



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0124300
(43) 공개일자 2019년11월04일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 35/51 (2015.01) A61B 5/00 (2006.01)
A61B 5/16 (2006.01) A61K 9/00 (2006.01)
A61P 25/18 (2006.01) G01N 33/50 (2017.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 35/51 (2013.01)
A61B 5/163 (2017.08)
- (21) 출원번호 10-2019-7029841
- (22) 출원일자(국제) 2018년03월13일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2019년10월11일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2018/022174
- (87) 국제공개번호 WO 2018/169952
국제공개일자 2018년09월20일
- (30) 우선권주장
62/470,431 2017년03월13일 미국(US)

- (71) 출원인
듀크 유니버시티
미국, 노스캐롤라이나 27705, 더럼, 슈트 306, 에
르윈 로드 2812
- (72) 발명자
커츠버그, 조앤
미국, 노스캐롤라이나 27705, 더럼, 슈트 306, 에
르윈 로드 2812 씨/오 듀크 유니버시티
도슨, 제럴딘
미국, 노스캐롤라이나 27705, 더럼, 슈트 306, 에
르윈 로드 2812 씨/오 듀크 유니버시티
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
이재영

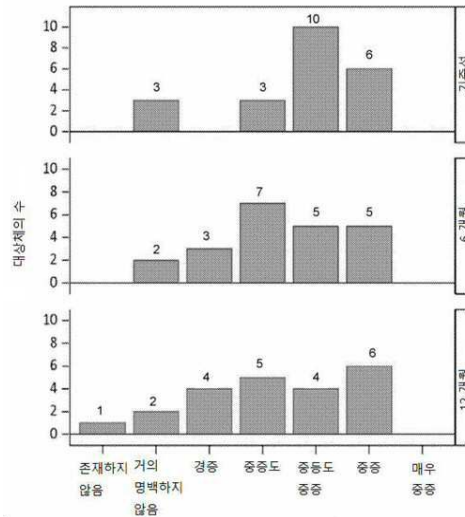
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 자폐 스펙트럼 장애의 치료를 위한 방법

(57) 요약

본 개시는 자폐 스펙트럼 장애의 치료를 위한 방법을 제공한다. 더욱 특히, 본 개시는 자폐 스펙트럼 장애의 치료를 위해 제대혈을 사용하는 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도3a



(52) CPC특허분류

A61B 5/4848 (2013.01)

A61K 9/0019 (2013.01)

A61P 25/18 (2018.01)

G01N 33/50 (2013.01)

G01N 2800/52 (2013.01)

(72) 발명자

트로이, 제시

미국, 노스캐롤라이나 27705, 더럼, 슈트 306, 에
르윈 로드 2812 씨/오 듀크 유니버시티

선, 제시카

미국, 노스캐롤라이나 27705, 더럼, 슈트 306, 에
르윈 로드 2812 씨/오 듀크 유니버시티

명세서

청구범위

청구항 1

질병이 치료되도록 치료적 유효량의 제대혈을 투여하는 단계를 포함하는, 자폐 스펙트럼 장애(autism spectrum disorder)를 앓고 있는 환자를 치료하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 제대혈은 전신 투여되는, 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 제대혈은 정맥내 주입에 의해 투여되는, 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제대혈은 자가 제대혈인, 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물은 단일 투여량으로 또는 다수의 투여량으로 투여되는, 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 투여되는 조성물의 양은 약 2.5×10^7 내지 약 2×10^8 세포/kg의 양의 제대혈 세포 생성물을 제공하기에 충분한 것인, 방법.

청구항 7

자폐 스펙트럼 장애를 앓고 있는 환자에 대한 제대혈 처리의 치료 효과를 평가하는 방법으로서,

- a. 상기 환자에 대해 하나 이상의 적절한 시험을 수행하여 행동 및 바이오마커 기준선 점수(들)을 확립하는 단계;
- b. 유효량의 제대혈을 상기 환자에게 투여하는 단계;
- c. 단계 (a)에 제시된 동일한 하나 이상의 행동 및 바이오마커 시험에 대해 제대혈 투여 후 하나 이상의 시점에서 상기 환자를 재평가하는 단계;
- d. 단계 (c)에서의 결과를 단계 (a)에서 확립된 기준선 점수(들)와 비교하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 단계 (a) 및 단계 (c)에서 수행된 상기 행동 시험(들)은 바인랜드 적응 행동 척도-II(Vineland Adaptive Behavior Scales-II: VABS-II), 전반적 임상 인상 척도(Clinical Global Impression Scale: CGI), 전반적 발달 장애 행동 목록(Pervasive Developmental Disorder Behavior Inventory: PDDBI), 표현 단어 그림 어휘 검사-4(Expressive One-Word Picture Vocabulary Test-4: EOWPVT-4), 어린이-사회적 기술에 대한 행동 평가 부척도(Behavior Assessment for Children-Social Skills subscale), 문제 행동 체크리스트(Aberrant Behavior Checklist), 감각 경험 설문지(Sensory Experiences Questionnaire), 반복 행동 척도(Repetitive Behavior Scale), 지능 척도(Intelligence Scales)(조기 학습의 물린 척도(Mullen Scales of Early Learning) 또는 스탠포드-비네(Stanford-Binet)), 언어 환경 분석(Language Environment Analysis), 취학 전 연령 정신과적 평가(Preschool Age Psychiatric Assessment), 문제 행동 체크리스트, ATN GI 증상 목록(ATN GI Symptoms Inventory) 및 부모 양육 스트레스 검사(Parenting Stress Index) 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 9

제7항에 있어서, 단계 (a) 및 단계 (c)에서 수행된 상기 바이오마커 시험(들)은 사회적 자극의 눈 응시 추적(Eye Gaze Tracking of Social Stimuli: EGT), 뇌파도(Electroencephalogram: EEG), 및 뇌 자기공명영상(MRI) 중 하나 이상을 포함하는 것인, 방법.

청구항 10

제7항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (c)에서의 상기 환자의 재평가는 투여 후 3 개월, 6 개월, 9 개월, 12 개월, 18 개월, 및 24 개월을 포함하는 하나 이상의 시점에서 수행되는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 관련 출원에 대한 상호 참조
- [0002] 본 출원은 2017년 3월 13일자로 출원된 미국 가출원 제62/470,431호의 이익을 주장하며, 이의 전체내용이 본원에 참고로 포함된다.
- [0003] 본 개시는 자폐 스펙트럼 장애(Autism Spectrum Disorder)의 치료를 위한 방법을 제공한다. 더욱 구체적으로, 본 개시는 자폐 스펙트럼 장애를 치료하기 위해 제대혈(cord blood)을 사용하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0004] 자폐증, 또는 자폐 스펙트럼 장애(Autism spectrum disorder; ASD)는 삶의 초기에 발생하는 사회적 기술, 반복적인 행동, 언어 및 비언어적 의사소통과 관련된 도전뿐만 아니라, 사회적 의사소통에서의 장애 및 반복적이고 제한된 범위의 활동의 존재를 특징으로 하는 일련의 질환을 지칭한다. ASD는 유전 및 환경 영향의 상이한 조합에 의해 유발될 수 있는 특이적 행동 증상의 존재를 기초로 한 임상 진단이다. 용어 "스펙트럼"은 자폐증을 앓고 있는 각 개인이 갖는 도전과 강도에서의 광범위한 변화를 반영한다.
- [0005] 질병 통제 및 예방 센터(Centers for Disease Control and Prevention: CDC)는 미국에서 ASD의 유병률이 68 명의 어린이 중 1 명인 것으로 추정하고 있다(MMWR Surveill Summ 2014; 63:1-21). 이는 42 명의 소년 중 1 명 및 189 명의 소녀 중 1 명을 포함한다. ASD를 앓고 있는 대부분의 개인은 독립적으로 생활을 할 수 없고, 평생 지원 또는 수용시설(accommodation)을 필요로 한다. 따라서, ASD를 앓고 있는 개인을 지원하기 위한 평생 비용은 1.4 백만 달러인 것으로 추정된다. 지적장애를 갖는 이들의 추정 비용은 2.4 백만 달러로 증가한다(Buescher AS, et al. *JAMA Pediatrics* 2014; 168:721-728)]. 자폐증을 가진 대략 50,000 명의 십대가 매년 학교-기반 자폐증 서비스를 받지 못하면서 성인이 되고 있다. 자폐증을 앓고 있는 사람 중 대략 1/3이 말이 서투른 상태로 남아있다. 자폐증을 앓고 있는 사람 중 대략 40%가 지적장애를 가지고 있다. 특정의 의학적 및 정신적 건강 문제가 흔히 자폐증에 수반된다. 이들은 위장(Gastrointestinal; GI) 장애, 발작, 수면 장애, 주의력 결핍 및 과잉행동 장애(ADHD), 불안증 및 공포증을 포함한다. ASD에 대한 현재의 치료 접근법은 약물 처치, 행동 요법, 작업 및 언어 요법(occupational and speech therapies), 및 전문 교육 및 직업 지원(specialized educational and vocational support)을 포함한다. 초기의 집중적인 행동 개입은 실질적으로 개선된 결과와 관련이 있지만(Dawson G, et al. *Pediatrics* 2010; 125:e17-e23), 그러한 개입에도, ASD를 앓고 있는 많은 개인이 유의하게 장애가 있는 채로 남아있다. 현재의 치료가 도움이 되기는 하지만, 이들은 물리적인 요법, 약물 처치, 및 수술에 따른 후유증을 관리하는데 중점을 두고 있다. 현재의 이용 가능한 의학적 치료, 예컨대, 항정신성 약물 처치는 관련된 동반 이환 증상, 예컨대, 과민성을 완화시키기 위해 의도되지만, 핵심 ASD 증상을 다루지 못한다. 이를 고려해 볼 때, ASD의 핵심 증상을 표적화하는 신규하고 효과적인 치료에 대한 충족되지 않는 큰 요구가 있다.
- [0006] 유전적 및 환경적 요인 둘 모두가 ASD의 병인에 기여한다(de la Torre-Ubieta L, et al. *Nat Med* 2016; 22:345-361; Mandy W, Lai MC. *J. Child Psychol Psychiatry* 2016; 57:271-292; Sahin M, Sur M. *Science* 2015; 350). 정확한 병리생리학은 알려져 있지 않지만, 결과는 뇌의 영역에서의 비정상적인 시냅스 기능(Gao R, Penzes P. *Curr Mol Med* 2015; 15:146-167; Volk L, et al. *Annu Rev Neurosci* 2015; 38:127-149), 백색질 이상(Wolff JJ, et al. *Am J Psychiatry* 2012; 169:589-600), 및 신경염증(Young AMH, et al. *Mol Autism* 2016; 7:1-8)을 포함하였다. ASD를 앓고 있는 환자의 뇌에서의 면역 병증(immune pathology)의 발병기전은 면역-관련된 유전자 네트워크의 과발현(Voineagu I, et al. *Nature* 2011; 474:380-384), 태아 뇌 조직에 대한 모체 항체의 존재(Braunschweig D, et al. *Transl Psychiatry* 2013; 3:e277), 뇌척수액 내의 전염증 사이토카인(IL-6,

TNF- α)의 이례적인 수준(Vargas DL, et al. *Ann Neurol* 2005; 57:67-81), 및 비정상적인 신경 연결도 경로를 유도하는 과도한 미세아교세포 활성화(Morgan JT, et al. *Biol Psychiatry* 2010; 68:368-376; Suzuki K, et al. *JAMA Psychiatry* 2013; 70:49-58)에 기인할 수 있다. 그와 같이, 신경 연결도의 면역 조정 또는 조절에 영향을 주는 치료학적 접근법은 이러한 집단에 대한 신규한 치료를 위한 논리적인 표적이다. 전임상 모델은 제대혈이 파라크린 신호전달을 통해 뇌 연결도를 변경시키고 또한 염증을 억제하는 작용을 하는 이펙터 세포를 함유한다는 것을 밝혀냈다(Bachstetter AD, et al. *BMC Neurosci* 2008; 9:22; Shahaduzzaman M, et al. *Age (Dordr)* 2013; 35:2071-2087). 자가 제대혈 세포의 주입이 뇌성마비 및 다른 후천성 뇌 손상을 앓고 있는 환자에서 안전한 것으로 밝혀졌다(Sun J, et al. *Transfusion* 2010; 50:1980-1987; Cotton CM, et al. *J Pediatr* 2014; 164:973-979; Sun JM, et al. *Pediatr Res* 2015; 78:712-716).

[0007] 미세아교세포는 중추신경계(CNS) 손상의 전파 및 해결에서 중요하지만 불완전하게 이해되는 역할을 한다. 이들 세포는 신경염증을 조정하고, 별아교세포, 희소돌기아교세포 및 뉴런의 활성을 조절하는 인자를 생성시키고, 잔사를 제거하여 희소돌기아교세포가 뉴런을 재수초화하기 시작하게 하는 환경을 제공한다. 마우스에서, 미세아교세포는 태아 발달의 초기에 배아 외 난황낭으로부터 본래 유래되는 뇌 내의 복제 전구체의 독특한 풀(pool)로부터 발생한다. 골수-유래된 순환 혈액 단핵세포는 CNS 손상을 악화시키거나 개선시킬 수 있는 침윤성 식세포의 또 다른 잠재적 공급원을 구성한다. 림프와 뇌 실질 사이의 단핵세포의 순환을 위한 경로가 최근에 설명되었지만, 많은 수의 순환성 단핵세포는 손상되지 않은 성체 마우스 뇌에 진입하지 않고, 뇌 조사, 화학요법 또는 손상, 탈수초화 상태, 또는 만성 스트레스와 같은 손상 후에 CNS를 침윤할 수 있다. 일부 모델에서, 이들 침윤성 혈액 단핵세포는 염증을 활성화시킬 수 있고, 탈수초화 사건에 참여할 수 있다. 다른 모델에서는, 혈액 단핵세포가 재수초화를 촉진할 수 있다.

[0008] 조기 진단 및 행동 요법에서의 진보에도 불구하고, ASD를 앓고 있는 어린이를 위한 더욱 효과적인 치료가 요구되고 있다. 제대혈-유래된 세포 요법은 뇌에서의 염증 과정을 조정함으로써 ASD 증상을 완화시키는 데에 있어서 잠재력을 가질 수 있다.

발명의 내용

[0009] 본 개시의 일 양태는 자폐 스펙트럼 장애를 앓고 있는 환자를 치료하는 방법을 제공한다. 그러한 방법은 질병이 치료되도록 치료적 유효량의 제대혈을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0010] 본 개시의 또 다른 양태는 자폐 스펙트럼 장애를 앓고 있는 환자에 대한 제대혈 처리의 치료 효과를 평가하는 방법을 제공한다. 그러한 방법은 (a) 환자에 대해 하나 이상의 적절한 시험을 수행하여 행동 및 바이오마커 기준선 점수(들)를 확립하는 단계; (b) 유효량의 제대혈을 환자에게 투여하는 단계; (c) 단계 (a)에 제시된 동일한 하나 이상의 행동 및 바이오마커 시험에 대해 제대혈 투여 후 하나 이상의 시점에서 환자를 재평가하는 단계; 및 (d) 단계 (c)에서의 결과를 단계 (a)에서 확립된 기준선 점수(들)와 비교하는 단계를 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0011] 첨부되는 도면은 개시의 방법의 추가의 이해를 제공하기 위해 포함되며, 본 명세서의 일부에 포함되고 그 일부를 구성한다. 도면은 개시의 하나 이상의 구현예(들)를 예시하고 있으며, 상세한 설명과 함께 개시의 원리 및 동작을 설명하는 역할을 한다.

도 1은, 주입과 관련된 유해 사건(Adverse Event: AE) 및 주입과 관련되지 않은 AE 둘 모두를 포함한, AE의 빈도를 평가함으로써 신경계 장애를 앓고 있는 어린이에서의 자가 제대혈 주입의 안전성을 예시하고 있다. 임의의 참여자에서 심각한 AE는 보고되지 않았다. 전체 92 건의 AE가 참여자 당 중위 3 건의 사건(범위: 1 내지 15 건)로 23 명의 참여자에서 보고되었다. 사건을 보고한 환자의 수는 빈도 다음의 괄호안에 열거된다. 모든 사건이 경증(71 건의 사건) 또는 중등도(21 건의 사건)이므로 등급화되었다.

도 2는 VABS-II 사회화 표준 점수를 도시한다. 도 2a는 시간에 따른 모든 참여자에서의 VABS-II 사회화 표준 점수의 분포를 나타내고 있다. 표준 점수에서의 통계적으로 유의한 증가가 기준선부터 6개월까지 관찰되었다. 이러한 변화는 6 내지 12개월까지 안정하였다. 도 2b는 비-언어적 IQ (NVIQ)에 의해 계층화된 VABS-II 사회화 점수의 분포를 나타낸다. NVIQ < 70의 개인들(N=12)이 원(o)으로 표시되어 함께 제시되어 있으며; NVIQ > 70의 개인들(N=12)이 플러스(+)로 표시되어 함께 제시되어 있다. 도 2a에서의 변화는 도 2b에서 사회화($r_s=0.57$, 95% CI: 0.20-0.79, P=0.004) 및 적응 행동($r_s=0.42$, 95% CI: 0.01-0.70, P=0.04) 도메인에서는 비언어적 IQ와 양

성으로 상호 관련되어 있지만, 의사소통 도메인($r_s=0.22$, 95% CI: $-0.21-0.57$, $P=0.31$)에서는 그렇지 않다. VABS-II 사회화 도메인 표준 점수들과 NVIQ에 의해 계층화된 것들 둘 모두가 모든 3 가지 시점, 즉, 기준선(제대혈 주입 직전), 주입 후 6 개월째 및 12 개월째에서의 평가를 완료한 모든 참여자($n=24$)에 대해 결정되었다.

도 3은 CGI-S 및 CGI-I 입상의-평가 측정을 통한 ASD의 핵심 증상의 중증도 및 중증도의 변화를 예시하고 있다. 도 3a는 각각의 시점, 즉, 기준선(제대혈 주입 직전), 주입 후 6 개월째 및 12 개월째에서 충분히 평가된 22 명의 참여자에서의 시간에 따른 CGI-S 중증도 분포를 나타낸다. 도 3b는 주입 후 6 개월째 및 12 개월째에서의 동일한 22 명의 참여자에서 CGI-I의 분포를 나타낸다. 각각의 시점에서 측정된 개선은 기준선과 관련되어 있다. 주입 후 12 개월째에서의 CGI-I은 비언어적 IQ와 관련되어 있지만, 연령 또는 주입된 세포 투여량(도시되지 않음)과는 관련되지 않았다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0012] 개시된 공정 및 재료를 기술하기 전에, 본원에 기술된 양태는 특정의 구현예, 장치, 또는 구성으로 제한되지 않으며, 그와 같이, 물론, 다양할 수 있음이 이해되어야 한다. 본원에 사용되는 용어는 단지 특별한 양태를 기술하기 위한 것이며 본원에서 구체적으로 정의되지 않는 한, 제한하는 것으로 의도되지 않음이 또한 이해되어야 한다.
- [0013] 또한, 문맥에 의해 달리 명확하게 나타내지 않는 한, 본 발명의 일 양태 또는 구현예에 대해 개시된 구현예들은 또한 본 발명의 다른 양태 또는 구현예에서 사용될 수 있고/있거나 본 발명의 동일한 또는 다른 양태에서 개시된 구현예와 조합되어 사용될 수 있음이 이해되어야 한다. 따라서, 개시는 그러한 조합을 포함하는 것으로 의도되고, 그러한 조합이 명시적으로 기술되지 않은 경우에도 본 발명은 그러한 조합을 포함한다.
- [0014] **정의**
- [0015] 본 명세서 전체에 걸쳐서, 문맥에서 달리 요구되지 않는 한, 용어 "포함하다" 및 "함유하다" 및 변형(예를 들어, "포함하는", "포함한", "함유하는", 및 "함유한")은 언급된 성분, 특징, 요소, 또는 단계 또는 성분들, 특징들, 요소들 또는 단계들의 군을 포함하지만, 임의의 다른 정수 또는 단계 또는 정수들 또는 단계들의 군을 배제하지 않음을 내포하는 것으로 이해될 것이다.
- [0016] 명세서 및 첨부된 청구범위에서 사용되는 바와 같이, 단수 형태는, 문맥에서 달리 명확하게 나타내지 않는 한, 복수의 지시대상을 포함한다.
- [0017] 범위는 본원에서 "약" 하나의 특정의 값으로부터 및/또는 "약" 또 다른 특정의 값까지로서 표현될 수 있다. 그러한 범위가 표현될 때, 또 다른 양태는 하나의 특정의 값으로부터 및/또는 다른 특정의 값까지를 포함한다. 유사하게, 값들이 앞선 "약"의 사용에 의해 근사치로서 표현될 때, 특정의 값은 또 다른 양태를 형성하다는 것이 이해될 것이다. 범위의 각각의 종점이 다른 종점과 관련하여 그리고 다른 종점과는 독립적으로 둘 모두의 면에서 유의미하다는 것이 추가로 이해될 것이다.
- [0018] 본원에 사용되는 바와 같이, 용어 "접촉하는"은 적어도 하나의 물질과 또 다른 물질의 물리적인 접촉을 포함한다.
- [0019] 본원에 사용되는 "치료", "요법" 및 "치료 요법"은 환자가 나타내는 또는 환자가 감수성이 있을 수 있는 질병, 장애 또는 생리학적 질환(예를 들어, 자폐 스펙트럼 장애)에 대한 반응으로 이루어지는 임상적 개입을 지칭한다. 치료의 목적은 증상의 경감 또는 방지; 질병, 장애, 또는 질환의 진행 또는 악화의 둔화 또는 정지 및/또는 질병, 장애, 또는 질환(예를 들어, 자폐 스펙트럼 장애)의 관해를 포함한다.
- [0020] 용어 "유효량" 또는 "치료적 유효량"은 유익한 또는 바람직한 생물학적 및/또는 임상적 결과를 가져오기에 충분한 양을 지칭한다.
- [0021] 본원에 사용되는 바와 같이, 용어 "대상체" 및 "환자"는 본원에서 상호교환적으로 사용되며, 인간 및 비인간 동물 둘 모두를 지칭한다. 본 개시의 용어 "비인간 동물"은 모든 척추동물, 예를 들어, 포유류 및 비-포유류, 예컨대, 비인간 영장류, 양, 개, 고양이, 말, 소, 닭, 양서류, 및 파충류 등을 포함한다. 바람직하게는, 대상체는 자폐 스펙트럼 장애를 가지고 있거나 앓고 있는 인간 환자이다.
- [0022] 본원에 사용되는 바와 같이, 용어 "자폐 스펙트럼 장애" 및 "자폐증"은 상호교환적으로 사용되며, 다른 사람들과 의사소통하고 관계를 형성함에 있어서 그리고 언어 및 추상적 개념을 사용함에 있어서의 어려움을 특징으로

하는, 일반적으로는 유년기로부터 존재하는, 임의의 범위의 정신 질환을 지칭한다.

[0023] 제대혈 또는 제대혈 성분에 의한 자폐 스펙트럼 장애의 치료

[0024] 본 개시의 관점에서, 본원에 기술된 방법은 요망되는 필요에 부합하도록 당업자에 의해 구성될 수 있다. 일반적으로, 개시된 재료, 방법, 및 장치는, 자폐 스펙트럼 장애를 앓고 있는 대상체에게 자폐 스펙트럼 장애가 치료 되도록 치료적 유효량의 제대혈 및/또는 이의 성분 또는 성분들의 혼합물을 투여하는 단계를 포함하거나, 이로 이루어지거나, 본질적으로 이로 이루어지는, 자폐 스펙트럼 장애를 앓고 있는 대상체를 치료하는 방법을 제공한다.

[0025] 달리 언급되지 않는 한, 본원에 사용되는 바와 같이, 용어 "제대혈"은, 구체적으로 그렇게 언급되었든지 그렇지 않든지, 임의의 형식의 제대혈 및/또는 이의 성분 또는 성분들의 혼합물을 포함하는 것을 의미하는 것으로 이해되어야 한다.

[0026] 일부 구현예에서, 제대혈은 자가, 즉, 환자 자신의 제대혈이다.

[0027] 상기 환자는 임의의 인간 또는 비인간 동물일 수 있다. 일 구현예에서, 환자는 인간이다. 또 다른 구현예에서, 환자는 18세 미만 또는 이보다 더 넓은 연령 범위에 속하는 임의의 연령 범위 내의 인간 어린이이다. 비제한적인 예에서, 환자는 1 세 내지 10 세, 1 세 내지 8 세, 1 세 내지 6 세, 1 세 내지 4 세, 2 세 내지 10 세, 2 세 내지 8 세, 2 세 내지 6 세, 2 세 내지 4 세, 3 세 내지 10 세, 3 세 내지 8 세, 3 세 내지 6 세, 4 세 내지 10 세, 4 세 내지 8 세, 또는 4 세 내지 6 세일 수 있다.

[0028] 제대혈은 당업계에 공지된 방법에 의한 투여를 위해 보존되고 준비될 수 있다. 제대혈은 전신 전달을 포함한 당업계에 공지된 임의의 기법에 의해 대상체에게 투여될 수 있다. 투여 경로는, 이로 한정되는 것은 아니지만, 정맥내 투여를 포함한다. 일부 구현예에서, 제대혈은 전신 투여된다. 추가의 구현예에서, 제대혈은 정맥내 (intravenous; IV) 주사에 의해 투여된다.

[0029] 본 발명자들은 자가 제대혈 세포의 주입이 ASD의 치료에서 중요한 역할을 할 수 있다는 가설을 세우고, 어린 소아 참여자들에서 단일 센터, 개방-표지, I 상(phase I) 안전성 및 실행 가능성 시험을 수행하였다. 연구는 (1) 자가 제대혈의 단일 정맥내 주입의 안전성 및 (2) ASD를 가진 유아에서의 여러가지 상이한 평가 도구의 변화에 대한 감수성 및 적용 가능성에 중점을 두었다. 확인된 ASD의 진단 및 적격의 은행 보관된 자가 제대혈 유닛을 가진 중위 연령이 4.6 세(범위 2.26 세 내지 5.97 세)인의 스물 다섯(25) 명의 어린이가 등록되었다. 어린이들은 제대혈 주입 직전(기준선) 및 6 개월 및 12 개월 후에 일련의 행동 및 기능 시험으로 평가되었다. 12-개월 기간에 걸친 유해 사건의 평가는 치료가 안전하고 잘 관용되었음을 나타냈다. 어린이의 행동에서의 유의한 개선이 사회적 의사소통 기술 및 자폐 증상의 부모-보고형 측정, 전체적인 자폐 증상 중증도 및 개선의 정도의 임상의 평가 및 개선의 정도, 표현 어휘의 표준화된 측정, 및 사회적 자극에 대한 어린이의 주의력의 객관적인 안구-추적 측정으로 관찰되었으며, 이들 측정은 장래의 연구에서 유용한 중점일 수 있음을 나타낸다. 행동 개선은 주입 후 첫 번째 6 개월 동안 관찰되었고, 더 높은 기준선 비언어적 IQ를 갖는 어린이에서 더 컸다.

[0030] 제대혈의 투여

[0031] 제대혈의 투여 경로는 치료되는 질병 및 요망되는 결과를 기초로 하여 당업자에 의해 선택될 수 있다. 따라서, 특정의 구현예에서, 제대혈은 말초 정맥내(IV) 주입을 통해 투여된다.

[0032] 본 개시의 제대혈은 단일 투여량으로 투여될 수 있다. 본 개시의 제대혈은 또한 일정한 기간(예를 들어, 시간, 또는 일, 또는 개월)에 걸쳐서 다수의 투여량(예를 들어, 처리당 2회, 3회, 또는 그 초과)의 단일 투여량)으로 투여될 수 있다. 특정의 구현예에서, 본 개시의 제대혈은 일정한 기간에 걸쳐서, 약 1 분 내지 약 60 분의 범위 내에서, 예를 들어, 약 60 초 내지 약 120 초에 걸쳐서, 또는 약 90 초 내지 약 120 초에 걸쳐서, 또는 약 60 초 내지 약 180 초에 걸쳐서, 또는 약 90 초 내지 약 180 초에 걸쳐서, 또는 약 2 분 내지 약 60 분에 걸쳐서, 또는 약 2 분 내지 약 50 분에 걸쳐서, 또는 약 2 분 내지 약 40 분에 걸쳐서, 또는 약 2 분 내지 약 30 분에 걸쳐서, 또는 약 2 분 내지 약 20 분에 걸쳐서, 또는 약 2 분 내지 약 10 분에 걸쳐서, 또는 약 2 분 내지 약 5 분에 걸쳐서, 또는 약 10 분 내지 약 60 분에 걸쳐서, 또는 약 10 분 내지 약 50 분에 걸쳐서, 또는 약 10 분 내지 약 40 분에 걸쳐서, 또는 약 10 분 내지 약 30 분에 걸쳐서, 또는 약 10 분 내지 약 20 분에 걸쳐서 투여될 수 있다.

[0033] 제대혈 세포는 치료적 유효 농도로 존재할 수 있다. 특정의 구현예에서, 제대혈 세포의 농도는 투여 시에 약 1×10^7 내지 약 5×10^8 세포/체중 kg; 예를 들어, 약 1×10^7 내지 약 3×10^8 세포/kg, 또는 약 1×10^7 내지 약 2.5

$\times 10^8$ 세포/kg, 또는 약 2×10^7 내지 약 3×10^8 세포/kg, 약 2×10^7 내지 약 2.5×10^8 세포/kg, 또는 약 2×10^7 내지 약 2×10^8 세포/kg, 또는 약 2.5×10^7 내지 약 3×10^8 세포/kg, 또는 약 2.5×10^7 내지 약 2×10^8 세포/kg이다. 당업자는 투여량의 적합한 용적이 요망되는 투여 경로를 기초로 하여 선택될 수 있음을 인지할 것이다. 예를 들어, 정맥내 투여는 약 10 mL 내지 약 50 mL; 예를 들어, 약 10 mL 내지 약 40 mL, 또는 약 10 mL 내지 약 30 mL, 또는 약 10 mL 내지 약 20 mL, 또는 약 10 mL 내지 약 15 mL, 또는 약 20 mL 내지 약 50 mL, 또는 약 20 mL 내지 약 40 mL, 또는 약 20 mL 내지 약 30 mL, 또는 약 30 mL 내지 약 50 mL, 또는 약 30 mL 내지 약 40 mL, 또는 약 40 mL 내지 약 50 mL의 범위의 투여 용적을 사용할 수 있다.

[0034] 말초 IV 투여가 이용되는 특정의 구현예에서, IV 유체는 유지용량(maintenance)의 약 1.0 내지 약 2.0 배로 투여될 수 있다. 예를 들어, IV 유체는 주입 후 유지용량의 약 1.0 내지 약 1.5 배, 또는 유지용량의 약 1.5 내지 약 2.0 배로 투여될 수 있다. 유지 IV 유체는 제대혈 주입 후 약 20 분 내지 약 3 시간 동안 투여될 수 있다. 예를 들어, 유지 IV 유체는 주입 후, 예를 들어, 약 30 분 내지 약 3 시간, 또는 약 30 분 내지 약 2.5 시간, 또는 약 30 분 내지 약 2 시간, 또는 약 30 분 내지 약 1.5 시간, 또는 약 30 분 내지 약 1 시간, 또는 약 30 분 내지 약 45 분, 또는 약 1 시간 내지 약 3 시간, 또는 약 1 시간 내지 약 2.5 시간, 또는 약 1 시간 내지 약 2 시간, 또는 약 1 시간 내지 약 1.5 시간 동안 투여될 수 있다.

[0035] 임의의 적합한 정맥내 유체가 제대혈 주입 후 유지를 위해 사용될 수 있다. 특정의 구현예에서, 유지 IV 유체는 식염수 또는 링거 락테이트 용액이다. 특정의 구현예에서, 유지 IV 유체는 0.25% 생리 식염수이다. 특정의 구현예에서, 유지 IV 유체는 0.5% 생리 식염수이다

[0036] 다수의 평가가 이용되어 장애의 II상(phase II) 및 III상(phase III) 임상 시험을 위한 종점으로서 적용 가능성 및 유용성 둘 모두를 결정하였다. 이들 평가 또는 시험은 행동 및 바이오마커 시험 둘 모두를 포함하였다. 일부 구현예에서, 수행되거나 적용된 행동 시험은, 이로 한정되는 것은 아니지만, 바인랜드 적응 행동 척도-II (Vineland Adaptive Behavior Scales-II: VABS-II), 전반적 임상 인상 척도(Clinical Global Impression Scale: CGI), 전반적 발달 장애 행동 목록(Pervasive Developmental Disorder Behavior Inventory: PDDBI), 표현 단어 그림 어휘 검사-4(Expressive One-Word Picture Vocabulary Test-4: EOWPVT-4), 어린이-사회적 기술에 대한 행동 평가 부척도(Behavior Assessment for Children-Social Skills subscale), 문제 행동 체크리스트(Aberrant Behavior Checklist), 감각 경험 설문지(Sensory Experiences Questionnaire), 반복 행동 척도(Repetitive Behavior Scale), 지능 척도(Intelligence Scales)(조기 학습의 물린 척도(Mullen Scales of Early Learning) 또는 스탠포드-비네(Stanford-Binet)), 언어 환경 분석(Language Environment Analysis), 취학 전 연령 정신과적 평가(Preschool Age Psychiatric Assessment), 문제 행동 체크리스트, ATN GI 증상 목록(ATN GI Symptoms Inventory) 및 부모 양육 스트레스 검사(Parenting Stress Index)를 포함한다. 일부 구현예에서, 적용된 객관적인 바이오마커 시험은, 이로 한정되는 것은 아니지만, 사회적 자극의 눈 응시 추적(Eye Gaze Tracking: EGT), 뇌파도(Electroencephalogram: EEG), 및 뇌 자기공명영상(Magnetic Resonance Imaging: MRI)을 포함한다.

[0037] 일부 구현예에서, 행동 시험 및 객관적인 바이오마커 시험 중 하나 이상이 유효량의 제대혈 투여 전에 ASD를 가진 환자에 대해 수행되어 기준선 행동 및 바이오마커 점수를 확립한다. 일부 구현예에서, 환자는 동일한 하나 이상의 행동 시험 및 객관적인 바이오마커 시험에 대해 유효량의 제대혈의 투여 후에 재평가된다. 일부 구현예에서, 제대혈 투여 후 수행된 시험의 결과가 제대혈 투여 전에 수행된 동일한 시험의 기준선 결과와 비교된다. 일부 구현예에서, VABS-II 사회화 부척도 표준 점수가 일차적 행동 종점이다. 일부 구현예에서, CGI, PDDBI 및 EOWPVT는 핵심적인 이차적 행동 종점이다. 일부 구현예에서, 객관적인 바이오마커 시험은 EGT이다.

[0038] 일부 구현예에서, 환자는, 이로 한정되는 것은 아니지만, 제대혈 투여 후 3 개월, 6 개월, 9 개월, 12 개월, 18 개월 및 24 개월을 포함한, 유효량의 제대혈 투여 후 하나 이상의 시점에서 재평가된다. 일부 구현예에서, 환자는 유효량의 제대혈 투여 후 3 개월 째에 재평가된다. 일부 구현예에서, 환자는 유효량의 제대혈 투여 후 6 개월째에 재평가된다. 일부 구현예에서, 환자는 유효량의 제대혈 투여 후 9 개월째에 재평가된다. 일부 구현예에서, 환자는 유효량의 제대혈 투여 후 12 개월째에 재평가된다. 일부 구현예에서, 환자는 유효량의 제대혈 투여 후 18 개월째에 재평가된다. 일부 구현예에서, 환자는 유효량의 제대혈 투여 후 24 개월째에 재평가된다. 일부 구현예에서, 환자는 유효량의 제대혈 투여 후 3 개월, 6 개월, 9 개월 및 12 개월 째에 재평가된다.

[0039] 이제, 본 개시의 특정의 양태가 하기 비제한적인 실시예를 통해 추가로 설명된다.

[0040] 실시예

- [0041] **실시예 1: 제대혈 주입이 자폐 스펙트럼 장애를 가진 유아에서 안전하고 실행 가능하다**
- [0042] 재료 및 방법
- [0043] 연구 설계 및 개요
- [0044] 자가 제대혈의 단일 정맥내 주입의 I상, 단일-센터, 개방-표지 시험을 ASD를 가진 25 명의 어린이에 대해 수행하였다. 모든 어린이를 먼저 스크리닝 프로토콜(screening protocol)에 등록시켜 각각의 어린이의 은행 보관된 제대혈 유닛에 대한 의료 기록 및 정보를 얻었다. 모든 참여자의 보호자는 전화 상으로 사전-연구 스크리닝 인터뷰를 완료하였고, 연구 팀에 의한 검토를 위해 의료 기록 및 비디오를 제공하여 시험에 대한 적격성을 결정하였다. 확인된 ASD의 진단 및 적격의 은행 보관된 자가 제대혈을 가진 어린이가 참여에 적격이었다. 시험의 스크리닝 및 처리 단계 둘 모두에 대한 고지된 서면 동의를 얻었다. 시험은 IND #15949 하에 수행된 듀크 হাস피털 인스티튜셔널 리뷰 보드(Duke Hospital Institutional Review Board)에 의해 승인되었다.
- [0045] 참여자 및 이들의 보호자는 그들의 연구 참여의 일부로서 듀크 유니버시티(Duke University)를 3회 방문하였다. 이들의 기준선 방문시에, 각각의 참여자가 평가되고 단일 정맥내 자가 제대혈 주입에 주어졌다. 주입 후 6개월 및 12 개월에서, 참여자는 후속 임상적 평가를 위해 다시 방문하였다. 주입 후 3 개월 및 9 개월에 추가의 보호자 인터뷰 및 설문지를 수거하였다.
- [0046] 참여자
- [0047] DSM-5(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition)(DSM-5. American Psychiatric Association 2013; Washington, D.C.)를 기초로 하여 ASD의 임상적 진단에 대한 기준을 충족하는 2 내지 5 세의 참여자가 연구에 포함시키기에 적격이었다. ASD의 DSM-5 진단은 전문 임상가의 의해 확립되었으며, ADOS-2(Autism Diagnostic Observation Schedule, Second Edition)(Lord C, et al. ADOS-2. Torrance, CA: Western Psychological Services 2012) 및 ADI-R(Autism Diagnostic interview, Revised)(Rutter M, et al. ADI-R. Torrance, CA: Western Psychological Services 2005)에 의해 알려졌다. 추가의 포함 기준은 다음을 포함하였다: (1) 유년기에 대한 스탠포드-비네 지능 척도(Stanford-Binet Intelligence Scales for Early Childhood, Fifth Edition)(Roid GH. SB5. Itasca, IL: Riverside Publishing 2003) 또는 조기 학습의 물런 척도(Mullen E. AGS ed. Bloomington, MN: NCS Pearson Inc. 1995)에 대한 ≥ 35 의 비-언어적 지능 지수(IQ), (2) 적격의 자가 제대혈 유닛의 이용 가능성, (3) 참여자가 주입 전 적어도 2 개월 동안 이들의 현재의 약물 처치에 대해 안정하였음, (4) 듀크 유니버시티에 3회(기준선 및 기준선 후 6 개월 및 12 개월) 방문할 수 있는 능력, 및 (5) 부모가 영어를 사용하였음. 배제 기준은 다음을 포함하였다: (1) 이전 세포 요법의 치료 이력, (2) 정맥내 면역글로불린(IVIG) 또는 다른 항염증 약물 처치의 사용(NSAID는 제외), (3) 알려진 유전적(예를 들어, 취약 X) 또는 다른 유의한 의학적 동반질환, (4) 유전 증후군을 암시하는 명백한 물리적인 이상형태학, (5) 통제되지 않는 발작장애, (6) 유의하게 손상된 신장 또는 간 기능, 및 (7) 전혈구 수(complete blood count; CBC)에서의 임상적으로 유의한 비정상.
- [0048] 제대혈 유닛
- [0049] 모든 참여자에게 가족 또는 공공 제대혈 은행에 보관된 이용 가능한 자가 제대혈 유닛을 가질 것이 요구되었다. 스크리닝 동안에, 잠재적 참여자의 제대혈 보고서가 이들이 하기 냉동보존전 기준을 충족하는지를 보장하기 위해 검토되었다: (1) 전체 유핵 세포 수(total nucleated cell count; TNCC) $\geq 1 \times 10^7$ /kg, (2) 수행되고 음성인 멸균 배양물, (3) 모체 기증자 또는 제대혈 생성물에서 시험된 음성 모체 감염성 질병 마커(최소 B형 간염, C형 간염, 인간 면역결핍 바이러스 (human immunodeficiency virus; HIV), 인간 T-림프구친화성 바이러스(Human T-lymphotrophic virus: HTLV), 및 매독을 포함함), 및 (4) 동일성 및 효능을 확인하기 위한 추가 시험에 이용 가능한 시험 샘플. 참여자 및 이들의 제대혈 유닛이 적격일 가능성이 있는 경우, 제대혈 유닛의 샘플이 효능 시험을 위해 듀크에 이송되었다(Shoulars K, et al. Blood 2016; 12:2346-2354). 저-분해능 인간 백혈구 항원(Human leukocyte antigen; HLA) 시험을 동일성 확인을 위해 참여자 및 제대혈 유닛의 샘플 둘 모두에 대해 수행하였다. 시험 샘플에 대한 CD45 생존성이 $> 40\%$ 이고 HLA-동일성이 확인된 경우, 냉동 보존된 제대혈 유닛이 드라이 쉬퍼(dry shipper)에서 듀크 줄기 세포 이식 실험실(Duke Stem cell Transplant Laboratory)로 이송되었으며, 그곳에서 주입 일까지 액체 질소 하에 보관되었다.
- [0050] 절차: 자가 제대혈 주입
- [0051] 주입 일에, 제대혈을 해동시키고, 텍스트란 40+5% 알부민(DA)에서 세척하고, 투여를 위해 1.25mL/kg DA에 넣었

다(Rubinstein P, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:10119-10122). 해동된 CBU를 TNCC, 생존 CD34+ 세포, 콜로니 형성 단위(CFU)의 계산, 트립판 블루를 통한 세포 생존성, 및 무균 배양을 위하여 시험하였다. 자가 체대혈 주입을 진정제투여형 뇌 MRI 후에 수행하였다. 정맥내 (IV) 접근은 소아 마취의에 의해 얻어졌다. MRI가 완료되었을 때, 어린이는 이들의 주입을 위해 외래 환자 치료 센터인 듀크 칠드런즈 헬스 센터 데이 হাস피탈(Duke Children's Health Center Day Hospital)에 입원시켰다. 베나드릴(Benadryl)(0.5 mg/kg IV), 솔루메드롤(Solumedrol)(0.5 mg/kg IV), 및 어린이가 깨어 있고 경구 약물 처치가 가능한 경우의 타이레놀(Tylenol)(10 mg/kg PO)의 사전 약물 처치 후에, 참여자에게, 2 내지 30분에 걸친 말초 IV 주입을 통해, 1 내지 5×10^7 세포/kg를 전달하도록 조정된, 이들의 전체 체대혈 유닛 또는 이의 일부를 투여하였다. 정맥내 유체는 체대혈 주입 후 30분 내지 2 시간 동안 유지용량의 1.5 배로 투여하였다. 주입 동안 및 어린이가 진정제투여로부터 깨어 날 때까지 활력 징후 및 맥박 산소 측정을 연속적으로 모니터링하였다.

[0052] 안전성 평가 기준

[0053] 참여자는 주입 동안에 관찰되었고 주입 반응에 대해 모니터링되었다. 추가의 유해 사건(additional adverse events; AE)이 주입 후 7 내지 10일, 3 개월, 및 9 개월째에 참여자 부모/후견인과의 전화 인터뷰를 통해서, 그리고, 기준선, 6 개월째 및 12 개월째 클리닉 방문에서 직접 확인되었다. 분석을 위해서, 문자 그대로의 AE 용어를 CTCAE(Common Terminology Criteria for Adverse Events) 버전 4.0에 의해 정의된 표준 용어로 맵핑(mapping)하였고, 조사자에 의해 판단되는 바와 같이 개입에 대한 중증도 및 관계에 따라 요약하였다.

[0054] 임상적 평가

[0055] 다수의 평가를 이용하여 장래의 II상 및 III상 임상 시험에 대한 중점으로서의 유용성 및 적용 가능성 둘 모두를 결정하였다. 이들은 바인랜드 적응 행동 척도-II(vineland adaptive behavior scales-II; VABS-II), 전반적 임상 인상 척도(clinical global impression scale; CGI), 전반적 발달 장애 행동 목록(pervasive developmental disorder behavior inventory; PDDBI), 표현 단어 그림 어휘 검사-4(expressive one-word picture vocabulary test-4; EOWPVT-4), 어린이-사회적 기술에 대한 행동 평가 부척도, 문제 행동 체크리스트, 감각 경험 설문지, 반복 행동 척도, 지능 척도(조기 학습의 풀턴 척도 또는 스탠포드-비네), 언어 환경 분석, 취학전 연령 정신과적 평가, 문제 행동 체크리스트, ATN GI 증상 목록 및 부모 양육 스트레스 검사를 포함하였다. 또한, 3 가지의 객관적인 바이오마커가 수집되었다: 사회적 자극의 눈 응시 추적(Eye gaze tracking of social stimuli; EGT), EEG, 및 뇌 MRI. EEG 및 뇌 MRI 결과는 별도로 보고될 것이다. 일차 행동 중점(VABS-II 사회화 부척도 표준 점수)으로서 및 핵심적인 이차 행동 중점(CGI, PDDBI, EOWPVT)으로서 선형적으로 선택된 측정 및 EGT 바이오마커의 결과가 이러한 보고서에 포함된다.

[0056] **바인랜드 적응 행동 척도-II(VABS-II)**(Sparrow S, et al. *Vineland II: 2nd ed.* Minneapolis, MN: NCS Pearson Inc; 2005)는 넓은 범위의 도메인을 가로지른 어린이의 적응 행동을 평가하기 위해 사용되는 보호자 설문지이다. VABS-II는 강한 신뢰성 및 타당성을 갖는 잘-표준화된 척도이며(Balboni G, et al. *J Autism Dev Disord* 2016; 46:42-52; Perry A, et al. *J Autism Dev Disord* 2009; 39:1066-1078; Yang S, et al. *J Autism Dev Disord* 2016; 46:64-73; Sparrow S, et al. *Vineland Survey Forms Manual.* 2nd ed. Minneapolis, MN: NCS Pearson Inc; 2005), 이는 전체 복합 점수뿐만 아니라 하기 도메인에서의 부척도 표준 점수를 생성시킨다: 사회화, 의사소통, 일상 생활 기술, 및 운동 기술. VABS-II는 기준선, 6 개월째 및 12 개월째 방문에서 각각의 참여자의 일차 보호자로부터 수집되었다. 사회화 부척도 점수를 이용하여 사회적 행동의 핵심 ASD 증상에서의 개선을 측정하였다.

[0057] **전반적 임상 인상 척도(CGI)**는 시점들 사이에서 증상 중증도 및 치료 반응 또는 행동의 변화를 측정하는 일반적으로 사용되는 평가 척도이다. CGI의 두 가지 버전이 사용되었다: CGI-중증도(CGI-S) 및 CGI-개선(CGI-I). CGI-S는, 동일한 진단을 갖는 참여자와 관련된 전문 평가자의 과거 경험에 대비한, 평가 시의 ASD의 각각의 참여자의 증상의 중증도를 나타내는 7-점 척도이다. 전문 평가자의 평생 임상적 경험 및 모든 이용 가능한 정보를 기반으로 하여, 각각의 참여자는 1: 존재하지 않음(ASD 없음), 2: ASD 증상이 거의 명백하지 않음, 3: 경증 ASD 증상, 4: 중등도 ASD 증상, 5: 중등도 중증 ASD 증상, 6: 중증 ASD 증상, 또는 7: 매우 중증 ASD 증상으로서 평가되었다. 각각의 참여자에게는 기준선 및 6 개월째 및 12 개월째 방문시에 CGI-S 평가가 할당되었다. CGI-I은 기준선에 대한 ASD 증상의 개선 또는 악화 정도를 나타내는 7-점 척도이다. 모든 이용 가능한 정보를 기반으로 하여, 각각의 참여자는 1: 매우 크게 개선됨, 2: 크게 개선됨, 3: 최소로 개선됨, 4: 변화 없음, 5: 최소로 악화됨, 6: 크게 악화됨, 또는 7: 매우 크게 악화됨으로서 평가되었다. 각각의 참여자에게는 기준선 및 6 개월째 및 12 개월째 방문시에 CGI-I 평가가 할당되었고, 각각 기준선에 대한 개선 또는 악화의 정도가 참조되었다. 모

은 CGI-S 및 CGI-I 평가는 ASD에 전문성을 가진 고도로 숙련된 임상의로 의해 이루어졌다.

- [0058] **전반적 발달 장애 행동 목록(PDDBI)**(Cohen IL, Sudhalter V. PDDBI. Lutz, FL: Psychological Assessment Resources Inc; 2005)은 ASD에 의해 일반적으로 영향을 받는 영역에서의 사회적 행동, 적응 기능, 및 부적응 기능을 측정하도록 설계된 보호자 설문지이다. PDDBI는 다양한 인종, 민족, 및 사회 경제적 배경으로부터의 ASD를 가진 어린이의 보호자 및 교사의 샘플로 표준화되었다(Cohen IL, Sudhalter V. PDD Behavioral Inventory Professional Manual. Lutz, FL: Psychological Assessment Resources Inc; 2005). PDDBI는 기준선, 6 개월째 및 12 개월째 방문에서만뿐만 아니라, 기준선 후 3 개월 및 9 개월째에 원격으로 각각의 참여자 일차 보호자로부터 수집되었다.
- [0059] **표현 단어 그림 어휘 검사-4(EOWPVT-4)**(Martin NA, Brownell R. EOWPVT-4. 4th ed. Novator, CA: Academic Therapy Publication Inc; 2011)는 임상-실행된 평가이며, 이는 말하는 단어를 사물의 이미지, 행동, 또는 개념과 매칭시키는 개인의 능력을 측정한다. EOWPVT-4는 기준선 및 6 개월째 및 12 개월째 방문에서 각각의 어린이에 대해 실행되었다.
- [0060] **눈 응시 추적(EGT)**을 통한 사회적 대 비사회적 자극에 대한 시각적 주의력을 측정하도록 설계된 작업이 실행되었다. EGT는 유아로부터 성인까지 개인의 시선 패턴을 정량화할 수 있는 기술이다. EGT 하드웨어(Tobii TX300. Danderyd, Sweden: Tobii Technology; 2014)는 적외선 발광 다이오드 및 적외선 카메라를 사용하여 각막 반사를 측정하며, 이는 눈 응시 방향을 계산하는데 사용된다. EGT 작업 동안에, 참여자는 역동적인 사회적 자극의 4-분 비디오를 보았고, 이는 공동 관심을 위한 노력을 제시하는 여배우의 에피소드를 포함한다(Chawarska K, et al. *J Child Psychol Psychiatry* 2012; 53:903-913). 이들 자극을 이용하여, 이전의 연구에서는 ASD를 가진 유아들은 전체 장면과 공동 관심을 위한 노력 동안의 여배우의 얼굴 둘 모두에 대한 주의력이 감소한 것으로 밝혀졌다. 전체 장면에 대한 감소된 주의력은 또한 자폐 증상 중증도와 상호 관련이 있었다(Chawarska K, et al. *J Child Psychol Psychiatry* 2012; 53:903-913). EGT 작업은 기준선, 6 개월째 및 12 개월째 방문에서 각각의 어린이에게 제시되었다.
- [0061] 어린이는 어린이가 받은 행동적, 언어적, 작업적 및 다른 행동 요법 및 교육 서비스와 관련된 시간의 양에 대한 정보가 부모와의 체계화된 개입 이력 인터뷰(Intervention History Interview)를 통해 기준선으로부터 기준선 후 12 개월까지 3 개월 마다 평가되었다.
- [0062] **통계학적 방법**
- [0063] 분석은 코호트의 기준선 특성의 요약으로 시작하는 기술적인 방법에 주로 의존하였다. 시간에 따른 연속 결과 측정치의 분포를 예시하기 위해 박스 플롯(box plot)을 준비하였다. 각 시점에서의 순위 결과 측정치의 빈도가 막대 차트를 사용하여 플롯팅되었다. 연속적이고 순위적인 결과에 대한 변화의 통계학적 유의성이 PDDBI을 제외한 월록슨 서명 등급 시험(Wilcoxon signed rank test)을 이용하여 평가되었고, 이는 3 개월째에 매듭이 있는 고정 효과 선형 스플라인(fixed effect linear spline)을 사용하여 모델링되었다. 이러한 모델이 AIC(Akaike Information Criteria)를 사용한 다른 길이방향 고정 및 랜덤 효과 모델에 우선하여 선택되었다. EGT는 로짓 연결(logit link), 이항 오차 구조(binomial error structure) 및 교환 가능한 또는 비체계화된 작업 상관관계에 의한 일반화 추정 방정식(Generalized Estimating Equation: GEE)을 사용하여 분석되었다. 기준선 연령, 비언어적 IQ, 및 주입된 세포 투여량과 시간에 따른 변화의 연관성이 각각의 분석에서 탐구되었다. 등록된 여성은 성별에 따른 변화의 패턴을 탐구하기에 충분하지 않았다. 최종적으로 본 발명자들은 벤자미니-호크버그(Benjamini-Hochberg) FDR(False Discovery Rate) 절차를 기준선 내지 6 개월 및 6 개월 내지 12 개월 후속 기간 동안의 관찰된 결과에 적용함으로써 위-양성 결과(false-positive result)에 대한 잠재력을 평가하였다.
- [0064] **결과**
- [0065] **연구 참여자 및 자가 제대혈 유닛의 특성**
- [0066] 스물 다섯(25) 명의 참여자가 연구에 등록하여 자가 제대혈의 초기 주입을 받았다(n=25), 25 명의 참여자 중에, 21 명은 남성이었고, 코카시안(Caucasian)이 주를 이루었으며(n=23), 아시아인이 1 명이고 혼혈인종이 2 명이였다. 참여자의 중위 연령은 4.62 세(범위 2.26 세 내지 5.97 세)였고, 중위 비언어적 IQ는 65(범위 22 내지 123)이었다. 연구 진입시의 참여자의 중위 ADOS 비교 점수는 8.0(범위 6 내지 10)이었고, 72%는 중등도 중증 또는 중증 ASD 증상을 가졌다(표 1). 모든 참여자는 기준선 및 6 개월 평가를 완료하였다. 3 명의 참여자가 12 개월 평가를 완료하지 못했다.

[0067] 표 1: 환자 및 자가 제대혈 유닛의 기준선 특성(n=25)

환자 특성	
성별 - 수(%)	
여성	4 (16.0%)
남성	21 (84.0%)
연령, 세 - 중위값(범위)	4.62 (2.26-5.97)
인종 - 수(%)	
코카시안	22 (88%)
기타	3 (12%)
민족 - 수(%)	
히스패닉	2 (8%)
비히스패닉	23 (92%)
ADOS 중증도 점수 - 중위값(범위)	8 (6-10)
비언어적 IQ - 중위값(범위)	65 (22-123)
CGI-S - 수(%)	
거의 명백하지 않음	4 (16.0%)
중증도 ASD 증상	3 (12.0%)
중등도 중증 ASD	10 (40.0%)
중증 ASD 증상	8 (32.0%)
제대혈 특성 - 중위값(범위)	
주입된 전체 세포(TNCC), x10 ⁸	4.42 (1.53-12.28)
주입된 세포 투여량, x10 ⁶ /kg	25.80 (9.97-80.80)
주입된 생존 CD34+ 투여량, x10 ⁶ /kg	0.3 (0.1-4.2)
주입된 CFU 투여량, /kg	1,225.50 (85.50-4,620.00)

[0068]

[0069]

약어: ADOS: 자폐증 진단 관찰 스케줄(autism diagnosis observation schedule); CGI-S: 전반적 임상 인상 - 중증도(clinical global impression - severity); ASD: 자폐 스펙트럼 장애(autism spectrum disorder); TNCC: 전체 유핵 세포 수(total nucleated cell count); CFU: 콜로니 형성 단위(colony forming units).

[0070]

제대혈 주입

[0071]

자가 제대혈 유닛을 두 곳의 미국 가족 제대혈 은행 및 한 곳의 공공 은행으로부터 회수하였다(n=1). 모두를 이 중 구획 가방에 보관하였다. 1 내지 5×10^7 TNC/kg의 표적 세포 투여량을 달성하기 위해서, 전체 제대혈 유닛을 여섯(6) 명의 참여자에서 사용하였다. 19 명의 참여자에서, 제대혈 유닛의 80% 구획을 해동시키고 주입을 위해 사용하였고, 부모의 허락하에, 잠재적인 장애의 사용을 위해서, 남아있는 20% 부분을 냉동 보존된 상태에서 유지시키고 보관하였다. 모든 환자가 이들의 제대혈 주입을 완료하였다. 환자에게 투여된 해동된 제대혈 생성물의 특성을 표 1에 나타낸다. 주입된 중위 TNCC 및 살아있는 CD34 세포 투여량은 각각 2.6×10^7 /kg(범위 1 내지 8×10^7) 및 0.3×10^5 /kg(범위 0.1 내지 4.2×10^5)이었다. 주입된 중위 CFU는 1225.5/kg(범위 85.5 내지 4620)이었다. 본 연구에서 사용된 투여 기준은 사적으로 은행 보관된 제대혈 유닛을 사용한 본 발명자들의 이전의 연구와 일치했지만, 이들 TNCC, CD34, 및 CFU 값은 본 발명자들의 이전의 경험보다 낮다(Sun J, et al. *Transfusion* 2010; 50:1980-1987). 은행에 의해 보고된 음성 냉동보존된 멸균 배양물에도 불구하고, 한 유닛은 듀크에서의 해동 후 샘플로부터의 응고효소 음성 스타필로코커스를 성장시켰다.

[0072]

자가 제대혈 주입의 안전성

[0073]

이러한 개방 표지 I상 시험의 일차 중점은 안전성이었다(도 1). 신경계 장애를 가진 어린이에서의 자가 제대혈 주입의 본 발명자들의 이전의 안전성 연구에서 앞서 보고된 바와 같이(Sun J, et al. *Transfusion* 2010; 50:1980-1987), 자가 제대혈 주입은 잘 관용되었다. 어떠한 참여자에서도 심각한 AE는 보고되지 않았다. 전체 92 건의 AE가 참여자당 중위 3 건(범위: 1 내지 15 건)의 사건으로 23 명의 참여자(도 1)에서 보고되었다. 모든 사건은 경증(71 건의 사건) 또는 중등도(21 건의 사건)로서 분류되었다. 12 건의 사건(13%)이 주입과 관련되는 것으로 간주되었으며, 두드러기로 나타나는 알레르기 반응 및/또는 주입일에 발생하는 기침이 가장 일반적이었다(4 명의 참여자에서 5 건의 사건; 모두 경증; 2건은 IV 베나드릴의 추가의 투여를 필요로 함). 가장 일반적인 관련되지 않은 AE는 주입 후 2 일 내지 1 년 사이에서 보고된 초조, 피부 변화 및 전형적인 유아기 감염증이였다. 어떠한 환자에서도 주입-관련된 감염증 또는 혈류 또는 심각한 감염증은 주목되지 않았다.

[0074]

행동 시험

[0075]

투여의 가능성이 또한 시험되었고, ASD를 가진 어린이에서의 행동 결과를 평가하기 위해 전형적으로 사용되는 몇 가지 측정의 결과가 기술되었다. 다수의 부모-평가 및 임상-평가 측정이 평가되었다. 행동 결과는 기준선 IQ와 상호 관련되었지만, 연령 또는 세포 투여량과는 관련되지 않았다. 행동에서의 변화가 또한 어린이가 연구 기간 동안 받은 행동 개입, 언어 요법, 작업 요법 또는 교육 시간의 양과 상호 관련되지 않았다. 선택된 측정인 일차 및 핵심적인 이차 행동 중점(VABS-II, CGI-S, CGI-I, PDDBI, EOWPBT), 및 EGT 바이오마커 측정은 모두 개선을 나타내었으며 이하 기술된다.

[0076]

VABS-II은 사회화, 의사소통 및 적응 행동을 평가하는 부모-보고형 측정이다. 도 2는 모든 환자(패널 A)에서의 표준 점수 분포 및 모든 세 가지 시점에서의 평가를 완료한 24 명의 참여자에서 VABS-II 사회화 도메인에 대해 IQ(패널 B)에 의해 계층화된 표준 점수의 분포를 나타내고 있다. 표준 점수에서의 통계학적으로 유의한 증가가 기준선으로부터 6 개월까지 관찰되었다. 이러한 변화는 6 내지 12개월 동안 안정하였다. 변화는 사회화 ($r_s=0.57$, 95% CI: 0.20-0.79, $P=0.004$) 및 적응 행동($r_s=0.42$, 95% CI: 0.01-0.70, $P=0.04$) 도메인에서 비언어적 IQ와 양성으로 상호 관련되었지만, 의사소통 도메인($r_s=0.22$, 95% CI: -0.21-0.57, $P=0.31$)에서는 그러하지 않았다.

[0077]

CGI-S 및 CGI-I는 시간에 따른 ASD의 핵심 증상의 중증도 및 중증도에서의 변화를 평가하기 위해 사용되는 임상-평가 측정이다. 도 3은 모든 시점에서 충분히 평가될 수 있는 22 명의 참여자에서의 CGI-S (패널 A) 및 CGI-I (패널 B)의 분포를 나타낸다. CGI-S에서, 기준선에서, 대부분의 참여자는 중등도 중증(43.5%) 또는 중증(26.1%)으로 분류되었으며, 나머지 참여자는 중등도 또는 거의 명백하지 않은 ASD 증상(각각 13.6%)을 가졌다. 6 개월째에, 중등도 중증 및 중증 증상을 갖는 참여자의 비율은 감소하였고(각각 22.7%), 나머지 참여자는 중등도(31.8%), 경증(13.6%), 또는 거의 명백하지 않음(9.1%)으로 분류되었다. 도 3b는 6 개월 및 12 개월째에서의 CGI-I의 분포를 나타낸다. 이들 시점의 각각에서 측정된 개선은 기준선과 관련된다. 6 개월째에, 9 명의 참여자(40.9%)는 어떠한 변화도 나타내지 않은 반면에, 2 명(9.1%)은 최소로 개선되었고, 8 명(36.4%)은 크게 개선되었고, 3 명(13.6%)은 매우 크게 개선되었다($P < 0.001$). 12 개월째에서의 CGI-I는 유사하였지만($P=0.001$), 2 명의 참여자(13.6%)는 기준선보다 최소로 악화된 것으로 평가된 반면에, 6 개월 평가에서 참여자는 범주에 없었다. 12 개월째에서의 CGI-I은 비언어적 IQ와 연관되었지만, 연령 또는 주입된 세포 투여량과는 연관되지 않았다(도시되지 않음).

[0078]

PDDBI - 자폐증 복합 T-점수는 ASD 증상을 평가하는 부모 보고형 측정이다. PDDBI는 기준선, 3, 6, 9, 및 12 개월에서 실행되었다(표 2). 자폐증 복합 T-점수는 시간에 따라 감소하였으며, 이는 ASD 증상에서의 개선을 시사한다. 대부분의 변화는, 7.52 점의 예상된 평균 감소와 함께, 기준선으로부터 3 개월까지의 간격에서 일어났다(95% CI: -12.38, -2.67; $P=0.004$). 3 개월부터 12 개월까지의 유의한 변화가 없었다(평균: 0.72, 95% CI: -1.14, 2.57; $P=0.43$).

[0079]

표 2: 행동 평가의 요약

결과 측정	평가된 환자의 #	기준선 내지 6 개월		6 내지 12 개월	
		변화 점수 중위값(범위)	P-value	변화 점수 중위값(범위)	P-값 ^a
VABS 사회화 표준 점수	24	2.0 (-8, 30)	0.016	0 (-19, 9)	0.602
VABS 의사소통 표준 점수	24	4.5 (-8, 20)	0.002	0.0 (-13, 13)	0.459
VABS 적응 행동 복합 표준 점수	24	3 (-3, 24)	0.007	0 (-12, 8)	0.687
VABS 운동 표준 점수	24	0 (-10, 7)	0.788	0 (-14, 16)	0.991
VABS 일상 생활 표준 점수	24	1 (-9, 34)	0.457	0 (-16, 16)	0.999
EOWPVT 원점수(Raw score)	24	4 (-1, 24)	< 0.001	5.5 (-12, 16)	0.001
PDDBI 자폐증 복합 점수 ^b	24	7.53 (-12.38, -2.67)	0.004	0.72 (-1.14, 2.57)	0.430

[0080]

[0081]

^a P-값은 PDD-BI에 대한 윌콕슨 서명 등급 시험 또는 스플라인 모델로부터의 값이다.

[0082]

^b PDD-BI는 기준선, 3 개월 및 6 개월에서 수집되었다. 변화 점수는 3 개월째에 매듭이 있는 선형 스플라인 모

텔레뷰터의 예상된 평균(및 95% 신뢰 구간)이다.

[0083] 약어: VABS: 바인랜드 적응 행동 척도-II; EOWPVT: 표현 단어 그림 어휘 검사-4; PDDBI: 전반적 발달 장애 행동 목록

[0084] EOWPVT는 말한 단어를 그림과 매치시키는 능력의 임상의-실행 평가이다. EOWPVT 원점수는 기준선과 6 개월 사이에서 환자의 56%가 개선되었고, 6 내지 12개월 사이에서 환자의 68%가 개선되었다(표 2). EOWPVT 로 점수(raw score)에서의 변화는 비언어적 IQ와 연관되었지만(기준선 내지 6 개월: $r_s=0.59$, 95% CI: 0.23, 0.80, $P=0.003$; 6 내지 12 개월: $r_s=0.55$, 95% CI: 0.15, 0.78, $P=0.009$), 연령 또는 주입된 세포 투여량과는 연관되지 않았다(모든 경우에 $P>0.05$).

[0085] **눈-응시 추적**은 참여자의 눈 운동이 컴퓨터에 의해 추적되면서 대상체가 모니터 상의 다양한 비사회적 자극에 의해 둘러싸인 자연적이고 역동적인 사회적 자극(관여를 위해 노력하는 여배우)을 보고 있는 컴퓨터 시험이다. 주의력은 4 군데의 표적(여배우의 눈, 입, 얼굴 및 상반신)에 대해 측정되고, 별도의 GEE 모델이 각 표적에 대해 적합되었다. 각각의 모델은 기준선, 6 개월 및 12 개월째에 측정된 21 명의 참여자를 포함하였다. 이들 모델은 시간이 지남에 따라 여배우의 눈을 응시할 확률의 20% 증가를 나타냈다(OR = 1.20, 95% CI: 1.00, 1.43; $P=0.048$). 다른 3 군데의 표적에의 응시에서 유의한 변화는 없었다(표 3). 눈-추적과 VABS-II 사회화 표준 점수 사이의 관계의 조사는 VABS-II 사회화 표준 점수에서의 7-점 변화가 여배우에 응시할 확률의 14% 증가와 연관되었음을 밝혀냈다(OR = 1.14, 95% CI: 1.7, 1.21; $P< 0.001$).

[0086] **표 3:** 눈 추적 연구의 요약 (n=21)

표적	확률 비(95% CI) ^a	P-값
눈	1.20 (1.00, 1.43)	0.048
여배우	1.02 (0.92, 1.12)	0.716
입	0.93 (0.81, 1.06)	0.270
얼굴	1.02 (0.91, 1.14)	0.800

[0087]

[0088] ^a 확률 비는 일반화 추정 방정식을 사용하여 산정되며(각각의 표적에 대한 하나의 모델), 연속적인 6-개월 후속 기간들(기준선 내지 6 개월, 및 6 내지 12 개월) 사이의 코호트에서의 평균 경향을 반영한다

[0089] 다중 시험을 위한 조정

[0090] 이러한 연구에서 많은 행동 시험에 주어질 경우에, 본 발명자들은 위발견율(False Discovery Rat) 방법을 첫 번째 및 두 번째 6-개월 후속 기간에 별도로 적용시킴으로써 9 가지 행동 결과 측정 중의 위 양성 결과의 가능성을 탐구하였다(표 4). 후속의 첫 번째 6 개월 동안 유의한 결과를 나타낸 결과 측정치 모두는 P-값의 FDR 조정 후에 통계학적으로 유의하게 유지되었다. 6 내지 12 개월 기간 동안에, EOWPVT 및 CGI-I가 FDR 절차의 적용 후에 통계학적으로 유의하게 유지되었다.

[0091] **표 4:** 행동 결과에서의 시간에 따른 변화가 없는 귀무 가설의 시험에 대한 원 및 보정된 P-값

결과 측정	기준선 내지 6 개월		6 내지 12 개월	
	원 P-값	FDR P-값	원 P-값	FDR P-값
EOWPVT 원점수	0.0001	0.0009	0.0010	0.0059
CGI-I	0.0010	0.0045	0.0013	0.0059
VABS 의사소통 표준 점수	0.0020	0.0060	0.3750	0.8262
PDDBI 자폐증 복합 T-점수 ^a	0.0040	0.0090	0.4300	0.8262
VABS 적응 행동 복합	0.0070	0.0126	0.4590	0.8262
VABS 사회화 표준 점수	0.0160	0.0240	0.6020	0.8833
CGI-S	0.0220	0.0283	0.6870	0.8833
VABS 일상 생활 표준 점수	0.4600	0.5175	0.9900	1.0000
VABS 운동 기능 표준 점수	0.7900	0.7900	1.0000	1.0000

[0092]

- [0093] ^a PDDBI에 대한 P-값은 기준선 내지 3 개월에 대한 것이다.
- [0094] 약어: FDR: 위발견율; EOWPVT: 표현 단어 그림 어휘 검사-4; CGI-I/S: 전반적 임상 인상 - 개선/중증도; VABS: 바인랜드 적응 행동 척도-II; PDDBI: 전반적 발달 장애 행동 목록.
- [0095] 논의
- [0096] 이러한 I상 개방-표지 연구에서, ASD를 가진 유아에서의 자가 제대혈의 단일 정맥내 주입의 안정성 및 가능성이 평가되었다. 다양한 행동 및 기능적 결과 측정의 변화가 어느 것이 장래의 세포 요법 시험에서 중점으로서의 사용에 가장 적합할 것인지 결정하기 위해 또한 기술되었다. 주입 후 12 개월에 걸친 유해 사건의 평가는 제대혈 주입이 안전하고 잘 관용됨을 나타냈다. 모든 관련된 사건은 후유증 없이 예상되고 해결된 것으로 간주되었다. 가장 일반적인 관련없는 AE는 불안, 피부 변화 및 전형적인 유아기 감염증이었다. 초조는, 특히, 다른 후천적 신경학적 질환을 가진 어린이에서의 자가 제대혈 주입의 본 발명자들의 이전의 연구에서 일반적인 부작용이 아니었으며, 그에 따라서, ASD를 가진 어린이에 특이적일 수 있다. 이러한 연구에서, 참여자는 이들의 제대혈 주입 직전에 MRI를 위한 진정제투여를 받았다. 그에 따라서, 초조의 증가된 발생은 진정제투여로부터 깨어나는 도전 및 ASD를 가진 어린이를 위한 IV 및 맥박 산소 측정기를 제 위치에 갖춰야 하는 도전을 반영하고, 그와 같이, 이들의 근본적인 질환과 관련될 수 있다.
- [0097] 행동에서의 유의한 개선은 이러한 연구에서의 넓은 범위의 결과 측정에 걸쳐서 밝혀졌다. 이들은 VABS-II 사회화, 의사소통, 및 적응 행동 점수 및 PDDBI를 포함한 부모-보고형 측정, CGI-S, CGI-I, 및 EOWPVT를 포함한 임상 평가, 및 객관적인 눈 응시 추적 측정에서의 개선을 포함하였다. 대부분의 관찰된 행동 변화는 첫 번째 6 개월 동안에 일어났고, 주입 후 6 개월 내지 12 개월 사이에서 지속되었다. 확실한 발견은 어린이의 비언어적 IQ가 대부분의 결과 측정에 대한 변화와 상호 관련되고, 더 높은 비언어적 IQ가 행동에서의 더 큰 개선과 연관되었다.
- [0098] 중요하게는, 본 연구에서의 대부분의 참여자가 코카시안이었으며, 이는 재원을 가지고 그들의 아기의 제대혈을 사적 은행에 보관하는 선택을 할 가능성이 있는 미국에서의 인구 통계를 반영한다. 그러나, ASD가 모든 인구통계학적 배경의 어린이에서 발생하기 때문에, 제대혈 요법이 효과적이라면, 접근은 단지 자가 세포가 사용되는 경우 사적 은행보관을 위한 재원을 가진 가족으로 제한될 것이다. 따라서, 장래의 연구는 최상의 이용 가능한 기증자(자가 또는 동종) 대 위약을 시험하여, 효과적인 것으로 밝혀진다면, 모든 영향을 받은 어린이를 위한 이러한 요법에 대한 접근을 확대하기 위한 토대를 마련할 것이다.
- [0099] 이들 결과는 ASD에서의 제대혈-유래된 요법과 관련된 장래의 연구에 대한 약간의 가능성을 제공하지만, 본 연구의 한계를 주목하는 것이 중요하다. 비대조 공개-표지 연구로서, 관찰된 행동 변화가 치료로 인한 것인지 취학 전 기간 동안의 자연적인 발달 과정을 반영하는 것인지를 결정하는 것은 불가능하다. 추가로, 작은 표본 크기는 혼재 변수의 기여를 충분히 평가하기 어렵게 한다. 이러한 연구는 행동 변화와 연령 사이의 상호 관련을 확인하지 않았지만, 행동 개입 서비스의 양 또는 주입된 세포 투여량, 제한된 표본 크기 및 제한된 연령 및 투여량 범위가 그러한 연관을 검출하는 능력을 감소시킬 수 있다.
- [0100] 상기 설명한 각각의 결과 측정은 변화에 대한 감수성을 보였고, 이는 더 큰 시험에서의 잠재적 유용성을 나타낸다. 더욱이, 이들 측정에 대한 비순응으로 인한 소모가 최소였고, 이는 이들 측정이 이러한 연령 범위에 있는 ASD를 가진 어린이에게 적용 가능함을 시사한다. 본 연구의 결과를 가이드로 삼아서, 본 발명자들은 부모의 기대 효과를 감소시키기 위해 숙련된 임상직에 의한 실행과 함께 본 발명자들의 다음 연구를 위해 일차 결과 측정으로서 VABS 사회화 표준 점수를 선택하였다. 이러한 점수는 자폐증과 관련된 핵심 사회적 행동의 타당한 측정을 제공하고, 현재 연구에서의 6 개월 기간에 걸친 변화에 대한 감수성을 나타냈고, 더 큰 임상 시험에서 적용 가능하다. 유럽 식약청(European Medicines Agency)으로부터의 자폐증 임상 시험의 설계에 대한 최근 초안 지침(ASD http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2016/03/WC5000202650.pdf.에 있는 초안(2016))에 따르면, 단일 요법은 모든 자폐 증상을 개선시킬 수 없으며, 그에 따라서, 전반적인 기능적 개선이 자폐증에서의 효능 평가의 중요한 요소이다. 따라서, 임상-평가 CGI 및 이차적인 중점으로서의 추가의 측정이 ASD의 핵심 증상을 개선시키는데 있어서의 제대혈 주입의 효능을 공식적으로 평가하도록 설계된 장래의 II상, 이중-맹검 무작위 임상 시험에서 추가로 평가될 필요가 있다.
- [0101] 본 개시는 ASD를 가진 유아에서의 자가 제대혈의 정맥내 주입이 안전하고 실행 가능함을 입증하고 있다. 개시는, 이러한 결론을 지지하는 개방-표지, I상 시험이 주입 후 첫번째 6 개월에 관찰된 행동에서의 유의한 개

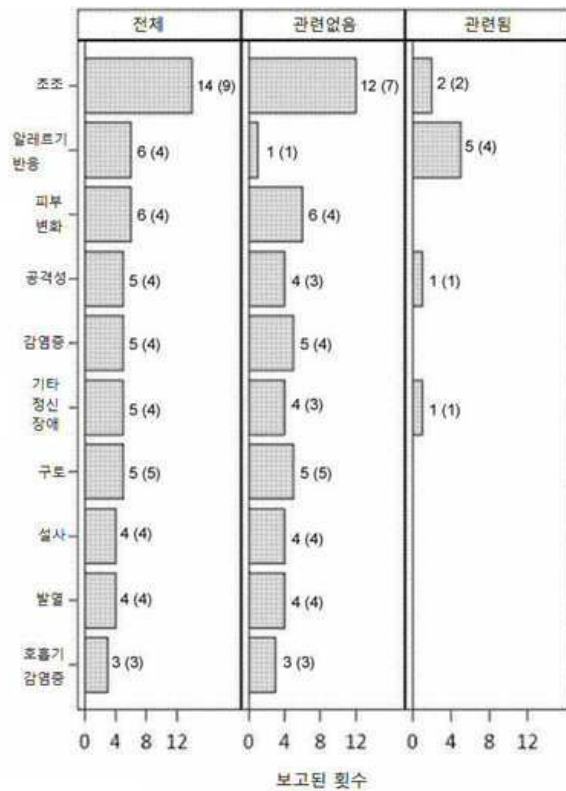
선을 기술하고 있고, 이들 유의한 개선이 주입 후 12 개월째에 지속되었음을 나타내고 있다. 더 높은 기준선 비언어적 IQ가 더 큰 개선도와 연관되었다. 본 개시는 실행 가능하고, 변화에 민감하고, 발달상 적절하고, 그에 따라서 장애의 임상 시험 및 치료 셋팅에서 ASD를 가진 유아의 치료를 위한 제대혈 요법의 효능을 시험하는 데 사용하기에 적합한 결과 측정을 확인하고 있다.

[0102]

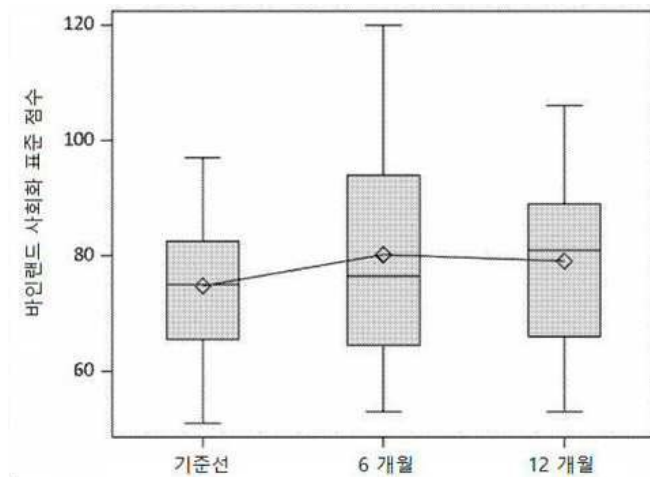
본원에 기술된 실시예 및 구현예는 단지 예시 목적이라는 것과, 그를 고려한 다양한 변형 또는 변화가 통상의 기술자에게 제안될 수 있고 본 출원의 사상 및 범위 및 첨부된 청구범위의 범위 내에 포함되어야 함이 이해된다. 본원에서 인용된 모든 간행물, 특허, 및 특허 출원은 본원에서 모든 목적으로 참고로 포함된다.

도면

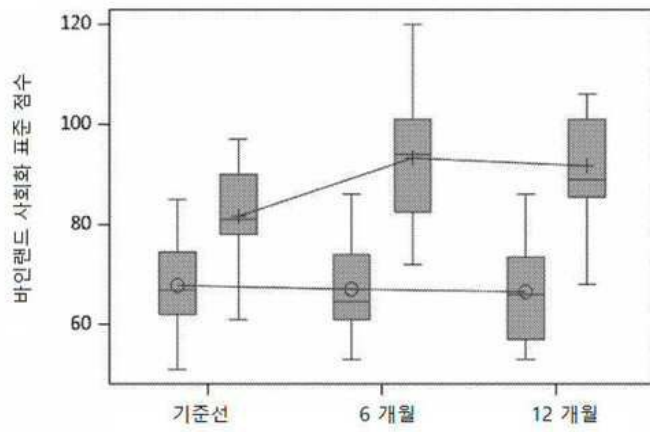
도면1



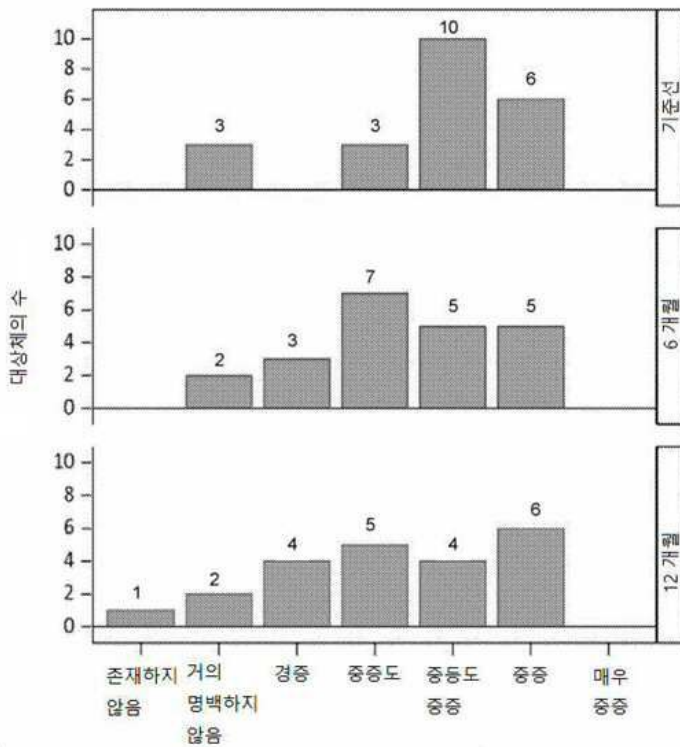
도면2a



도면2b



도면3a



도면3b

