일 수 있다.

[0169] ATG는 실질 장기 이식의 동일자에 투여될 수 있다. 일부 경우에, 복수의 ATG 분량이 장기 이식 후에 일정한 기간에 걸쳐 투여될 수 있다. 일부 경우에, 복수의 ATG 분량은 최소한 0.1 일, 0.2 일, 0.3 일, 0.4 일, 0.5 일, 0.6 일, 0.7 일, 0.8 일, 0.9 일, 1.0 일, 1.1 일, 1.2 일, 1.3 일, 1.4 일, 1.5 일, 1.6 일, 1.7 일, 1.8 일, 1.9 일, 2.0 일, 2.1 일, 2.2 일, 2.3 일, 2.4 일, 2.5 일, 2.6 일, 2.7 일, 2.8 일, 2.9 일, 3.0 일, 3.1 일, 3.2 일, 3.3 일, 3.4 일, 3.5 일, 3.6 일, 3.7 일, 3.8 일, 3.9 일, 4.0 일, 4.1 일, 4.2 일, 4.3 일, 4.4 일, 4.5 일, 4.6 일, 4.7 일, 4.8 일, 4.9 일, 5.0 일, 5.1 일, 5.2 일, 5.3 일, 5.4 일, 5.5 일, 5.6 일, 5.7 일, 5.8 일, 5.9 일, 6.0 일, 6.1 일, 6.2 일, 6.3 일, 6.4 일, 6.5 일, 6.6 일, 6.7 일, 6.8 일, 6.9 일, 7.0 일, 7.1 일, 7.2 일, 7.3 일, 7.4 일, 7.5 일, 7.6 일, 7.7 일, 7.8 일, 7.9 일, 8.0 일, 8.1 일, 8.2 일, 8.3 일, 8.4 일, 8.5 일, 8.6 일, 8.7 일, 8.8 일, 8.9 일, 9.0 일, 9.1 일, 9.2 일, 9.3 일, 9.4 일, 9.5 일, 9.6 일, 9.7 일, 9.8 일, 9.9 일, 10 일, 10.5 일, 11 일, 11.5 일, 12 일, 12.5 일, 13 일, 13.5 일, 14 일, 14.5 일, 15 일, 15.5 일, 16 일, 16.5 일, 17 일, 17.5 일, 18 일, 18.5 일, 19 일 또는 20 일의 기간에 걸쳐 투여될 수 있다.

[0170] 일부 경우에, ATG는 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류되기 이전에 수술중 전달된다. 다른 경우에, ATG는 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류된 이후에 수술중 전달된다. 일부 경우에, ATG는 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류되기 이전에 정맥내 전달된다. 다른 경우에, ATG는 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류된 이후에 정맥내 전달된다. 일부 경우에, ATG는 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류되기 이전에 동맥내 전달된다. 다른 경우에, ATG는 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류된 이후에 동맥내 전달된다. 일부 경우에, ATG는 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류되기 이전에 피하 전달된다. 다른 경우에, ATG는 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류된 이후에 피하 전달된다. 일부 경우에, ATG는 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류되기 이전에 복막내 전달된다. 다른 경우에, ATG는 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류된 이후에 복막내 전달된다.

[0171] 코르티코스테로이드 요법이 ATG의 투여에 앞서 약제로서 제공될 수 있다. 일부 경우에, 비록 ATG의 부작용을 감소시키는데 충분한 당업자에게 공지된 임의의 코르티코스테로이드가 유효 분량에서 이용될 수 있긴 하지만, 솔루메드롤이 투여될 수 있다. 일부 경우에, 코르티코스테로이드는 ATG가 투여되는 동일자에 투여될 수 있다. 예로서, 솔루메드롤은 0-40mg, 5-50mg, 10-60mg, 15-65mg, 20-70mg, 25-75mg, 30-80mg, 35-85mg, 40-90mg, 45-95mg, 50-100mg, 55-105mg, 60-110mg, 65-115mg, 70-120mg, 75-125mg, 80-130mg, 85-135mg, 90-140mg, 95-145mg, 100-150mg, 105-155mg, 110-160mg, 115-165mg, 120-170mg, 125-175mg, 130-180mg, 135-185mg, 140-190mg, 145-195mg 또는 150-200mg의 범위 내에 분량에서 투여될 수 있다.

[0172] 수용자에 투여된 ATG의 최종 분량 이후에, 프레드니손이 투여될 수 있다. 일부 경우에, 단일 분량의 프레드니손이 투여될 수 있다. 다른 경우에, 1회 이상 분량의 프레드니손이 투여될 수 있다. 예로서, 복수 분량의 프레드니손이 점감 코스 또는 일정한 코스에 따라 투여될 수 있다.

[0173] 일부 경우에, 점감 코스의 경우에, 첫 번째 분량의 프레드니손은 100 mg/에서 시작할 수 있고, 그리고 이후, 분량이 최소한 15 일 동안 5mg/일에서 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 90 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 15 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 80 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 15 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 70 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 15 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 60 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 15 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 50 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 15 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 40 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 15 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 30 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 15 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 20 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 15 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나 또는 첫 번째 분량의 프레드니손은 10 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 15 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소된다. 일부 경우에, 일정한 코스의 경우에, 프레드니손의 분량은 최소한 15 일 동안 100 mg/일, 90 mg/일, 80 mg/일, 70

mg/일, 60 mg/일, 50 mg/일, 40 mg/일, 30 mg/일, 20 mg/일, 10 mg/일 또는 5 mg/일일 수 있다.

[0174] 일부 경우에, 점감 코스의 경우에, 첫 번째 분량의 프레드니손은 100 mg/에서 시작할 수 있고, 그리고 이후, 분량이 최소한 30 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 90 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 30 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 80 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 30 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 70 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 30 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 60 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 30 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 50 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 30 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 40 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 30 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 30 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 30 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 20 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 30 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나 또는 첫 번째 분량의 프레드니손은 10 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 30 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소된다. 일부 경우에, 일정한 코스의 경우에, 프레드니손의 분량은 최소한 30 일 동안 100 mg/일, 90 mg/일, 80 mg/일, 70 mg/일, 60 mg/일, 50 mg/일, 40 mg/일, 30 mg/일, 20 mg/일, 10 mg/일 또는 5 mg/일일 수 있다.

[0175] 일부 경우에, 점감 코스의 경우에, 첫 번째 분량의 프레드니손은 100 mg/에서 시작할 수 있고, 그리고 이후, 분량이 최소한 45 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 90 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 45 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 80 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 45 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 70 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 45 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 60 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 45 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 50 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 45 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 40 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 45 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 30 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 45 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 20 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 45 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나 또는 첫 번째 분량의 프레드니손은 10 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 45 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소된다. 일부 경우에, 일정한 코스의 경우에, 프레드니손의 분량은 최소한 45 일 동안 100 mg/일, 90 mg/일, 80 mg/일, 70 mg/일, 60 mg/일, 50 mg/일, 40 mg/일, 30 mg/일, 20 mg/일, 10 mg/일 또는 5 mg/일일 수 있다.

[0176] 일부 경우에, 점감 코스의 경우에, 첫 번째 분량의 프레드니손은 100 mg/에서 시작할 수 있고, 그리고 이후, 분량이 최소한 60 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 90 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 60 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 80 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 60 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 70 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 60 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 60 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 60 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 50 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 60 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 40 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 60 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 30 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 60 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나, 첫 번째 분량의 프레드니손은 20 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 60 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소되거나 또는 첫 번째 분량의 프레드니손은 10 mg/일에서 시작할 수 있고, 그리고 최소한 60 일 동안 일정할 때까지 5 mg/일씩 감소된다. 일부 경우에, 일정한 코스의 경우에, 프레드니손의 분량은 최소한 60 일 동안 100 mg/일, 90 mg/일, 80 mg/일, 70 mg/일, 60 mg/일, 50 mg/일, 40 mg/일, 30 mg/일, 20 mg/일, 10 mg/일 또는 5 mg/일일 수 있다.

[0177] 코르티코스테로이드 및/또는 프레드니손은 혈관내, 정맥내, 동맥내, 두개내, 복막내, 피하, 근육내, 안와내, 경구, 국소, 또는 수용자에 의한 코르티코스테로이드 및/또는 프레드니손의 적절한 물질대사를 허용하는 임의의 공급원을 통해 투여될 수 있다.

[0178] 일부 경우에, 당업자에게 공지된 임의의 T 세포 고갈성 작용제가 수용자에 대한 비-글수소말성 조건화 체제의 부분으로서 이용될 수 있다. 일부 경우에, T 세포 고갈성 작용제는 항-T 세포 단일클론 항체 또는 T 세포 고갈 약물 (가령, 플루다라빈)일 수 있다. 일부 경우에, 단일 T 세포 고갈성 작용제가 수용자에 투여된다. 다른 경우

에, 하나 이상의 T 세포 고갈성 작용제가 수용자에 투여된다.

[0179] 일부 경우에, T 세포 고갈성 작용제는 정맥내 전달될 수 있다. 일부 경우에, 단일 분량의 T 세포 고갈성 작용제가 수용자에 전달될 수 있다. 다른 경우에, 수용자는 1회 이상 분량의 T 세포 고갈성 작용제를 받을 수 있다. 예로서, 수용자는 최소한 1회 분량의 T 세포 고갈성 작용제, 2회 분량의 T 세포 고갈성 작용제, 3회 분량의 T 세포 고갈성 작용제, 4회 분량의 T 세포 고갈성 작용제, 5회 분량의 T 세포 고갈성 작용제, 6회 분량의 T 세포 고갈성 작용제, 7회 분량의 T 세포 고갈성 작용제, 8회 분량의 T 세포 고갈성 작용제, 9회 분량의 T 세포 고갈성 작용제, 10회 분량의 T 세포 고갈성 작용제, 11회 분량의 T 세포 고갈성 작용제, 12회 분량의 T 세포 고갈성 작용제, 13회 분량의 T 세포 고갈성 작용제, 14회 분량의 T 세포 고갈성 작용제, 15회 분량의 T 세포 고갈성 작용제, 16회 분량의 T 세포 고갈성 작용제, 17회 분량의 T 세포 고갈성 작용제, 18회 분량의 T 세포 고갈성 작용제, 19회 분량의 T 세포 고갈성 작용제, 또는 20회 분량의 T 세포 고갈성 작용제를 받을 수 있다.

[0180] T 세포 고갈성 작용제는 실질 장기 이식의 동일자에 투여될 수 있다. 일부 경우에, 복수의 T 세포 고갈성 작용제 분량이 장기 이식 후에 일정한 기간에 걸쳐 전달될 수 있다. 일부 경우에, 복수의 T 세포 고갈성 작용제 분량은 최소한 0.1 일, 0.2 일, 0.3 일, 0.4 일, 0.5 일, 0.6 일, 0.7 일, 0.8 일, 0.9 일, 1.0 일, 1.1 일, 1.2 일, 1.3 일, 1.4 일, 1.5 일, 1.6 일, 1.7 일, 1.8 일, 1.9 일, 2.0 일, 2.1 일, 2.2 일, 2.3 일, 2.4 일, 2.5 일, 2.6 일, 2.7 일, 2.8 일, 2.9 일, 3.0 일, 3.1 일, 3.2 일, 3.3 일, 3.4 일, 3.5 일, 3.6 일, 3.7 일, 3.8 일, 3.9 일, 4.0 일, 4.1 일, 4.2 일, 4.3 일, 4.4 일, 4.5 일, 4.6 일, 4.7 일, 4.8 일, 4.9 일, 5.0 일, 5.1 일, 5.2 일, 5.3 일, 5.4 일, 5.5 일, 5.6 일, 5.7 일, 5.8 일, 5.9 일, 6.0 일, 6.1 일, 6.2 일, 6.3 일, 6.4 일, 6.5 일, 6.6 일, 6.7 일, 6.8 일, 6.9 일, 7.0 일, 7.1 일, 7.2 일, 7.3 일, 7.4 일, 7.5 일, 7.6 일, 7.7 일, 7.8 일, 7.9 일, 8.0 일, 8.1 일, 8.2 일, 8.3 일, 8.4 일, 8.5 일, 8.6 일, 8.7 일, 8.8 일, 8.9 일, 9.0 일, 9.1 일, 9.2 일, 9.3 일, 9.4 일, 9.5 일, 9.6 일, 9.7 일, 9.8 일, 9.9 일, 10 일, 10.5 일, 11 일, 11.5 일, 12 일, 12.5 일, 13 일, 13.5 일, 14 일, 14.5 일, 15 일, 15.5 일, 16 일, 16.5 일, 17 일, 17.5 일, 18 일, 18.5 일, 19 일 또는 20 일의 기간에 걸쳐 전달될 수 있다.

[0181] 일부 경우에, T 세포 고갈성 작용제는 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류되기 이전에 수술중 전달된다. 다른 경우에, T 세포 고갈성 작용제는 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류된 이후에 수술중 전달된다. 일부 경우에, T 세포 고갈성 작용제는 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류되기 이전에 정맥내 전달된다. 다른 경우에, T 세포 고갈성 작용제는 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류된 이후에 정맥내 전달된다. 일부 경우에, T 세포 고갈성 작용제는 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류되기 이전에 동맥내 전달된다. 다른 경우에, T 세포 고갈성 작용제는 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류된 이후에 동맥내 전달된다. 일부 경우에, T 세포 고갈성 작용제는 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류되기 이전에 피하 전달된다. 다른 경우에, T 세포 고갈성 작용제는 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류된 이후에 피하 전달된다. 일부 경우에, T 세포 고갈성 작용제는 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류되기 이전에 복막내 전달된다. 다른 경우에, T 세포 고갈성 작용제는 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류된 이후에 복막내 전달된다.

[0182] 일부 경우에, 플루다라빈은 정맥내 전달될 수 있다. 일부 경우에, 단일 분량의 플루다라빈이 수용자에 전달될 수 있다. 다른 경우에, 수용자는 1회 이상 분량의 플루다라빈을 받을 수 있다. 예로서, 수용자는 최소한 1회 분량의 플루다라빈, 2회 분량의 플루다라빈, 3회 분량의 플루다라빈, 4회 분량의 플루다라빈, 5회 분량의 플루다라빈, 6회 분량의 플루다라빈, 7회 분량의 플루다라빈, 8회 분량의 플루다라빈, 9회 분량의 플루다라빈, 10회 분량의 플루다라빈, 11회 분량의 플루다라빈, 12회 분량의 플루다라빈, 13회 분량의 플루다라빈, 14회 분량의 플루다라빈, 15회 분량의 플루다라빈, 16회 분량의 플루다라빈, 17회 분량의 플루다라빈, 18회 분량의 플루다라빈, 19회 분량의 플루다라빈, 또는 20회 분량의 플루다라빈을 받을 수 있다.

[0183] 일부 경우에, 각 분량의 플루다라빈은 최소한 0.1mg/m²/일, 0.2mg/m²/일, 0.3mg/m²/일, 0.4mg/m²/일, 0.5mg/m²/일, 0.6mg/m²/일, 0.7mg/m²/일, 0.8mg/m²/일, 0.9mg/m²/일, 1.0mg/m²/일, 1.1mg/m²/일, 1.2mg/m²/일, 1.3mg/m²/일, 1.4mg/m²/일, 1.5mg/m²/일, 1.6mg/m²/일, 1.7mg/m²/일, 1.8mg/m²/일, 1.9mg/m²/일, 2.0mg/m²/일, 2.1mg/m²/일, 2.2mg/m²/일, 2.3mg/m²/일, 2.4mg/m²/일, 2.5mg/m²/일, 2.6mg/m²/일, 2.7mg/m²/일, 2.8mg/m²/일, 2.9mg/m²/일, 3.0mg/m²/일, 3.1mg/m²/일, 3.2mg/m²/일, 3.3mg/m²/일, 3.4mg/m²/일, 3.5mg/m²/일, 3.6mg/m²/일, 3.7mg/m²/일, 3.8mg/m²/일, 3.9mg/m²/일, 4.0mg/m²/일, 4.1mg/m²/일, 4.2mg/m²/일, 4.3mg/m²/일, 4.4mg/m²/일, 4.5mg/m²/일, 4.6mg/m²/일, 4.7mg/m²/일, 4.8mg/m²/일, 4.9mg/m²/일, 5.0mg/m²/일, 5.1mg/m²/일, 5.2mg/m²/일, 5.3mg/m²/일, 5.4mg/m²/일, 5.5mg/m²/일, 5.6mg/m²/일, 5.7mg/m²/일, 5.8mg/m²/일, 5.9mg/m²/일, 6.0mg/m²/일, 6.1mg/m²/일, 6.2mg/m²/일, 6.3mg/m²/일, 6.4mg/m²/일, 6.5mg/m²/일, 6.6mg/m²/일, 6.7mg/m²/일,

6.8mg/m²/일, 6.9mg/m²/일, 7.0mg/m²/일, 7.1mg/m²/일, 7.2mg/m²/일, 7.3mg/m²/일, 7.4mg/m²/일, 7.5mg/m²/일, 7.6mg/m²/일, 7.7mg/m²/일, 7.8mg/m²/일, 7.9mg/m²/일, 8.0mg/m²/일, 8.1mg/m²/일, 8.2mg/m²/일, 8.3mg/m²/일, 8.4mg/m²/일, 8.5mg/m²/일, 8.6mg/m²/일, 8.7mg/m²/일, 8.8mg/m²/일, 8.9mg/m²/일, 9.0mg/m²/일, 9.1mg/m²/일, 9.2mg/m²/일, 9.3mg/m²/일, 9.4mg/m²/일, 9.5mg/m²/일, 9.6mg/m²/일, 9.7mg/m²/일, 9.8mg/m²/일, 9.9mg/m²/일, 10mg/m²/일, 10.5mg/m²/일, 11mg/m²/일, 11.5mg/m²/일, 12mg/m²/일, 12.5mg/m²/일, 13mg/m²/일, 13.5mg/m²/일, 14mg/m²/일, 14.5mg/m²/일, 15mg/m²/일, 15.5mg/m²/일, 16mg/m²/일, 16.5mg/m²/일, 17mg/m²/일, 17.5mg/m²/일, 18mg/m²/일, 18.5mg/m²/일, 19mg/m²/일, 20mg/m²/일, 20.5mg/m²/일, 21mg/m²/일, 21.5mg/m²/일, 22mg/m²/일, 22.5mg/m²/일, 23mg/m²/일, 23.5mg/m²/일, 24mg/m²/일, 24.5mg/m²/일, 25mg/m²/일, 25.5mg/m²/일, 26mg/m²/일, 26.5mg/m²/일, 27mg/m²/일, 27.5mg/m²/일, 28mg/m²/일, 28.5mg/m²/일, 29mg/m²/일, 30mg/m²/일, 30.5mg/m²/일, 31mg/m²/일, 31.5mg/m²/일, 32mg/m²/일, 32.5mg/m²/일, 33mg/m²/일, 33.5mg/m²/일, 34mg/m²/일, 34.5mg/m²/일, 35mg/m²/일, 35.5mg/m²/일, 36mg/m²/일, 36.5mg/m²/일, 37mg/m²/일, 37.5mg/m²/일, 38mg/m²/일, 38.5mg/m²/일, 39mg/m²/일, 40mg/m²/일, 40.5mg/m²/일, 41mg/m²/일, 41.5mg/m²/일, 42mg/m²/일, 42.5mg/m²/일, 43mg/m²/일, 43.5mg/m²/일, 44mg/m²/일, 44.5mg/m²/일, 45mg/m²/일, 45.5mg/m²/일, 46mg/m²/일, 46.5mg/m²/일, 47mg/m²/일, 47.5mg/m²/일, 48mg/m²/일, 48.5mg/m²/일, 49mg/m²/일, 50mg/m²/일, 50.5mg/m²/일, 51mg/m²/일, 51.5mg/m²/일, 52mg/m²/일, 52.5mg/m²/일, 53mg/m²/일, 53.5mg/m²/일, 54mg/m²/일, 54.5mg/m²/일, 55mg/m²/일, 55.5mg/m²/일, 56mg/m²/일, 56.5mg/m²/일, 57mg/m²/일, 57.5mg/m²/일, 58mg/m²/일, 58.5mg/m²/일, 59mg/m²/일 또는 60mg/m²/일일 수 있다.

[0184] 플루다라빈은 실질 장기 이식의 동일자에 투여될 수 있다. 일부 경우에, 복수의 플루다라빈 분량이 장기 이식 후에 일정한 기간에 걸쳐 전달될 수 있다. 일부 경우에, 복수의 플루다라빈 분량은 최소한 0.1 일, 0.2 일, 0.3 일, 0.4 일, 0.5 일, 0.6 일, 0.7 일, 0.8 일, 0.9 일, 1.0 일, 1.1 일, 1.2 일, 1.3 일, 1.4 일, 1.5 일, 1.6 일, 1.7 일, 1.8 일, 1.9 일, 2.0 일, 2.1 일, 2.2 일, 2.3 일, 2.4 일, 2.5 일, 2.6 일, 2.7 일, 2.8 일, 2.9 일, 3.0 일, 3.1 일, 3.2 일, 3.3 일, 3.4 일, 3.5 일, 3.6 일, 3.7 일, 3.8 일, 3.9 일, 4.0 일, 4.1 일, 4.2 일, 4.3 일, 4.4 일, 4.5 일, 4.6 일, 4.7 일, 4.8 일, 4.9 일, 5.0 일, 5.1 일, 5.2 일, 5.3 일, 5.4 일, 5.5 일, 5.6 일, 5.7 일, 5.8 일, 5.9 일, 6.0 일, 6.1 일, 6.2 일, 6.3 일, 6.4 일, 6.5 일, 6.6 일, 6.7 일, 6.8 일, 6.9 일, 7.0 일, 7.1 일, 7.2 일, 7.3 일, 7.4 일, 7.5 일, 7.6 일, 7.7 일, 7.8 일, 7.9 일, 8.0 일, 8.1 일, 8.2 일, 8.3 일, 8.4 일, 8.5 일, 8.6 일, 8.7 일, 8.8 일, 8.9 일, 9.0 일, 9.1 일, 9.2 일, 9.3 일, 9.4 일, 9.5 일, 9.6 일, 9.7 일, 9.8 일, 9.9 일, 10 일, 10.5 일, 11 일, 11.5 일, 12 일, 12.5 일, 13 일, 13.5 일, 14 일, 14.5 일, 15 일, 15.5 일, 16 일, 16.5 일, 17 일, 17.5 일, 18 일, 18.5 일, 19 일 또는 20 일의 기간에 걸쳐 전달될 수 있다.

[0185] 일부 경우에, 플루다라빈은 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류되기 이전에 수술중 전달된다. 다른 경우에, 플루다라빈은 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류된 이후에 수술중 전달된다. 일부 경우에, 플루다라빈은 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류되기 이전에 정맥내 전달된다. 다른 경우에, 플루다라빈은 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류된 이후에 정맥내 전달된다. 일부 경우에, 플루다라빈은 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류되기 이전에 동맥내 전달된다. 다른 경우에, 플루다라빈은 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류된 이후에 동맥내 전달된다. 일부 경우에, 플루다라빈은 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류되기 이전에 피하 전달된다. 다른 경우에, 플루다라빈은 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류된 이후에 피하 전달된다. 일부 경우에, 플루다라빈은 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류되기 이전에 복막내 전달된다. 다른 경우에, 플루다라빈은 이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류된 이후에 복막내 전달된다.

[0186] 일부 경우에, 수용자는 방사선조사로 치료된다. 방사선조사는 분획되거나 또는 미분획될 수 있다. 수용자가 1회 이상 선량의 방사선조사로 치료되는 경우에, 모든 선량은 분획될 수 있다. 수용자가 1회 이상 선량의 방사선조사로 치료되는 다른 경우에, 모든 선량은 미분획될 수 있다. 수용자가 1회 이상 선량의 방사선조사로 치료되는 다른 경우에, 선량은 분획과 미분획의 혼합일 수 있다.

[0187] 일부 경우에, 방사선조사는 수술중에 전달된다. 일부 경우에, 방사선조사는 정맥내 전달된다. 일부 경우에, 방사선조사는 동맥내 전달된다. 일부 경우에, 방사선조사는 피하 전달된다. 일부 경우에, 방사선조사는 복막내 전달된다.

[0188] 일부 경우에, 단일 선량의 방사선조사가 수용자에 전달될 수 있다. 다른 경우에, 수용자는 1회 이상 선량의 방사선조사를 받을 수 있다. 예로서, 수용자는 최소한 1회 선량의 방사선조사, 2회 선량의 방사선조사, 3회 선량

의 방사선조사, 4회 선량의 방사선조사, 5회 선량의 방사선조사, 6회 선량의 방사선조사, 7회 선량의 방사선조사, 8회 선량의 방사선조사, 9회 선량의 방사선조사, 10회 선량의 방사선조사, 11회 선량의 방사선조사, 12회 선량의 방사선조사, 13회 선량의 방사선조사, 14회 선량의 방사선조사, 15회 선량의 방사선조사, 16회 선량의 방사선조사, 17회 선량의 방사선조사, 18회 선량의 방사선조사, 19회 선량의 방사선조사, 또는 20회 선량의 방사선조사를 받을 수 있다.

[0189] 일부 경우에, 각 선량의 방사선조사는 최소한 1cGy, 2 cGy, 3 cGy, 4 cGy, 5 cGy, 6 cGy, 7 cGy, 8 cGy, 9 cGy, 10 cGy, 11 cGy, 12 cGy, 13 cGy, 14 cGy, 15 cGy, 16 cGy, 17 cGy, 18cGy, 19 cGy, 20 cGy, 21 cGy, 22 cGy, 23 cGy, 24 cGy, 25 cGy, 26 cGy, 27 cGy, 28 cGy, 29 cGy, 30 cGy, 31 cGy, 32 cGy, 33 cGy, 34 cGy, 35 cGy, 36 cGy, 37 cGy, 38 cGy, 39 cGy, 40 cGy, 41 cGy, 42 cGy, 43 cGy, 44 cGy, 45 cGy, 46 cGy, 47 cGy, 48 cGy, 49 cGy, 50 cGy, 51 cGy, 52 cGy, 53 cGy, 54 cGy, 55 cGy, 56 cGy, 57 cGy, 58 cGy, 59 cGy, 60 cGy, 61 cGy, 62 cGy, 63 cGy, 64 cGy, 65 cGy, 66 cGy, 67 cGy, 68 cGy, 69 cGy, 70 cGy, 71 cGy, 72 cGy, 73 cGy, 74 cGy, 75 cGy, 76 cGy, 77 cGy, 78 cGy, 79 cGy, 80 cGy, 81 cGy, 82 cGy, 83 cGy, 84 cGy, 85 cGy, 86 cGy, 87 cGy, 88 cGy, 89 cGy, 90 cGy, 91 cGy, 92 cGy, 93 cGy, 94 cGy, 95 cGy, 96 cGy, 97 cGy, 98 cGy, 99 cGy, 100 cGy, 105 cGy, 110 cGy, 115 cGy, 120 cGy, 125 cGy, 130 cGy, 135 cGy, 140 cGy, 145 cGy, 150 cGy, 155 cGy, 160 cGy, 165 cGy, 170 cGy, 175 cGy, 180 cGy, 185 cGy, 190 cGy, 195 cGy, 200 cGy, 205 cGy, 210 cGy, 215 cGy, 220 cGy, 225 cGy, 230 cGy, 235 cGy, 240 cGy, 245 cGy, 250 cGy, 255 cGy, 260 cGy, 265 cGy, 270 cGy, 275 cGy, 280 cGy, 285 cGy, 290 cGy, 295 cGy, 300 cGy, 305 cGy, 310 cGy, 315 cGy, 320 cGy, 325 cGy, 330 cGy, 335 cGy, 340 cGy, 345 cGy, 350 cGy, 355 cGy, 360 cGy, 365 cGy, 370 cGy, 375 cGy, 380 cGy, 385 cGy, 390 cGy, 395 cGy, 400 cGy, 405 cGy, 410 cGy, 415 cGy, 420 cGy, 425 cGy, 430 cGy, 435 cGy, 440 cGy, 445 cGy, 450 cGy, 455 cGy, 460 cGy, 465 cGy, 470 cGy, 475 cGy, 480 cGy, 485 cGy, 490 cGy, 495 cGy 또는 500 cGy일 수 있다.

[0190] 방사선조사는 실질 장기 이식의 동일자에 투여될 수 있다. 일부 경우에, 복수의 방사선조사 선량이 장기 이식 후에 일정한 기간에 걸쳐 전달될 수 있다. 일부 경우에, 복수의 방사선조사 선량은 최소한 0.1 일, 0.2 일, 0.3 일, 0.4 일, 0.5 일, 0.6 일, 0.7 일, 0.8 일, 0.9 일, 1.0 일, 1.1 일, 1.2 일, 1.3 일, 1.4 일, 1.5 일, 1.6 일, 1.7 일, 1.8 일, 1.9 일, 2.0 일, 2.1 일, 2.2 일, 2.3 일, 2.4 일, 2.5 일, 2.6 일, 2.7 일, 2.8 일, 2.9 일, 3.0 일, 3.1 일, 3.2 일, 3.3 일, 3.4 일, 3.5 일, 3.6 일, 3.7 일, 3.8 일, 3.9 일, 4.0 일, 4.1 일, 4.2 일, 4.3 일, 4.4 일, 4.5 일, 4.6 일, 4.7 일, 4.8 일, 4.9 일, 5.0 일, 5.1 일, 5.2 일, 5.3 일, 5.4 일, 5.5 일, 5.6 일, 5.7 일, 5.8 일, 5.9 일, 6.0 일, 6.1 일, 6.2 일, 6.3 일, 6.4 일, 6.5 일, 6.6 일, 6.7 일, 6.8 일, 6.9 일, 7.0 일, 7.1 일, 7.2 일, 7.3 일, 7.4 일, 7.5 일, 7.6 일, 7.7 일, 7.8 일, 7.9 일, 8.0 일, 8.1 일, 8.2 일, 8.3 일, 8.4 일, 8.5 일, 8.6 일, 8.7 일, 8.8 일, 8.9 일, 9.0 일, 9.1 일, 9.2 일, 9.3 일, 9.4 일, 9.5 일, 9.6 일, 9.7 일, 9.8 일, 9.9 일, 10 일, 10.5 일, 11 일, 11.5 일, 12 일, 12.5 일, 13 일, 13.5 일, 14 일, 14.5 일, 15 일, 15.5 일, 16 일, 16.5 일, 17 일, 17.5 일, 18 일, 18.5 일, 19 일, 20 일, 20.5 일, 21 일, 21.5 일, 22 일, 22.5 일, 23 일, 23.5 일, 24 일, 24.5 일, 25 일, 25.5 일, 26 일, 26.5 일, 27 일, 27.5 일, 28 일, 28.5 일, 29 일, 30 일, 30.5 일, 31 일, 31.5 일, 32 일, 32.5 일, 33 일, 33.5 일, 34 일, 34.5 일, 35 일, 35.5 일, 36 일, 36.5 일, 37 일, 37.5 일, 38 일, 38.5 일, 39 일, 40 일, 40.5 일, 41 일, 41.5 일, 42 일, 42.5 일, 43 일, 43.5 일, 44 일, 44.5 일, 45 일, 45.5 일, 46 일, 46.5 일, 47 일, 47.5 일, 48 일, 48.5 일, 49 일 또는 50 일의 기간에 걸쳐 전달될 수 있다.

[0191] 일부 경우에, 방사선조사의 선량은 투여의 코스에 걸쳐 규칙적인 간격에서 전달된다. 다른 경우에, 방사선조사의 선량은 투여의 코스에 걸쳐 규칙적인 간격에서 전달되지 않는다. 예로서, 방사선조사는 이식 후 1 내지 4 일 자에, 그리고 7 내지 11 일자에 흉선에 전달될 수 있다.

[0192] 방사선조사는 수용자의 신체의 특정 위치에 표적화될 수 있다. 일부 경우에, 방사선조사는 신체의 조직, 장기, 영역 또는 전신에 표적화될 수 있다. 일부 경우에, 방사선조사는 림프절, 비장, 또는 흉선 또는 담당자에게 공지된 임의의 다른 구역에 표적화될 수 있다. 일부 경우에, 방사선조사는 최소한 1회 이상 선량의 방사선조사가 환자에 전달될 때, 동일한 위치에 표적화될 수 있다. 다른 경우에, 방사선조사는 최소한 1회 이상 선량의 방사선조사가 환자에 전달될 때, 상이한 위치에 표적화될 수 있다.

[0193] 비-골수소멸성 조건화 동안, 수용자는 비-골수소멸성 조건화와 연관된 질환의 발달에 대해 모니터링될 수 있다. 이런 질환은 호중구감소증 (가령, 과립구 <2,000/mL), 혈소판감소증 (가령, 혈소판 < 60,000/mL) 및 이차 감염을 포함한다. 일부 경우에, G-CSF (가령, 10 µg/kg/일)가 호중구감소증에 대해 투여될 수 있다. 일부 경우에,

당업자에게 공지된 임의의 표준 치료가 혈소판감소증 또는 임의의 이차 감염에 대해 투여될 수 있다.

[0194] 일부 경우에, 비-골수소멸성 조건화는 수용자에서 호중구감소증, 혈소판감소증 또는 임의의 이차 감염이 발달하면 일시적으로 중지될 수 있다. 비-골수소멸성 조건화는 일단 호중구감소증, 혈소판감소증 및 또는 임의의 이차 감염이 해결되면 지속될 수 있다. 일부 경우에, 수용자가 $1,000 \text{ 세포/mm}^3$ 아래에 백혈구 수치를 가지면, 수용자는 비-골수소멸성 조건화 이후에 G-CSF (가령, $10 \text{ } \mu\text{g/kg/일}$)로 치료될 수 있다.

[0195] 면역억제와 이식편 관리

[0196] HLA-정합된 또는 HLA-부정합된 실질 장기 이식 및 가공된 HLA-정합된 또는 HLA-부정합된 조혈 세포의 투여 이후에, 수용자는 면역억제 섭생을 받을 수 있다. 면역억제 섭생은 2가지 시기, 유도 시기 및 유지 시기를 가질 수 있다. 유도와 유지 시기 전략은 수용자에서 장기간 이식조직 존속을 증강하기 위한 표적 치료적 수준을 달성하기 위해 조정된 분량에서 상이한 약제를 이용할 수 있다. 일부 경우에, 유도 시기는 수술전후에 시작될 수 있다. 일부 경우에, 유도 시기는 이식 직후에 시작될 수 있다. 일부 경우에, 유도 시기는 수술전후 및 이식 직후에 둘 모두일 수 있다. 일부 경우에, 면역억제 섭생은 수용자가 키메라현상을 달성할 때까지 유지 용법으로서 계속될 수 있다. 예로서, 키메라현상은 본원에서 설명된 바와 같은 안정된 혼합된 키메라현상일 수 있다.

[0197] 일부 경우에, 면역억제 섭생은 하나의 작용제를 포함할 수 있다. 다른 경우에, 면역억제 섭생은 하나 이상의 작용제를 포함할 수 있다. 예로서, 면역억제 섭생을 위한 적합한 작용제는 칼시뉴린 저해제 및/또는 어쥬번트를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 일차성 면역억제제는 칼시뉴린 저해제를 포함하는데, 이들은 결합 단백질과 합동하여 칼시뉴린 활성을 저해한다. 일부 경우에, 칼시뉴린 저해제는 타크롤리무스, 시클로스포린 A, 또는 당업자에게 공지된 임의의 칼시뉴린 저해제일 수 있고, 그리고 칼시뉴린 저해제로서 표적화된 면역억제를 제공하는데 효과적인 분량에서 수용자에게 투여될 수 있다.

[0198] 일부 경우에, 시클로스포린 A는 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 7 개월, 8 개월, 9 개월, 10 개월, 11 개월, 12 개월, 13 개월, 14 개월, 15 개월, 16 개월, 17 개월, 18 개월, 19 개월, 20 개월, 21 개월, 22 개월, 23 개월 또는 24 개월보다 적은 지속 시간 후에 수용자로부터 취소될 수 있다.

[0199] 일부 경우에, 시클로스포린 A는 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 7 개월, 8 개월, 9 개월, 10 개월, 11 개월, 12 개월, 13 개월, 14 개월, 15 개월, 16 개월, 17 개월, 18 개월, 19 개월, 20 개월, 21 개월, 22 개월, 23 개월 또는 24 개월보다 많은 지속 시간 후에 수용자로부터 취소될 수 있다.

[0200] 일부 경우에, 시클로스포린 A의 분량은 수용자가 거부반응과 GVHD의 결여에 대한 임상적 규준에 부합하면 천천히 점감될 수 있다. 예로서, 투여된 시클로스포린 A의 총량이 시간의 흐름에서 감소될 수 있다. 일부 경우에, 시클로스포린 A의 점감은 점감 체제의 종결점에서, 시클로스포린 A의 분량이 제로까지 점감되도록 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 7 개월, 8 개월, 9 개월, 10 개월, 11 개월, 12 개월, 13 개월, 14 개월, 15 개월, 16 개월, 17 개월, 18 개월, 19 개월, 20 개월, 21 개월, 22 개월, 23 개월 또는 24 개월 보다 적은 지속 시간 동안 일어날 수 있다. 일부 경우에, 시클로스포린 A의 점감은 점감 체제의 종결점에서, 시클로스포린 A의 분량이 제로까지 점감되도록 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 7 개월, 8 개월, 9 개월, 10 개월, 11 개월, 12 개월, 13 개월, 14 개월, 15 개월, 16 개월, 17 개월, 18 개월, 19 개월, 20 개월, 21 개월, 22 개월, 23 개월 또는 24 개월 보다 많은 지속 시간 동안 일어날 수 있다.

[0201] 일부 경우에, 시클로스포린 A는 단일 분량에 의해 수용자에 전달될 수 있다. 다른 경우에, 수용자는 1회 이상 분량의 시클로스포린 A를 받을 수 있다. 예로서, 수용자는 최소한 1회 분량의 시클로스포린 A, 2회 분량의 시클로스포린 A, 3회 분량의 시클로스포린 A, 4회 분량의 시클로스포린 A, 5회 분량의 시클로스포린 A, 6회 분량의 시클로스포린 A, 7회 분량의 시클로스포린 A, 8회 분량의 시클로스포린 A, 9회 분량의 시클로스포린 A, 10회 분량의 시클로스포린 A, 11회 분량의 시클로스포린 A, 12회 분량의 시클로스포린 A, 13회 분량의 시클로스포린 A, 14회 분량의 시클로스포린 A, 15회 분량의 시클로스포린 A, 16회 분량의 시클로스포린 A, 17회 분량의 시클로스포린 A, 18회 분량의 시클로스포린 A, 19회 분량의 시클로스포린 A, 또는 20회 분량의 시클로스포린 A를 받을 수 있다.

[0202] 일부 경우에, 복수의 시클로스포린 A 분량이 장기 이식 후에 일정한 기간에 걸쳐 전달될 수 있다. 일부 경우에, 복수의 시클로스포린 A 분량은 최소한 0.1 일, 0.2 일, 0.3 일, 0.4 일, 0.5 일, 0.6 일, 0.7 일, 0.8 일, 0.9 일, 1.0 일, 1.1 일, 1.2 일, 1.3 일, 1.4 일, 1.5 일, 1.6 일, 1.7 일, 1.8 일, 1.9 일, 2.0 일, 2.1 일, 2.2 일, 2.3 일, 2.4 일, 2.5 일, 2.6 일, 2.7 일, 2.8 일, 2.9 일, 3.0 일, 3.1 일, 3.2 일, 3.3 일, 3.4 일, 3.5 일, 3.6 일, 3.7 일, 3.8 일, 3.9 일, 4.0 일, 4.1 일, 4.2 일, 4.3 일, 4.4 일, 4.5 일, 4.6 일, 4.7 일, 4.8

일, 4.9 일, 5.0 일, 5.1 일, 5.2 일, 5.3 일, 5.4 일, 5.5 일, 5.6 일, 5.7 일, 5.8 일, 5.9 일, 6.0 일, 6.1 일, 6.2 일, 6.3 일, 6.4 일, 6.5 일, 6.6 일, 6.7 일, 6.8 일, 6.9 일, 7.0 일, 7.1 일, 7.2 일, 7.3 일, 7.4 일, 7.5 일, 7.6 일, 7.7 일, 7.8 일, 7.9 일, 8.0 일, 8.1 일, 8.2 일, 8.3 일, 8.4 일, 8.5 일, 8.6 일, 8.7 일, 8.8 일, 8.9 일, 9.0 일, 9.1 일, 9.2 일, 9.3 일, 9.4 일, 9.5 일, 9.6 일, 9.7 일, 9.8 일, 9.9 일, 10 일, 10.5 일, 11 일, 11.5 일, 12 일, 12.5 일, 13 일, 13.5 일, 14 일, 14.5 일, 15 일, 15.5 일, 16 일, 16.5 일, 17 일, 17.5 일, 18 일, 18.5 일, 19 일 또는 20 일의 기간에 걸쳐 전달될 수 있다.

[0203] 일부 경우에, 각 분량의 시클로스포린 A는 최소한 0.1mg/kg, 0.2mg/kg, 0.3mg/kg, 0.4mg/kg, 0.5mg/kg, 0.6mg/kg, 0.7mg/kg, 0.8mg/kg, 0.9mg/kg, 1.0mg/kg, 1.1mg/kg, 1.2mg/kg, 1.3mg/kg, 1.4mg/kg, 1.5mg/kg, 1.6mg/kg, 1.7mg/kg, 1.8mg/kg, 1.9mg/kg, 2.0mg/kg, 2.1mg/kg, 2.2mg/kg, 2.3mg/kg, 2.4mg/kg, 2.5mg/kg, 2.6mg/kg, 2.7mg/kg, 2.8mg/kg, 2.9mg/kg, 3.0mg/kg, 3.1mg/kg, 3.2mg/kg, 3.3mg/kg, 3.4mg/kg, 3.5mg/kg, 3.6mg/kg, 3.7mg/kg, 3.8mg/kg, 3.9mg/kg, 4.0mg/kg, 4.1mg/kg, 4.2mg/kg, 4.3mg/kg, 4.4mg/kg, 4.5mg/kg, 4.6mg/kg, 4.7mg/kg, 4.8mg/kg, 4.9mg/kg, 5.0mg/kg, 5.1mg/kg, 5.2mg/kg, 5.3mg/kg, 5.4mg/kg, 5.5mg/kg, 5.6mg/kg, 5.7mg/kg, 5.8mg/kg, 5.9mg/kg, 6.0mg/kg, 6.1mg/kg, 6.2mg/kg, 6.3mg/kg, 6.4mg/kg, 6.5mg/kg, 6.6mg/kg, 6.7mg/kg, 6.8mg/kg, 6.9mg/kg, 7.0mg/kg, 7.1mg/kg, 7.2mg/kg, 7.3mg/kg, 7.4mg/kg, 7.5mg/kg, 7.6mg/kg, 7.7mg/kg, 7.8mg/kg, 7.9mg/kg, 8.0mg/kg, 8.1mg/kg, 8.2mg/kg, 8.3mg/kg, 8.4mg/kg, 8.5mg/kg, 8.6mg/kg, 8.7mg/kg, 8.8mg/kg, 8.9mg/kg, 9.0mg/kg, 9.1mg/kg, 9.2mg/kg, 9.3mg/kg, 9.4mg/kg, 9.5mg/kg, 9.6mg/kg, 9.7mg/kg, 9.8mg/kg, 9.9mg/kg, 또는 10mg/kg일 수 있다.

[0204] 일부 경우에, 환자에 투여된 시클로스포린 A의 양은 혈류 내에 시클로스포린 A의 양에 의해 결정될 수 있다. 예로서, 시클로스포린 A는 0-40mg, 5-50mg, 10-60mg, 15-65mg, 20-70mg, 25-75mg, 30-80mg, 35-85mg, 40-90mg, 45-95mg, 50-100mg, 55-105mg, 60-110mg, 65-115mg, 70-120mg, 75-125mg, 80-130mg, 85-135mg, 90-140mg, 95-145mg, 100-150mg, 105-155mg, 110-160mg, 115-165mg, 120-170mg, 125-175mg, 130-180mg, 135-185mg, 140-190mg, 145-195mg, 150-200mg, 160-210mg, 170-220mg, 180-230mg, 190-240mg, 200-250mg, 210-260mg, 220-270mg, 230-280mg, 240-290mg, 250-300mg, 260-310mg, 270-320mg, 280-330mg, 290-340mg, 300-350mg, 310-360mg, 320-370mg, 330-380mg, 340-390mg, 350-400mg, 360-410mg, 370-420mg, 380-430mg, 390-440mg, 400-450mg, 410-460mg, 420-470mg, 430-480mg, 440-490mg, 450-500mg, 46-510mg, 470-520mg, 480-530mg, 490-540mg, 500-550mg, 510-560mg, 520-570mg, 530-580mg, 540-590mg, 550-600mg, 560-610mg, 570-620mg, 580-630mg, 590-640mg, 600-650mg, 610-660mg, 620-670mg, 630-680mg, 640-690mg, 650-700mg 또는 700mg 보다 많은 범위를 달성하는 분량에서 투여될 수 있다.

[0205] 일부 경우에, 타크롤리무스는 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 7 개월, 8 개월, 9 개월, 10 개월, 11 개월, 12 개월, 13 개월, 14 개월, 15 개월, 16 개월, 17 개월, 18 개월, 19 개월, 20 개월, 21 개월, 22 개월, 23 개월 또는 24 개월보다 많은 지속 시간 후에 수용자로부터 취소될 수 있다. 일부 경우에, 타크롤리무스의 분량은 수용자가 거부반응과 GVHD의 결여에 대한 임상적 기준에 부합하면 천천히 점감될 수 있다. 예로서, 투여된 타크롤리무스의 총량이 시간의 흐름에서 감소될 수 있다. 일부 경우에, 타크롤리무스의 점감은 점감 체제의 종결점에서, 타크롤리무스의 분량이 제로까지 점감되도록 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 7 개월, 8 개월, 9 개월, 10 개월, 11 개월, 12 개월, 13 개월, 14 개월, 15 개월, 16 개월, 17 개월, 18 개월, 19 개월, 20 개월, 21 개월, 22 개월, 23 개월 또는 24 개월 보다 적은 지속 시간 동안 일어날 수 있다.

[0206] 일부 경우에, 타크롤리무스는 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 7 개월, 8 개월, 9 개월, 10 개월, 11 개월, 12 개월, 13 개월, 14 개월, 15 개월, 16 개월, 17 개월, 18 개월, 19 개월, 20 개월, 21 개월, 22 개월, 23 개월 또는 24 개월보다 적은 지속 시간 후에 수용자로부터 취소될 수 있다. 일부 경우에, 타크롤리무스의 분량은 수용자가 거부반응과 GVHD의 결여에 대한 임상적 기준에 부합하면 천천히 점감될 수 있다. 예로서, 투여된 타크롤리무스의 총량이 시간의 흐름에서 감소될 수 있다. 일부 경우에, 타크롤리무스의 점감은 점감 체제의 종결점에서, 타크롤리무스의 분량이 제로까지 점감되도록 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 7 개월, 8 개월, 9 개월, 10 개월, 11 개월, 12 개월, 13 개월, 14 개월, 15 개월, 16 개월, 17 개월, 18 개월, 19 개월, 20 개월, 21 개월, 22 개월, 23 개월 또는 24 개월 보다 많은 지속 시간 동안 일어날 수 있다.

[0207] 일부 경우에, 타크롤리무스는 단일 분량에 의해 수용자에 전달될 수 있다. 다른 경우에, 수용자는 1회 이상 분량의 타크롤리무스를 받을 수 있다. 예로서, 수용자는 최소한 1회 분량의 타크롤리무스, 2회 분량의 타크롤리무스, 3회 분량의 타크롤리무스, 4회 분량의 타크롤리무스, 5회 분량의 타크롤리무스, 6회 분량의 타크롤리무스,

7회 분량의 타크롤리무스, 8회 분량의 타크롤리무스, 9회 분량의 타크롤리무스, 10회 분량의 타크롤리무스, 11회 분량의 타크롤리무스, 12회 분량의 타크롤리무스, 13회 분량의 타크롤리무스, 14회 분량의 타크롤리무스, 15회 분량의 타크롤리무스, 16회 분량의 타크롤리무스, 17회 분량의 타크롤리무스, 18회 분량의 타크롤리무스, 19회 분량의 타크롤리무스, 또는 20회 분량의 타크롤리무스를 받을 수 있다.

[0208] 일부 경우에, 복수의 타크롤리무스 분량이 장기 이식 후에 일정한 기간에 걸쳐 전달될 수 있다. 일부 경우에, 복수의 타크롤리무스 분량은 최소한 0.1 일, 0.2 일, 0.3 일, 0.4 일, 0.5 일, 0.6 일, 0.7 일, 0.8 일, 0.9 일, 1.0 일, 1.1 일, 1.2 일, 1.3 일, 1.4 일, 1.5 일, 1.6 일, 1.7 일, 1.8 일, 1.9 일, 2.0 일, 2.1 일, 2.2d 일, 2.3 일, 2.4 일, 2.5 일, 2.6 일, 2.7 일, 2.8 일, 2.9 일, 3.0 일, 3.1 일, 3.2 일, 3.3 일, 3.4 일, 3.5 일, 3.6 일, 3.7 일, 3.8 일, 3.9 일, 4.0 일, 4.1 일, 4.2 일, 4.3 일, 4.4 일, 4.5 일, 4.6 일, 4.7 일, 4.8 일, 4.9 일, 5.0 일, 5.1 일, 5.2 일, 5.3 일, 5.4 일, 5.5 일, 5.6 일, 5.7 일, 5.8 일, 5.9 일, 6.0 일, 6.1 일, 6.2 일, 6.3 일, 6.4 일, 6.5 일, 6.6 일, 6.7 일, 6.8 일, 6.9 일, 7.0 일, 7.1 일, 7.2 일, 7.3 일, 7.4 일, 7.5 일, 7.6 일, 7.7 일, 7.8 일, 7.9 일, 8.0 일, 8.1 일, 8.2 일, 8.3 일, 8.4 일, 8.5 일, 8.6 일, 8.7 일, 8.8 일, 8.9 일, 9.0 일, 9.1 일, 9.2 일, 9.3 일, 9.4 일, 9.5 일, 9.6 일, 9.7 일, 9.8 일, 9.9 일, 10 일, 10.5 일, 11 일, 11.5 일, 12 일, 12.5 일, 13 일, 13.5 일, 14 일, 14.5 일, 15 일, 15.5 일, 16 일, 16.5 일, 17 일, 17.5 일, 18 일, 18.5 일, 19 일 또는 20 일의 기간에 걸쳐 전달될 수 있다.

[0209] 일부 경우에, 각 분량의 타크롤리무스는 최소한 0.1mg/kg, 0.2mg/kg, 0.3mg/kg, 0.4mg/kg, 0.5mg/kg, 0.6mg/kg, 0.7mg/kg, 0.8mg/kg, 0.9mg/kg, 1.0mg/kg, 1.1mg/kg, 1.2mg/kg, 1.3mg/kg, 1.4mg/kg, 1.5mg/kg, 1.6mg/kg, 1.7mg/kg, 1.8mg/kg, 1.9mg/kg, 2.0mg/kg, 2.1mg/kg, 2.2mg/kg, 2.3mg/kg, 2.4mg/kg, 2.5mg/kg, 2.6mg/kg, 2.7mg/kg, 2.8mg/kg, 2.9mg/kg, 3.0mg/kg, 3.1mg/kg, 3.2mg/kg, 3.3mg/kg, 3.4mg/kg, 3.5mg/kg, 3.6mg/kg, 3.7mg/kg, 3.8mg/kg, 3.9mg/kg, 4.0mg/kg, 4.1mg/kg, 4.2mg/kg, 4.3mg/kg, 4.4mg/kg, 4.5mg/kg, 4.6mg/kg, 4.7mg/kg, 4.8mg/kg, 4.9mg/kg, 5.0mg/kg, 5.1mg/kg, 5.2mg/kg, 5.3mg/kg, 5.4mg/kg, 5.5mg/kg, 5.6mg/kg, 5.7mg/kg, 5.8mg/kg, 5.9mg/kg, 6.0mg/kg, 6.1mg/kg, 6.2mg/kg, 6.3mg/kg, 6.4mg/kg, 6.5mg/kg, 6.6mg/kg, 6.7mg/kg, 6.8mg/kg, 6.9mg/kg, 7.0mg/kg, 7.1mg/kg, 7.2mg/kg, 7.3mg/kg, 7.4mg/kg, 7.5mg/kg, 7.6mg/kg, 7.7mg/kg, 7.8mg/kg, 7.9mg/kg, 8.0mg/kg, 8.1mg/kg, 8.2mg/kg, 8.3mg/kg, 8.4mg/kg, 8.5mg/kg, 8.6mg/kg, 8.7mg/kg, 8.8mg/kg, 8.9mg/kg, 9.0mg/kg, 9.1mg/kg, 9.2mg/kg, 9.3mg/kg, 9.4mg/kg, 9.5mg/kg, 9.6mg/kg, 9.7mg/kg, 9.8mg/kg, 9.9mg/kg, 또는 10mg/kg일 수 있다.

[0210] 일부 경우에, 환자에 투여된 타크롤리무스의 양은 혈류 내에 타크롤리무스의 양에 의해 결정된다. 예로서, 타크롤리무스는 0-40mg, 5-50mg, 10-60mg, 15-65mg, 20-70mg, 25-75mg, 30-80mg, 35-85mg, 40-90mg, 45-95mg, 50-100mg, 55-105mg, 60-110mg, 65-115mg, 70-120mg, 75-125mg, 80-130mg, 85-135mg, 90-140mg, 95-145mg, 100-150mg, 105-155mg, 110-160mg, 115-165mg, 120-170mg, 125-175mg, 130-180mg, 135-185mg, 140-190mg, 145-195mg, 150-200mg, 160-210mg, 170-220mg, 180-230mg, 190-240mg, 200-250mg, 210-260mg, 220-270mg, 230-280mg, 240-290mg, 250-300mg, 260-310mg, 270-320mg, 280-330mg, 290-340mg, 300-350mg, 310-360mg, 320-370mg, 330-380mg, 340-390mg, 350-400mg, 360-410mg, 370-420mg, 380-430mg, 390-440mg, 400-450mg, 410-460mg, 420-470mg, 430-480mg, 440-490mg, 450-500mg, 46-510mg, 470-520mg, 480-530mg, 490-540mg, 500-550mg, 510-560mg, 520-570mg, 530-580mg, 540-590mg, 550-600mg, 560-610mg, 570-620mg, 580-630mg, 590-640mg, 600-650mg, 610-660mg, 620-670mg, 630-680mg, 640-690mg, 650-700mg 또는 700mg 보다 많은 범위를 달성하는 분량에서 투여될 수 있다.

[0211] 수용자에서 시클로스포린 또는 타크롤리무스의 수준이 모니터링될 수 있다. 면역억제의 개시에서, 수용자에서 시클로스포린 또는 타크롤리무스의 수준은 예로서, 0-15 ng/mL, 5-15 ng/mL, 10-20 ng/mL, 15-25 ng/mL, 20-30 ng/mL, 25-35 ng/mL, 30-40 ng/mL, 35-45 ng/mL 또는 40-50 ng/mL의 범위에 있을 수 있다. 일부 경우에, 시클로스포린 또는 타크롤리무스의 수준은 수용자에서 일정한 기간 후에 감소될 수 있다. 예로서, 기간은 1 주, 2 주, 3 주, 4 주, 5 주, 6 주, 7 주, 8 주, 9 주, 10 주, 11 주, 12 주, 13 주, 14 주, 15 주, 16 주, 17 주, 18 주, 19 주, 20 주, 21 주, 22 주, 23 주, 24 주, 25 주, 26 주, 27 주, 28 주, 29 주 또는 33 주보다 적을 수 있다. 일부 경우에, 수용자에서 시클로스포린 또는 타크롤리무스의 수준은 0-1 ng/mL, 0.5-1.5 ng/mL, 1.0-2.0 ng/mL, 1.5-2.5 ng/mL, 2.0-3.0 ng/mL, 2.5-3.5 ng/mL, 3.0-4.0 ng/mL, 3.5-4.5 ng/mL, 4.0-5.0 ng/mL, 5.5-6.5 ng/mL, 6.0-7.0 ng/mL, 6.5-7.5 ng/mL, 7.0-8.0 ng/mL, 8.5-9.5 ng/mL 또는 9.0-10.0 ng/mL의 범위 내까지 감소될 수 있다.

[0212] 일부 경우에, 칼시뉴린 저해제가 퓨린 대사의 저해제 (가령, 미코페놀레이트 모페틸)와 합동으로 수용자에 투여

될 수 있다. 예로서, 시클로스포린 A와 미코페놀레이트 모페틸이 신장 이식의 경우에 이용될 수 있다.

[0213] 일부 경우에, 어쥬번트가 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 7 개월, 8 개월, 9 개월, 10 개월, 11 개월, 12 개월, 13 개월, 14 개월, 15 개월, 16 개월, 17 개월, 18 개월, 19 개월, 20 개월, 21 개월, 22 개월, 23 개월 또는 24 개월보다 많은 지속 시간 후에 수용자로부터 취소될 수 있다. 일부 경우에, 어쥬번트의 분량은 수용자가 거부반응과 GVHD의 결여에 대한 임상적 기준에 부합하면 천천히 점감될 수 있다. 예로서, 투여된 어쥬번트의 총량이 시간의 흐름에서 감소될 수 있다. 일부 경우에, 어쥬번트의 점감은 점감 체제의 종결점에서, 푸린 대사 저해제의 분량이 제로까지 점감되도록 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 7 개월, 8 개월, 9 개월, 10 개월, 11 개월, 12 개월, 13 개월, 14 개월, 15 개월, 16 개월, 17 개월, 18 개월, 19 개월, 20 개월, 21 개월, 22 개월, 23 개월 또는 24 개월 보다 많은 지속 시간 동안 일어날 수 있다.

[0214] 일부 경우에, 어쥬번트는 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 7 개월, 8 개월, 9 개월, 10 개월, 11 개월, 12 개월, 13 개월, 14 개월, 15 개월, 16 개월, 17 개월, 18 개월, 19 개월, 20 개월, 21 개월, 22 개월, 23 개월 또는 24 개월보다 적은 지속 시간 후에 수용자로부터 취소될 수 있다. 일부 경우에, 어쥬번트의 분량은 수용자가 거부반응과 GVHD의 결여에 대한 임상적 기준에 부합하면 천천히 점감될 수 있다. 예로서, 투여된 어쥬번트의 총량이 시간의 흐름에서 감소될 수 있다. 일부 경우에, 어쥬번트의 점감은 점감 체제의 종결점에서, 푸린 대사 저해제의 분량이 제로까지 점감되도록 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 7 개월, 8 개월, 9 개월, 10 개월, 11 개월, 12 개월, 13 개월, 14 개월, 15 개월, 16 개월, 17 개월, 18 개월, 19 개월, 20 개월, 21 개월, 22 개월, 23 개월 또는 24 개월 보다 적은 지속 시간 동안 일어날 수 있다.

[0215] 어쥬번트 작용제는 면역억제 섭생의 일부인 다른 개별 작용제의 분량과 독성을 줄이면서, 면역억제를 증강하는데 이용될 수 있다. 일부 경우에, 어쥬번트 작용제는 칼시뉴린 저해제와 합동될 수 있다. 예로서, 어쥬번트 작용제는 스테로이드, 아자티오프린, 미코페놀레이트 모페틸, 시롤리무스, 항체 또는 당업자에게 공지된 임의의 어쥬번트 작용제를 포함할 수 있고, 그리고 면역억제를 증강하는데 효과적인 분량에서 수용자에 투여될 수 있다.

[0216] 일부 경우에, 항체-기초된 요법은 면역억제 섭생에서 칼시뉴린 저해제의 분량을 방지하거나 또는 감소시키는데 이용될 수 있다. 예로서, 항체-기초된 요법은 단일클론 (가령, 뮤로모납-CD3) 항체, 다중클론 항체 및/또는 항-CD25 항체 (가령, 바실릭시맙, 다클리주맙)을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 항체-기초된 요법은 초기 이식후 기간 동안 투여될 수 있다. 예로서, 초기 이식후는 이식 이후에 8 주까지일 수 있다.

[0217] 이식편 관리는 면역억제 약물로 급성 거부반응을 예방하거나, 저해하거나 또는 억제하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 복수 작용제가 급성 거부반응의 에피소드를 예방하거나, 저해하거나 또는 억제하는데 이용될 수 있다. 예로서, 작용제는 스테로이드일 수 있다. 일부 경우에, 하나 또는 하나 이상의 스테로이드가 급성 거부반응의 에피소드를 예방하거나, 저해하거나 또는 억제하는데 이용될 수 있다. 급성 거부반응을 예방하거나, 저해하거나 또는 억제하는데 적합한 당업자에게 공지된 임의의 스테로이드가 이용될 수 있다. 예로서, 급성 거부반응을 예방하거나, 저해하거나 또는 억제하는데 적합한, 당업자에게 공지된 임의의 스테로이드에 대한 임의의 분량, 투여 방식 및 투여 기간이 이용될 수 있다. 일부 경우에, 스테로이드의 투여는 유지 용량까지 점감될 수 있다.

[0218] 예로서, 작용제는 항흉선세포 글로불린일 수 있다. 일부 경우에, 항흉선세포 글로불린이 급성 거부반응의 에피소드를 예방하거나, 저해하거나 또는 억제하는데 이용될 수 있다. 급성 거부반응을 예방하거나, 저해하거나 또는 억제하는데 적합한, 항흉선세포 글로불린에 대한 임의의 분량, 투여 방식 및 투여 기간이 이용될 수 있다. 일부 경우에, 항흉선세포 글로불린의 투여는 유지 용량까지 점감될 수 있다.

[0219] 예로서, 작용제는 뮤로모납-CD3일 수 있다. 일부 경우에, 뮤로모납-CD3은 급성 거부반응의 에피소드를 예방하거나, 저해하거나 또는 억제하는데 이용될 수 있다. 급성 거부반응을 예방하거나, 저해하거나 또는 억제하는데 적합한, 뮤로모납-CD3에 대한 임의의 분량, 투여 방식 및 투여 기간이 이용될 수 있다. 일부 경우에, 뮤로모납-CD3의 투여는 유지 용량까지 점감될 수 있다.

[0220] **키메라현상**

[0221] HLA-정합된 또는 HLA-부정합된 실질 장기 이식 및 가공된 HLA-정합된 또는 HLA-부정합된 조혈 세포의 투여 이후에, 수용자는 키메라현상에 대해 모니터링될 수 있다. 이식후 임의의 시간에서 키메라현상을 결정하는 임의의 분석에 의해 소정의 혈액 세포 계통에서 95%보다 큰 공여자 세포를 전시하는 수용자는 완전한 공여자 키메라현상을 갖는 것으로 분류될 수 있다. 일부 경우에, 혼합된 키메라현상은 소정의 계통의 1%보다 큰 공여자-유래된

세포, 하지만 95%보다 적은 공여자-유래된 DNA일 수 있다.

[0222] CD3+ 세포와 CD34+ 세포의 상대적 분량, 그리고 이들 세포의 전체 분량은 개체에서 안정된 혼합된 키메라현상이 발달하는 지에 영향을 줄 수 있다. 일부 경우에, 예로서 CD3+ 세포와 CD34+ 세포가 공여자와 수용자 사이에 HLA 정합된 경우에, CD3+ 세포의 분량은 최소한 약 1×10^6 세포/kg일 수 있고, 그리고 CD34+ 세포의 분량은 최소한 약 0.5×10^6 /kg일 수 있다. 일부 경우에, CD3+ 세포와 CD34+ 세포가 공여자와 수용자 사이에 HLA 부정합된 경우에, CD3+ 세포의 분량은 최소한 약 10×10^6 세포/kg일 수 있고 50×10^7 세포/kg보다 적을 수 있고, 그리고 CD34+ 세포의 분량은 최소한 약 1×10^6 /kg, 최소한 약 5×10^6 /kg, 최소한 약 10×10^6 /kg, 최소한 15×10^6 /kg 또는 그 이상일 수 있다. CD34+ 세포의 분량이 15×10^6 /kg보다 적은 경우에, CD3+ 세포의 더욱 높은 분량, 예를 들면, 최대 약 25×10^6 /kg, 최대 약 30×10^6 /kg, 최대 약 35×10^6 /kg, 최대 약 40×10^6 /kg, 최대 약 45×10^6 /kg, 최대 약 50×10^6 /kg을 부여하는 것이 바람직할 수 있다.

[0223] HLA 정합된 환자의 경우에 최소한 주사될 필요가 있지만, HLA 부정합된 환자의 경우에 최소한 6 개월 동안 지속 혼합된 키메라현상을 달성하기 위해 CD34 세포와 함께 최소한 10×10^6 T 세포/kg이 주사될 필요가 있다. CD34 세포 분량이 부정합된 환자에서 15×10^6 세포/kg 아래이면, 이후 최소한 50×10^6 T 세포/kg이 필요하다.

[0224] 혼합된 키메라현상을 전시하는 개체는 키메라현상의 진화에 따라 더욱 분류될 수 있는데, 여기서 혼합된 키메라현상을 향상시키는 것은 일정한 기간 (가령, 최소한 6-개월)에 걸쳐 공여자 세포의 비율에서 연속적 증가일 수 있다. 일부 경우에, 안정된 혼합된 키메라현상은 공여자 세포의 완전한 상실 없이, 시간의 흐름에서 수용자 세포의 백분율에서 변동을 포함할 수 있다.

[0225] 가공된 조혈 세포 조성물에서 이용된 CD34+와 CD3+ 세포의 분량은 이식 후에 수용자에서 안정된 혼합된 키메라현상을 달성하기 위해 선별된다. 혼합된 키메라현상은 1%보다 큰 수용자 DNA로서 규정된다. 일부 경우에, 혼합된 키메라현상은 공여자로부터 유래된 세포의 백분율 및 수용자로부터 유래된 세포의 백분율을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 혼합된 키메라현상은 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 70%보다 크다. 다른 경우에, 혼합된 키메라현상은 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 10%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 15%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 20%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 25%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 30%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 35%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 40%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 45%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 50%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 55%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 56%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 57%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 58%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 59%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 60%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 61%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 62%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 63%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 64%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 65%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 66%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 67%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 68%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 69%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 70%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 71%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 72%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 73%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 74%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 75%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 76%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 77%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 78%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 79%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 80%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 81%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 82%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 83%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 84%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 85%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 86%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 87%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 88%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 89%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 90%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 91%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 92%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수

용자에서 세포의 93%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 94%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 95%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 96%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 97%보다 크거나, 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 98%보다 크거나 또는 공여자로부터 유래되는 수용자에서 세포의 99%보다 크다.

[0226] 혼합된 키메라현상은 본원에서 설명된 CD34+/CD3+ 가공된 조혈 세포 조성물을 이용한 이식 이후에 안정될 수 있다. 일부 경우에, 혼합된 키메라현상은 안정된다. 일부 경우에, 안정된 혼합된 키메라현상은 본원에서 설명된 CD34+/CD3+ 세포의 임의의 가공된 조혈 세포 조성물로 치료 후에 최소한 6 개월 동안 지속된다. 일부 경우에, 안정된 혼합된 키메라현상은 5 일보다 많이, 10 일보다 많이, 15 일보다 많이, 20 일보다 많이, 25 일보다 많이, 30 일보다 많이, 35 일보다 많이, 40 일보다 많이, 45 일보다 많이, 50 일보다 많이, 55 일보다 많이, 60 일보다 많이, 65 일보다 많이, 70 일보다 많이, 75 일보다 많이, 80 일보다 많이, 85 일보다 많이, 90 일보다 많이, 95 일보다 많이, 100 일보다 많이, 105 일보다 많이, 110 일보다 많이, 115 일보다 많이, 120 일보다 많이, 125 일보다 많이, 130 일보다 많이, 135 일보다 많이, 140 일보다 많이, 145 일보다 많이, 150 일보다 많이, 155 일보다 많이, 160 일보다 많이, 165 일보다 많이, 170 일보다 많이, 175 일보다 많이, 180 일보다 많이, 185 일보다 많이, 190 일보다 많이, 195 일보다 많이, 200 일보다 많이, 205 일보다 많이, 210 일보다 많이, 215 일보다 많이, 220 일보다 많이, 225 일보다 많이, 230 일보다 많이, 235 일보다 많이, 240 일보다 많이, 245 일보다 많이, 250 일보다 많이, 255 일보다 많이, 260 일보다 많이, 265 일보다 많이, 270 일보다 많이, 275 일보다 많이, 280 일보다 많이, 285 일보다 많이, 290 일보다 많이, 295 일보다 많이, 300 일보다 많이, 305 일보다 많이, 310 일보다 많이, 315 일보다 많이, 320 일보다 많이, 325 일보다 많이, 330 일보다 많이, 335 일보다 많이, 340 일보다 많이, 345 일보다 많이, 350 일보다 많이, 355 일보다 많이, 360 일보다 많이, 365 일보다 많이, 370 일보다 많이, 375 일보다 많이, 380 일보다 많이, 385 일보다 많이, 390 일보다 많이, 395 일보다 많이, 400 일보다 많이, 405 일보다 많이, 410 일보다 많이, 415 일보다 많이, 420 일보다 많이, 425 일보다 많이, 430 일보다 많이, 435 일보다 많이, 440 일보다 많이, 445 일보다 많이, 450 일보다 많이, 455 일보다 많이, 460 일보다 많이, 465 일보다 많이, 470 일보다 많이, 475 일보다 많이, 480 일보다 많이, 485 일보다 많이, 490 일보다 많이, 495 일보다 많이, 또는 500 일보다 많이 존속할 수 있다.

[0227] 혼합된 키메라현상은 수용자 내에서 단일 세포 유형에 대한 공여자 세포의 백분율을 계측함으로써 결정될 수 있다. 예로서, 혼합된 키메라현상은 수용자에서 공여자-유래된 과립구의 백분율에 의해 결정될 수 있다. 일부 경우에, 혼합된 키메라현상은 수용자 내에서 복수 세포 유형에 대한 공여자 세포의 백분율을 계측함으로써 결정될 수 있다. 예로서, 혼합된 키메라현상은 수용자에서 공여자-유래된 과립구, 자연 살해 세포, B 세포와 T 세포의 백분율에 의해 결정될 수 있다.

[0228] 일부 경우에, 수용자에서 공여자-유래된 과립구의 백분율이 계측될 수 있다. 일부 경우에, 공여자-유래된 과립구의 백분율은 이식 후에 수용자에서 일정할 수 있다. 다른 경우에, 공여자-유래된 과립구의 백분율은 이식 후에 수용자에서 일정하지 않을 수 있다. 다른 경우에, 공여자-유래된 과립구의 백분율은 이식 후에 수용자에서 시간의 흐름에서 변한다. 예로서, 이식 후에 60 일의 기간에 걸쳐, 수용자에서 공여자-유래된 과립구의 백분율은 최소한 1%, 2%, 3%, 4%, 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%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%일 수 있다.

[0229] 일부 경우에, 수용자에서 공여자-유래된 자연 살해 세포의 백분율이 계측될 수 있다. 일부 경우에, 공여자-유래된 자연 살해 세포의 백분율은 이식 후에 수용자에서 일정할 수 있다. 다른 경우에, 공여자-유래된 자연 살해 세포의 백분율은 이식 후에 수용자에서 일정하지 않을 수 있다. 다른 경우에, 공여자-유래된 자연 살해 세포의 백분율은 이식 후에 수용자에서 시간의 흐름에서 변한다. 예로서, 이식 후에 60 일의 기간에 걸쳐, 수용자에서 공여자-유래된 자연 살해 세포의 백분율은 최소한 1%, 2%, 3%, 4%, 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%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%일 수 있다.

- [0230] 일부 경우에, 수용자에서 공여자-유래된 B 세포의 백분율이 예측될 수 있다. 일부 경우에, 공여자-유래된 B 세포의 백분율은 이식 후에 수용자에서 일정할 수 있다. 다른 경우에, 공여자-유래된 B 세포의 백분율은 이식 후에 수용자에서 일정하지 않을 수 있다. 다른 경우에, 공여자-유래된 B 세포의 백분율은 이식 후에 수용자에서 시간의 흐름에서 변한다. 예로서, 이식 후에 60 일의 기간에 걸쳐, 수용자에서 공여자-유래된 B 세포의 백분율은 최소한 1%, 2%, 3%, 4%, 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%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%일 수 있다.
- [0231] 일부 경우에, 수용자에서 공여자-유래된 T 세포의 백분율이 예측될 수 있다. 일부 경우에, 공여자-유래된 T 세포의 백분율은 이식 후에 수용자에서 일정할 수 있다. 다른 경우에, 공여자-유래된 T 세포의 백분율은 이식 후에 수용자에서 일정하지 않을 수 있다. 다른 경우에, 공여자-유래된 T 세포의 백분율은 이식 후에 수용자에서 시간의 흐름에서 변한다. 예로서, 이식 후에 60 일의 기간에 걸쳐, 수용자에서 공여자-유래된 T 세포의 백분율은 최소한 1%, 2%, 3%, 4%, 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%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%일 수 있다.
- [0232] 쉽게 가용하고 당업자에게 공지된, 키메라현상에 대해 시험하는 복수의 방법이 있다. 세포의 공여자 또는 수용자 기원을 식별하는, 키메라현상에 대해 시험하는 임의의 방법이 본원에서 설명된 방법에서 이용에 적합하다.
- [0233] 일부 경우에, 키메라현상에 대해 시험하는 방법은 유전자 기초된 방법을 포함할 수 있다. 예로서, 프로브를 활용하는 중합효소 연쇄 반응 (PCR) 기초된 방법이 이용될 수 있다. 일부 경우에, PCR 기초된 방법에 대한 프로브는 미소부수체 분석을 위한 프로브일 수 있다. 다른 실험의 경우에, 공여자와 숙주 기원의 짧은 말단 반복 길이에서 다형성을 식별하는 상업적인 키트가 쉽게 가용하고 당업자에게 공지된다.
- [0234] 일부 경우에, 주요 조직적합성 복합체 (MHC) 형결정이 키메라현상을 시험하는데 이용될 수 있다. 예로서, MHC 형결정이 혈액 내에 세포의 유형을 시험하는데 이용될 수 있다. 일부 경우에, MHC 형결정은 유세포분석법과 합동으로 이용될 수 있다. 일부 경우에, 유세포분석법에 의한 HLA-염색된 세포의 분석이 수행될 수 있다.
- [0235] 본원에서 설명된 방법은 수용자가 면역억제 약물의 취소를 허용하는데 충분한 안정된 혼합된 키메라현상을 달성할 수 있도록 제공된다. 예로서, 면역억제 약물의 취소는 면역억제 약물을 점감하는 것을 포함할 수 있다. 다른 경우에, 면역억제 약물의 취소는 면역억제 약물의 즉각적인 취소를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 혼합된 키메라현상은 면역억제 약물의 취소에 앞서 최소한 6 개월 동안 지속된다. 다른 경우에, 혼합된 키메라현상은 최소한 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 7 개월, 8 개월, 9 개월, 10 개월, 11 개월, 12 개월, 13 개월, 14 개월, 15 개월, 16 개월, 17 개월, 18 개월, 19 개월, 20 개월, 21 개월, 22 개월, 23 개월 또는 24 개월 동안 지속된다. 일부 경우에, 어쥘번트의 분량은 수용자가 거부반응과 GVHD의 결여에 대한 임상적 기준에 부합하면 천천히 점감될 수 있다. 예로서, 투여된 어쥘번트의 총량이 시간의 흐름에서 감소될 수 있다. 일부 경우에, 어쥘번트의 점감은 최소한 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 7 개월, 8 개월, 9 개월, 10 개월, 11 개월, 12 개월, 13 개월, 14 개월, 15 개월, 16 개월, 17 개월, 18 개월, 19 개월, 20 개월, 21 개월, 22 개월, 23 개월 또는 24 개월의 지속 시간 동안 일어날 수 있다.
- [0236] 일부 경우에, 거부반응 에피소드의 결여는 면역억제 약물의 취소에 앞서 혼합된 키메라현상과 일치할 수 있다. 일부 경우에, 거부반응 에피소드의 결여는 면역억제 약물의 취소에 앞서 최소한 6 개월 동안 일관될 수 있다. 다른 경우에, 거부반응 에피소드의 결여는 최소한 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 7 개월, 8 개월, 9 개월, 10 개월, 11 개월, 12 개월, 13 개월, 14 개월, 15 개월, 16 개월, 17 개월, 18 개월, 19 개월, 20 개월, 21 개월, 22 개월, 23 개월 또는 24 개월 동안 일관될 수 있다. 일부 경우에, 어쥘번트의 분량은 수용자가 거부반응과 GVHD의 결여에 대한 임상적 기준에 부합하면 천천히 점감될 수 있다. 예로서, 투여된 어쥘번트의 총량이 시간의 흐름에서 감소될 수 있다. 일부 경우에, 어쥘번트의 점감은 최소한 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 7 개월, 8 개월, 9 개월, 10 개월, 11 개월, 12 개월, 13 개월, 14 개월, 15 개월,

16 개월, 17 개월, 18 개월, 19 개월, 20 개월, 21 개월, 22 개월, 23 개월 또는 24 개월의 지속 시간 동안 일어날 수 있다.

[0237] 일부 경우에, GVHD의 결여 및 거부반응 에피소드의 결여는 면역억제 약물의 취소에 앞서 혼합된 키메라현상과 일치한다. 일부 경우에, GVHD의 결여 및 거부반응 에피소드의 결여는 면역억제 약물의 취소에 앞서 최소한 6 개월 동안 일관될 수 있다. 다른 경우에, GVHD의 결여 및 거부반응 에피소드의 결여는 최소한 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 7 개월, 8 개월, 9 개월, 10 개월, 11 개월, 12 개월, 13 개월, 14 개월, 15 개월, 16 개월, 17 개월, 18 개월, 19 개월, 20 개월, 21 개월, 22 개월, 23 개월 또는 24 개월 동안 일관될 수 있다. 일부 경우에, 어쥬번트의 분량은 수용자가 거부반응과 GVHD의 결여에 대한 임상적 기준에 부합하면 천천히 점감될 수 있다. 예로서, 투여된 어쥬번트의 총량이 시간의 흐름에서 감소될 수 있다. 일부 경우에, 어쥬번트의 점감은 최소한 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 7 개월, 8 개월, 9 개월, 10 개월, 11 개월, 12 개월, 13 개월, 14 개월, 15 개월, 16 개월, 17 개월, 18 개월, 19 개월, 20 개월, 21 개월, 22 개월, 23 개월 또는 24 개월의 지속 시간 동안 일어날 수 있다.

[0238] 면역억제 섭생의 점감이 수용자에게 적절한 지를 결정하기 위해, 수용자는 통상적으로 규칙적인 간격에서, 혼합된 키메라현상에 대해 검사될 수 있다. 예로서, 규칙적인 간격은 월 1회, 월 2회, 주 1회, 격월, 연 1회, 연 2회 등일 수 있다.

[0239] 본 발명이 완전히 설명되었기 때문에, 다양한 변화와 변형이 본 발명의 사상 또는 범위로부터 벗어나지 않으면서 만들어질 수 있다는 것은 당업자에게 분명하다.

[0240] 실시예

[0241] 본 발명은 본 발명의 실시를 위한 바람직한 방식을 포함하는 것으로 발견되거나 또는 제안된 특정 사례의 면에서 설명되었다. 본 발명에 비추어, 다양한 변형과 변화가 본 발명의 의도된 범위로부터 벗어나지 않으면서 예시된 특정 구체예에서 만들어질 수 있는 것으로 당업자에 의해 인지된다. 예로서, 코돈 중복성으로 인해, 단백질 서열에 영향을 주지 않으면서 근원적인 DNA 서열에서 변화가 만들어질 수 있다. 게다가, 생물학적 기능적 등과 고려 사항으로 인해, 종류 또는 양에서 생물학적 작용에 영향을 주지 않으면서 단백질 구조에서 변화가 만들어질 수 있다. 이런 모든 변형은 첨부된 청구항의 범위 내에 포함되는 것으로 의도된다.

[0242] 본 발명의 실시에서 유용한 일반적인 기술의 추가 상술을 위해, 실시자는 세포생물학, 조직 배양, 그리고 발생학에서 표준 교과서와 리뷰를 참조할 수 있다. 조직 배양과 배아 줄기 세포에 대하여, 독자는 Teratocarcinomas and embryonic stem cells: A practical approach (E. J. Robertson, ed., IRL Press Ltd. 1987); Guide to Techniques in Mouse Development (P. M. Wasserman et al. eds., Academic Press 1993); Embryonic Stem Cell Differentiation in Vitro (M. V. Wiles, Meth. Enzymol. 225:900, 1993); Properties and uses of Embryonic Stem Cells: Prospects for Application to Human Biology and Gene Therapy (P. D. Rathjen et al., Reprod. Fertil. Dev. 10:31, 1998)를 참조하는 것을 희망할 수도 있다.

[0243] 분자와 세포 생화학에서 일반적인 방법은 Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd Ed. (Sambrook et al., Harbor Laboratory Press 2001); Short Protocols in Molecular Biology, 4th Ed. (Ausubel et al. eds., John Wiley & Sons 1999); Protein Methods (Bollag et al., John Wiley & Sons 1996); Nonviral Vectors for Gene Therapy (Wagner et al. eds., Academic Press 1999); Viral Vectors (Kapliff & Loewy eds., Academic Press 1995); Immunology Methods Manual (I. Lefkovits ed., Academic Press 1997); 그리고 Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures in Biotechnology (Doyle & Griffiths, John Wiley & Sons 1998)와 같은 표준 교과서에서 발견될 수 있다. 본 발명에서 언급된 유전자 조작을 위한 시약, 클로닝 벡터, 그리고 키트는 상업적인 판매자, 예를 들면, BioRad, Stratagene, Invitrogen, Sigma-Aldrich, 그리고 ClonTech로부터 가용하다.

[0244] 다음 실시예는 당업자에게 본 발명을 만들고 이용하는 방법에 관한 완전한 개시와 설명을 제공하기 위해 제안되고, 그리고 본 발명으로서 간주되는 것의 범위를 한정하는 것으로 의도되지 않고, 또한 이들은 아래 실험이 수행된 모든 또는 유일한 실험이라는 것을 나타내는 것으로 의도되지 않는다. 이용된 숫자 (가령, 양, 온도 등)에 대하여 정확도를 담보하기 위한 노력이 이루어졌지만, 일부 실험 오차와 편차가 고려되어야 한다. 달리 지시되지 않으면, 분율은 중량에 의한 분율이고, 분자량은 중량 평균 분자량이고, 온도는 섭씨 온도 (°C)이고, 그리고 압력은 대기압 또는 이에 가깝다.

[0245] **실시예 1 - 합동된 신장과 혈액 줄기 세포 이식을 위한 TLI와 ATG 조건화**

- [0246] HLA 일배체형 정합된 살아있는 관련된 공여자 신장 동종이식에 대한 면역 관용이 면역억제 약물의 평생 이용에 대한 요구를 제거하고 장기간 이식편 생존을 향상시키기 위해 발달된다. 현재, 이들 일배체형 정합된 수용자는 미국에 있는 대부분의 의학 센터에서 수행된 살아있는 관련된 공여자 신장 이식의 약 절반을 차지한다. 과거 10 년 동안, 대부분의 센터에서 증가하는 비율의 이식편이 사체 이식편에 대한 대안으로서 살아있는 관련된 공여자로부터 유래되었다. 비록 살아있는 관련된 공여자 이식조직이 사체 이식조직과 비교하여 생존을 향상시켰지만, 생체 공여자 이식편의 약 40 내지 50%가 약 10 년 이내에 여전히 상실된다. 이에 더하여, 수용자는 통상적으로, 칼시뉴린 저해제, 프레드니손, 그리고 미코페놀레이트 모페틸을 포함하는 3가지 유지 면역억제 약물의 혼합물을 복용한다. 후자 약물은 고혈압, 신독성, 그리고 심장병을 비롯한 부작용을 갖는데, 이들은 장기간 환자 장애와 이식편 상실의 원인이 된다.
- [0247] 우리의 전임상 연구는 TLI와 ATG로 조건화가 합동된 장기와 골수 이식 후에 관용을 유도하는데 유리하다는 것을 증명하였는데, 그 이유는 조건화 섭생이 TBI와 비교하여 GVHD를 예방하기 때문이다. TBI 조건화와 비교하여 TLI/ATG를 이용하여 치명적인 GVHD를 유도하는데 대략 1,000 배 많은 공여자 T 세포가 필요하다. GVHD에 대항하여 보호의 기초는 숙주 자연 킬러 (NK) T 세포 부분집합을 선호하는 잔여 숙주 T 세포의 균형에서 변화이다. 후자 세포는 TLI/ATG 조건화된 생쥐에서 우세한 T 세포 부분집합이 되고, 그리고 Th2 치우침을 향하여 전통적인 공여자 T 세포를 양극화하는 대량의 IL-4를 생산하고, 따라서 GVHD를 약화시킨다. 여러 실험실은 생체내 방사선 조사를 견뎌내는 NK T 세포가 그들 자체로, Th2 치우침을 향하여 양극화된다는 것을 보여주었다.
- [0248] 전임상 연구에서 GVHD에 대항하여 TLI/ATG의 보호 효과에 기초하여, 이러한 조건화 섭생은 환자에 대한 HLA 정합된 세포 이식을 위한 비-골수소멸성 섭생으로서 성공적으로 검사되었다. 조건화 섭생 및 적응을 위한 조혈 세포 이식편의 구성에서 변형이 만들어졌다. 조혈 세포 이식편은 면역자기성 비드 칼럼에 의해 선별된 규정된 숫자의 정제된 CD34+ 조혈 선조체 세포 및 규정된 숫자의 공여자 T 세포를 내포하도록 "가공되었다". TLI와 ATG 일정을 포함하는 조건화 섭생의 다른 양상은 동일하게 남겨졌다. 1 개월의 MMF 및 6 개월의 시클로스포린의 이식후 면역억제 섭생은 백혈병과 림프종을 치료하기 위해 조혈 세포 이식조직을 받는 환자에 대한 표준 프로토콜로부터 적합되었다. 중요하게는, 조건화 섭생은 0 일자에 이식 수술의 시작으로 수행되고, 그리고 공여자 조혈 세포의 주입이 11 일자에 실시되었다. 이것은 장래에 사체 이식조직에 대한 프로토콜의 추가 적응을 허용하였고, 그리고 TLI/ATG를 이용한 합동된 이식의 다양한 전임상 연구에서 이용된 일정이었다.
- [0249] 20명 환자는 합동된 HLA 정합된 이식편이 제공되었고, 5와 86 개월 사이에 추적 조사되었다. 이들 중에서 19명은 GVHD의 발달 없이 키메라가 되었다. 17명은 지속 키메라현상 (>6 개월)이 발달하였고, 그리고 이들 중에서 14명은 면역억제 약물이 취소되었고, 17명 환자 중에서 2명은 약물 점감을 겪고 있고, 그리고 20명 중에서 4명은 약물 취소에 실패하였다 (키메라현상을 >6 개월 동안 유지하는데 실패로 인해, 또는 거부반응 에피소드로 인해). 20명 환자 모두 현재 최종 관찰 포인트에서 탁월한 이식편 기능을 가졌고, 그리고 이식 수술 후 약 5 병원 일에 퇴원하였다. 이들 환자는 3-16 CD34+ 세포/kg 및 1 x106 CD3+ 세포/Kg을 필요로 하였다.
- [0250] 앞서 설명된 관용 프로토콜을 HLA 부정합된 환자에 적용하기 위해, CD34+와 CD3+ 공여자 세포의 분량에서 조정 이 백혈병 또는 림프종을 치료하기 위해 TLI와 ATG 조건화 섭생 및 공여자 세포 이식조직이 제공된 17명 HLA 일배체형 부정합된 환자의 예비적 연구에 기초하여 만들어졌다. CD34+ 세포의 분량은 $\geq 10 \times 10^6$ 세포/Kg까지 점진적으로 확대되었고, 그리고 CD3+ 분량은 10×10^6 세포/kg까지 점진적으로 확대되었다. 후자 세포 분량이 제공된 대다수의 환자는 혼합된 키메라현상을 달성한 반면, 이들 수준 보다 낮은 세포 분량이 제공된 환자 중에서 어느 누구도 혼합된 키메라현상을 달성하지 못하였다. 따라서, 분량 단계적 확대 임상적 연구가 $\geq 10 \times 10^6$ /Kg CD34+ 세포와 $\geq 10 \times 10^6$ /Kg CD3+ 세포의 표적 분량을 달성하는 목적으로, 합동된 신장과 조혈 세포 이식조직이 제공된 4명 HLA 일배체형 정합된 환자에서 수행되었다. 상기 연구의 목적은 이들 표적 분량의 달성이 >6 개월 동안 혼합된 키메라현상의 발달 및 그 후에 면역억제 약물을 취소하는 능력을 유발할 것인 지를 결정하는 것이었다. 임상적 프로토콜의 일부 상세가 아래에 제공된다.
- [0251] 유전자 어레이 시험은 약물 취소 규준에 부합한 환자에서 이식전 내지 이식후 유전자 발현 프로필이 전통적인 면역억제 약물을 중지한 회귀한 "기능가능한" 내성 환자의 것들에 훨씬 우수하게 정합되고 그들의 첫 번째 모니터링 시점에서 이식편 거부반응이 발달하지 않도록 이들 이식전 내지 이식후 유전자 발현 프로필에서 변화가 있다는 것을 지시한다. 이것은 취소 규준에 부합하는데 실패한 환자에서는 해당하지 않았다. 이들 2 군 사이에 유전자 발현 패턴에서 차이는 추후 시점에서 줄어들었다. "기능가능한" 내성 환자가 모두 HLA 부정합되었다는 것은 유의되어야 한다. 이것은 내성 유전자 발현 프로필이 정합된 환자와 부정합된 환자 둘 모두에서 내성 상태를 예측하는데 이용될 수 있다는 것을 지시한다.

[0252] **임상적 프로토콜**

[0253] 이것은 성체 신장 이식조직 환자에서 단일-센터, 개방성-라벨 연구이었다. 환자는 TLI, RATG, 그리고 CD34+ 세포에 대해 농축되었고 규정된 숫자의 CD34+와 CD3+ 공여자 세포를 내포하는 G-CSF "동원된 혈액" 단핵 세포의 주입을 받았다. 면역억제 약물은 9 개월의 미코페놀레이트 모페틸 (MMF; 10 일자에 시작하여 하루 2 회 15 mg/Kg), 그리고 0 일자에 시작되고 12 개월의 표적에서 중단되는 매일 타크롤리무스의 점감 코스로 구성되었다. 칼시뉴린 저해제와 퓨린 대사 저해제의 면역억제 약물 조합은 이전에 이용된 것과 유사하였다. 연속 시점에서 (1) 이식편 기능이 모니터링되었고, (2) 키메라현상이 수용자 백혈구 부분집합에서 측정되었고, 그리고 (3) 이식편의 프로토콜 생검이 획득된다. 키메라현상이 첫 6 개월 동안 발달하는데 실패하거나 또는 상실되면, 또는 거부반응 에피소드 또는 GVHD가 일어나면 또는 이식편 생검에서 거부반응의 조직학적 증거가 있으면, 타크롤리무스 및/또는 MMF가 취소되지 않았고, 그리고 환자는 그 후에 치료 실패로서 추적될 것이다. 본 연구에서 수용자는 공여자로부터 수확된 "동원된" 말초혈 단핵 세포로부터 $1 \times 10^7/\text{Kg}$ T 세포의 표적 분량을 달성하기 위해 $\geq 10 \times 10^6$ CD34+ 세포/Kg의 표적 분량 및 확대 분량의 T 세포가 제공되었다. 프로토콜에서 등록된 4명 환자 중에서, 2명은 표적 세포 분량을 받지 않았고 2명은 받았다 (표 1).

[0254] 연구 요법. 본 연구의 코스 동안, 환자는 토끼 ATG (티모글로불린)의 5회 정맥내 주사, 총 1,200 cGy의 전체 림프구양 방사선조사, 공여자 세포의 단일 주입, 일시적인 면역억제 (MMF와 타크롤리무스), 그리고 예방적 항바이러스성, 항진균성과 항세균성 작용제를 투여받는다.

[0255] 환자는 5 일 기간에 걸쳐 티모글로불린의 총 5회 정맥내 분량을 투여받는다; 각 분량은 1.5 mg/kg이다. 티모글로불린은 이식 당일에 (이식된 장기가 숙주 혈액으로 관류되기 전 수술중) 및 차후에, 이식후 4 일에 투여된다.

[0256] 환자는 TLI의 전체 분량이 1,200 cGy이도록 이식 후 1 내지 4 일자, 그리고 7 내지 11 일자에, 림프절, 비장과 흉선에 표적화된 분할 조사의 10회 치료 (각 120 cGy)를 받는다. 2회 분량은 총 10회 분량을 달성하기 위해 10 또는 11 일자에 제공된다. TLI는 반전된 Y와 맨틀 조사영역에 제공된다. TLI의 투여 동안, 환자는 호중구감소증 (과립구 $< 2,000/\text{mL}$), 혈소판감소증 (혈소판 $< 60,000/\text{mL}$)과 감염의 발달에 대해 모니터링된다. TLI는 이들 문제 중에서 한 가지로 인해 보류되고, 그리고 G-CSF ($10 \mu\text{g/kg/일}$)가 호중구감소증에 대해 제공된다. TLI는 일단 호중구감소증 및/또는 혈소판감소증이 해결되면 회복된다. TLI의 완결에서, 모든 환자는 백혈구 수치가 1,000개 세포/mm³ 아래이면, G-CSF ($10 \mu\text{g/kg/일}$)가 제공된다. TLI는 분량이 보류되지 않으면, 11 일자까지 완결된다.

[0257] "가공된" 냉동보존된 HLA-일배체형 정합된 살아있는 관련된 공여자, G-CSF 동원된 혈액 단핵 세포 (성분채집술을 이용하여 공여자 말초혈로부터 회수됨)의 단일 정맥내 주입이 TLI의 완결의 일자에 환자에 투여된다. 공여자 세포의 수확은 다음의 방식으로 수행된다: 신장 이식 전 대략 6 주에, 공여자는 5 일 동안 매일 G-CSF (16 mg/kg/일)가 제공되고, 그리고 단핵 세포는 HLA-일배체형 정합된 말초혈 줄기 세포 (PBSC) 이식을 위한 Stanford Committee on Medical Human Subjects에 의해 이전에 승인된 절차에 따라, 20 리터까지 성분채집술에 의해 수확된다. 이에 더하여, 12 리터까지의 두 번째 세션이 최적 세포 회수를 위해 수행될 수 있다. 세포는 Isolex 칼럼에서 CD34+ 세포에 대해 선별되고, 칼럼 관류 역시 수집된다. CD34+ 세포와 관류 세포 둘 모두 Stanford Blood and Marrow Transplantation laboratory에서 표준 절차에 따라 냉동보존되고 해동된다. 주사되는 CD34+ 세포의 표적 분량은 $\geq 10 \times 10^6$ 세포/kg이다. ($1 \times 10^7/\text{kg}$ CD3+) T 세포의 규정된 표적 분량이 농축된 CD34+ 세포와 함께 칼럼 관류 세포를 주사함으로써 정맥내 투여된다. 관류 세포의 분량은 면역형광 염색에 의해 결정된 CD3+ 세포의 함량에 기초하여 계산된다. 이러한 분량은 백혈병과 림프종을 앓는 17명 일배체형 정합된 환자에서 이용되었다. 이들 환자 중에서 대다수는 지속 혼합된 키메라현상이 발달하였고, 그리고 어느 누구도 급성 GVHD가 발달하지 않았다. T 세포의 분량은 합동된 이식조직의 첫 3명 수용자가 지속 키메라현상을 달성하는데 실패하면 증가되고, 그리고 첫 3명 수용자에서 완전한 키메라현상이 발달하거나 또는 임의의 환자에서 GVHD가 발달하면 줄어든다.

[0258] 코르티코스테로이드 요법은 ATG 부작용을 감소시키기 위해 ATG 주입의 일자에서 예비 투약으로서 60-120 mg 슐루메드롤 (I.V.)에 한정되었다. ATG의 최종 분량 후에, 30 mg/일에서 시작되고 5 mg/일씩 감소하는 프레드니손의 점감 코스가 10 일자까지 제공된다.

[0259] MMF 요법은 하루 2 회 15 mg/Kg에서 공여자 세포 주입의 당일 (10 일자)에 시작되었다. MMF 요법은 6 개월 동안 유지되었고, 그리고 이후, 점감되고 9 개월에서 중지되었다.

[0260] 타크롤리무스는 0 일자에 시작되고, 고정적인 전혈 최저치를 달성하기 위해 조정되었다. 면역억제 약물 점감에

대한 기준이 부합되지만 하면, 타크롤리무스는 9 개월 차에서 시작하여 점감되고, 그리고 12 개월 차까지 중지되었다.

[0261] 12 개월 차까지 면역억제 약물 (타크롤리무스)과 9 개월 차까지 MMF의 지속된 점감에 대한 기준은 다음과 같았다: 1) 최소한 6 개월 동안 지속된 키메라현상; 2) 임상적 거부반응 에피소드 없음; 3) 프로토콜 생검이 급성 또는 만성 거부반응의 증거 없음을 보여준다; 4) GVHD 없음. 이들 기준에 부합하지 못하는 환자는 치료 실패인 것으로 고려되고, 그리고 약물의 추가 점감이 수행되지 않는다.

[0262] 면역억제 약물로 통상적으로 처리될 급성 또는 만성 GVHD가 관찰되면, 환자는 치료 실패인 것으로 고려된다. 면역억제 약물은 표준 관례에 따라 투여된다.

[0263] 거부반응 에피소드는 표준 항-거부반응 요법으로 치료되는데, 이것은 정맥내 메틸 프레드니솔론의 이용을 포함하고, 그리고 환자는 치료 실패인 것으로 고려된다. 스테로이드의 2가지 코스에 대한 반응 없음이 발견되면, 항-림프구 항체의 코스가 제공된다. 타크롤리무스는 거부반응 에피소드 동안 전통적인 분량에서 제공된다. 일단 거부반응 에피소드가 발생하면, 환자는 전통적인 분량의 유지 면역억제 약물로 복귀할 것이고, 그리고 상기 프로토콜에 따라 추가 점감이 시도되지 않는다. 현재 급성 거부반응 에피소드 중에서 95%가 역전된다.

[0264] TLI와 ATG의 초기 코스가 T 세포의 현저한 고갈을 유도할 것으로 예상되기 때문에, 전통적인 면역억제 프로토콜과 비교하여 시토메갈로바이러스 (CMV), 엡스타인-바르 바이러스, 대상포진 및 단순 헤르페스 바이러스를 비롯하여 새로운 또는 재발하는 바이러스 감염의 증가된 위험이 존재한다. CMV에 대한 항바이러스 예방은 아래와 같이 제공된다: 신장 기능을 위해 조정된 발간시클로비르 (900mg/일:P.O.)가 첫 14 일 동안 제공되거나 또는 첫 14 일 동안, 신장 기능을 위해 조정된 간시클로비르 (DHPG), 5 mg/kg이 IV 제공된다. 14-일 코스 후, 모든 프로토콜 이식조직 수용자는 신장 기능을 위해 조정된 발간시클로비르 (900 mg/일)에서 배치되었다. 이것은 최소 90 일 동안 지속되었고, 그리고 절대 림프구 수치가 400 아래이면, 스테로이드 중단 시점까지 지속된다.

[0265] 박트림 (하루에 1 단일 강도 정제)이 쥐폐포자충 (Pneumocystis carinii) 폐렴 (PCP)의 예방을 위해 1 년 동안 경구 제공되었고, 그리고 마이코스타틴 구강 청결제가 칸디다 예방을 위해 3 주 동안 매일 경구 제공되었다. 표준 수술전후 항생제는 안세프 (1 mg, i.v., 8-시간 간격에서 3회 분량) 및 젠타마이신 (1.7 mg/kg, i.v., 이식의 시점에서 1회 분량)을 포함할 것이다. 항세균제는 환자 알레르기에 따라 적절한 치환에 종속된다.

[0266] 이식후 모든 면역억제 약물이 중지되기 직전에 감시 생검이 수행된다. 이에 더하여, "원인 찾기" 생검이 혈청 크레아티닌에서 설명되지 않은 또는 미해결된 20% 증가의 48 시간 이내에 획득된다.

[0267] 표적화된 세포 분량을 받는데 실패한 2명 환자 중에서, 환자 #1은 1 개월 이상 동안 지속되는 혼합된 키메라현상을 갖는데 실패하였다. 이 환자는 분량 단계적 확대 연구의 일부로서 3×10^6 CD3+ 세포/Kg를 받았지만, 표적화된 숫자의 CD34+ 세포/Kg를 받았다. 이 환자는 면역억제 약물로부터 취소되지 않았고, 그리고 우수한 이식편 기능을 유지하면서 타크롤리무스와 MMF를 여전히 투여받고 있다.

[0268] 환자 #2와 #3은 표적화된 세포 분량의 CD3+ T 세포 (10×10^6 세포/Kg) 및 표적화된 분량의 CD34+ 세포를 투여받았다. 양쪽 환자는 각각 현재 10 개월과 5 개월 동안 지속 혼합된 키메라현상이 발달하였고, 그리고 약물 취소 기준에 부합한다. 지속 혼합된 키메라현상의 패턴은 도 2에서 환자 #3의 경우에 더욱 짧다.

[0269] 환자 #4는 10×10^6 CD3+ 세포/Kg를 투여받았지만 공여자에 투여된 G-CSF의 2회 코스에도 불구하고 공여자 CD34+ 세포의 불량한 동원으로 인해 CD34+ 세포의 필수적인 숫자에 부합하지 못하였다. 이 환자는 키메라현상을 발달하는데 실패하였고, 그리고 우수한 이식편 기능을 유지하면서 면역억제 약물을 여전히 투여받고 있다.

[0270] **실시예 2.** 혼합된 키메라현상의 발달에 대한 T 세포 분량의 효과.

[0271] 환자는 실시예 1에서 설명된 바와 같이 이식되었다. HLA-정합 특징, 조건화 섭생 및 공여자 세포 조성은 표 1에 따라 수행되었다.

표 1

[0272]

환자 # 이식후 개월	연령/ 성별	ESRD 원인	전체 분량 TLI (cGy)	CD34 ⁺ 세포 분량 ($\times 10^6$ /k g)	CD3 ⁺ 세포 분량 ($\times 10^6$ /k g)	마지막 관찰 에서 혈청 크레아티닌 (mg/dL)	키메라현 상의 지속 시간	키메라현상 (>30% 공여 자 유형 세 포)
1 (37 개월)	47/남성	IgA	1200	11.8	3	1.7	1 개월	-

2 (19 개월)	24/여성	SLE	1200	14.5	10	1.1	12 개월	+
3 (16 개월)	35/여성	알 수 없음	1200	21.9	10	1.1	12 개월	+
4 (16 개월)	33/남성	알 수 없음	1200	9	10	1.4	<1 개월	-
5 (7 개월)	26/여성	SLE	1200	7.5	10	1.1	<1 개월	-
6 (4 개월)	21/남성	FSG	1200	7.5	20	1.3	<1 개월	-
7 (4 개월)	47/여성	GN	1200	11.0	20	1.3	1 개월	-
8 (2 개월)	26/여성	MGN	1200	8.8	50	1.3	>1 개월	+
9 (2 개월)	55/남성	FGN	1200	11.0	50	1.5	>1 개월	+

[0273] 이들 데이터에 의해 그리고 도 4에서 나타나 있는 바와 같이, HLA 부정합된 조혈 세포 이식을 받는 개체에서, 안정된 혼합된 키메라현상은 $50 \times 10^6/\text{kg}$ 까지 고분량의 CD3+ 세포로 획득될 수 있고, 그리고 이러한 분량의 T 세포는 낮은 숫자의 CD34+ 세포를 극복할 수 있다. 예로서, 환자 7과 9는 동일한 분량의 CD34+ 세포를 투여받았지만, 높은 T 세포 분량을 투여받은 환자 9만 혼합된 키메라현상을 달성하였다.

[0274] **실시예 3 - 조혈 세포 이식에서 이용을 위한 말초혈 선조체 세포의 수집**

[0275] 조혈 이식조직에 대한 허용되는 선조체 세포 생존력과 회수를 유발하는, 품질과 양에서 적합한 말초혈 선조체 세포를 수집하기 위해, 이러한 유형의 절차는 보관 목적으로뿐만 아니라 잠재적 BMT 이식 환자 또는 공여자에서 수행될 수 있다.

[0276] 목적이 백혈병 효과와 대비하여 이식편을 창출하는 것인 경우에 공여자로부터 림프구를 수집하기 위해.

[0277] 학술 연구를 위한 수지상 세포 또는 다른 세포주를 수집하기 위해.

[0278] - 40 Kg보다 적은 무게가 나가는 환자의 경우에, 절차 장소, 혈액 또는 알부민 주요 표준 및 다른 연령 특정한 문제에 대해 *Pediatric COBE® Spectra™ Procedure*를 참조한다.

표 2

[0279] 백혈구 세트-기능적으로 폐쇄된	산물 가방 및 실행중 또는 절차후 표본추출에 항응고제의 첨가를 허용하는 기능적으로 폐쇄된 COBE Spectra 일회용 배관 세트.
표본 밸브 어셈블리	표본 밸브 어셈블리는 표본추출 포트를 갖는 2개의 표본 밸브, Y 커넥터, 3개의 슬라이드 클램프 및 산물 가방까지 이르는 배관으로 구성된다.
표본 밸브	산물 표본을 획득하고 제거하기 위한 4 ml 플라스틱 밸브.
표본추출 포트	무딘 바늘과 주사기로 산물 표본의 제거를 허용하는 각 표본 밸브에 연결된 포트.
보조 라인	보조 라인은 수집 라인에 연결되고, 그리고 리어 커넥션, 프랜저블과 슬라이드 클램프를 갖는 무균 장벽 필터를 포함한다.
프랜저블	간호사가 항응고제를 추가할 준비가 될 때까지, 산물이 무균 장벽 필터 내로 배수하는 것을 예방하는 깨지기 쉬운 장벽.
무균 장벽 필터	기능적으로 폐쇄된 배관 세트를 유지하면서 산물 가방에 항응고제의 첨가를 허용하는 0.2 마이크론 필터.

[0280] **배관 설치**

[0281] 전원공급장치가 정확한 전압에서 가동되는 것을 담보하기 위한 짧은 자가-점검을 수행하기 위해 성분채집기 (가령, Spectra)에서 동력 공급됨. "코브 스펙트럼 (이형 __ 소프트웨어)"이 전시되는 것으로 실증되면, 황색 경고 엘이디가 밝아지고, 휴지 엘이디가 반짝이고, 카트리지 클램프가 양하 위치에 있고, 단일 시기 충전제가 정위된다. 일회용 세트 패키지가 원심분리기 덮개 위에 배치되고 종이테이프가 제거되었다. 패키지는 프론트 패널 상에 구경 아래에 배치함으로써 안전하게 유지되었다.

[0282] 입구 코일이 제거되고, 그리고 iv 장대의 왼쪽에서 구경 상에 접근 커넥션을 담보하기 위해 매달렸다. 접근 염수 (녹색) 라인이 상기 기계의 위쪽에 배치되었다. 복귀 라인 코일이 제거되고, 그리고 복귀 커넥션이 iv 장대의 왼쪽에서 구경 상에 매달렸다. 복귀 염수 라인이 상기 기계의 위쪽에 배치되었다. 이들 가방은 왼쪽에서 오

른쪽으로 iv 장대 상에 매달렸다: ac 왼쪽 끝; 식염수; 폐기물; 혈장; 오른쪽에서 산물 가방. 슬라이드 클램프가 표본 밸브 어셈블리 상에서 산물 가방과 y 커넥터 사이에 폐쇄되어 산물이 이것에 성급하게 들어가는 것을 예방하였다. 복귀 펌프 카트리지가 패키지의 오른쪽으로부터 이전되고, 그리고 혈장 및 수집/대체 펌프 사이에 카트리지가 클램프 내로 똑 부러졌다.

[0283] 접근 펌프 카트리지가 패키지의 왼쪽으로부터 이전되고, 그리고 ac와 입구 펌프 사이에 카트리지가 클램프 내로 똑 부러졌다. (카트리지가 상에서 코브 라벨은 직립이고 직면해야 한다. ac 검출기에서 ac 라인이 배치되고, 그리고 배관을 펌프 내로 로딩하는 프로그램이 지속되었다. 이들 라인은 수집/대체와 혈장 밸브에서 배치되었다.

[0284] 복귀 압력 센서가 하우징에서 배치되고, 아래쪽으로 밀리고, 그리고 제자리에서 잠금되도록 시계 방향으로 회전된다. rbc 라인이 rbc 밸브에서 배치되고, rbc 검출기에서 완전하게 삽입되었다. 복귀와 입구 공기 챔버가 폐기물 전환 라인을 전방으로 하여 공기 검출기에서 위치되었다. 공기 챔버 필터가 배치되었고, 따라서 이들 챔버의 상부가 공기 검출기 하우징으로 정렬되었다. 보호 캡이 복귀 공기 챔버 위에 수컷/암컷 리어 커넥터로부터 제거되고, 그리고 폐기물 전환 라인이 폐기물 전환 밸브 어셈블리에 배치되었다. "y"는 처음에는 밀렸고, 이후 배관을 제자리에 역으로 "플러싱하였다".

[0285] 라인이 원심분리기 압력 센서 하우징에서 배치되고, 그리고 접근 압력 센서가 하우징에서 배치되고, 아래쪽으로 밀리고, 그리고 제자리에 잠금되도록 시계 방향으로 회전되었다. 복귀 (청색) 라인이 복귀 밸브에서 배치되고, 따라서 라인이 밸브의 중심을 통하여 수평으로 놓였다. 통로가 패키지로부터 제거되었다.

[0286] 상기 장치가 열리고, 그리고 원심분리기에서 배치되었다. 원심분리기가 적하 포트가 프린트에 개방성이고, 그리고 원심분리기 칼라 홀더가 충전제의 외부 외륜에서 안정되도록 회전되었다. 통로에 연결된 배관이 연장되고, 그리고 원심분리기가 배관이 비틀어지지 않고 위쪽 베어링이 제자리에 남아있도록 담보하기 위해 여러 번 시계 방향으로 회전되었다. 원심분리기 도어가 폐쇄되고, 그리고 일회용 배관 세트에 대한 표준 기폭 절차를 실행하기에 앞서 차폐되었다.

[0287] 환자를 연결하고 성분채집술을 수행한다

[0288] 접근을 위한 카테터 이용: 카테터가 클램핑되고, 그리고 허브 커넥션이 알코올 와이프로 준비되었다. 바늘 없는 커넥터가 제거되고, 그리고 허브와 실이 새로운 알코올 와이프로 활발하게 청소되었다. 진공채혈기 홀더가 부착되고, 그리고 카테터 상에 핀치 클램프가 열렸다. 카테터로부터 뽑혀진 첫 5 ml가 폐기물 드로우에서 배치되고, 그리고 실험실 검체가 뽑혀졌다. 카테터 상에 핀치 클램프가 폐쇄되고, 부착된 바늘이 스펙트럼 접근 라인으로부터 제거되고, 카테터 동맥 라인에 접근 라인이 부착되었다. 표본이 혈액회석을 위해 평가되었다. 라인 핀치 클램프에 접근이 개방되는 동안, 염수 롤러 클램프에 접근이 폐쇄되었다. 성분채집기에서 프로그램이 시작되었다. 핀치 클램프가 개방되고, 그리고 롤러 클램프가 복귀 염수 라인에서 폐쇄되는 동안, 복귀 라인이 카테터 정맥 라인에 연결되었다.

[0289] 접근을 위한 정맥천자 이용: 정맥천자 부위가 약 30 초 동안 알코올 피부 제조물을 포함하는 클로르헥시딘 글루콘산염 2%로 청소되고 대략 30 초 동안 공기 건조되었다. 접근 정맥천자가 스펙트럼 접근 라인에 부착된 17 게이지 바늘 또는 스톱 공급으로부터 18 게이지 바늘을 이용하여 수행되었다. 실험실 검체는 혈액회석의 가능성을 위해 뽑혀졌다. 복귀 정맥천자가 20-17 g iv/바늘로 수행되었다. 스펙트럼 접근과 복귀 라인이 접근과 복귀 바늘에 연결되었다. 백색 핀치 클램프가 접근과 복귀 라인에서 개방되었다. 롤러 클램프가 정맥을 개방 상태로 유지하고, 바늘을 통한 복귀에서 지연이 있으면 복귀 바늘이 응고하는 것을 예방하기 위해 복귀 염수 라인에서 조정되었다. 접근 염수 롤러 클램프에 접근이 폐쇄되고, 그리고 컵에서 압력이 시작 실행 모드로 계속하기에 앞서 40 mm hg까지 부풀려졌다.

[0290] 명세: 단핵 세포가 칼라그램 (매우 밝음, 이차 처리를 겪는 산물의 경우에 0.5-1.5%, 예를 들면, Isolex 또는 clinimacs)에서 2-4%의 hct에서 절차를 이용하여 수집되었다. 칼라그램이 가장 작은 투명한 수집 라인 아래에 삽입되었는데, 여기서 이것은 다중내강 커넥터 바로 아래에서 원심분리기 챔버를 빠져나간다. 수집 라인의 칼라에 대해 칼라그램에서 착색된 직사각형이 비교되었다. 단핵 세포 수집물은 최소 숫자의 적혈구를 가져야 한다. 전형적으로, 적혈구의 최상층에서 유의미한 숫자의 백혈구가 있었다. 최고 단핵 세포 수율을 위해 일부 적혈구를 수집하는 것이 필요하였다. 하지만, 산물이 세포 선별을 위해 더욱 처리되면, 과립구는 CD34+ 선별 기기에서 CD34+ 세포와 경쟁할 것이다. 수집물이 더욱 밝을수록, 더욱 적은 과립구, 하지만 더욱 많은 혈소판이 수집되었다. 수집 라인의 칼라가 너무 어두우면, 혈장 펌프 유속이 3-5 분 마다 0.3 내지 1 ml/분씩 줄어들었다. 수집 라인의 칼라가 너무 밝으면, 혈장 펌프 유속이 동일한 조정에 의해 증가되었다.

- [0291] 혈장이 빠른 시작이 완결된 후, 표적 실행 시간의 종결 때까지 수집되었다. 혈장을 수집하는 것은 일시적인 경계면 불안정 및 높은 복귀 압력 경보를 유발할 수 있다. 이것을 방지하기 위해, 슬라이드 클램프를 혈장 라인에서 개방하고, 표적 값을 누르고, 혈장을 누르고, 수집을 위한 혈장의 체적을 입력하고, 그리고 엔터를 누름으로써 혈장이 수집되었다. 혈장 수집이 끝나갈 무렵에, 상기 비율은 복귀 압력 한계가 허용하는 바와 같이, 30-40 ml/분으로 느려졌고, 그리고 이후, 이전 비율까지 점진적으로 증가되었다.
- [0292] 냉동보존된 산물의 경우: 백혈구 수치가 30 k/u1보다 크거나 또는 이와 동등하고, 그리고 혈소판 수치가 환자에 30 k/u1, 또는 공여자에서 200 k/u1보다 크거나 또는 이와 동등하면, 산물 가방이 최소 300 ml를 내포하도록 만들기 위해 수집 비율이 증가된다.
- [0293] 슬라이드 클램프가 보조 라인 상에 프랜저블 위에서 폐쇄되고, 그리고 프랜저블이 프랜저블을 내포하는 배관을 앞뒤로 구부림으로써 완전하게 파괴되었다.
- [0294] 무균 기술이 무균 장벽 필터 아래에 리어 커넥션으로부터 캡을 제거하는데 이용되었고, 그리고 원하는 양의 항응고제를 내포하는 주사기가 부착되었다. 프랜저블 위에서 슬라이드 클램프가 개방되었고, 그리고 항응고제가 무균 장벽 필터를 통해 산물 가방 내로 느리게 주사되었다. 유체의 역류를 예방하기 위해, 주사기를 제거하기 전에, 프랜저블 바로 위에 배관 상에 슬라이드 클램프가 폐쇄되었다. 대략 3 ml의 무보존제 염수를 내포하는 주사기가 무균 장벽 필터 아래에 루어 커넥션에 부착되었다. 슬라이드 클램프가 프랜저블 위에서 개방되었고, 그리고 염수가 항응고제를 산물 가방 내로 분출하기 위해 무균 장벽 필터를 통해 주사되었다. 배관 상에 슬라이드 클램프가 프랜저블 바로 위에서 개방되고, 그리고 캡 대체되었다.
- [0295] 미드백 (midbag) 표본이 밸브 어셈블리 상에서 산물 가방과 y 커넥터 사이에 슬라이드 클램프, 그리고 배관 상에서 표본 밸브 중에서 한 가지 및 y 커넥터 사이에 슬라이드 클램프를 폐쇄함으로써 획득되었다. 산물 가방은 대표적인 표본과 슬라이드 클램프가 표본 밸브 어셈블리 상에서 산물 가방과 y 커넥터 사이에 개방되도록 담보하기 위해 충분히 혼합되었다. 배관에 부착된 표본 밸브는 산물 표본의 필요한 양만을 빼내기 위해 개방성 슬라이드 클램프로 압착되었다. 너무 많은 산물 표본이 빼내지면, 과잉 산물 표본이 표본 밸브를 산물 가방의 액체 수위를 초과하여 반전시키고, 표본 밸브를 압착하여 과잉 산물 표본을 산물 가방 내로 역으로 전달하고, 그리고 잔여 공기를 이용하여 산물 표본의 배관을 정화함으로써, 표본 밸브를 직립으로 및 산물 가방 아래에 유지하고, 표본 밸브 내에 잔여 공기를 이용하여 표본 밸브를 압착하여 배관으로부터 산물 표본을 산물 가방 내로 밀어 넣고, 그리고 표본 밸브에 대한 압력을 유지하면서, y 커넥터 바로 아래에서 슬라이드 클램프를 폐쇄함으로써 산물 가방 내로 역으로 전달되었다.
- [0296] 무딘 바늘이 부착된 주사기를 표본추출 포트 내로 삽입하고, 표본 밸브를 반전시키고, 산물 표본을 주사기 내로 천천히 흡인하고, 바늘이 부착된 주사기를 표본추출 포트로부터 제거하고, 그리고 산물 표본을 시험관에 전달함으로써, 산물 표본이 무딘 18 게이지 1 인치 바늘과 주사기로 표본추출 포트로부터 흡인되었다.
- [0297] 린스백
- [0298] 접근을 위한 카테터를 이용하여 린스백을 시작한다: 녹색 염수 라인 상에 롤러 클램프가 개방되고, 그리고 접근 카테터가 10 ml의 식염수로 분출되고, 이후 접근 라인 상에 백색 핀치 클램프가 폐쇄되었다. 복귀 라인이 10 ml의 염수로 분출되고, 그리고 복귀 라인 상에 백색 핀치 클램프가 폐쇄되었다. 염수 라인 상에 롤러 클램프가 폐쇄되고, 그리고 결합 부위가 알코올로 청소되었다. 카테터가 클램핑되고, 그리고 헤파린으로 미리 충전된 새로운 바늘 없는 커넥터를 부착하기 전에 접근 라인이 폐쇄되었다. 내강이 3 ml, 100 단위/ml 헤파린으로 분출되고, 그리고 주사기와 리클램프 (reclamp) 카테터가 제거되었다. 동일한 절차가 복귀 라인에 대해 반복되었다.
- [0299] 접근을 위한 정맥천자를 이용하여 린스백을 시작한다: 컵 상에 압력이 방출되고, 그리고 녹색 염수 라인 상에 롤러 클램프가 분출 바늘에 개방되고, 이후 접근 라인 상에 백색 핀치 클램프가 폐쇄되었다. 드로우 라인 바늘이 제거되었다. 복귀 라인 상에 백색 핀치 클램프가 폐쇄되고, 그리고 복귀 바늘이 제거되었다. 압력이 정맥천자 부위에 적용되었고, 그리고 염수 라인 상에 롤러 클램프가 폐쇄되었다.
- [0300] 실시예 4 - 성분채집술 산물로부터 CD34+ 세포의 단리와 정제
- [0301] CliniMACS 시스템이 CD34+ 조혈 선조체 세포 (HPC)의 선별과 농축에 이용되었다. CliniMACS 시스템은 표적 선조체 세포를 표지화하는 수단으로서, 자성 입자에 결합된 CD34 항체를 이용한다. 일단 이들 자성 입자로 표지화되면, 세포 현탁액은 CliniMACS 장치 상에 선별 칼럼 내에 강한 자성 구배를 통해 통과되었다. 자성으로-표지화된

CD34+ 세포는 칼럼 내에 유지되고, 반면 표지되지 않은 세포는 칼럼을 관류하고 감소된 분획물 가방에서 수집되었다. 칼럼이 자기장으로부터 제거될 때, CD34 양성 세포가 농축된 분획물 가방에서 수집을 위해 방출된다.

[0302] 시약 제조

표 3

[0303]

용액	시약	부피	최종 농도	보관
CliniMACS 완충액	1mM EDTA pH 7.2 를 내포하는 PBS 완충액 25% HSA	1L 20 ml	CliniMACS 완충액에 서 0.5% HSA	1 가방 COBE 1 가방 CliniMACS 1 가방 BSC/COBE
HSA/노르모솔 제제 매체	노르모솔 25% HSA	46 ml 4 ml	2% HSA/노르모솔	4C 냉장고
냉동보호제 매체	헤타스타치 25% HSA DMSO	12.2 ml 4.8 ml 3 ml	1.8 % HES 2.5 % HSA 7.5% DMSO	4C 냉장고

[0304] 산물 제조

[0305] 낙하물 측정용 평판이 생물안전 캐비닛의 각 면에 배치되고, 그리고 산물이 캐비닛 내로 운반되었다. HPC-성분 채집술 산물에 대한 검사가 모으기에 앞서 각 산물에서 수행되었다. 3-원 표본추출 전달 세트가 가방 내로 삽입되었다. 냉장고에서 하룻밤 동안 보관될 산물의 경우에, <200 x10E6/ml의 세포 농도를 산출하기 위해 자가 공여 자 혈장이 첨가되었다. 다음날 아침에, 산물은 응고를 예방하는 처리 전에 실온에서 평형화되었다.

[0306] 세포는 성분채집술 수집 가방으로부터, "세포 제조물"로서 표지화된 600 ml 전달 팩으로 이전되었다 (추후 무균 도킹을 위한 전달 팩 배관의 6 - 8 인치를 남겨놓는 열 밀봉). 산물은 칭량되고, 그리고 산물 체적이 계산되었다.

[0307] 산물이 >200ml일 때 파잉 혈장의 제거: 산물은 균형화되고, 그리고 실온에서 제동 없이 15 분 동안 250g에서 원심분리되었다. 무균 산물 가방은 "폐기물 혈장"으로 표지화된 600 ml 전달 팩에 도킹되었고, 그리고 배관이 지혈집게로 클램핑되었다. 산물 가방은 세포 침전물을 교란하는 것을 방지하기 위해 원심분리기 버킷으로부터 제거되고 혈장 추출기에서 매달렸다. 혈장 추출기 손잡이가 이용되고, 지혈집게가 개방되고, 그리고 혈장이 폐기물 가방 내로 전달되었다. 흐름을 중지시키기 위해 배관이 지혈집게로 클램핑되었다. 세포 가방은 혈장 추출기로부터 제거되고, 그리고 세포 펠렛이 재현탁되었다. 이들 세포는 중량 산정된 저울에서 배치되고, 그리고 공기와 혈장 둘 모두 가방 부피가 < 200 ml일 때까지 세포 가방 내로 역으로 전달되었다. 지혈집게가 폐쇄되고, 그리고 세포 펠렛이 가방을 부드럽게 빙빙 돌림으로써 세포 제조 가방에서 재현탁되었다. 혈소판 세척까지 진행한 다.

[0308] 산물이 <200ml일 때 혈소판 세척: 혈장 전달 세트는 제조된 완충액 가방 중에서 하나에 부착되었고, 그리고 전달 세트의 배관은 세포 가방에 무균으로 도킹되었다. 롤러 클램프가 개방되고, 그리고 세포 제조물 가방이 완충액으로 충전되었다. 세포 제조물 가방 및 완충액 가방 사이에 배관은 6-8 인치의 공간을 두고 열 밀봉되었다. 완충액 가방의 나머지 부분은 파잉 시약의 제거를 위해 유지되었다. 원심분리기는 균형화되고, 그리고 가방은 제동 없이 실온에서 15 분 동안 250g에서 원심분리되었다. 산물 가방은 "혈소판 폐기물"로 표지화된 600 ml 전달 팩에 무균으로 도킹되고, 그리고 배관이 지혈집게로 클램핑되었다. 산물 가방은 혈장 추출기 핀에서 매달리고, 그리고 혈장이 혈장 추출기 손잡이로부터 방출되고, 지혈집게가 개방되고, 혈장이 폐기물 가방 내로 전달되었다. 배관은 흐름을 중지시키기 위해 지혈집게로 클램핑되고, 그리고 세포 가방은 혈장 추출기로부터 제거되고 세포가 재현탁되었다. 산물 가방은 중량 산정된 저울에서 배치되고 적절한 항체 배양 중량으로 조정되었다 (아래에 CD34 시약 중량 파라미터 표 참조). 전체 유핵 세포 및/또는 CD34+ 세포 함량 및 산물과 시약 체적은 세포의 최적 표지화를 위한 특정된 범위 안에 있었다.

표 4

[0309]

TNC와 CD34 한계	<60 x 10 ⁹ TNC 또는 <600 x 10 ⁶ CD34	>60 x 10 ⁹ TNC 또는 >600 x 10 ⁶ CD34
배양 중량	95 g (90-100 g)	190g (180 - 200 g)
CliniMACS CD34 시약	1 바이알 (7.5 ml)	2 바이알 (15.0 ml)

[0310]

CliniMACS 설정

[0311]

배관 세트는 생물학적 안전 실험대 및 "CD34 농축된" 수집 가방 (열 밀봉됨) 내부에서 제조되었다. 부착되고, 청색 핀이 삽입되고, 그리고 CliniMACS 루어 커넥터에 연결된 전달 가방과 수용자 가방으로부터 150 ml가 제거되었다. Pall 필터가 무딘 단부를 거쳐 CliniMACS 기포 트랩 스파이크에 삽입되었다. 상기 CliniMACS 장치는 동력 공급되고 자가-진단적 절차가 실행되었다.

[0312]

기폭

[0313]

CliniMACS 시스템은 일단 프로그램이 시작되면, 자동적으로 기폭되었다. 완충액은 배관 세트를 통해 순환되고, 그리고 기폭 폐기물 가방과 완충액 폐기물 가방 둘 모두에서 수집되었다.

[0314]

CD34 시약 표지화

[0315]

총 세포 수가 계수되고, 그리고 CD34 시약의 필요한 숫자의 바이알(들)이 수집된 세포의 총수에 기초하여 산물 가방에 추가되었다. 세포 제조물 가방의 내용물은 5-10 분 간격에서 온건한 빙글빙글 회전 운동을 이용하여 철저히 혼합되거나 또는 가방은 25 rpm과 각도 10%에서 30 분 동안 로커 상에 배치되었다.

[0316]

과잉 시약은 혈소판 폐기물 가방을 대체하는 2개의 전달 가방이 각각 '시약 세척 1' 및 '시약 세척 2'로 표지화된 점을 제외하고, "혈소판 세척 섹션"에서 단계를 반복함으로써 제거되었다. CliniMACS 완충액이 첨가되고, 그리고 세척이 수행되었다. 산물은 중량 산정된 저울에서 칭량되고, 그리고 산물 중량이 80g과 318g 사이의 시작 산물 중량 범위로 조정되었다.

[0317]

CD34 선별

[0318]

시작 산물 가방은 CliniMACS에 연결되고, 그리고 Pall 필터의 상부로부터 캡이 시작 산물 가방을 스파이크하기 위해 제거되었다. 시작 산물 가방은 중심 행어 막대 상에 배치되고, 그리고 CD34+ 선별 절차가 CliniMACS에서 RUN을 누름으로써 시작되었다. 선별 과정은 자동화되고 약 40 분간 지속되었다.

[0319]

세포 조제

[0320]

감소된 분획물 가방으로부터 표본은 세포 수치, 생존력, 무균을 결정하고, 그리고 CD3+ 세포 수치에 대한 FACS 검정을 수행하기 위해 채취되었다.

[0321]

냉동보존

[0322]

원심분리기는 4 °C로 예냉각되고, 그리고 CD34 농축된 분획물 가방으로부터 표본이 세포 수치, 생존력, 임의의 집락 형성 단위, 그리고 유세포분석법 검정을 결정하기 위해 채취되었다. CD34 농축된 분획물 가방의 내용물은 2개의 표지화된 50 ml 원뿔형 튜브 사이에 동등하게 이전되었다. CD34 농축된 분획물 가방은 노르모솔/ 2% 세척 혼합물로 행균되고, 그리고 2개의 튜브 사이에 나눠졌다. 튜브를 낮은 제동에서 4 °C에서 1700 rpm에서 8 분 동안 원심분리한다. 상층액은 제거되고 무균 폐기물 튜브(들)로 이전되고, 펠렛이 온건한 타진에 의해 재현탁되었다. 상층액은 세포 계수, 무균과 내독소 시험에 이용되었다.

[0323]

4 ml 노르모솔 / 2% HSA가 이들 튜브 중에서 한 가지에 첨가되고, 내용물이 혼합되고 다른 튜브로 이전되었다. 첫 번째 튜브는 2 ml 노르모솔/ 2% HSA로 행균되고 다른 튜브 내로 이전되고, 세포 체적이 7.8 ml로 조정되고, 그리고 세포 현탁액이 냉장고에서 5 - 30 분 동안 냉각되었다.

[0324]

제어된 속도 냉동기가 제조업체의 프로토콜에 따라 제어된 속도 동결을 위해 제조되고 아래 실시예 4에서 더욱 설명되었다. 일단 제어된 속도 냉동기가 -6 °C보다 낮은 온도에 있으면, 7.8 ml의 냉동보호제 용액이 세포에 첨가되었다. 15 ml의 세포/냉동보호제가 50 ml 냉동가방으로 이전되고 열-밀봉되었다. 표본 프로브가 테이프의 각으로 냉동가방의 중심에 부착되고, 그리고 상기 가방은 포트가 프레스의 상부로부터 돌출되도록 프레스 내에

배치되었다. 프레스는 폐쇄되고, 그리고 표지화된 카세트가 제어된 속도 냉동기 실행을 활성화하기에 앞서, 제어된 속도 냉동기 내로 배치되었다.

실시예 5 - 성분채집술 산물로부터 CD34+ 세포의 냉동보존

동결된 치료적 세포의 최적 생존력은 냉동보호제 및 느린 속도의 냉각을 이용하여 달성된다. DMSO를 냉동보호제로서 이용한 동결 용액이 얼음 결정 형성에 의해 유발된 세포에 손상을 예방하기 위해 세포 산물에 첨가된다. CBS 제어된 속도 냉동 시스템은 냉동 챔버, Microsoft 윈도우즈 운영 체제가 깔린 노트북 PC, Cryogenic Freezing 소프트웨어, 표본 프로브, 표본 선반, 그리고 LN₂ 전달 호스로 구성된다. 각 산물이 개별 실행이 처리 기록에서 포함하는 냉동 곡선의 사본을 가질 수 있도록 프린터가 추가되었다. CRF는 미리 규정된 사용자 프로그램가능 속도에서 동결한다. 열전대 프로브가 냉동가방 중에서 하나에 부착되거나 또는 모니터 냉동바이알 내로 삽입된다. 챔버 온도가 연속적으로 모니터링된다. 냉동보존 프로필 단계의 진전은 열전대가 미리 규정된 표적 온도를 등록함에 따라서 발생한다. 이러한 프로필에 의해 특정된 최종 챔버 온도가 달성되면, 경보가 울리고, 그리고 산물이 제거되고 영구적인 보관 냉동기 내로 배치된다. 챔버와 프로그램된 표적 온도 사이에 편차가 검출되면, 가청과 시각 경보가 발생한다.

냉동보호제 제조

적절한 냉동보호제 용액은 아래 표에서 설명된 바와 같이 제조되었다. 냉동보호제 용액은 사용 전에 4-6 °C에서 최소한 30 분 동안 냉각되었다.

표 5

성분	비조작된 HPC/TC (50 또는 100ml 총 체적)		세척된 산물 (농축된 또는 고갈된 산물 - 혈장을 내포하지 않음) (1 ml 바이알 또는 15ml 가방 총 체적)	
세포 현탁액 : 냉동보호제 비율		70:30		50:50
	체적	산물에서 최종 농도	체적	산물에서 최종 농도
DMSO	10 ml	10%	3 ml	7.5%
노르모솔	20.4 ml	20%		
HSA (25%)			4.8 ml	4%
헤타스타치			12.2 ml	3%
총합	30.4 ml		20.0 ml	

냉동보존 용기 선별

이용되는 적절한 냉동보존 용기는 세포 밀도, 산물 유형, 체적과 개별 프로토콜 요건에 기초된다. 개별 처리 절차에 따라, 세포 / 냉동보호제 체적의 적절한 냉동 용기와 준비가 아래와 같이 수행되었다.

표 6

초기 산물 TNC	동결전 체적	동결 혼합 부피	# 동결 가방 / 바이알
$TNC \leq 3 \times 10^9$	35 ml	15 ml	1 (250 ml)
$TNC > 3 - \leq 25 \times 10^9$ (소아 환자 < 50 kg)	35 ml	15 ml	1 (250 ml)
$TNC > 3-50 \times 10^9$	70 ml	30 ml	1 (500 ml)
$TNC > 50 - 100 \times 10^9$	140 ml	60 ml	2 (500 ml)
$TNC > 100 - 150 \times 10^9$	210 ml	90 ml	3 (500 ml)
$TNC > 150 - 200 \times 10^9$	280 ml	120 ml	4 (500 ml)
$TNC > 200 - 250 \times 10^9$	350 ml	150 ml	5 (500 ml)

TNC > 1 - 100 x 10 ⁶	0.5 ml	0.5	1.8 ml 바이알마다 1 ml
---------------------------------	--------	-----	----------------------

[0333] 산물에 냉동보호제의 첨가

[0334] 일단 제어된 속도 냉동기가 산물을 수용하는 온도에 도달하면, 냉동 매체가 산물(들)에 첨가되었다. 적절한 부피의 냉동보호제가 개별 처리 절차에 따라 각 바이알 또는 가방에 추가되었다. 최적 생존력은 냉동보호제의 첨가 및 산물의 CRF 내로의 배치 사이에 시간이 최소화될 때 달성되었다. 냉동가방은 열 밀봉되고 과잉 배관이 제거되었다.

[0335] 이들 가방(들)은 적절한 보관 카세트에서 배치되고, 그리고 각 카세트가 제어된 속도 냉동기 내로 배치되었다. 250-0500 ml 냉동가방의 경우에, 동결된 산물 중에서 한 가지는 모니터링 프로브를 내포하는 카세트에서 배치되었다. 이러한 산물의 장기간 보관을 위해 제조된 카세트는 동결된 산물이 실행의 종결점에서 차가운 카세트 내로 이전되도록, 모니터 카세트에 의해 제어된 속도 냉동기에서 배치되었다.

[0336] **챔버 제조**

[0337] 적절한 선반이 챔버, 250-500 ml 냉동가방에서 산물을 위한 큰 카세트 선반, 50 ml 냉동가방을 위한 가방 프레스 또는 냉동바이알에서 산물을 위한 냉동바이알 선반 내로 배치되었다. 250-500 ml 냉동가방의 경우에, 표본 프로브가 프로브 단부의 돌출되는 쪽이 직면하도록 테이프로 카세트에 부착되고, 그리고 냉동가방의 중심 포인트 (가장 가득한 부분)와 접촉하도록 배치되었다. 냉동바이알의 경우에, 바늘 열전대 프로브가 모니터 냉동바이알을 밀봉하기 위해 고무 마개를 통해 삽입되었다. 작은 50 ml 냉동가방의 경우에, 산물이 배드 프레스 (bad press) 내로 배치되기 전에, 표본 프로브가 산물의 중심에 직접적으로 테이핑되었다. 표본 프로브 커넥션이 팬가드 (fan guard)의 위쪽 왼손 코너에서 챔버의 내측 상에 위치된다. 프로브가 잭에 연결되고, 그리고 챔버 덮개가 고정되었다.

[0338] **냉동보존**

[0339] 일단 챔버가 $\leq 6.5^{\circ}\text{C}$ 에 도달하면, 냉동보존을 위해 제조된 산물(들)이 챔버에 추가되었다. 250과 500 ml 가방의 경우에, 산물 중에서 한 가지는 부착된 프로브를 갖는 카세트 내로 배치되었고, 따라서 상기 프로브는 냉동가방의 배부의 중심 (가장 가득한 부분)을 짓누르고, 그리고 이를 카세트 내로 폐쇄하였다. 50 ml 냉동가방의 경우에, 프로브가 테이프의 조각으로 가방의 중심 배부에 부착되고, 그리고 포트가 프레스의 상부로부터 돌출하도록 산물을 가방 프레스 내에 배치하였다. 프레스는 폐쇄되고, 그리고 두 번째 50 ml 가방이 두 번째 프레스에서 배치되고 필요하면 위쪽에 적층되었다. 동결 프로그램이 표준 절차에 따라 시작되었다.

[0340] **실시예 6 - 세포 산물의 해동과 세척**

[0341] 본 실시예는 인하우스 수집되고 처리되거나 또는 SHC 또는 LPCH에서 수용자를 위한 외부 시설에 의해 수집되고, 처리되고, 발송된 HPC/TC 산물에 적용된다. 의학적 및/또는 실험실 책임자 및 주치의의 요청 시에, 실험실은 산물 주입에 앞서, 냉동보존된 산물을 실험실에서 해동하고 세척할 것이다. 해동된 산물은 저분자량 텍스트로스와 알부민으로 세척된다. 산물을 세척하는 것은 적혈구 체적 제한을 초과하는 HPC/TC 산물에 대한 과잉 헤모글로빈을 제거하고, 특히 작은 수용자 (<50kg)의 경우에 DMSO 체적을 감소시키고, 동종이계 세팅에서 과잉 혈장 단백질을 제거하고, 그리고 생존가능 세포의 회수를 향상시키기 위해 행워된다.

[0342] **시약과 설비 준비 - 주입 전일**

[0343] 10% LMD, ACD-A, 그리고 5% HSA가 모니터링된 냉장고에서 배치되었고, 그리고 충분한 차가운 젤 매트가 냉장고에서 배치되었다. 수조가 준비되었다.

[0344] **시약과 설비 준비 - 주입 당일**

[0345] 수조, BSC와 처리 스위치가 준비되고, 그리고 원심분리기가 30 분 동안 6°C 로 식혀졌다. 2개의 차가운 젤 매트가 IPA 와이프로 청소되고, 그리고 각각이 무균 플라스틱 가방 내부에 배치되었다. 이들 가방은 밀봉되고 모니터링된 냉장고로 복귀되었다. 운반 냉각기와 매체 크기산정된 동결된 젤 팩이 IPA 와이프로 청소되었다.

[0346] **매체 제조**

[0347] **해동 매체:** "해동 매체"로 표지화된 150 ml 전달 가방 상에서 배관은 열 밀봉되고, 그리고 청색 분여 핀이 포트 중에서 하나에 부착되었다. 청색 분여 핀은 10% LMD 가방의 적절한 포트 내로 삽입되었다. 60 ml 주사기가 60

ml의 10% LMD를 빼내는데 이용되었고, 그리고 해동 매체 가방으로 이전되었다. 미니-스파이크가 5% HSA 병의 포트 내로 삽입되었다. 60 ml 주사기가 60 ml의 5% HSA 병을 빼내는데 이용되었고, 그리고 해동 매체 가방으로 이전되었다. 청색 분여 핀은 ACD-A 가방의 적절한 포트 내로 삽입되었다. 12 ml 주사기가 12 ml의 ACD-A를 빼내는데 이용되었고, 그리고 해동 매체 가방으로 이전되었다. 해동 매체는 철저하게 혼합되었다.

[0348] **재구성 매체:** "재구성 매체"로 표시화된 150 ml 전달 가방 상에서 배관은 열 밀봉되고, 그리고 청색 분여 핀이 포트 중에서 하나에 부착되었다. 60 ml 주사기가 60 ml의 10% LMD를 빼내는데 이용되었고, 그리고 재구성 매체 가방으로 이전되었다. 60 ml 주사기가 60 ml의 5% HSA를 빼내는데 이용되었고, 그리고 재구성 매체 가방으로 이전되었다. 재구성 매체를 철저하게 혼합한다.

[0349] 산물 해동

[0350] 산물은 여전히 "질퍽질퍽한" 정도까지만 해동되었다; 얼음의 일부 존재가 허용된다. 산물 가방은 IPA 와이프로 닦아지고 BSC 내부에 배치되었다. 산물은 BSC 내에 차가운 젤 매트에서 포장되었고, 상기 산물은 나머지 처리 단계 동안 냉각된 상태로 유지되었다.

[0351] 30 ml와 동등하거나 또는 이보다 적은 산물: 2개 가방과 3개 배관 섹션의 세포 세척/주입 가방 세트가 이들 체적에 이용되었다. 2개 스파이크를 갖는 배관이 냉동가방에 연결되었고, 상기 배관은 청색 루어 어댑터가 해동 매체를 내포하는 주사기에 연결되었다. 세척된 산물은 수집되고 '세포 세척/주입 가방'으로 표시화된 가방에서 원심분리되고, 그리고 상층액이 나머지 가방으로 이전되었다. 세척/주입 세트 클램프가 폐쇄되었고, 그리고 냉동가방의 외측 포트 덮개가 무균 알코올 패드로 청소되었다.

[0352] 가방이 직립으로 유지되었고, 그리고 각 포트에 대해, 포트의 단단한 부분이 한쪽 손의 엄지손가락과 집게손가락으로 유지되었다. 다른 손으로, 주입 세트 스파이크가 소독된 포트 내로 삽입되고 고정되었다. 해동 매체 주사기와 냉동가방 사이에 배관 상에서 클램프를 풀어놓음으로써, 해동 매체가 가방에 무균 첨가되었다. 해동 매체의 절반이 온건하게 혼합되면서 양쪽 냉동가방 구획 내로 이전되었다.

[0353] 세포 세척/주입 가방에 클램프가 개방되고, 그리고 회석된 세포 현탁액이 냉동가방으로부터 세포 세척/주입 가방 내로 이전되었다. 세포 세척/주입 가방 상에 클램프가 행균 과정을 위해 폐쇄되었다. 나머지 해동 매체 중에서 소량이 냉동가방의 양쪽 구획을 행구기 위해 첨가되고 행균물이 세포 세척/주입 가방으로 이전되었다. 혼합물은 5 분 동안 평형화되었다.

[0354] 10% LMD의 분취량이 냉동가방에 추가되고, 냉동가방은 행균되고, 그리고 행균물은 세포 세척/주입 가방으로 이전되었다. 상기 단계는 적절한 양의 10% LMD가 냉동가방 내로 분여될 때까지 반복되었다.

[0355] 세포 세척/주입 가방은 플라스틱 원심분리기 가방에서 배치되고, 원심분리기는 균형화되고, 그리고 산물은 낮은 제동으로 6 °C에서 20 분 동안 400 x g에서 원심분리되었다. 회석된 산물의 가방은 혈장 압레기에서 배치되고, 그리고 상층액이 부착된 상층액 가방 내로 천천히 전달되고, 유속이 지혈집게로 제어되었다. 분여 핀이 세포 세척/주입 가방의 포트 중에서 하나 내로 삽입되고, 그리고 세포 펠렛이 재현탁으로 마사지되었다. 재구성 매체가 세포 세척/주입 가방에 추가되고, 그리고 내용물이 철저하게 혼합되었다.

[0356] 30 ml보다 큰 산물: 분여 핀이 냉동가방의 포트 중에서 하나 내로 삽입되었고, 그리고 해동 매체를 내포하는 주사기가 분여 핀에 부착되었다. 해동 매체의 절반이 냉동가방 내로 이전되고 혼합되고, 그리고 냉동가방이 300 또는 600 ml 전달 팩으로 스파이크되고, 상기 냉동가방의 내용물이 전달 팩으로 이전되었다. 냉동가방은 나머지 해동 매체로 행균되고, 세포를 내포하는 전달 팩에 추가되고, 혼합물이 5 분 동안 평형화되었다.

[0357] 10% LMD의 분취량이 냉동가방에 추가되고, 냉동가방은 행균되고, 그리고 행균물은 세포 세척/주입 가방으로 이전되었다. 상기 단계는 적절한 양의 10% LMD가 냉동가방 내로 분여될 때까지 반복되었다.

[0358] 세포 세척/주입 가방은 플라스틱 원심분리기 가방에서 배치되고, 원심분리기는 균형화되고, 그리고 산물은 낮은 제동으로 6 °C에서 20 분 동안 400 x g에서 원심분리되었다. 회석된 산물의 가방은 혈장 압레기에서 배치되고, 그리고 상층액이 부착된 상층액 가방 내로 천천히 전달되고, 유속이 지혈집게로 제어되었다. 분여 핀이 세포 세척/주입 가방의 포트 중에서 하나 내로 삽입되고, 그리고 세포 펠렛이 재현탁으로 마사지되었다. 재구성 매체가 세포 세척/주입 가방에 추가되고, 그리고 내용물이 철저하게 혼합되었다.

[0359] 해동후 계산

[0360] 상층액이 철저하게 혼합되고, 그리고 표본이 세포 계수에 이용되었다. 상층액 가방이 칭량되고, 그리고 상층액

TNC가 계산되었다.

[0361] 주입을 위한 세포

[0362] 2개의 표본, 흐름 분석을 위한 1mL 및 유핵 세포 수치, CFU와 생존력을 위한 0.2 mL가 분석을 위해 이전되었다. 주입 가방이 계량되고, 무균 플라스틱 가방에서 배치되고, 그리고 주입 때까지 운반 냉각기 내에서 동결된 겔 팩으로 보관되었다. 해동후 TNC와 %TNC 회수가 계산되고, 그리고 세포가 아래 표 6에 따라 재회전되었다.

표 7

상층액 NC x 10E06/mL	주입 세포 % TNC 회수	상층액을 재스핀한다
< 2	>80 %	아니오
≤ 2	<80 %	감독자/실험실 책임자에게 문의한다
>2	<80 %	예
>2	> 80 %	아니오

[0364] 상층액을 재스핀한다

[0365] 상층액은 다른 전달 가방으로 이전되고 낮은 제동으로 6 °C에서 20 분 동안 400 x g에서 원심분리되었다. 가방은 이후, 혈장 압레기에서 배치되고, 그리고 청색 분여 핀이 가방의 포트 중에서 하나 내로 삽입되었다. 루어 커넥터가 분여 핀에 전달 가방의 핀에 부착되고, 그리고 압레기 손잡이가 상층액을 전달하기 위해 풀어지고, 유속이 지혈집게로 제어되었다. 5 mL의 각 10% LMD와 5% HSA가 이러한 두 번째 세포 가방에 추가되고, 세포가 재현탁되고, 그리고 회수된 세포가 초기 세포 주입 가방에 추가되었다.

[0366] 표본이 세포 주입 가방으로부터 유핵 세포 수치와 생존력, 흐름 분석, 그리고 CFU 검정을 위해 이전되었다. 주입 가방이 계량되고, 체적이 계산되고 기록되었다.

[0367] 계산

[0368] $\%TNC \text{ 회수} = \frac{\text{해동후 TNC (세포)}}{[\text{해동후 TNC (세포)} + \text{상층액 TNC}]} \times 100$

[0369] 전체 CFU 수치 X = $\frac{TNC \times (\text{도말된 } 10E05 \text{ 세포마다 계수된 집락})}{10E05}$

[0371] $CD34 \text{ 세포 수치}/\mu l = \frac{(NC \times 10E06/mL) \times \%CD34}{1000}$

[0373] 주입

[0374] 주입 세포 가방은 준비된 운반 냉각기로부터 동결된 겔 팩으로 이전되었고, 그리고 해동된 산물이 상기 단위에 채워되었다.

[0375] 실시예 7 - 새로운 또는 냉동보존된 동종이식편 또는 자가이식편으로부터 조혈 선조체 세포와 치료적 세포 주입

[0376] 동종이식편 (동종이계) 이식은 공여자 골수, 조혈 선조체 세포 (HPC) 또는 치료적 세포 (TC)를 유전적으로 상이한 수용자 내로 주입하는 것을 수반한다. 정합된 또는 부분적으로 정합된 패밀리 구성원 또는 관련 없는 공여자가 공여자로서 이용될 수 있다. 조혈 세포가 수집되고, 그리고 이후, 24 시간 이내에 수용자 내로 주입된다. 치료적 세포가 수집되고, 그리고 통상적으로 24 시간 이내에 주입된다. 대안으로, 조혈 세포가 수집되고 냉동보존될 수 있다.

[0377] 관련 없는 제대혈 (UCB)은 HPC 이식을 위한 공여자 세포의 귀중한 공급원이고, 따라서 이러한 치료 양상을 다른 공여자를 결여하는 환자까지 확장한다.

[0378] 자가이식편 (자가) 이식은 수용자가 자기 자신의 골수 또는 조혈 선조체 세포 (hpcs)를 받는 것을 수반한다.

[0379] 큰 체적의 hpcs (4개 가방 이상)가 주입되면, 주치의는 이들 가방의 절반 후에 중지하고, 그리고 1 내지 2 시간 후에 이식을 재개할 수 있다. 이것은 짧은 기간 내에 주입된 큰 체적의 유체로 인한 순환 과부하를 예방하기 위

한 것이다. 환자가 이식을 재개하기에 앞서 재투약되어야 하는 지를 결정하기 위해 주치의와 상의한다.

표 8

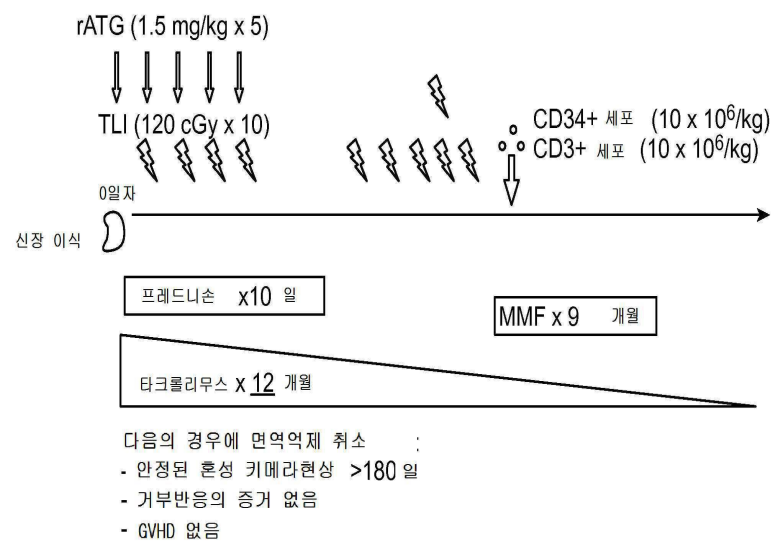
[0380]

간호 행위	핵심 포인트
투여전:	
A. 이식편의 공급원이 결정되고, 그리고 주입의 방법이 환자에게 설명되었다. 가능한 부작용이 설명되고, 그리고 환자는 RN이 만약 발생하면 이를 통지하도록 지시되었다.	소변은 hpcs에 첨가된 배양 배지 및/또는 적혈구의 용혈로 인해, 24 시간 동안 색깔에서 핑크색일 수 있다.
1. 투여 점검은 다른 혈액 제제와 유사하다. 2. 동종이계 환자에 대한 ABO 양립성을 점검한다.	예비 투약이 필요하였다. ABO가 양립할 수 없으면, 적혈구가 이식편으로부터 제거되어야 한다.
B. 계획된 주입의 근사 시간이 결정되었다. 환자는 이식에 앞서 지시된 바와 같이 예비 투약되었다.	예비 투약은 가능한 반응을 최소화하기 위해 디펜히드라민 (Benadryl) 및 히드로코르티손으로 구성될 수 있다.
C. 코 삽입관과 흡인으로 O ₂ 가 방 안에 설정되었다. 디펜히드라민 (Benadryl)과 푸로세미드 (Lasix)가 쉽게 가용하였다 (Pyxis Station에서). 기준선 활력 징후가 주입 후 1 시간 이내에 확립되었다.	알레르기 반응 또는 유체 과부하의 이벤트에서.
D. 일차와 이차 IV 배관 (필터 없음)을 이용하여, NS가 백업으로서 일차 배관을 기폭하기 위해 연결되었다. 세포가 주입될 이차 배관을 기폭하기 위해 역분출한다. 주입되는 세포의 각 가방에 대한 새로운 이차 배관이 획득되었다.	
E. 중심 정맥 카테터 (CVC)의 큰 내강이 큰 내강의 허브에 직접적으로 부착된 바늘 없는 커넥터와 IV 배관을 제거하는데 이용되었다.	라인의 개방성이 세포의 주입 전에 사정되었다. 라인에 중력에 의해 넓은 개방성을 실행해야 한다. 필요하다면, 말초 IV를 시작할 준비를 한다.
F.	MD가 세포가 응고하는 것을 예방하기 위해, 항응고제를 냉동보존된 산물 내로 주사하였다.
G. 산물이 MD에 의해 병상에 이송되었다. (이러한 산물은 방사선조사되거나 또는 여과되지 않는다.)	냉동보존된 hpcs가 세포 생존력을 보존하기 위해 해동 후 10-15 분 이내에 주입되었다. 이들 세포는 해동 후 30 분 이내에 완전하게 주입되었다.
투여:	
A. 새로운 (냉동보존되지 않음) 골수, HPC 또는 TC:	
1. 이차 배관의 스파이크가 세포의 가방 내로 삽입되었다. IV 펌프가 적절한 시간과 체적을 위해 프로그래밍되었다.	
2. 세포가 250ml/시간에서 주입되었다.	
3. 세포의 1 또는 2개 가방이 있을 수 있다.	세포의 두 번째 가방이 첫 번째 가방의 주입이 완결될 때까지 방출되지 않는다. 세포 주입 길이가 세포의 총 체적으로 인해 변할 수 있다
4. 활력 징후가 주입의 시작 후 15 분에 방증되었다.	알레르기 반응의 징후와 증상에 대해 모니터링됨.
냉동보존된 HPC 또는 TC:	
1. 이차 배관의 스파이크가 세포의 가방 내로 삽입되었다. IV 펌프가 적절한 시간과 체적을 위해 프로그래밍되었다.	
2. 냉동보존된 세포가 10분에 걸쳐 주입되었다.	세포 생존력을 유지하기 위해, 이들 세포는 30 분의 해동에 의해 완전하게 주입되었다.
3. 세포를 주입한 후에, 주입 배관이 행굼되고, 그리고 가방이 NS의 역분출 (backflush)로 비워졌다. 나머지 세포가 이러한 역분출 방법을 이용하여 주입되었다.	CD 34 선별된 세포는 2% 인간 혈청 알부민과 노르모솔의 주사기로 분출되었다.

4. 큰 체적의 hpcs (4개 가방 이상)가 주입되면, 주입을 통해, 그리고 임상적 필요에 따라 절반 방식으로 활력 징후와 폐 사정을 반복한다.	짧은 기간에 걸쳐 주입된 유체의 큰 체적은 유체 과부하를 유발할 수 있다. 주치의는 TC의 주입을 직접 감독해야 한다.
C. 냉동보존된/동결된 치료적 세포: 1. 세포가 작은 체적 (가령, Tcs)으로 있으면, 세포는 카테터 허브에서 직접적인 IV 푸시 방법에 의해 주사기를 이용하여 투여되었다. 세포 주입 전후에 카테터를 식염수로 분출한다.	
투여후:	
A. 환자의 호흡 상태와 피부가 주입의 종결점에서 가능한 반응에 대해 사정되었다. 활력 징후가 주입후 1 시간 이내에 다시 한 번 사정되었다.	반응의 징후와 증상은 메스꺼움, 오한, 폐 색전, 숨가쁨, 빈맥, 서맥 (동결된 세포로) 및 심장 과부하를 포함할 수 있다.
C. 주입의 종결점에서, 새로운 바늘 없는 커넥터가 설치되고 그리고 이후, 중심 카테터를 헤파린-잠금한다. 이전 용액 주입이 또한 재개될 수 있다.	

도면

도면1

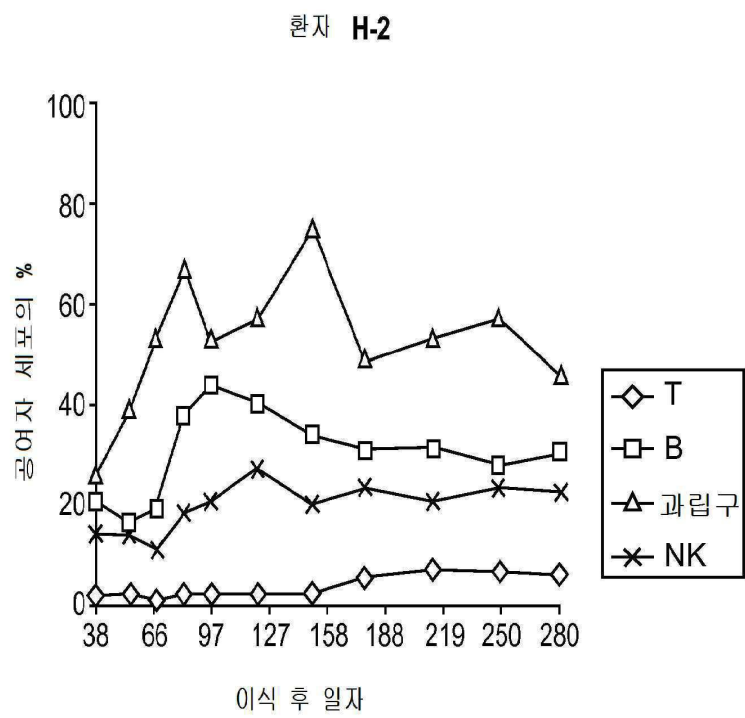


도면2

환자*	연령/성별	ESRD 원인	전체 분량 TL1 (cGy)	CD34* 세포 분량 (x10 ⁶ /kg)	CD3* 세포 분량 (x10 ⁶ /kg)	마지막 관찰에서 크레아티닌 (mg/dL)	만기화 지속 시간
1 (26개월)	47/남성	IgA	1200	11.8	3	1.7	1개월
2 (10개월)	24/여성	SLE	1200	14.5	10	0.9	10개월
3 (6개월)	36/여성	알 수 없음	1200	21.9	10	1.0	6개월
4 (6개월)	33/남성	알 수 없음	1200	9	10	1.3	<1개월

*괄호는 신장 이식으로부터 추적 조사의 지속 기간을 보여준다

도면3



도면4

이식 후 일자

