



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0141280
(43) 공개일자 2022년10월19일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/00 (2006.01) A61K 39/39 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 39/00 (2013.01)
A61K 39/0011 (2021.08)
- (21) 출원번호 10-2022-7023239
- (22) 출원일자(국제) 2020년12월11일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2022년07월06일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2020/064412
- (87) 국제공개번호 WO 2021/119376
국제공개일자 2021년06월17일
- (30) 우선권주장
62/946,934 2019년12월11일 미국(US)

- (71) 출원인
엔이1 인코퍼레이티드
미국, 뉴욕 10022, 뉴욕 매디슨 애비뉴 515, 8층,
스위트 넘버 8096
더 유나이티드 스테이트 오브 아메리카, 애즈 레
프리젠티드 바이 더 세크리터리, 디파트먼트 오브
헬스 앤 휴먼 서비스, 내셔널 인스티튜트 오브 헬
스
미국, 메릴랜드 20892-7788, 베서스다 엠에스씨
7788 에스티이 700, 로크레지 드라이브 6701, 디
파트먼트 오브 헬스 앤 휴먼 서비스, 내셔널 인스
티튜트 오브 헬스, 오피스 오브 테크놀로지 트랜
스퍼
유니버시티 오브 사우스 보헤미아 인 체스케부테
요비체
체코, 체스케부테요비체 37005 브라니소브스카
1645/31에이
- (72) 발명자
주앙, 정평
미국, 메릴랜드 20814, 베서스다 오비노에 팜 드
라이브 10411
메디나, 로헬리오
미국, 캘리포니아 90242, 다우니 언서 애비뉴
13448
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인이룸리온

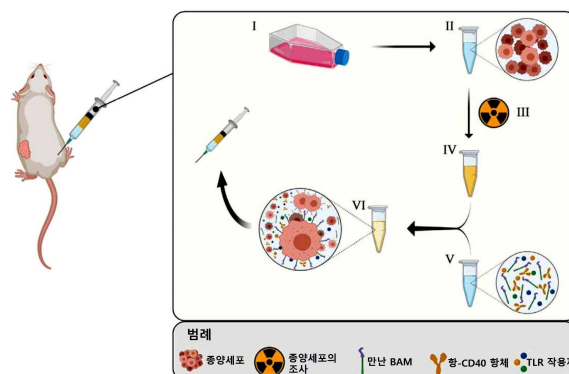
전체 청구항 수 : 총 47 항

(54) 발명의 명칭 암 면역요법을 위한 개인맞춤형 종양 백신 및 이의 용도

(57) 요약

약독화된 암세포를 포함하는 개인맞춤형 종양 백신 및 상기 개인맞춤형 종양 백신을 사용하여 암을 치료하는 방
법이 본원에 개시된다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 39/39 (2013.01)

A61K 45/06 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

C07K 16/2812 (2013.01)

C07K 16/2815 (2013.01)

C07K 16/2878 (2013.01)

A61K 2039/5152 (2013.01)

A61K 2039/55561 (2013.01)

A61K 2039/55583 (2013.01)

(72) 발명자

왕, 헤루이

미국, 버지니아 22102, 맥린 웨스트윈드 웨이 1823

젠카, 얀

체코, 체스케부데요비체 37011 베즈드레브스카
1159/15

파카, 카렐

미국, 메릴랜드 20814, 베서스다 발포어 드라이브
9413

호, 윈슨

미국, 텍사스 78704, 오스틴 멜리지 플레이스 2003

명세서

청구범위

청구항 1

개인맞춤형 종양 백신으로서,

- (a) 식세포작용 자극제(phagocytosis stimulating agent),
- (b) 면역자극 보조제, 및
- (c) 약독화된 암 세포,

를 포함하며,

상기 개인맞춤형 종양 백신은 이를 필요로 하는 개체에게 투여될 때 면역 반응을 활성화하는데 효과적인, 개인 맞춤형 종양 백신.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 약독화된 암 세포는 상기 개체의 종양으로부터 획득되는 것인, 개인맞춤형 종양 백신.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 종양은 고형 종양인, 개인맞춤형 종양 백신.

청구항 4

제2항에 있어서,

상기 종양은 액체 종양(liquid tumor)인, 개인맞춤형 종양 백신.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 약독화된 암 세포는

- (a) 상기 개체의 종양 부위의 생검으로부터 암세포를 채취하는 단계,
- (b) 상기 채취된 암세포를 치료학적으로 적절한 양(therapeutically relevant amount)으로 배양하는 단계, 및
- (c) 상기 배양된 암세포를 조사(irradiating)하는 단계,

에 의해 준비되는, 개인맞춤형 종양 백신.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 약독화된 암세포는 약 1.0×10^3 내지 약 1.0×10^7 의 양으로 존재하는, 개인맞춤형 종양 백신.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 식세포작용 자극제는 만난(mannan)을 포함하는, 개인맞춤형 종양 백신.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 만난은 약 2 mg/용량 내지 약 200mg/용량의 양으로 존재하는, 개인맞춤형 종양 백신.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 식세포작용 자극제는 세포막용 생체적합성 앵커(BAM)에 접합되는, 개인맞춤형 종양 백신.

청구항 10

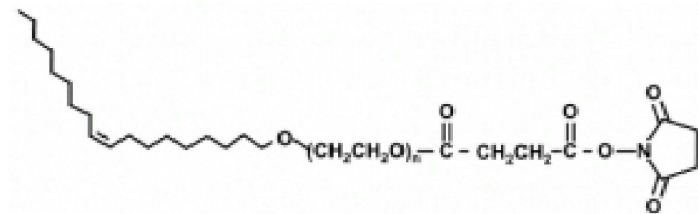
제9항에 있어서,

상기 BAM은 약 0.2 mg/용량 내지 약 20 mg/용량의 양으로 존재하는, 개인맞춤형 종양 백신.

청구항 11

제9항 또는 제10항에 있어서,

상기 BAM은 화학식 I:



여기서 n은 PEG 사슬에서 반복되는 에틸렌 옥사이드(EO) 단위의 수임,

을 포함하는, 개인맞춤형 종양 백신.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 면역자극 보조제는 Toll 유사 수용체(TLR) 작용제(agonist)를 포함하는, 개인맞춤형 종양 백신.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 TLR 작용제는 R-848, 폴리(I:C), 리포테이코산(LTA), 또는 이들의 조합을 포함하는, 개인맞춤형 종양 백신.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 TLR 작용제는 R-848을 포함하는, 개인맞춤형 종양 백신.

청구항 15

제14항에 있어서,

상기 R-848은 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량의 양으로 존재하는, 개인맞춤형 종양 백신.

청구항 16

제13항에 있어서,

상기 TLR 작용제는 폴리(I:C)를 포함하는, 개인맞춤형 종양 백신.

청구항 17

제16항에 있어서,

상기 폴리(I:C)는 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량의 양으로 존재하는, 개인맞춤형 종양 백신.

청구항 18

제13항에 있어서,

상기 TLR 작용제는 리포테이코산(LTA)을 포함하는, 개인맞춤형 종양 백신.

청구항 19

제18항에 있어서,

상기 LTA는 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량의 양으로 존재하는, 개인맞춤형 종양 백신.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 면역자극 보조제는 항-CD40 항체를 포함하는, 개인맞춤형 종양 백신.

청구항 21

제20항에 있어서,

상기 항-CD40 항체는 약 0.04 mg/용량 내지 약 4 mg/용량의 양으로 존재하는, 개인맞춤형 종양 백신.

청구항 22

제1항에 있어서,

상기 면역 반응은 상기 약독화된 암 세포에 특이적인 적응면역(adaptive immune response)을 포함하는, 개인맞춤형 종양 백신.

청구항 23

개인맞춤형 종양 백신으로서,

(a) 만난, 상기 만남은 BAM에 집합됨,

(b) R-848, 폴리(I:C), 및 LTA,

(c) 항-CD40 항체, 및

(d) 조사된 암 세포,

를 포함하며,

상기 개인맞춤형 종양 백신은 이를 필요로 하는 개체에게 투여될 때 면역 반응을 활성화하는데 효과적인, 개인맞춤형 종양 백신.

청구항 24

암 치료 방법으로서,

암 치료를 필요로 하는 개체에게 유효량의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하되,

상기 약제학적 조성물은

(a) 식세포작용 자극제,

(b) 면역자극 보조제, 및

(c) 약독화된 암 세포,

를 포함하는, 암 치료 방법.

청구항 25

제24항에 있어서,

상기 약독화된 암 세포는 상기 개체의 종양으로부터 획득되는 것인, 방법.

청구항 26

제25항에 있어서,

상기 종양은 고형 종양인, 방법.

청구항 27

제25항에 있어서,

상기 종양은 액체 종양인, 방법.

청구항 28

제24항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 약독화된 암 세포는

- (a) 상기 개체의 종양 부위의 생검으로부터 암세포를 채취하는 단계,
 - (b) 상기 채취된 암세포를 치료학적으로 적절한 양으로 배양하는 단계, 및
 - (c) 상기 배양된 암세포를 조사하는 단계,
- 에 의해 준비되는, 방법.

청구항 29

제24항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 약독화된 암세포는 약 1.0×10^3 내지 약 1.0×10^7 의 양으로 존재하는, 방법.

청구항 30

제24항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 식세포작용 자극제는 만نان을 포함하는, 방법.

청구항 31

제 30항에 있어서,

상기 만نان은 약 2 mg/용량 내지 약 200mg/용량의 양으로 존재하는, 방법.

청구항 32

제24항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 식세포작용 자극제는 세포막용 생체적합성 앵커(BAM)에 접합되는, 방법.

청구항 33

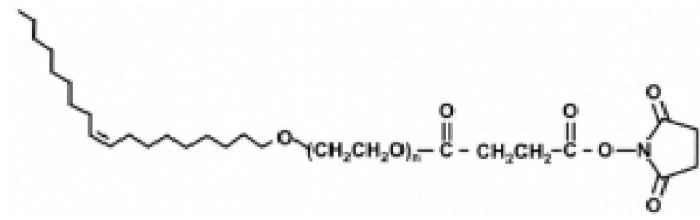
제32항에 있어서,

상기 BAM은 약 0.2 mg/용량 내지 약 20 mg/용량의 양으로 존재하는, 방법.

청구항 34

제32항 또는 제33항에 있어서,

상기 BAM은 화학식 I:



여기서 n은 PEG 사슬에서 반복되는 에틸렌 옥사이드(EO) 단위의 수임,
을 포함하는 개인맞춤형 종양 백신.

청구항 35

제 24항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 면역자극 보조제는 Toll 유사 수용체(TLR) 작용제(agonist)를 포함하는, 방법.

청구항 36

제35항에 있어서,
상기 TLR 작용제는 R-848, 폴리(I:C), 리포테이코산(LTA), 또는 이들의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 37

제36항에 있어서,
상기 TLR 작용제는 R-848을 포함하는, 방법.

청구항 38

제37항에 있어서,
상기 R-848은 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량의 양으로 존재하는, 방법.

청구항 39

제36항에 있어서,
상기 TLR 작용제는 폴리(I:C)를 포함하는, 방법.

청구항 40

제39항에 있어서,
상기 폴리(I:C)는 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량의 양으로 존재하는, 방법.

청구항 41

제36항에 있어서,
상기 TLR 작용제는 리포테이코산(LTA)을 포함하는, 방법.

청구항 42

제41항에 있어서,
상기 LTA는 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량의 양으로 존재하는, 방법.

청구항 43

제24항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 면역자극 보조제는 항-CD40 항체를 포함하는, 방법.

청구항 44

제43항에 있어서,

상기 항-CD40 항체는 약 0.04 mg/용량 내지 약 4 mg/용량의 양으로 존재하는, 방법.

청구항 45

제24항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 개인맞춤형 종양 백신은 피하 투여되는, 방법.

청구항 46

제24항에 있어서,

상기 개인맞춤형 종양 백신은 상기 약독화된 암 세포에 특이적인 면역반응을 활성화시킬 수 있는, 방법.

청구항 47

제46항에 있어서,

상기 면역반응은 적응 면역 반응(adaptive immune response)을 포함하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

상호 참조

본 출원은 2019년 12월 11일자로 출원된 미국 가출원 제62/946,934호의 이익을 주장하며, 상기 가출원은 그 전 문이 본원에 참조로 포함된다.

연방 지원 연구 및 개발

이 발명은 국립 보건원, 국립 암 연구소 및 유니스 케네디 슈라이버 국립 아동 건강 및 인간 발달 연구소에 의 한 프로젝트 번호 ZIA BC 011773 하에 정부 지원으로 이루어졌다. 정부는 발명에 대한 특정 권리를 가진다.

발명의 분야

본 발명은 일반적으로 암 면역요법을 위한 개인맞춤형 종양 백신의 제조 및 용도에 관한 것이다.

배경 기술

항-PD1/PD-L1 및 항-CTLA-4와 같은 면역 관문 억제제(Immune checkpoint inhibitors, ICIs)는 흑색종 및 비-소 세포성 폐암을 포함한 다양한 유형의 진행성 암의 결과를 크게 개선했다(Nat Rev Cancer. 2018;18(3):139-147. doi:10.1038/nrc.2017.117 참조). 그러나 단지 환자의 하위 집합만이 ICIs에 대한 지속적인 반응을 달성한다는 것이 명확해졌다. ICIs에 대한 객관적 반응의 가장 강력한 예측변수 중 하나는 종양 돌연변이 부담이다(N Engl J Med. 2017;377(25):2500-2501. doi:10.1056/NEJMc1713444 참조). 그러나 교모세포종을 포함한 많은 종양은 아마도 적응면역 반응을 활성화하는데 필요한 신생항원의 결핍으로 인하여 단일 제제 ICI 요법에 반응할 가능성이 더 적다. 이러한 종양은 종종 낮은 T 세포 침윤을 갖는 "면역학적으로 차가운" 것으로 밝혀졌다. 높은 T 세포 침윤을 가지는 "면역학적으로 뜨거운" 종양은 활성 항종양 면역 반응의 존재를 시사하고 ICIs에 대한 유리한 반응을 예측한다. 그러므로 "차가운" 면역원성 표현형을 "뜨거운" 면역원성 표현형으로 전환하는 것은 성공적인 면역 요법을 만드는 중요한 단계이다. 따라서 "면역학적으로 차가운" 종양을 "면역학적으로 뜨거운" 종양으로 전환시킬 수 있는 신규한 치료제 또는 면역요법제를 확인할 필요가 시급하다.

반면에 유망한 면역 치료제는 (발생 부위에서, *in situ*) 종양 내로 적용하거나 주사할 때만 강력한 항종양 반응을 나타낸다. 해부학적으로 접근 가능한 종양에 대한 의존성으로 인하여, 발생 부위(혹은 '*in situ*') 주사전 략은 원발성 종양(primary tumors)이 일반적으로 임상 환경에서 외과적으로 축소되거나 접근하기 어려운 해부학

적 위치에 위치할 수 있기 때문에, 면역 치료제의 잠재적 적용을 심각하게 제한한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 암 면역치료 분야는 아직 초기 단계이며 더 많은 면역치료 약물과 그 임상 결과가 연구되고 있다. 다른 한편으로, 다양한 형태의 고형 종양, 특히 신경계의 종양은 *in situ* 요구에 구속되지 않는 전달 전략을 필요로 한다.

과제의 해결 수단

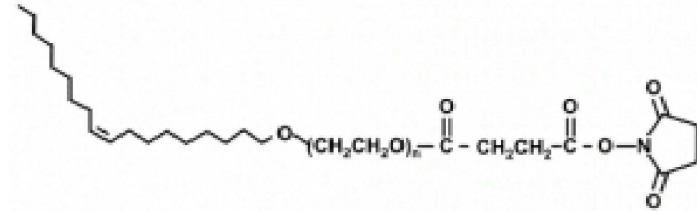
[0010] 발명의 요약

[0011] 일부 구현예에서, 개인맞춤형 종양 백신이 본원에 개시된다. 일 측면에서, 개인맞춤형 종양 백신은 (a) 식세포 작용 자극제, (b) 면역자극 보조제, 및 (c) 약독화된 암 세포를 포함하며, 상기 개인맞춤형 종양 백신은 이를 필요로 하는 개체에 투여될 때 면역 반응을 활성화 시키는데 효과적이다.

[0012] 일부 구현예에서, 상기 약독화된 암 세포는 상기 개체의 종양으로부터 수득된다. 일부 구현예에서, 상기 종양은 고형 종양이다. 일부 구현예에서, 상기 종양은 액체 종양이다.

[0013] 일부 구현예에서, 상기 약독화된 암세포는 (a) 상기 개체의 종양 부위의 생검으로부터 암 세포를 채취하는 단계, (b) 채취된 암세포를 치료학적으로 적절한 양으로 배양하는 단계, 및 (c) 배양된 암세포를 조사하는 단계에 의하여 제조된다.

[0014] 일부 구현예에서, 상기 약독화된 암 세포는 약 1.0×10^3 내지 약 1.0×10^7 의 양으로 존재한다. 일부 구현예에서, 상기 식세포작용 자극제는 만난을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 만난은 약 2 mg/용량 내지 약 200 mg/용량의 양으로 존재한다. 일부 구현예에서, 상기 식세포작용 자극제는 세포막용 생체적합성 앵커(BAM)에 접합된다. 일부 구현예에서, 상기 BAM은 약 0.2 mg/용량 내지 약 20 mg/용량의 양으로 존재한다. 일부 구현예에서, 상기 BAM은 화학식 I을 포함한다.



[0016] 여기서 n은 PEG 사슬에서 반복되는 에틸렌 옥사이드(EO) 단위의 수이다.

[0017] 일부 구현예에서, 상기 면역자극 보조제는 Toll 유사 수용체(Toll like receptor, TLR) 작용제를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 TLR 작용제는 R-848, 폴리(poly)(I:C), 리포테이코산(LTA), 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 TLR 작용제는 R-848을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 R-848은 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량의 양으로 존재한다. 일부 구현예에서, 상기 TLR 작용제는 폴리(I:C)를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 폴리(I:C)는 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량의 양으로 존재한다. 일부 구현예에서, 상기 TLR 작용제는 리포테이코산(LTA)을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 LTA는 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량의 양으로 존재한다. 일부 구현예에서, 상기 면역자극 보조제는 항-CD40 항체를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 항-CD40 항체는 약 0.04 mg/용량 내지 약 4 mg/용량의 양으로 존재한다. 일부 구현예에서, 상기 면역 반응은 약독화된 암세포에 특이적인 적응 면역 반응을 포함한다.

[0018] 일부 구현예에서, 개인맞춤형 종양 백신이 본원에 개시된다. 일 측면에서, 개인맞춤형 종양 백신은 (a) 만난 (mannan), 여기서 상기 만남은 BAM에 접합됨, (b) R-848, 폴리(I:C), 및 LTA, (c) 항-CD40 항체, 및 (d) 조사된 암 세포, 여기서 상기 개인맞춤형 종양 백신은 이를 필요로 하는 개체에 투여될 때 면역 반응을 활성화시키는데 효과적이다.

[0019] 일부 구현예에서, 암 치료 방법이 본원에 개시된다. 일 측면에서, 암 치료 방법은 유효량의 약제학적 조성물을 이를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 약제학적 조성물은 (a) 식세포작용 자극제, (b) 면역 자극 보조제, 및 (c) 약독화된 암 세포를 포함한다.

[0021]

*CCCCCCCCC/C=C\CCCCCCCCOCCOC(=O)CCC(=O)ON1C(=O)CCCC1=O

[0022]

[0023]

[0024]

[0025]

도 2a 내지 도 2h는 대표적인 원발성 종양에서의 *in-situ* MBTA 주사가 강력하고 전신에 영향을 주는 대상체-특이적 적응 면역 반응을 유도한다는 것을 보여준다. 도 2a는 MBTA 면역요법의 개략적인 타임라인을 도시한다. 도 2b는 MBTA 면역요법의 개략적인 타임라인을 나타낸다. 도 2c는 MBTA 면역요법 시작 10일 후 CT26 종양-보유 마우스의 대표적인 사진을 나타낸다. 대표적인 원발성 및 전이성 종양의 위치는 화살표로 표시된다. 마우스는 등 쪽에서 관찰된다. 도 2d는 식염수(n=7, 좌측 패널) 및 MBTA(n=7, 우측 패널)로 *in situ* 주사된 원발성 종양을 갖는 CT26 종양-보유 마우스에 대한 원발성 종양 부피(mm³) 및 시간의 관계를 나타내는 선 그래프를 도시한다. *in situ* MBTA 주사를 맞은 대부분의 마우스의 원발성 종양은 식염수를 주사한 대조군 마우스와 비교하여 성장하지 않았다. 도 2e는 식염수(n=7, 좌측 패널) 및 MBTA(n=7, 우측 패널)가 *in situ* 주사된 원발성 종양을 가지는 마우스에 대한 전이성 원거리 종양 부피(mm³) 및 시간의 관계를 나타내는 선 그래프를 도시한다. *in situ* MBTA 주사를 맞은 대부분의 마우스에서 대조군에 비해 전이성 원거리 종양은 성장하지 않았다. 도 2f는 원발성 종양에 *in situ* 주사한 CT26 종양-보유 마우스의 누적 생존 곡선을 도시한다. 20일까지, 식염수 대조군(n=7)을 받은 모든 마우스는 사망한 반면, MBTA 처치(n=7)를 받은 모든 마우스는 생존했다. MBTA를 처치한 마우스의 최소 25%

가 처치 후 100일 동안 생존했다. *** $p=0.0002$ 는 Log-rank (Mantel-Cox) 테스트에 의한다. 도 2g는 CT26 종양-보유 마우스의 비장에서 $CD4^+$ (좌측 패널) 또는 $CD8^+$ T-세포 고갈(중간 패널)을 확인하는 2차원 유세포 분석 플롯을 도시한다. T-세포 고갈이 없는 대조군 플롯은 우측 패널에 도시된다. 표적 고갈은 $CD4^+$ 또는 $CD8^+$ 세포의 ~90%를 고갈시켰다. 도 2h는 식염수($n=9$, 상단 좌측 패널), T-세포 고갈이 없는 MBTA($n=9$, 상단 우측 패널), $CD4^+$ 세포 고갈이 더해진 MBTA($n=5$, 하단 좌측 패널), 및 $CD8^+$ 세포 고갈이 더해진 MBTA($n=5$, 하단 우측 패널)로 *in situ* 주사된 원발성 종양을 갖는 CT26 종양-보유 마우스에 대한 원발성 종양 부피(mm^3) 및 시간의 관계를 보여주는 선 그래프를 도시한다. *in situ* MBTA 주사를 맞은 대부분 마우스의 원발성 종양은 식염수를 주사한 대조군 마우스와 비교하여 성장하지 않다. *in situ* MBTA 주사를 맞은 대부분 마우스의 원발성 종양은-비 T 세포, $CD4^+$ 세포 또는 $CD8^+$ 세포가 고갈되었는지 여부에 관계없이-대조군 마우스와 비교하여 성장하지 않았다. 도 2i는 식염수($n=9$, 상단 좌측 패널), MBTA($n=9$, 상단 우측 패널), $CD4^+$ 세포 고갈이 더해진 MBTA($n=5$, 하단 좌측 패널), 및 $CD8^+$ 세포 고갈이 더해진 MBTA($n=5$, 하단 우측 패널)로 *in situ* 주사된 원발성 종양을 갖는 CT26 종양-보유 마우스에 대한 전이성 원거리 종양 부피(mm^3) 및 시간의 관계를 보여주는 선 그래프를 도시한다. *in situ* MBTA 주사 및 비-T 세포 또는 $CD4^+$ 세포 고갈을 갖는 마우스의 전이성 원거리 종양은 식염수가 주사되거나 또는 $CD8^+$ 세포 고갈이 더해진 MBTA가 주사된 마우스 보다도 느리게 성장했다. 도 2j는 원발성 종양에 *in situ* 주사한 CT26 종양-보유 마우스의 누적 생존 곡선을 도시한다. 30일까지, 식염수 대조군($n=7$), $CD4^+$ 또는 $CD8^+$ 세포 고갈이 있는 MBTA 주사를 받은 모든 마우스는 사망한 반면, MBTA 처치($n=7$)를 받은 모든 마우스는 생존했다. T-세포 고갈이 없는 MBTA 처치된 마우스의 최소 10%는 처치 후 100일 동안 생존했다. *** $p=0.0002$, ns=유의하지 않음은 Log-rank (Mantel-Cox) 테스트에 의한다.

도 3a 내지 도 3i는 MBTA가 선천성 면역계를 자극하여 원발성 및 원거리 CT26 종양의 대상체-특이적 거부를 유도한다는 것을 보여준다. 도 3a는 MBTA 면역요법 및 종양 면역표현형 실험(I.P.)의 개략적 타임라인을 도시한다. 도 3b는 총 살아있는 종양 해리 세포에서 $CD45^+$ 세포의 백분율을 나타내는 도트 플롯을 도시한다. I.P. 10일 및 I.P. 16일 분석은 MBTA-처리된 마우스가 식염수-처리된 대조군 마우스보다 원발성 종양 내에서 유의하게 더 높은 면역 세포를 가졌다는 것을 입증한다. ** $p < 0.01$ 는 Mann-Whitney U 테스트에 의한다. 데이터는 중앙값(선)을 가지는 개별 데이터 포인트(도트)로 표시된다. 도 3c는 CT26 종양-보유 마우스에서 원발성 종양으로부터 총 살아있는 종양 해리 세포에서 $CD45^+$ 세포의 백분율을 보여주는 도트 플롯을 도시한다. I.P. 10일 및 I.P. 16일 분석은 MBTA-처리된 마우스가 식염수-처리된 대조군 마우스보다 전이성 원거리 종양 내에서 유의하게 더 높은 면역 세포를 갖는다는 것을 입증한다. ** $p < 0.01$ 는 Mann-Whitney U 테스트에 의한다. 데이터는 중앙값(선)을 가지는 개별 데이터 포인트(도트)로 표시된다. 도 3d는 CT26 종양-보유 마우스에서 원발성 종양으로부터 총 살아있는 종양 해리 세포에서 선천성 면역 세포의 백분율을 나타내는 도트 플롯을 도시한다. I.P. 10일 및 I.P. 16일 분석에 상응하는 원발성 종양에서 발견된 선천성 면역 세포가 표시된다 * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ 는 Mann-Whitney U 테스트에 의한다. 데이터는 중앙값(선)을 가지는 개별 데이터 포인트(도트)로 표시된다. 도 3e는 CT26 종양-보유 마우스에서 전이성 원거리 종양으로부터의 총 살아있는 종양 해리 세포에서 MHC II+ 단핵구의 백분율을 나타내는 도트 플롯을 도시한다. I.P. 10일 및 I.P. 16일 분석은 MBTA-처리된 마우스가 식염수-처리된 대조군 마우스보다 원발성 종양 내에서 더 많은 MHC II+ 단핵구를 가졌다는 것을 입증한다. ** $p < 0.01$ 는 Mann-Whitney U 테스트에 의한다. 데이터는 중앙값(선)이 있는 개별 데이터 포인트(도트)로 표시된다. 도 3f는 CT26 종양-보유 마우스에서 전이성 원거리 종양 으로부터의 총 살아있는 종양 해리 세포에서 선천성 면역 세포의 백분율을 나타내는 도트 플롯을 도시한다. I.P. 16일차 분석은 MBTA-처리된 마우스가 식염수-처리된 대조군 보다 전이성 원거리 종양 내에서 더 많은 수지상 세포, 단핵구 및 호중구를 가졌다는 것을 입증한다. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ 는 Mann-Whitney U 테스트에 의한다. 데이터는 중앙값(선)이 있는 개별 데이터 포인트(도트)로 표시된다. 도 3g는 CT26 종양-보유 마우스에서 전이성 원거리 종양으로부터 총 살아있는 종양 해리 세포에서 MHC II+ 단핵구의 백분율을 나타내는 도트 플롯을 도시한다. I.P. 10일 및 I.P. 16일 분석은 MBTA-처리된 마우스(분홍색)가 식염수-처리된 대조군 마우스(검정색)보다 전이성 원거리 종양 내에서 더 많은 MHC II+ 단핵구를 가졌다는 것을 입증한다. ** $p < 0.01$ 는 Mann-Whitney U 테스트에 의한다. 데이터는 중앙값(선)이 있는 개별 데이터 포인트(도트)로 표시된다. 도 3h는 CT26 종양-보유 마우스 에서 원발성 종양으로부터의 총 살아있는 종양 해리 세포에서 대안적으로 활성화된 대식세포의 백분율을 보여주는 도트 플롯을 도시한다. I.P. 10일 및 I.P. 16일 분석은 MBTA-처리된 마우스(분홍색)가 식염수-처리된 대조군 마우스(검정색)보다 원발성 종양 내에서 유의하

게 더 적은 대안적으로 활성화된 대식세포를 가졌다는 것을 입증한다. $**p < 0.01$ 는 Mann-Whitney U 테스트에 의한다. 데이터는 중앙값(선)이 있는 개별 데이터 포인트(도트)로 표시된다. 도 3i는 CT26 종양-보유 마우스에서 전이성 원거리 종양으로부터의 총 살아있는 종양 해리 세포에서 대안적으로 활성화된 대식세포의 백분율을 보여주는 도트 플롯을 도시한다. I.P. 10일 및 I.P. 16일 분석은 MBTA-처리된 마우스가 식염수-처리된 대조군 마우스보다 원거리 종양 내에서 더 적은 대안적으로 활성화된 대식세포를 가졌다는 것을 입증한다. $**p < 0.01$ 는 Mann-Whitney U 테스트에 의한다. 데이터는 중앙값(선)이 있는 개별 데이터 포인트(도트)로 표시된다.

도 4a 내지 도 4f는 MBTA가 적응 면역계를 자극하여 원발성 및 원거리 CT26 종양의 대상체-특이적 거부를 유도한다는 것을 보여준다. 도 4a는 CT26 종양-보유 마우스에서 원발성 종양으로부터의 총 살아있는 종양 해리 세포에서 적응 면역 세포의 백분율을 보여주는 도트 플롯을 도시한다. I.P. 10일 및 I.P. 16일 분석은 MBTA-처리된 마우스가 식염수-처리된 대조군 마우스보다 16일에 원발성 종양 내에서 유의하게 더 많은 $CD8^+$ T-세포 및 B 세포를 가졌다는 것을 입증한다. $*p < 0.05$, $**p < 0.01$ 는 Mann-Whitney U 테스트에 의한다. 데이터는 중앙값(선)이 있는 개별 데이터 포인트(도트)로 표시된다. 도 4b는 CT26 종양-보유 마우스에서 원발성 종양으로부터의 총 살아있는 종양 해리 세포에서 적응 면역 세포의 백분율을 나타내는 도트 플롯을 도시한다. I.P. 10일 및 I.P. 16일 분석은 MBTA-처리된 마우스가 식염수-처리된 대조군 마우스보다 I.P. 16일에 원발성 종양 내에서 유의하게 더 많은 $CD8^+$ T-세포 및 B 세포를 가졌다는 것을 입증한다. 또한 I.P. 10일차에 대조군 마우스보다 MBTA-처리된 마우스의 원거리 종양에서 더 많은 $CD8^+$ 및 더 적은 $CD4^+$ T-세포가 있었다. Mann-Whitney U 테스트에 의한 $*p < 0.05$, $**p < 0.01$. 데이터는 중앙값(선)이 있는 개별 데이터 포인트(도트)로 표시된다. 도 4c는 각각 총 $CD4^+$ 또는 $CD8^+$ T-세포 당 IFN 감마 또는 TNF 알파 양성 $CD4^+$ 또는 $CD8^+$ T-세포의 백분율을 나타내는 도트 플롯을 도시한다. 10일차 및 16일차 분석에 상응하는 채취된 좌측 옆구리 $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T-세포를 생체 외(ex-vivo) PMA/이오노마이신으로 5시간 동안 자극하고 세포 내 IFN γ 및 TNF α 를 유세포 분석에 의해 결정하였다. MBTA-처리된 마우스는 식염수-처리된 마우스보다 유의하게 I.P. 16일차에 더 많은 TNF 알파 $CD8^+$ T-세포 및 I.P. 10일차에 더 많은 IFN 감마 $CD8^+$ T-세포를 가졌다. $*p < 0.05$, $**p < 0.01$ 는 Mann-Whitney U 테스트에 의한다. 데이터는 중앙값(선)이 있는 개별 데이터 포인트(도트)로 표시된다. 도 4d는 CT26 종양-보유 마우스로부터의 원거리 종양에서 총 $CD8^+$ T-세포 당 그란자임 B+ $CD8^+$ T-세포의 백분율을 보여주는 도트 플롯을 도시한다. MBTA-처리된 마우스는 식염수-처리된 마우스보다 I.P. 10일 및 16일에 유의하게 더 많은 그란자임 B+ $CD8^+$ T-세포를 가졌다. 도 4e는 CT26 종양-보유 마우스의 전혈로부터 추출된 AH-1-특이적 $CD8^+$ T-세포의 백분율을 나타내는 도트 플롯을 도시한다. MBTA-처리된 마우스는 식염수-처리된 마우스보다 혈액에서 AH-1-특이적(AH-1/H-2Ld-사량체 반응성) $CD8^+$ T-세포가 유의하게 더 많았다. 데이터는 중앙값이 있는 개별 플롯으로 표시된다. $*p < 0.05$ 는 Mann-Whitney U 테스트에 의한다. 도 4f는 CT26 종양-보유 마우스에서 전이성 원거리 종양으로부터 추출된 AH-1-특이적 $CD8^+$ T-세포의 백분율을 보여주는 도트 플롯을 도시한다. 4마리의 마우스는 식염수 처리군에 있었고 5마리의 마우스는 MBTA 처리군에 있었다. MBTA-처리된 마우스는 식염수-처리된 마우스보다 원거리 종양에서 더 많은 AH-1-특이적(AH-1/H-2Ld-사량체 반응성) $CD8^+$ T-세포를 가졌다. 데이터는 중앙값이 있는 개별 플롯으로 표시된다. $p = 0.06$ 는 Mann-Whitney U 테스트에 의한다.

도 5a 내지 5f는 rCT26-MBTA 백신이 CT26-보유 마우스에서 개선된 종양 성장 제어 및 생존을 가져오는 강력한 대상체-특이적 항종양 면역 반응을 생성한다는 것을 보여준다. 도 5a는 rCT26-MBTA 백신 개발의 그림 개략도를 도시한다. 도 5b는 조사 후 아포토시스성 CT26 세포의 백분율을 나타내는 막대 그래프를 도시한다. CT26 세포는 50 Gy로 조사되었다. 조사 3일 후 조사된 CT26 세포의 >20%가 아포토시스 (PI-/Annexin V+)의 초기 단계에 있었다. 조사 10일 후 조사된 CT26 세포의 >70%가 아포토시스 (PI+/Annexin V+)의 후기 단계에 진입했다. 데이터는 평균 $\pm$ SEM으로 표시된다. 도 5c는 rCT26-MBTA 백신접종의 개략적인 타임라인을 도시한다. 도 5d는 식염수(좌측), rCT26 백신(중앙), 또는 rCT26 백신과 MBTA의 조합(우측)이 주사된 CT26 종양-보유 마우스의 종양 성장 곡선을 도시한다. rCT26 및 MBTA 조합으로 백신 접종된 마우스의 종양은 식염수-처리 또는 rCT26-백신 접종된 마우스의 종양보다 유의하게 느리게 성장했다. 도 5e는 도 5d에서 마우스의 누적 생존 곡선을 도시한다. 30일까지, 모든 식염수-처리 및 rCT26-백신 접종된 마우스는 30일까지 사망한 반면 rCT26 및 MBTA 조합으로 백신 접종된 마우스의 단지 25%만이 사망했다. 백신 접종 후 100일 동안 최소 10%가 생존했다. Tukey-Kramer 사후 테스트를 사용한 Log-rank(Mantel-Cox) 테스트: 식염수 대 rCT26-MBTA 처리($**p = 0.0071$); rCT26 대 rCT26-

MBTA 처치(**p = 0.0034); 식염수 대 rCT26 처치(p = 0.9846). 도 5f는 식염수 처치, rCT26 백신접종 및 rCT26-MBTA 백신접종 받은 CT26 종양-보유 마우스의 전혈로부터 추출된 AH-1-특이적 CD8⁺ T-세포의 백분율을 나타내는 도트 플롯을 도시한다. rCT26-MBTA-처리된 마우스는 식염수 또는 rCT26 처리된 마우스보다 혈액에서 유의하게 더 많은 AH-1-특이적 (AH-1/H-2Ld -사량체 반응성) CD8⁺ T 세포를 가졌다. 데이터는 중앙값이 있는 개별 플롯으로 표시된다. **p < 0.01는 Kruskal-Wallis 테스트에 의한다. 도 5g는 식염수 처치, rCT26 백신접종, 및 rCT26-MBTA 백신접종을 받은 CT26 종양-보유 마우스의 종양으로부터 추출된 AH-1-특이적 CD8⁺ T-세포의 백분율을 나타내는 도트 플롯을 도시한다. rCT26-MBTA 처리된 마우스는 식염수 또는 rCT26 처리된 마우스보다 혈액에서 유의하게 더 많은 AH-1-특이적 (AH-1/H-2Ld -사량체 반응성) CD8⁺ T 세포를 가졌다. 데이터는 중앙값이 있는 개별 플롯으로 표시된다. *p < 0.05는 Kruskal-Wallis 테스트에 의한다. 도 5h는 식염수 및 *in situ* MBTA 처치를 받은 마우스의 평균 체중(g)의 선 플롯을 나타낸다. *In situ* MBTA 처리된 마우스는 처치-전(pre-treatment) 수준과 비교할 때 처치 시작 3일 후 평균 체중의 유의한 급격한 감소를 입증했다. 체중 감소는 처치-후(post-treatment) 7일차에 회복되었다. p=0.004는 Mann-Whitney U 테스트에 의한다. 도 5i는 식염수 및 rCT26-MBTA 처치를 받은 마우스의 평균 체중(g)의 선 플롯을 나타낸다. rCT26-MBTA 처리된 마우스는 식염수-처리된 마우스의 평균 체중과 유의한 차이를 입증하지 않았다.

도 6a 내지 도 6d는 MBTA 처치가 CT26 세포에 대한 대상체-특이적 면역학적 기억을 유도함을 보여준다. 도 6a는 CT26 종양 세포로 챌린지될 때 나이브 마우스(n=4, 좌측) 및 CT26 암종이 치유된 마우스(n=4, 우측)의 종양 성장 곡선을 보여준다. 후자의 마우스는 CT26 종양의 유의한 성장을 나타내지 않았다. 도 6b는 도 6a에서 마우스의 누적 생존 곡선을 보여준다. 종양 접종 후 35일까지 모든 나이브 마우스는 사망한 반면 이전에 CT26 암종이 치료된 모든 마우스는 종양 접종 후 100일 동안 생존했다. **p = 0.0069는 Log-rank(Mantel-Cox) 테스트에 의한다. 도 6c 는 두개내 방식으로(intracranially) 재-챌린지된 마우스의 제시적인 생물발광 이미지를 보여준다. CT26 결장암이 치료된 마우스는 또한 우측 전두엽(브레그마의 입쪽 1mm, 정중앙선의 우측 2mm, 두개골 표면에서 깊이 2mm)에 1 X 10⁴ CT26-Luc 세포로 두개내 방식으로 재-챌린지되었다. MBTA 처치-전(pre-treated)(좌측, n = 4) 및 나이브(우측, n = 4). 도 6d 는 시간 경과에 따른 두개내 방식으로 재-도전된 마우스의 누적 생존 곡선을 보여준다. 종양 접종 후 35일까지 모든 나이브 마우스는 사망한 반면 이전에 CT26 암종이 치료된 모든 마우스는 종양 접종 후 100일 동안 생존했다. 나이브 대 MBTA 전-처리된 마우스: *p = 0.0100는 Log-rank(Mantel-Cox) 테스트에 의한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0026] 본 발명의 바람직한 구현예들이 본원에 도시되고 설명되었지만, 그러한 구현예들은 단지 예시로서 제공된다는 것이 당업자에게 자명할 것이다. 수많은 변형, 변경 및 대체가 본 발명으로부터 벗어나는 것 없이 이제 당업자에게 발생할 것이다. 본원에 기술된 본 발명의 구현예들에 대한 다양한 대안이 본 발명을 실시하는데 이용될 수 있음을 이해해야 한다. 다음 청구범위는 본 발명의 범위를 정의하고 이러한 청구범위 및 그 균등물의 범위 내의 방법 및 구조는 이에 의해 포함되는 것으로 의도된다.
- [0027] 정의
- [0028] 상호교환적으로 사용되는 용어 "세포(cell)", "세포들(cells)" 및 "세포 집단"은 하나 이상의 포유동물 세포를 지칭한다. 이 용어는 세포 또는 세포 집단의 자손을 포함한다. 당업자는 "세포"가 단일 세포의 자손을 포함하고 자연적, 유발적 또는 고의적 돌연변이 및/또는 변화로 인해 자손과 그의 원래 모 세포 사이에 변이가 있음을 인식할 것이다.
- [0029] 본원에 사용된 "암 세포(Cancer cell)"는 예를 들어 비정상적인 세포 성장, 비정상적인 세포 증식, 밀도 의존적 성장 억제의 상실, 고정-비의존적 성장 잠재력(anchorage-independent growth potential), 면역 저하된 비인간 동물 모델에서 종양 성장 및/또는 발달을 촉진하는 능력, 및/또는 세포 형질전환의 임의의 적절한 지표 중 하나 이상을 특징으로 할 수 있는, 종양의 세포 표현형(neoplastic cellular phenotype)을 나타내는 세포를 지칭한다. "암 세포(Cancer cell)"는 본원에서 "종양 세포(tumor cell)" 또는 "암성 세포(cancerous cell)"와 상호교환적으로 사용될 수 있으며, 고형 종양 및 액체 종양의 암세포를 포괄한다.
- [0030] 본원에 사용된 "면역요법"은 면역 반응을 조절함으로써 질병(예를 들어, 암)을 치료하는 것을 지칭한다. 본 출원의 맥락에서, 면역요법은 대상체에서 항종양 면역 반응을 유도하는 개인맞춤형 종양 백신의 투여에 의해 대상체에서 항암 면역 반응을 제공하는 것을 지칭한다.

- [0031] "유효량"은 유익하거나 소망하는 임상 결과에 영향을 미치기에 충분한 양이다. 유효량은 하나 이상의 투여로 투여될 수 있다. 본 출원의 목적을 위해, 시약 항체의 유효량은 질병 상태의 진행을 진단, 완화, 개선, 안정화, 역전, 감속 또는 지연시키기에 충분한 양이다.
- [0032] "TLR"은 임의의 종 기원, 예를 들어 인간 및 설치류의 toll-유사 수용체를 지칭한다. 이들의 TLR의 예는 TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10 및 TLR11을 포함한다.
- [0033] "TLR 작용제"는 적어도 하나의 TLR의 작용제로서 작용하는 분자를 지칭한다.
- [0034] 본원에서 "CD40 작용제"는 CD40 작용제 신호, 예컨대 CD40 작용제 항체(예를 들어, 항-CD40 모노클로날 항체)로서 기능하는 분자를 지칭한다. 이는 또한 CD40L 폴리펩타이드, 이의 단편 또는 접합체를 의미할 수 있다. 일반적으로 CD40에 결합하는 리간드는 CD40 작용제로서 작용할 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 CD40 작용제는 CD40에 결합하는 압타머를 포함할 수 있다.
- [0035] 본원에 사용된 용어 "병원체 관련 분자 패턴(pathogen associated molecular pattern)" 또는 "PAMP"는 표적화된 숙주 세포가 "비-자기", 예를 들어 감염된 병원체를 "자기"와 구별하도록 지시하고, 선천성 면역과 관련된 신호를 촉진하는 미생물의 임의의 성분을 지칭한다.
- [0036] 본원에 사용된 용어 "손상/위험 관련 분자 패턴" 또는 "DAMP"는 손상되지 않은 세포로부터 이러한 손상된 세포를 표적으로 하기 위해 선천성 면역계를 활성화시키는 손상되거나 죽어가는 세포로부터의 임의의 분자를 지칭한다.
- [0037] 본원에 사용된 용어 "고형 종양" 또는 "고형암"은 일반적으로 낭종 또는 액체 영역을 포함하지 않는 종양을 지칭한다. 고형 종양은 뇌 및 기타 중추신경계 종양(뇌수막, 뇌, 척수, 뇌신경 및 중추신경계의 다른 부분, 예를 들어 교모세포종 또는 수모세포종의 종양을 포함하나 이에 제한되지 않음); 두경부암; 유방 종양; 순환계 종양(심장, 종격 및 흉막, 및 기타 흉부 내 기관, 혈관 종양 및 종양 관련 혈관 조직을 포함하나 이에 제한되지 않음); 배설계 종양(신장, 신우, 요관, 방광, 기타 및 상세불명의 비뇨기 기관의 종양을 포함하나 이에 제한되지 않음); 위장관 종양(식도, 위, 소장, 결장, 결장직장, 직장상 결장, 직장, 항문 및 항문관의 종양, 간 및 간내 담관, 담낭, 기타 및 상세불명의 담도, 관, 췌장, 기타 및 소화 기관 부분을 포함하는 종양을 포함하나 이에 제한되지 않음); 구강 종양(입술, 혀, 잇몸, 구강의 바닥, 입천장, 및 구강의 기타 부분, 이하선, 및 타액선의 기타 부분, 편도선, 구인두, 비인두, 이소와, 하인두, 및 입술, 구강 및 인두의 기타 부위의 종양을 포함하지만 이에 국한되지 않음); 생식계 종양(외음, 질, 자궁경부, 자궁체, 자궁, 난소 및 기타 여성 생식기 관련 부위, 태반, 음경, 전립선, 고환 및 남성 생식기와 관련된 기타 부위의 종양을 포함하되 이에 국한되지 않음); 기도 종양(비강 및 중이, 부비동, 후두, 기관, 기관지 및 폐, 예를 들어 소세포 폐암 또는 비-소세포 폐암을 포함하는 종양을 포함하나 이에 제한되지 않음); 골격계 종양(뼈 및 사지의 관절 연골, 뼈 관절 연골 및 기타 부위의 종양을 포함하나 이에 제한되지 않음); 피부 종양(피부의 악성 흑색종, 비흑색종 피부암, 피부의 기저 세포 암종, 피부의 편평 세포 암종, 중피종, 카포시 육종을 포함하나 이에 제한되지 않음); 및 말초 신경 및 자율 신경계, 결합 및 연조직, 후복막 및 복막, 눈 및 부속기, 갑상선, 부신 및 기타 내분비선 및 관련 구조, 림프절의 이차 및 상세불명의 악성 신생물(neoplasm), 호흡기 및 소화기 계통의 이차 악성 신생물 및 기타 부위의 이차 악성 신생물을 포함하는 다른 조직을 수반하는 종양을 포함할 수 있다.
- [0038] 본원에 사용된 용어 "액체 암" 또는 "액체 종양"은 혈액, 림프 및 골수와 같은 체액에 존재하는 암세포를 지칭한다. 액체 암에는 백혈병, 골수종, 골수이형성 증후군(MDS) 및 액체 림프종이 포함된다. 액체 림프종에는 낭종 또는 액체 영역을 포함하는 림프종이 포함된다. 본원에 사용된 액체 암은 육종 및 암종과 같은 고형 종양 또는 낭종 또는 액체 영역을 포함하지 않는 고형 림프종을 포함하지 않는다.
- [0039] 본원에 사용된 "약독화된" 세포는 살아 있지만 복제가 결핍된 세포를 지칭한다. 약독화된 세포는 살아 있지만 세포-주기를 완성할 수 없다. 약독화된 세포는 복제, 단백질 발현 및 일부 수명 주기 단계를 통해 발달하는 제한된 능력을 가질 수 있고, 예를 들어, 약독화된 세포는 특정 수명 주기 단계에서 정지될 수 있으며 해당 단계를 넘어 발달적으로 진행할 수 없다.
- [0040] 본원에 사용된 용어 "약독화된 암세포"는 약독화되고 발암성(oncogenicity)이 감소된 암세포를 지칭한다. 약독화된 암세포는 종양의 원인이 되거나 유발할 수 없다. 약독화된 암세포는 또한 종양을 가진 대상체의 종양 부담을 전이하거나 증가시킬 수 없을 수 있다. 약독화된 암세포는 DNA 손상을 포함할 수 있다. 약독화된 암세포는 물리적, 화학적 처리 등 다양한 방법으로 얻을 수 있다. 약독화된 암세포는 방사선 조사 처리로 수득될 수 있다.

- [0041] 본원에 사용된 용어 "개인맞춤형 종양 백신"은 대상체의 종양에 대한 대상체-특이적 면역 반응을 지시할 수 있는 종양 백신을 지칭한다. 이러한 반응은 특정 대상체의 특정 유형의 종양에 특이적일 수 있다. 본원에 사용된 개인맞춤형 종양 백신은 약독화된 암세포를 포함한다. 개인맞춤형 종양 백신은 대상체의 종양 또는 종양 세포에 대한 적응 면역 반응을 유발할 수 있다.
- [0042] 개인맞춤형 종양 백신 제형 및 조성물
- [0043] 본 발명에서 도입된 면역치료 전략은 대상체-특이적 암 또는 암 세포에 대한 면역 반응을 유도하기 위한 식세포 작용 자극제 및 면역자극 보조제의 사용을 활용한다. 전체 약독화 암 세포 백신의 일부로 전달되는 면역치료 가능성을 갖는 본원에 기재된 개인맞춤형 종양 백신은 종양 성장을 예방하거나 제어할 수 있고 원발성 또는 전이성 종양의 대상체 특이적 하위 집합에서 종양 퇴행을 유도할 수 있는 강력한 적응 면역 반응을 생성한다. 개인맞춤형 종양 백신은 면역 체계를 훈련시켜서 대상체-특이적 암 세포를 발견하고 파괴, 공격, 사멸 또는 억제하는데 사용된다.
- [0044] 일부 예에서, 개인맞춤형 종양 백신은 대상체의 면역계가 대상체-특이적 암 세포를 표적화하도록 지시할 수 있다. 일부 경우에, 개인맞춤형 종양 백신은 대상체의 면역계가 동일한 대상체가 아닌 다른 암세포로부터 대상체-특이적 암세포를 구별하도록 지시할 수 있다. 이러한 백신은 대상체-특이적 암 세포에 특이적인 식세포작용 자극제 또는 자극제들을 사용할 수 있다. 식세포작용 자극제 또는 자극제들은 면역계가 대상체-특이적 암세포를 비-암 세포로부터, 암 세포를 다른 종양으로부터, 또는 암 세포를 다른 대상으로부터 구별하도록 할 수 있다. 면역계가 대상체-특이적 암에 특이적인 식세포작용 자극제 또는 자극제들과 함께 제시 되면, 심지어 암 이 존재하지 않더라도 동일한 대상체-특이성을 공유하는 암 세포를 표적화 하도록 면역 시스템이 활성화될 것이다. 면역 체계의 이러한 활성화는 오래 지속되는 대상체-특이적 면역 기억을 생성할 것이다. 면역계가 미래에 동일하거나 유사한 대상체- 특이성을 가진 암과 만날 때 상기 암 세포에 대한 대상체-특이적 면역 반응을 즉시 활성화할 것이다.
- [0045] 개인맞춤형 종양 백신은 예방적(prophylactic 또는 preventative) 백신이 될 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 치료적(therapeutic 또는 treatment) 백신이 될 수 있다. 일부 구현예에서, 개인맞춤형 종양 백신은 대상체가 암으로 진단되기 전에 이를 필요로 하는 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 개인맞춤형 종양 백신은 대상체가 암으로 진단된 후 이를 필요로 하는 대상체에게 투여될 수 있다.
- [0046] 개인맞춤형 종양 백신은 식세포작용 자극제 또는 여기에 및 이의(herein and thereof) 유도체; 면역자극 보조제 또는 여기에 및 이의 유도체; 및 약독화된 암 세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다.
- [0047] 일부 예에서, 개인맞춤형 종양 백신은 식세포작용 자극제 또는 여기에 및 이의 유도체; 면역자극 보조제 또는 여기에 및 이의 유도체; 및 약 1.0 × 10³ 내지 약 1.0 × 10⁷의 약독화된 암세포를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 개인맞춤형 종양 백신은 만난; 면역자극 보조제 또는 여기에 및 이의 유도체; 및 약독화된 암세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 개인맞춤형 종양 백신은 약 2 mg/용량 내지 약 200 mg/용량의 만난; 면역자극 보조제 또는 여기에 및 이의 유도체; 및 약독화된 암세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 개인맞춤형 종양 백신은 세포막용 생체적합성 앵커(BAM)에 접합된 식세포작용 자극제 또는 여기에 및 이의 유도체; 면역자극 보조제 또는 여기에 및 이의 유도체; 및 약독화된 암 세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 개인맞춤형 종양 백신은 BAM에 접합된 만난; 면역자극 보조제 또는 여기에 및 이의 유도체; 및 약독화된 암 세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 개인맞춤형 종양 백신은 약 0.2 mg/용량 내지 약 20 mg/용량의 BAM에 접합된 만난; 면역자극 보조제 또는 여기에 및 이의 유도체; 및 약독화된 암 세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 개인맞춤형 종양 백신은 여기에 및 이에 기재된 화학식 I을 포함하는 BAM에 접합된 만난; 면역자극 보조제 또는 여기에 및 이의 유도체; 및 약독화된 암 세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다.
- [0048] 일부 예에서, 개인맞춤형 종양 백신은 식세포작용 자극제 또는 여기에 및 이의 유도체; Toll 유사 수용체(TLR) 작용제; 및 약독화된 암 세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 개인맞춤형 종양 백신은 식세포작용 자극제 또는 여기에 및 이의 유도체; R-848, 폴리(I:C), 리포테이코산(LTA), 또는 이들의 조합; 및 약독화된 암세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 개인맞춤형 종양 백신은 식세포작용 자극제 또는 여기에 및 이의 유도체; 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량의 R-848, 폴리(I:C), 리포테이코산(LTA), 또는 이들의 조합; 및 약독화된 암세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 개인맞춤형 종양 백신은 식세포작용 자극제 또는 여기에 및 이의 유도

체; R-848, 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량의 폴리(I:C), 리포테이코산(LTA), 또는 이들의 조합; 및 약독화된 암세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 개인맞춤형 종양 백신은 식세포작용 자극제 또는 여기에 및 이의 유도체; R-848, 폴리(I:C), 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량의 리포테이코산(LTA), 또는 이들의 조합; 및 약독화된 암세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다.

[0049] 일부 예에서, 개인맞춤형 종양 백신은 식세포작용 자극제 또는 여기에 및 이의 유도체; 항-CD40 항체; 및 약독화된 암세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 개인맞춤형 종양 백신은 식세포작용 자극제 또는 여기에 및 이의 유도체; 약 0.04 mg/용량 내지 약 4 mg/용량의 항-CD40 항체; 및 약독화된 암세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다.

[0050] 일부 예에서, 개인맞춤형 종양 백신은 BAM에 부착된 만난, R-848, 폴리(I:C), LTA, 항-CD40 항체 및 방사선 조사된 암세포를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 개인맞춤형 종양 백신은 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량의 BAM에 부착된 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량의 만난, 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량의 R-848, 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량의 폴리(I:C), 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량의 LTA, 약 0.04 mg/용량 내지 약 4 mg/용량의 항-CD40 항체, 및 약 1.0×10^3 내지 약 1.0×10^7 의 조사된 암세포를 포함할 수 있다.

[0051] 식세포작용 자극제

[0052] 여기에 개시된 이의 개인맞춤형 종양 백신은 하나의 식세포작용 자극제를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 식세포작용 자극제는 핵산, 아미노산, 뉴클레오티드, 탄수화물, 지질, 소분자, 이온, 화합물, 여기에 및 이의 임의의 유도체, 또는 여기에 및 이의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 식세포작용 자극제는 암세포에 의해 발현되지 않을 수 있다. 일부 예에서, 식세포작용 자극제는 암세포에 외인성일 수 있다. 일부 예에서, 식세포작용 자극제는 암세포에 특이적일 수 있다. 일부 예에서, 식세포작용 자극제는 암세포에 특이적이지 않을 수 있다.

[0053] 일부 예에서, 식세포작용 자극제는 약독화된 암세포에 연결(link)될 수 있다. 일부 예에서, 식세포작용 자극제는 약독화된 암세포에 부착될 수 있다. 일부 예에서, 식세포작용 자극제는 여기에 개시된 또는 이의 PAMP 또는 DAMP를 포함할 수 있다.

[0054] 식균 작용을 포함한 선천성 면역 반응은 병원체에 대해 진화적으로 보존된 구조의 그룹인 병원체-관련 분자 패턴(PAMP)의 인식에 의존한다. PAMP는 분비 분자, 세포외 분자 또는 세포내 분자를 포함할 수 있다. PAMP는 Toll-유사 수용체(TLR)와 같은 패턴 인식 수용체를 활성화하여 병원체에 대한 항균 및 염증성 반응을 유발할 수 있다. 이러한 반응에는 차등 유전자 발현, 사이토카인, 케모카인 생성 및/또는 식세포작용이 포함된다. 일부 예에서, 다른 유형의 선천성 면역 반응-자극제가 정상 세포에서 발견되지 않는 스트레스, 손상, 감염 또는 형질전환된 세포와 관련된 DAMP(Danger-Associated Molecular Patterns), 분자 패턴, 구조 또는 개체를 포함한다. 식세포작용 자극제는 면역계에 의해 인식될 때 식세포작용 자극제 또는 식세포작용 자극제에 연결된 임의의 분자 또는 세포에 대한 식균 작용 반응을 유발하는 PAMP 또는 DAMP 분자를 포함할 수 있다.

[0055] 식세포작용 자극제는 바이러스, 그람 양성 박테리아, 그람 음성 박테리아, 진균, 원생동물, 원생동물, 선충류, 식물 세포, 동물 세포, 여기에 및 이의 임의의 유도체, 또는 여기에 및 이의 임의의 조합에서 기원을 가질 수 있다. 식세포작용 자극제는 또한 유기 합성과 같은 시험관 내에서 합성될 수 있지만 이에 제한되지는 않는다. 식세포작용 자극제는 세포내, 세포외, 리소좀, 엔도솜, 핵, 세포질, 미토콘드리아, ER-결합, 골지-결합, 막-연관 또는 통합 막 성분일 수 있다. 일부 경우에, 식세포작용 자극제는 또한 트리아실 리포펩티드, 디아실 리포펩티드, 리포테이코산, 지질단백질, 펩티도글리칸, 리포아라비노만난, 포린, 외피 당단백질, GPI-류신, 포스포리포만난, 자이모산, 베타-글리칸 이중-가닥(ds) RNA, 이중 가닥 DNA, 단일 가닥(ss) RNA, 단일 가닥 DNA, 지질다당류, 아라비노갈락탄, 글리코이노시톨인지질, 열충격 단백질(HSP), 플라젤린, CpG DNA, 메틸화된 DNA, 5'-삼인산 RNA, 디아미노피멜산, 트리아실 리포펩티드, 무라밀 디펩티드(MDP), 표면 당단백질(GP), 막성분, 리포테이코산(LTA), 포스포릴콜린(PC), PE, PI, 마이콜산, 아데노신삼인산(ATP), 아데노신이인산(ADP) 아데노신일인산(AMP), 구아노신 삼인산(GTP), 우리딘 삼인산(UTP), 티미딘 삼인산(TTP), 시티딘 삼인산(CTP), GDP, UDP, TDP, CDP, GMP, UMP, CMP, 요산 결정, 포스파티디노시톨 만노사이드(PIM), 내독소, 벽 테이코산(WTA), LTA, N-포르밀메티오닌, 탄수화물, 글루칸, 키틴, 하마글루티닌, F-단백질, 페놀 가용성 모듈린, 헤모조인, 여기에 및 이들의 임의의 유도체, 또는 여기에 및 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. dsDNA는 길거나 짧을 수 있다. CpG DNA는 메틸화된 또는 메틸화되지 않은 CpG DNA를 포함할 수 있다. 아라비노갈락탄은 D-아라비노스 또는 D-갈락토스를 포함할 수 있다. 식세포작용 자극제는 글루칸 또는 만난을 포함할 수 있다. 본원에 제공된 바와 같이,

식세포작용 자극제는 만난 또는 이의 유도체를 포함할 수 있다.

[0056]

만난

[0057]

만난은 종종 효모 세포벽에서 발견된다. 이는 알파(1-6) 연결에 의해 연결된 일련의 만노스 단위를 포함할 수 있다. 만난은 또한 알파(1-2) 및 알파(1-3) 분지형 연결을 가질 수 있다. 만난의 검출은 만난-바인딩 렉틴(MBL) 경로에서 세포 용해 또는 식균 작용을 유도한다. 만난은 식물, 조류, 곰팡이 또는 박테리아에서도 찾을 수 있다. 이들은 GDP-만노오스, GDP-글루코오스, UDP-갈락토오스와 같은 활성화된 뉴클레오타이드 당으로부터 합성된다. 골지에 국한된 글리코실전달효소(Glycosyltransferases)는 활성화된 뉴클레오타이드 당을 활용하여 만노스 단량체 간의 연결을 촉진하여 중합체를 합성한다.

[0058]

만난은 당단백질의 다당류 부분을 포함할 수 있다. 만난은 연결된 만노스 잔기 또는 분자의 선형, 분지형 또는 선형 및 분지형 중합체를 포함할 수 있다. 일부 경우에 만난은 베타(1-4) 연결을 가질 수 있다.

[0059]

만난은 세포질 또는 세포 외일 수 있다. 만난은 666.6g/mol의 분자량을 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 만난은 14개의 수소 결합 공여체 및 21개의 수용체를 가질 수 있다. 다른 경우에, 만난은 10개의 회전 가능한 결합을 가질 수 있다. 일부 예에서 만난은 666.221858g/mol의 단일 동위원소 질량을 가질 수 있다. 다른 경우에, 만난은 $348 \text{ \AA}^2$ 의 토폴로지 극성 표면적을 가질 수 있다. 일부 경우에 만난은 45개의 무거운 원자와 0개의 형식 전하를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 만난은 (2S,3S,4S,5S,6R)-2-[(2R,3S,4R,5R,6S)-6-[(2R,3S,4R,5S,6S)-4,5-디히드록시-2-(히드록시메틸)-6-[(2R,3R,4R,5S,6R)-4,5,6-트리히드록시-2-(히드록시메틸)옥산-3-일]옥시옥산-3-일]옥시-4,5-디히드록시-2-(히드록시메틸)옥산-3-일]옥시-6-(히드록시메틸)옥산-3,4,5-트리올일수 있다. 일부 경우에 만난은 $C_{24}H_{42}O_{21}$ 일 수 있다.

[0060]

만난은 알파(1-2) 및 알파(1-3) 연결된 측쇄를 가지는 알파(1-6) 연결된 만노스의 백본을 포함할 수 있다. 측쇄는 길이가 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 그 이상의 당 단위를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 측쇄는 만난-올리고당(MOS)을 포함할 수 있다. 만노스는 D-만노스 또는 L-만노스일 수 있다. 만노스는 $C_6H_{12}O_6$ 의 분자식을 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 만노스는 180.16 g/mol의 분자량을 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 만노스는 D-만노-헥소피라노스를 포함할 수 있다. 만노스는 또한 (3S,4S,5S,6R)-6-(히드록시메틸)옥산-2,3,4,5-테트롤일 수 있다. 만노오스는 6원 피라노오스 형태와 5원 푸라노오스 형태의 2개의 상이한 크기의 고리를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 고리는 아노머 위치에서 알파 또는 베타 배열을 가질 수 있다.

[0061]

만난은 효모에 의해 합성될 수 있다. 만난-생산 효모는 *Hansenula holstii*, *Rhodotorula acheniorum*, *Sporobolomyces salmonicolor*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Meyerozyma guilliermondii*, *Brewers* 건조 효모 또는 *Candida utilis*를 포함할 수 있다. 만난은 식물에 의해 합성될 수 있다. 만난-생산 식물은 *Ebenaceae*과, *Arabidopsis thaliana*, the *Leguminosae*과, *Caesalpinia spinosa* Kuntze, *Annonaceae*과, *Amorphophallus konjac*, *Ceratonia siliqua*, *Convolvulaceae*과, *Cyamopsis tetragonoloba*, *Loganiaceae*과, *Senna tora*, *Trigonella foenum-graecum* L., *Palmae*과, *Picea abies*, *Cercis siliquastrum*, 또는 *Nicotiana plumbaginifolia*를 포함할 수 있다. 다른 만난-생산 유기체는 *Porphyra umbilicalis*, *Acetabularia acetabulum*, *Charophyceae*, *Dactylium dendroides*, *Pseudocypbellaria clathrata*, *Pseudomonas mutabilis*, *Pseudomonas syringae* pv. *ciccaronei*, *Edwardsiella tarda*, *Pseudomonas aeruginosa*, 또는 *Brevibacillus thermoruber*를 포함할 수 있다.

[0062]

BAM(막용 생체적합성 앵커, Biocompatible Anchors for Membrane)

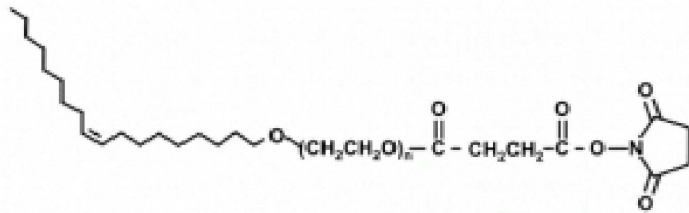
[0063]

식세포작용 자극제는 식세포작용 자극제를 링커에 의해 약독화된 암세포에 연결하는 링커를 포함할 수 있다. 링커는 화학적 연결(linkage), 물리적 연결(linkage), 연합(association), 부착(attachment), 연결(connection), 접합(junction), 배치(placement), 융합, 상호작용, 결찰(ligation), 화학적 결합(bond), 물리적 결합(bond), 가교, 조인트, 커플링, 클램핑, 타이(tie), 또는 여기에 및 이들의 임의의 유도체, 또는 여기에 및 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 링커는 화학적 또는 물리적 링커를 포함할 수 있다. 화학적 링커는 멤브레인(혹은 '막') 링커를 포함할 수 있다. 막 링커는 미리스테이트, 팔미테이트, 파르네실, 게라닐게라닐, 올레에이트, 이소프레노이드, 지방산, 디아실글리세롤, 장쇄 아실기, 장쇄 프레닐기, 콜레스테롤, 스테아릴, 포스파티딜-에탄올아민(PE), 포스파티딜이노시톨(PI), 글리코실 포스파티딜 이노시톨(GPI) 앵커, 킬레이터 지질 앵커, 폴리펩타이드, 여기에 및 이들의 유도체, 또는 여기에 및 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 킬레이터 지질 앵커는 니트릴로트리아세트산 디테트라데실아민(NTA-DTDA)을 포함할 수 있다.

[0064] 링커는 또한 BAM(Biocompatible Anchors for Membrane)을 포함할 수 있다. BAM은 지질 앵커를 포함할 수 있다. 지질 앵커는 여기에 및 이의 임의의 지질 앵커를 포함할 수 있다. BAM은 지질 앵커 및 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 사슬을 포함할 수 있다. BAM은 화학 물질, 분자, 폴리펩티드, 핵산, 지질, 탄수화물, 여기에 및 이의 임의의 모이어티, 여기에 및 이들의 유도체, 여기에 및 이들의 임의의 조합을 세포에 연결하는데 사용될 수 있다.

[0065] 일부 경우에, BAM은 NHS 반응성 에스테르기를 포함할 수 있다. 다른 경우에, PEG 사슬은 친수성일 수 있다. 일부 구현예에서, BAM은 PEG 사슬의 히드록실 말단에 숙시닐화된 폴리(에틸렌 글리콜) 올레일 에테르를 포함할 수 있다. 다른 경우에, BAM은 숙시닐 PEG 말단에 N-하이드록시숙신이미드(NHS)를 포함할 수 있다. 어떤 경우에는 NHS 말단을 포함하는 BAM은 대부분의 단백질에 결합할 수 있다. 어떤 경우에는 BAM이 올레일-O-폴리(에틸렌 글리콜)-숙시닐-N-하이드록시-숙신이미드 에스테르를 포함할 수 있다. 일부 경우에, BAM은 화학식 I(올레일-O(CH₂CH₂)_nCO-CH₂CH₂-COO-NHS)을 포함할 수 있다:

[0066] 화학식 I:



[0067]

[0068] 여기서 n은 PEG 모이어티에서 반복되는 에틸렌 옥사이드(EO) 단위의 수를 포함할 수 있다.

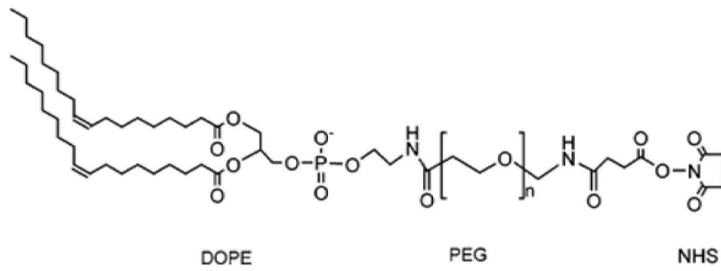
[0069] 일부 구현예에서, n은 1 내지 500일 수 있다. 일부 경우에, PEG 모이어티에서 EO 단위의 반복 수는 0 내지 9, 1 내지 10, 2 내지 11, 3 내지 12, 4 내지 13, 5 내지 14, 6 내지 15, 7 내지 16, 8 내지 17, 9 내지 18, 10 내지 19, 11 내지 20, 12 내지 21, 13 내지 22, 14 내지 23, 15 내지 24, 16 내지 25, 17 내지 26, 18 내지 27, 19 내지 28, 20 내지 29, 21 내지 30, 22 내지 31, 23 내지 32, 24 내지 33, 25 내지 34, 26 내지 35, 27 내지 36, 28 내지 37, 29 내지 38, 30 내지 39, 31 내지 40, 32 내지 41, 33 내지 42, 34 내지 43, 35 내지 44, 36 내지 45, 37 내지 46, 38 내지 47, 39 내지 48, 40 내지 49, 41 내지 50, 42 내지 51, 43 내지 52, 44 내지 53, 45 내지 54, 46 내지 55, 47 내지 56, 48 내지 57, 49 내지 58, 50 내지 59, 51 내지 60, 52 내지 61, 53 내지 62, 54 내지 63, 55 내지 64, 56 내지 65, 57 내지 66, 58 내지 67, 59 내지 68, 60 내지 69, 61 내지 70, 62 내지 71, 63 내지 72, 64 내지 73, 65 내지 74, 66 내지 75, 67 내지 76, 68 내지 77, 69 내지 78, 70 내지 79, 71 내지 80, 72 내지 81, 73 내지 82, 74 내지 83, 75 내지 84, 76 내지 85, 77 내지 86, 78 내지 87, 79 내지 88, 80 내지 89, 81 내지 90, 82 내지 91, 83 내지 92, 84 내지 93, 85 내지 94, 86 내지 95, 87 내지 96, 88 내지 97, 89 내지 98, 90 내지 99, 91 내지 100, 92 내지 101, 93 내지 102, 94 내지 103, 95 내지 104, 96 내지 105, 97 내지 106, 98 내지 107, 99 내지 108, 100 내지 109, 101 내지 110, 102 내지 111, 103 내지 112, 104 내지 113, 105 내지 114, 106 내지 115, 107 내지 116, 108 내지 117, 109 내지 118, 110 내지 119, 111 내지 120, 112 내지 121, 113 내지 122, 114 내지 123, 115 내지 124, 116 내지 125, 117 내지 126, 118 내지 127, 119 내지 128, 120 내지 129, 121 내지 130, 122 내지 131, 123 내지 132, 124 내지 133, 125 내지 134, 126 내지 135, 127 내지 136, 128 내지 137, 129 내지 138, 130 내지 139, 131 내지 140, 132 내지 141, 133 내지 142, 134 내지 143, 135 내지 144, 136 내지 145, 137 내지 146, 138 내지 147, 139 내지 148, 140 내지 149, 141 내지 150, 142 내지 151, 143 내지 152, 144 내지 153, 145 내지 154, 146 내지 155, 147 내지 156, 148 내지 157, 149 내지 158, 150 내지 159, 151 내지 160, 152 내지 161, 153 내지 162, 154 내지 163, 155 내지 164, 156 내지 165, 157 내지 166, 158 내지 167, 159 내지 168, 160 내지 169, 161 내지 170, 162 내지 171, 163 내지 172, 164 내지 173, 165 내지 174, 166 내지 175, 167 내지 176, 168 내지 177, 169 내지 178, 170 내지 179, 171 내지 180, 172 내지 181, 173 내지 182, 174 내지 183, 175 내지 184, 176 내지 185, 177 내지 186, 178 내지 187, 179 내지 188, 180 내지 189, 181 내지 190, 182 내지 191, 183 내지 192, 184 내지 193, 185 내지 194, 186 내지 195, 187 내지 196, 188 내지 197, 189 내지 198, 190 내지 199, 191 내지 200, 192 내지 201, 193 내지 202, 194 내지 203, 195 내지 204, 196 내지 205, 197 내지 206, 198 내지 207, 199 내지 208, 200 내지 209, 201 내지 210, 202 내지 211, 203 내지 212, 204 내지 213, 205 내지 214, 206 내지 215, 207 내지 216, 208 내지 217, 209 내지 218, 210 내지 219, 211 내지 220, 212 내지 221, 213 내지 222, 214 내지 223, 215 내지 224, 216 내지 225, 217 내지 226, 218 내지 227, 219 내지 228, 220 내지 229, 221 내지 230, 222 내지 231, 223 내지 232, 224 내지 233, 225 내지 234, 226 내지 235, 227 내지

236, 228 내지 237, 229 내지 238, 230 내지 239, 231 내지 240, 232 내지 241, 233 내지 242, 234 내지 243, 235 내지 244, 236 내지 245, 237 내지 246, 238 내지 247, 239 내지 248, 240 내지 249, 241 내지 250, 242 내지 251, 243 내지 252, 244 내지 253, 245 내지 254, 246 내지 255, 247 내지 256, 248 내지 257, 249 내지 258, 250 내지 259, 251 내지 260, 252 내지 261, 253 내지 262, 254 내지 263, 255 내지 264, 256 내지 265, 257 내지 266, 258 내지 267, 259 내지 268, 260 내지 269, 261 내지 270, 262 내지 271, 263 내지 272, 264 내지 273, 265 내지 274, 266 내지 275, 267 내지 276, 268 내지 277, 269 내지 278, 270 내지 279, 271 내지 280, 272 내지 281, 273 내지 282, 274 내지 283, 275 내지 284, 276 내지 285, 277 내지 286, 278 내지 287, 279 내지 288, 280 내지 289, 281 내지 290, 282 내지 291, 283 내지 292, 284 내지 293, 285 내지 294, 286 내지 295, 287 내지 296, 288 내지 297, 289 내지 298, 290 내지 299, 291 내지 300, 292 내지 301, 293 내지 302, 294 내지 303, 295 내지 304, 296 내지 305, 297 내지 306, 298 내지 307, 299 내지 308, 300 내지 309, 301 내지 310, 302 내지 311, 303 내지 312, 304 내지 313, 305 내지 314, 306 내지 315, 307 내지 316, 308 내지 317, 309 내지 318, 310 내지 319, 311 내지 320, 312 내지 321, 313 내지 322, 314 내지 323, 315 내지 324, 316 내지 325, 317 내지 326, 318 내지 327, 319 내지 328, 320 내지 329, 321 내지 330, 322 내지 331, 323 내지 332, 324 내지 333, 325 내지 334, 326 내지 335, 327 내지 336, 328 내지 337, 329 내지 338, 330 내지 339, 331 내지 340, 332 내지 341, 333 내지 342, 334 내지 343, 335 내지 344, 336 내지 345, 337 내지 346, 338 내지 347, 339 내지 348, 340 내지 349, 341 내지 350, 342 내지 351, 343 내지 352, 344 내지 353, 345 내지 354, 346 내지 355, 347 내지 356, 348 내지 357, 349 내지 358, 350 내지 359, 351 내지 360, 352 내지 361, 353 내지 362, 354 내지 363, 355 내지 364, 356 내지 365, 357 내지 366, 358 내지 367, 359 내지 368, 360 내지 369, 361 내지 370, 362 내지 371, 363 내지 372, 364 내지 373, 365 내지 374, 366 내지 375, 367 내지 376, 368 내지 377, 369 내지 378, 370 내지 379, 371 내지 380, 372 내지 381, 373 내지 382, 374 내지 383, 375 내지 384, 376 내지 385, 377 내지 386, 378 내지 387, 379 내지 388, 380 내지 389, 381 내지 390, 382 내지 391, 383 내지 392, 384 내지 393, 385 내지 394, 386 내지 395, 387 내지 396, 388 내지 397, 389 내지 398, 390 내지 399, 391 내지 400, 392 내지 401, 393 내지 402, 394 내지 403, 395 내지 404, 396 내지 405, 397 내지 406, 398 내지 407, 399 내지 408, 400 내지 409, 401 내지 410, 402 내지 411, 403 내지 412, 404 내지 413, 405 내지 414, 406 내지 415, 407 내지 416, 408 내지 417, 409 내지 418, 410 내지 419, 411 내지 420, 412 내지 421, 413 내지 422, 414 내지 423, 415 내지 424, 416 내지 425, 417 내지 426, 418 내지 427, 419 내지 428, 420 내지 429, 421 내지 430, 422 내지 431, 423 내지 432, 424 내지 433, 425 내지 434, 426 내지 435, 427 내지 436, 428 내지 437, 429 내지 438, 430 내지 439, 431 내지 440, 432 내지 441, 433 내지 442, 434 내지 443, 435 내지 444, 436 내지 445, 437 내지 446, 438 내지 447, 439 내지 448, 440 내지 449, 441 내지 450, 442 내지 451, 443 내지 452, 444 내지 453, 445 내지 454, 446 내지 455, 447 내지 456, 448 내지 457, 449 내지 458, 450 내지 459, 451 내지 460, 452 내지 461, 453 내지 462, 454 내지 463, 455 내지 464, 456 내지 465, 457 내지 466, 458 내지 467, 459 내지 468, 460 내지 469, 461 내지 470, 462 내지 471, 463 내지 472, 464 내지 473, 465 내지 474, 466 내지 475, 467 내지 476, 468 내지 477, 469 내지 478, 470 내지 479, 471 내지 480, 472 내지 481, 473 내지 482, 474 내지 483, 475 내지 484, 476 내지 485, 477 내지 486, 478 내지 487, 479 내지 488, 480 내지 489, 481 내지 490, 482 내지 491, 483 내지 492, 484 내지 493, 485 내지 494, 486 내지 495, 487 내지 496, 488 내지 497, 489 내지 498, 490 내지 499, 또는 491 내지 500일 수 있다. 일부 구현예에서, PEG 모이어티에서 EO 단위의 반복 수는 40일 수 있다. 일부 구현예에서, PEG 모이어티에서 EO 단위의 반복 수는 80일 수 있다. 일부 구현예에서, PEG 모이어티에서 EO 단위의 반복 수는 110일 수 있다.

[0070] BAM은 단일 지질 앵커를 포함할 수 있다. BAM은 하나 이상의 지질 앵커를 포함할 수 있다. 일부 경우에, BAM은 2개의 지질 앵커를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, BAM은 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개의 지질 앵커를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 지질 앵커는 미리스테이트, 팔미테이트, 파르네실, 게라닐게라닐, 올레에이트, 이소프레노이드, 지방산, 디아실글리세롤, 장쇄 아실기, 장쇄 프레닐기, 콜레스테롤, 스테아릴, 포스파티딜-에탄올아민(PE), 포스파티딜이노시톨(PI), 글리코실 포스파티딜 이노시톨(GPI) 앵커, 킬레이터 지질 앵커, 폴리펩티드, 여기에 및 이들의 유도체, 또는 여기에 및 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 킬레이터 지질 앵커는 니트릴로트리아세트산 디테트라테실아민(NTA-DTDA)을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 지질 앵커는 메톡시-폴리(에틸렌 글리콜)-숙시닐-N-히드록시-숙신이미드 에스테르를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 지질 앵커는 올레일 사슬을 포함할 수 있다. 다른 경우에, 지질 앵커는 디올레일포스파티딜에탄올아민(DOPE)을 포함할 수 있다. DOPE-PEG Bam은 PEG의 하이드록실 말단에서 폐길화 및 숙시닐화될 수 있으며 숙시닐 PEG 말단에서 N-하이드록시숙신이미드(NHS)로 변형될 수 있다.

[0071] 일부 경우에, BAM은 화학식 II 를 포함할 수 있다.

[0072] 화학식 II:



[0073]

[0074] 여기서 n은 PEG 모이어티에서 에틸렌 옥사이드(EO) 단위의 반복 수를 포함할 수 있다.

[0075] 일부 구현예에서, BAM은 수용액에서 100 M, 10 M, 1 M, 1×10^{-1} M, 1×10^{-2} M, 1×10^{-3} M, 1×10^{-4} M, 1×10^{-5} M, 1×10^{-6} M, 1×10^{-7} M, 1×10^{-8} M, 1×10^{-9} M, 1×10^{-10} M, 1×10^{-11} M, 1×10^{-12} M, 1×10^{-13} M, 1×10^{-14} M, 1×10^{-15} M, 1×10^{-16} M, 1×10^{-17} M, 1×10^{-18} M, 1×10^{-19} M, 1×10^{-20} M, 1×10^{-21} M, 1×10^{-22} M, 1×10^{-23} M, 1×10^{-24} M, 1×10^{-25} M, 1×10^{-26} M, 1×10^{-27} M, 1×10^{-28} M, 1×10^{-29} M, 또는 1×10^{-30} M의 농도를 가질 수 있다. 다른 경우에, BAM은 수용액에서 9.9×10^{-31} M 내지 1×10^{-29} M, 9.9×10^{-30} M 내지 1×10^{-28} M, 9.9×10^{-29} M 내지 1×10^{-27} M, 9.9×10^{-28} M 내지 1×10^{-26} M, 9.9×10^{-27} M 내지 1×10^{-25} M, 9.9×10^{-26} M 내지 1×10^{-24} M, 9.9×10^{-25} M 내지 1×10^{-23} M, 9.9×10^{-24} M 내지 1×10^{-22} M, 9.9×10^{-23} M 내지 1×10^{-21} M, 9.9×10^{-22} M 내지 1×10^{-20} M, 9.9×10^{-21} M 내지 1×10^{-19} M, 9.9×10^{-20} M 내지 1×10^{-18} M, 9.9×10^{-19} M 내지 1×10^{-17} M, 9.9×10^{-18} M 내지 1×10^{-16} M, 9.9×10^{-17} M 내지 1×10^{-15} M, 9.9×10^{-16} M 내지 1×10^{-14} M, 9.9×10^{-15} M 내지 1×10^{-13} M, 9.9×10^{-14} M 내지 1×10^{-12} M, 9.9×10^{-13} M 내지 1×10^{-11} M, 9.9×10^{-12} M 내지 1×10^{-10} M, 9.9×10^{-11} M 내지 1×10^{-9} M, 9.9×10^{-10} M 내지 1×10^{-8} M, 9.9×10^{-9} M 내지 1×10^{-7} M, 9.9×10^{-8} M 내지 1×10^{-6} M, 9.9×10^{-7} M 내지 1×10^{-5} M, 9.9×10^{-6} M 내지 1×10^{-4} M, 9.9×10^{-5} M 내지 1×10^{-3} M, 9.9×10^{-4} M 내지 1×10^{-2} M, 9.9×10^{-3} M 내지 1×10^{-1} M, 9.9×10^{-2} M 내지 1×10^0 M, 9.9×10^{-1} M 내지 1×10^1 M, or 9.9×10^0 M 내지 1×10^2 M의 농도를 가질 수 있다.

[0076] BAM은 비오틴, 플루오레세인, 폴리펩타이드, 화학물질, 소분자, 핵산, 약물 화합물, 다당류, 여기에 및 이들의 임의의 유도체, 또는 여기에 및 이들의 임의의 조합에 접합될 수 있다. 다당류는 글리코시드 연결에 의해 함께 결합된 단당류 또는 올리고당류 단위를 포함할 수 있다. 일부 경우에 BAM은 만난에 접합될 수 있다. 이것은 BAM의 NHS 그룹을 pH 7-9에서 다른 분자의 1차 아민과 반응시켜 아마이드 결합을 형성함으로써 달성할 수 있다. 만난을 BAM에 접합시키는 경우, 아민화된 만난은 환원성 아민화에 의해 제조된다. 암모늄 아세테이트(300mg/ml) 환경에서 만난 용액은 5일 동안 pH 7.5 및 50 °C에서 0.2M 소듐 시아노보로하이드라이드에 의해 환원된다. 용액은 4° C에서 PBS에 대해 MWCO 3500 투석 튜빙(Serva, Heidelberg, Germany)을 사용하여 추가로 밤새 투석된다. 만난의 아미노기에 대한 BAM의 결합은 Kato et al., 2004에 따라 pH 7.3에서 수행된다. 실온에서 1시간 동안 BAM의 N-하이드록시숙신이미드(NHS) 그룹은 만난의 아미노 그룹과 반응한다. 위와 같이 투석 후 수득된 용액은 사용시까지 -20 °C에서 냉동 보관한다.

[0077] 개인맞춤형 종양 백신은 1×10^0 M, 2×10^0 M, 3×10^0 M, 4×10^0 M, 5×10^0 M, 6×10^0 M, 7×10^0 M, 8×10^0 M, 9×10^0 M, 1×10^{-1} M, 2×10^{-1} M, 3×10^{-1} M, 4×10^{-1} M, 5×10^{-1} M, 6×10^{-1} M, 7×10^{-1} M, 8×10^{-1} M, 9×10^{-1} M, 1×10^{-2} M, 2×10^{-2} M, 3×10^{-2} M, 4×10^{-2} M, 5×10^{-2} M, 6×10^{-2} M, 7×10^{-2} M, 8×10^{-2} M, 9×10^{-2} M, 1×10^{-3} M, 2×10^{-3} M, 3×10^{-3} M, 4×10^{-3} M, 5×10^{-3} M, 6×10^{-3} M, 7×10^{-3} M, 8×10^{-3} M, 9×10^{-3} M, 1×10^{-4} M, 2×10^{-4} M, 3×10^{-4} M, 4×10^{-4} M, 5×10^{-4} M, 6×10^{-4} M, 7×10^{-4} M, 8×10^{-4} M, 9×10^{-4} M, 1×10^{-5} M, 2×10^{-5} M, 3×10^{-5} M, 4×10^{-5} M, 5×10^{-5} M, 6×10^{-5} M, 7×10^{-5} M, 8×10^{-5} M, 9×10^{-5} M, 1×10^{-6} M, 2×10^{-6} M, 3×10^{-6} M, 4×10^{-6} M, 5×10^{-6} M, 6×10^{-6} M, 7×10^{-6} M, 8×10^{-6} M, 또는 9×10^{-6} M 만난-BAM을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 개인맞춤형 종양 백신은 5×10^0 M 내지 1×10^1 M, 1×10^0 M 내지 5×10^0 M, 5×10^{-1} M 내지 1×10^0 M, 1×10^{-1} M 내지 5×10^{-1} M, 5×10^{-2} M 내지 1×10^{-1} M, 1×10^{-2} M 내지 5×10^{-2} M, 5×10^{-3} M 내지 1×10^{-2} M, 1×10^{-3} M 내지 5×10^{-3} M, 5×10^{-4} M 내지 1×10^{-3} M, 1×10^{-4} M 내지 5×10^{-4} M, 5×10^{-5} M 내지 1×10^{-4} M, 1×10^{-5} M 내지 5×10^{-5} M, 5×10^{-6} M 내지 1×10^{-5} M, 1×10^{-6} M 내지 5×10^{-6} M, 또는 5×10^{-7} M 내지 1×10^{-7} M 만난-BAM을 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은

또한 약 0.2mM 만난-BAM을 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 또한 약 0.95 mg 만난을 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 또한 약 0.098 mg BAM을 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 약 23.1mg/일 만난을 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 또한 약 2.38 mg/일 만난을 포함할 수 있다.

[0078] 면역자극 보조제

[0079] 면역자극 보조제는 약독화된 암세포에 연결된 식세포작용 자극제와 조합하여 사용될 때 식세포작용 자극제-특이적 면역 반응을 가속화, 연장 또는 향상시키는 작용을 하는 임의의 물질을 포함할 수 있다. 일부 예에서, 면역자극 보조제는 또한 약독화된 암세포에 연결된 식세포작용 자극제에 대한 면역 반응을 강화, 활성화, 프라이밍, 자극 또는 증가시킬 수 있다.

[0080] 개인맞춤형 종양 백신은 하나의 면역자극 보조제를 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 하나 이상의 면역자극 보조제를 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 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, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 99, 93, 96, 98, 99, 100, 또는 100개 이상의 면역자극 보조제를 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 1 내지 10, 5 내지 15, 10 내지 20, 15 내지 25, 20 내지 30, 25 내지 35, 30 내지 40, 35 내지 45, 40 내지 50, 45 내지 55, 50 내지 60, 55 내지 65, 60 내지 70, 65 내지 75, 70 내지 80, 75 내지 85, 80 내지 90, 85 내지 95, 90 내지 100개의 면역자극 보조제를 포함할 수 있다. 일부 경우에는 개인맞춤형 종양 백신은 2개의 면역자극 보조제를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 개인맞춤형 종양 백신은 3개의 면역자극 보조제를 포함할 수 있다. 일부 경우에는 개인맞춤형 종양 백신은 4개의 면역자극 보조제를 포함할 수 있다.

[0081] 면역자극 보조제는 식세포작용 자극제를 모방함으로써 면역계에 관여할 수 있기 때문에, 식세포작용 자극제 및 면역자극 보조제는 면역계에서 수용체의 중첩 세트를 통해 활성화하거나 신호를 보낼 수 있다. 일부 경우에, 면역자극 보조제는 PAMP 또는 DAMP를 포함할 수 있다. 다른 경우에, 면역자극 보조제는 유기 또는 무기 면역자극 보조제를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 면역자극 보조제는 TLR 작용제에 의해 Toll-유사 수용체(TLR)를 활성화할 수 있다. 다른 예에서, 면역자극 보조제는 항-CD40 항체에 의해 CD40 수용체를 활성화할 수 있다.

[0082] 면역자극 보조제는 임의의 PAMP, DAMP, TLR 작용제, CD40 작용제, 여기에 및 이의 임의의 유도체, 또는 여기에 및 이의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 예에서, 면역자극 보조제는 또한 임의의 PAMP, DAMP, TLR 작용제, CD40 작용제, 여기에 및 이들의 임의의 유도체, 또는 여기에 및 이들의 임의의 조합을 코딩하는 임의의 핵산을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 면역자극 보조제는 또한 임의의 PAMP, DAMP, TLR 작용제, CD40 작용제, 여기에 및 이들의 임의의 유도체, 또는 여기에 및 이들의 임의의 조합의 생성을 증가, 자극, 활성화 또는 개시할 수 있는 단백질을 코딩하는 임의의 핵산을 포함할 수 있다. 일부 예에서, 면역자극 보조제는 LTA, 폴리(I:C), R-848, 항-CD40 항체, 여기에 및 이들의 임의의 유도체, 여기에 및 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다.

[0083] Toll-유사 수용체(TLR)

[0084] 선천성 면역 반응 경로는 PAMP 또는 DAMP를 인식하는 세포 성분을 포함한다. 이러한 세포 성분은 Toll 경로 및 세포질 경로를 포함할 수 있다. 선천성 면역의 세포 성분은 항원-제시 수지상 세포(DC), 식세포성 대식세포 및 과립구, 세포독성 자연 살해(NK) 세포, 및 감마-델타 T 림프구를 포함할 수 있다. 이 세포는 Toll 경로와 세포질을 모두 사용하여 PAMP 또는 DAMP를 인식하여 보체 활성화, 식균 작용, 자가포식 및 사이토카인 생성 분비를 포함하나 이에 제한되지 않는 면역 반응 경로를 촉발한다.

[0085] Toll 경로는 PAMP 인식 및 면역 경로 활성화에서 수용체 부류인 TLR을 사용한다. PAMP의 활성화 시, TLR은 염증 반응에서 PAMP/항원-유도된 신호 전달 경로를 전파하기 위하여 어댑터 단백질을 동원한다. TLR은 각각 N-말단 리간드 인식 도메인, 단일 막관통 나선 및 C-말단 세포질 신호전달 도메인을 갖는 I형 통합 막 수용체이다.

[0086] TLR은 TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12, TLR13, 여기에 및 이들의 임의의 유도체, 여기에 및 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, TLR은 수지상 세포, 대식세포, 자연 살해 세포, T 세포, B 세포, 상피 세포, 내피 세포 또는 섬유아세포의 막 상에서 발현될 수 있다.

[0087] TLR은 본원 및 이에 기술된 PAMP 또는 DAMP에 의해 활성화될 수 있다. TLR은 또한 본원 및 이에 기술된 소분자에 의해 활성화될 수 있다. 일부 리간드 및 이들의 TLR은 표 1에 열거된다.

[0088] : TLR에 대한 리간드 목록

TLR	리간드	클래스
TLR1	트리아실 리포펩티드	PAMP
TLR2	당지질	PAMP
TLR2	리포테이코산	PAMP
TLR2	HSP70	DAMP
TLR2	지모산	PAMP
TLR2	베타글루칸	PAMP
TLR3	dsRNA	PAMP
TLR3	폴리(I:C)	PAMP
TLR4	지질다당류	PAMP
TLR4	HSP	PAMP/DAMP
TLR4	헤파란 황산염	DAMP
TLR4	피브리노겐	DAMP
TLR4	히알루론산 조각	DAMP
TLR4	니켈	화학물질/의약품
TLR4	오피오이드-계열 약물	화학물질/의약품
TLR5	플라젤린	PAMP
TLR5	프로필린(<i>Toxoplasma gondii</i>)	PAMP
TLR6	디아실 리포펩티드	PAMP
TLR7	이미다조퀴놀린	화학물질/의약품
TLR7	록소리빈(구아노신 유사체)	화학물질/의약품
TLR7	브로피리민	화학물질/의약품
TLR7	레시퀴모드(R-848)	화학물질/의약품
TLR7	ssRNA	PAMP
TLR8	ssRNA	PAMP
TLR8	dsRNA	PAMP
TLR9	메틸화되지 않은 CpG DNA	PAMP
TLR10	트리아실화 리포펩티드	PAMP
TLR11	프로필린(<i>Toxoplasma gondii</i>)	PAMP
TLR12	프로필린(<i>Toxoplasma gondii</i>)	PAMP
TLR13	박테리아 리보솜 RNA 서열"CGGAAAGACC"	PAMP

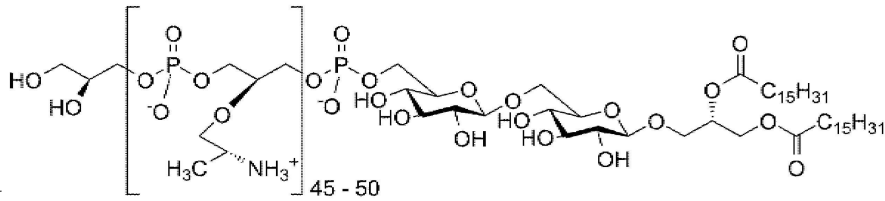
[0089] 일부 구현예에서, TLR 리간드는 베타-데펜신 2, 피브로넥틴, HMGB1, HSP22, HSP70, HSP72, 엔도플라스민, 알파-크리스탈린 A 사슬, 인간 심장 미오신, 레지스틴, S100 단백질, 계면활성제 단백질 A, 테나신-C, 비글리칸, CD138, 히알루로난의 올리고당, 히알루로난 분해 단편, mRNA, 소간섭 RNA(siRNA), 산화된 PAPC(OxPAPC), 요산 일나트륨 결정 등을 포함할 수 있다. 일부 경우에, TLR 작용제는 살아있는, 죽은, 또는 단편의 박테리아, 진균류, 원생생물류, 원생동물류, 선충류, 식물 세포 또는 동물 세포를 포함할 수 있다. 다른 구현예에서, TLR 작용제는 바이러스 또는 불활성화된 바이러스를 포함할 수 있다. 일부 예에서, TLR 작용제는 또한 OX40, OX40 리간드, 4-1-BB, 4-1BB 리간드, CD27, CD30, CD30 리간드, HVEM, TROY, RELT, TNF-알파, TNF-베타, CD70, RANK 리간드, LT-알파, LT-베타, GITR 리간드 및 LIGHT, MALP-2, IRM 화합물, 여기에 및 이들의 유도체, 여기에 및 이들의 조합, 및 당업계에 공지된 기타 TLR 작용제를 포함할 수 있다..

[0090] 일부 경우에, TLR 리간드는 합성 리간드일 수 있다. 합성 리간드는 Pam3Cys, CFA, MALP-2, Pam2Cys, FSL-1, Hib-OMPC, 폴리 I:C, 폴리아데노신-폴리우리딜산(폴리 A:U), AGP, 모노포스포릴 지질 A(MPLA), RC-529, MDF2 베타, 플라젤린, 구아노신 유사체, 이미다조퀴놀린 또는 록소리빈을 포함할 수 있다. 이미다조퀴놀린은 이미퀴모드(Imiquimod), 알다라(Aldara), R-848, ssPolyU, 3M-012, CpG-올리고뉴클레오타이드, 또는 레시퀴모드(Resiquimod), 폴리-L-리신 및 카르복시메틸셀룰로오스로 안정화된 폴리이노신-폴리시티딜산(Poly-ICLC), HLA-A2로 제한된 펩타이드, 시알릴-Tn(STn), 키텔 림펫 헤모시아닌(KLH), 여기에 및 이들의 유도체, 또는 여기에 및 이들의 조합을 포함할 수 있다.

[0091] 리포테이코산(LTA)

[0092] 개인 개인맞춤형 종양 백신은 LTA를 포함할 수 있다. 리포테이코산(LTA)은 표면 연관 부착 분자이다. LTA는 그람-양성 박테리아 세포벽의 주요 구성 요소이다. LTA는 박테리아에 의해 분비될 수 있다. LTA는 동결건조된 분

말로 유지될 수 있다. 다른 그람-양성 박테리아 종은 다른 구조의 LTA를 가질 수 있다. LTA는 디아실글리세롤에 의해 세포막에 고정된다. LTA는 또한 리비톨 또는 인산폴리세를 포함할 수 있다. LTA는 면역계에서 전염증성 사이토카인 반응을 유도할 수 있다. LTA의 예시적인 화학 구조는 화학식 III에 제시되어 있다.



화학식 III

LTA는 TLR 작용제이다. LTA는 TLR-2에 결합하여 NF- κ B TNF 알파 발현을 유도할 수 있다. LTA는 보체 시스템을 유도하여 수동 면역 사멸 현상을 유도할 수 있다. LTA는 또한 호중구 및 대식세포, 산 가수분해효소, 양이온성 단백질분해효소 또는 세포독성 사이토카인으로부터 반응성 산소 및 질소 종의 방출을 유도할 수 있다. LTA는 또한 스캐빈저 수용체를 활성화할 수 있다. 일부 구현예에서, LTA는 종양 또는 암 세포에 연결될 수 있고 종양 또는 암 세포 막의 단편은 수지상 세포에 의한 암-항원의 스캐빈저 수용체-매개 인식을 지원할 수 있다. 일부 경우에 LTA가 PAMP일 수 있다. 다른 경우에, LTA는 면역자극 보조제일 수 있다.

LTA는 임의의 그람-양성 박테리아의 LTA를 포함할 수 있다. LTA는 *Bacillus subtilis*, *Enterococcus hirae*, *Staphylococcus aureus* 또는 *Streptococcus pyogenes*의 LTA를 포함할 수 있다.

개인맞춤형 종양 백신은 1×10^0 g/용량, 2×10^0 g/용량, 3×10^0 g/용량, 4×10^0 g/용량, 5×10^0 g/용량, 6×10^0 g/용량, 7×10^0 g/용량, 8×10^0 g/용량, 9×10^0 g/용량, 1×10^{-1} g/용량, 2×10^{-1} g/용량, 3×10^{-1} g/용량, 4×10^{-1} g/용량, 5×10^{-1} g/용량, 6×10^{-1} g/용량, 7×10^{-1} g/용량, 8×10^{-1} g/용량, 9×10^{-1} g/용량, 1×10^{-2} g/용량, 2×10^{-2} g/용량, 3×10^{-2} g/용량, 4×10^{-2} g/용량, 5×10^{-2} g/용량, 6×10^{-2} g/용량, 7×10^{-2} g/용량, 8×10^{-2} g/용량, 9×10^{-2} g/용량, 1×10^{-3} g/용량, 2×10^{-3} g/용량, 3×10^{-3} g/용량, 4×10^{-3} g/용량, 5×10^{-3} g/용량, 6×10^{-3} g/용량, 7×10^{-3} g/용량, 8×10^{-3} g/용량, 9×10^{-3} g/용량, 1×10^{-4} g/용량, 2×10^{-4} g/용량, 3×10^{-4} g/용량, 4×10^{-4} g/용량, 5×10^{-4} g/용량, 6×10^{-4} g/용량, 7×10^{-4} g/용량, 8×10^{-4} g/용량, 9×10^{-4} g/용량, 1×10^{-5} g/용량, 2×10^{-5} g/용량, 3×10^{-5} g/용량, 4×10^{-5} g/용량, 5×10^{-5} g/용량, 6×10^{-5} g/용량, 7×10^{-5} g/용량, 8×10^{-5} g/용량, 9×10^{-5} g/용량, 1×10^{-6} g/용량, 2×10^{-6} g/용량, 3×10^{-6} g/용량, 4×10^{-6} g/용량, 5×10^{-6} g/용량, 6×10^{-6} g/용량, 7×10^{-6} g/용량, 8×10^{-6} g/용량, 또는 9×10^{-6} g LTA를 포함할 수 있다. 일부 경우에 개인맞춤형 종양 백신은 5×10^0 g/용량 내지 1×10^1 g/용량, 1×10^0 g/용량 내지 5×10^0 g/용량, 5×10^{-1} g/용량 내지 1×10^0 g/용량, 1×10^{-1} g/용량 내지 5×10^{-1} g/용량, 5×10^{-2} g/용량 내지 1×10^{-1} g/용량, 1×10^{-2} g/용량 내지 5×10^{-2} g/용량, 5×10^{-3} g/용량 내지 1×10^{-2} g/용량, 1×10^{-3} g/용량 내지 5×10^{-3} g/용량, 5×10^{-4} g/용량 내지 1×10^{-3} g/용량, 1×10^{-4} g/용량 내지 5×10^{-4} g/용량, 5×10^{-5} g/용량 내지 1×10^{-4} g/용량, 1×10^{-5} g/용량 내지 5×10^{-5} g/용량, 5×10^{-6} g/용량 내지 1×10^{-5} g/용량, 1×10^{-6} g/용량 내지 5×10^{-6} g/용량, 5×10^{-7} g/용량 내지 1×10^{-7} g/용량 LTA를 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 또한 약 0.05 내지 5 mg/용량 LTA를 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 또한 약 0.05 mg/용량 LTA를 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 또한 약 5 mg/용량 LTA를 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 또한 약 0.024 mg/용량 LTA를 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 또한 약 0.584 mg/용량 LTA를 포함할 수 있다.

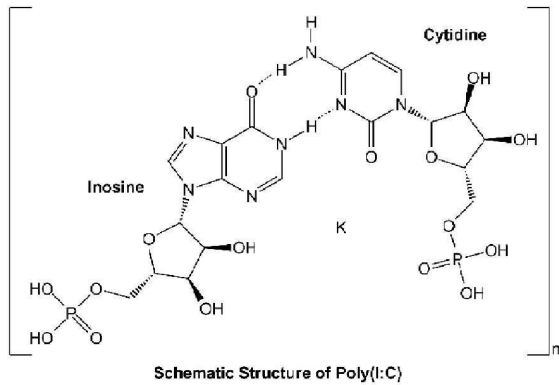
폴리이노신산:폴리시티딜산(Poly(I:C))

개인맞춤형 종양 백신은 폴리(I:C)를 포함할 수 있다. 폴리(I:C)는 B-세포, 대식세포 및 수지상 세포의 세포막에서 발현되는 TLR3를 활성화할 수 있다. 바이러스에서 발견되는 dsRNA와 구조적 유사성 때문에 폴리(I:C)는 TLR 작용제이다. 폴리(I:C) 및 그의 유도체는 TLR3의 작용제 또는 활성화제로 사용할 수 있다. 이러한 활성화는 전사 인자 인터페론 조절 인자 3(IRF3)을 추가로 활성화하고 I형 IFN-베타를 생성할 수 있다. 폴리(I:C)는 또한 안정적인 성숙한 수지상 세포를 생성할 수 있다. 일부 경우에 폴리(I:C)는 PAMP가 될 수 있다. 다른 경우에, 폴리(I:C)는 면역자극 보조제가 될 수 있다.

폴리(I:C)의 유도체는 폴리-L-리신 및 카르복시메틸셀룰로스(Poly ICLC) 또는 폴리 I:C₁₂U를 포함할 수 있다. 폴리(I:C)의 유도체는 또한 암 또는 면역 생물학 또는 치료 분야에서 통상의 사람에 의해 공지된 임의의 화학물질을 포함할 수 있다..

[0100] 폴리(I:C)의 예시적인 화학 구조는 화학식 IV 와 같다.

[0101] 화학식 IV



[0102]

[0103] 폴리(I:C)는 미스매치된 이중 가닥 핵산을 포함할 수 있다. 폴리(I:C) 내 핵산 가닥은 RNA를 포함할 수 있다. 폴리(I:C)는 이노신산 및 시티딜산의 중합체를 포함할 수 있다.

[0104] 폴리(I:C)는 나트륨 염 또는 칼륨 염으로서 유지되거나 대상체에게 투여될 수 있다. Poly(I:C)는 또한 동결 건조된 분말로 유지될 수 있다.

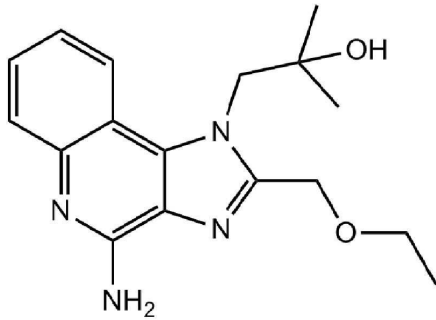
[0105] 개인맞춤형 종양 백신은 1×10^0 g/용량, 2×10^0 g/용량, 3×10^0 g/용량, 4×10^0 g/용량, 5×10^0 g/용량, 6×10^0 g/용량, 7×10^0 g/용량, 8×10^0 g/용량, 9×10^0 g/용량, 1×10^{-1} g/용량, 2×10^{-1} g/용량, 3×10^{-1} g/용량, 4×10^{-1} g/용량, 5×10^{-1} g/용량, 6×10^{-1} g/용량, 7×10^{-1} g/용량, 8×10^{-1} g/용량, 9×10^{-1} g/용량, 1×10^{-2} g/용량, 2×10^{-2} g/용량, 3×10^{-2} g/용량, 4×10^{-2} g/용량, 5×10^{-2} g/용량, 6×10^{-2} g/용량, 7×10^{-2} g/용량, 8×10^{-2} g/용량, 9×10^{-2} g/용량, 1×10^{-3} g/용량, 2×10^{-3} g/용량, 3×10^{-3} g/용량, 4×10^{-3} g/용량, 5×10^{-3} g/용량, 6×10^{-3} g/용량, 7×10^{-3} g/용량, 8×10^{-3} g/용량, 9×10^{-3} g/용량, 1×10^{-4} g/용량, 2×10^{-4} g/용량, 3×10^{-4} g/용량, 4×10^{-4} g/용량, 5×10^{-4} g/용량, 6×10^{-4} g/용량, 7×10^{-4} g/용량, 8×10^{-4} g/용량, 9×10^{-4} g/용량, 1×10^{-5} g/용량, 2×10^{-5} g/용량, 3×10^{-5} g/용량, 4×10^{-5} g/용량, 5×10^{-5} g/용량, 6×10^{-5} g/용량, 7×10^{-5} g/용량, 8×10^{-5} g/용량, 9×10^{-5} g/용량, 1×10^{-6} g/용량, 2×10^{-6} g/용량, 3×10^{-6} g/용량, 4×10^{-6} g/용량, 5×10^{-6} g/용량, 6×10^{-6} g/용량, 7×10^{-6} g/용량, 8×10^{-6} g/용량, or 9×10^{-6} g/용량 poly(I:C) 폴리(I:C)를 포함할 수 있다. 일부 경우에 개인맞춤형 종양 백신은 5×10^0 g to 1×10^1 g/용량, 1×10^0 g/용량 내지 5×10^0 g/용량, 5×10^{-1} g/용량 내지 1×10^0 g/용량, 1×10^{-1} g/용량 내지 5×10^{-1} g/용량, 5×10^{-2} g/용량 내지 1×10^{-1} g/용량, 1×10^{-2} g/용량 내지 5×10^{-2} g/용량, 5×10^{-3} g/용량 내지 1×10^{-2} g/용량, 1×10^{-3} g/용량 내지 5×10^{-3} g/용량, 5×10^{-4} g/용량 내지 1×10^{-3} g/용량, 1×10^{-4} g/용량 내지 5×10^{-4} g/용량, 5×10^{-5} g/용량 내지 1×10^{-4} g/용량, 1×10^{-5} g/용량 내지 5×10^{-5} g/용량, 5×10^{-6} g/용량 내지 1×10^{-5} g/용량, 1×10^{-6} g/용량 내지 5×10^{-6} g/용량, 5×10^{-7} g/용량 내지 1×10^{-7} g 폴리(I:C)를 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 또한 약 0.05 내지 5 mg/용량 폴리(I:C)를 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 또한 약 0.05 mg/용량 폴리(I:C)를 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 또한 약 5 mg/용량 폴리(I:C)를 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 또한 약 0.024 mg/용량 폴리(I:C)를 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 또한 약 0.584 mg/용량 폴리(I:C)를 포함할 수 있다.

[0106] 레시퀴모드(R-848)

[0107] 개인맞춤형 종양 백신은 레시퀴모드(R-848)를 포함할 수 있다. R-848은 이미다조퀴놀린아민 TLR 작용제이다. R-848은 항종양 또는 항바이러스 활성을 가질 수 있다. 일부 경우에 R-848은 PAMP일 수 있다. 다른 경우에 R-848을 면역자극 보조제로 사용할 수 있다. R-848은 TLR7/8을 활성화할 수 있다. R-848에 의한 TLR7/8의 활성화는 사이토카인, 특히 인터페론-알파(INF- α)의 생산 및 강화된 T-헬퍼 1(Th1) 면역 반응의 생성을 유도할 수 있다. R-848은 또한 수지상 세포의 성숙을 자극할 수 있다. R-848은 또한 대식세포와 B 세포를 활성화할 수 있다.

[0108] R-848은 이미퀴모드의 유사체이다. R-848의 예시적인 구조는 화학식 V 에 나열되어 있다.

[0109] 화학식 V:



[0110]

[0111] R-848은 또한 $C_{17}H_{22}N_4O_2$ 를 포함할 수 있다. R-848은 314.4g/mol의 분자량을 가질 수 있다. 2개의 수소 결합 공여체와 5개의 수소 결합 수용체를 포함할 수 있다. R-848은 또한 5개의 회전 가능한 결합을 포함할 수 있다. R-848은 314.174276g/mol의 단일 동위원소 질량을 포함할 수 있다.

[0112]

개인맞춤형 종양 백신은 1×10^0 g/용량, 2×10^0 g/용량, 3×10^0 g/용량, 4×10^0 g/용량, 5×10^0 g/용량, 6×10^0 g/용량, 7×10^0 g/용량, 8×10^0 g/용량, 9×10^0 g/용량, 1×10^{-1} g/용량, 2×10^{-1} g/용량, 3×10^{-1} g/용량, 4×10^{-1} g/용량, 5×10^{-1} g/용량, 6×10^{-1} g/용량, 7×10^{-1} g/용량, 8×10^{-1} g/용량, 9×10^{-1} g/용량, 1×10^{-2} g/용량, 2×10^{-2} g/용량, 3×10^{-2} g/용량, 4×10^{-2} g/용량, 5×10^{-2} g/용량, 6×10^{-2} g/용량, 7×10^{-2} g/용량, 8×10^{-2} g/용량, 9×10^{-2} g/용량, 1×10^{-3} g/용량, 2×10^{-3} g/용량, 3×10^{-3} g/용량, 4×10^{-3} g/용량, 5×10^{-3} g/용량, 6×10^{-3} g/용량, 7×10^{-3} g/용량, 8×10^{-3} g/용량, 9×10^{-3} g/용량, 1×10^{-4} g/용량, 2×10^{-4} g/용량, 3×10^{-4} g/용량, 4×10^{-4} g/용량, 5×10^{-4} g/용량, 6×10^{-4} g/용량, 7×10^{-4} g/용량, 8×10^{-4} g/용량, 9×10^{-4} g/용량, 1×10^{-5} g/용량, 2×10^{-5} g/용량, 3×10^{-5} g/용량, 4×10^{-5} g/용량, 5×10^{-5} g/용량, 6×10^{-5} g/용량, 7×10^{-5} g/용량, 8×10^{-5} g/용량, 9×10^{-5} g/용량, 1×10^{-6} g/용량, 2×10^{-6} g/용량, 3×10^{-6} g/용량, 4×10^{-6} g/용량, 5×10^{-6} g/용량, 6×10^{-6} g/용량, 7×10^{-6} g/용량, 8×10^{-6} g/용량, 또는 9×10^{-6} g/용량 R-848를 포함할 수 있다. 일부 경우에 개인맞춤형 종양 백신은 5×10^0 g 내지 1×10^1 g/용량, 1×10^0 g/용량 내지 5×10^0 g/용량, 5×10^{-1} g/용량 내지 1×10^0 g/용량, 1×10^{-1} g/용량 내지 5×10^{-1} g/용량, 5×10^{-2} g/용량 내지 1×10^{-1} g/용량, 1×10^{-2} g/용량 내지 5×10^{-2} g/용량, 5×10^{-3} g/용량 내지 1×10^{-2} g/용량, 1×10^{-3} g/용량 내지 5×10^{-3} g/용량, 5×10^{-4} g/용량 내지 1×10^{-3} g/용량, 1×10^{-4} g/용량 내지 5×10^{-4} g/용량, 5×10^{-5} g/용량 내지 1×10^{-4} g/용량, 1×10^{-5} g/용량 내지 5×10^{-5} g/용량, 5×10^{-6} g/용량 내지 1×10^{-5} g/용량, 1×10^{-6} g/용량 내지 5×10^{-6} g/용량, 5×10^{-7} g/용량 내지 1×10^{-7} g/용량 R-848을 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 또한 약 0.05 내지 5 mg/용량 R-848을 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 또한 약 0.05 mg/용량 R-848을 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 또한 약 5 mg/용량 R-848을 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 또한 약 0.024 mg/용량 R-848을 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 또한 약 0.584 mg/용량 R-848을 포함할 수 있다.

[0113]

항-CD40 단클론 항체(mAb) CD40은 종양 괴사 인자(TNF) 수용체 패밀리에 속하는 표면 단백질 수용체이다. CD40의 활성화는 수지상 세포 라이센싱, T 세포 활성화, 사이토카인 생성, 종양의 대식세포 침윤 및 기타 항종양 반응을 유도할 수 있다. CD40 작용제는 CD40을 활성화하고 항종양 면역 반응을 유도하기 위해 사용할 수 있다.

[0114]

CD40 작용제는 항-CD40 단클론 항체(mAb)를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 개인맞춤형 종양 백신은 1×10^0 g/용량, 2×10^0 g/용량, 3×10^0 g/용량, 4×10^0 g/용량, 5×10^0 g/용량, 6×10^0 g/용량, 7×10^0 g/용량, 8×10^0 g/용량, 9×10^0 g/용량, 1×10^{-1} g/용량, 2×10^{-1} g/용량, 3×10^{-1} g/용량, 4×10^{-1} g/용량, 5×10^{-1} g/용량, 6×10^{-1} g/용량, 7×10^{-1} g/용량, 8×10^{-1} g/용량, 9×10^{-1} g/용량, 1×10^{-2} g/용량, 2×10^{-2} g/용량, 3×10^{-2} g/용량, 4×10^{-2} g/용량, 5×10^{-2} g/용량, 6×10^{-2} g/용량, 7×10^{-2} g/용량, 8×10^{-2} g/용량, 9×10^{-2} g/용량, 1×10^{-3} g/용량, 2×10^{-3} g/용량, 3×10^{-3} g/용량, 4×10^{-3} g/용량, 5×10^{-3} g/용량, 6×10^{-3} g/용량, 7×10^{-3} g/용량, 8×10^{-3} g/용량, 9×10^{-3} g/용량, 1×10^{-4} g/용량, 2×10^{-4} g/용량, 3×10^{-4} g/용량, 4×10^{-4} g/용량, 5×10^{-4} g/용량, 6×10^{-4} g/용량, 7×10^{-4} g/용량, 8×10^{-4} g/용량, 9×10^{-4} g/용량, 1×10^{-5} g/용량, 2×10^{-5} g/용량, 3×10^{-5} g/용량, 4×10^{-5} g/용량, 5×10^{-5} g/용량, 6×10^{-5} g/용량, 7×10^{-5} g/용량, 8×10^{-5} g/용량, 9×10^{-5} g/용량, 1×10^{-6} g/용량, 2×10^{-6} g/용량, 3×10^{-6} g/용량, 4×10^{-6} g/용량, 5×10^{-6} g/용량, 6×10^{-6} g/용량, 7×10^{-6} g/용량, 8×10^{-6} g/용량, 또는 9×10^{-6} g 항-CD40 mAb를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 개인맞춤형 종양 백신은 5×10^0 g/용량 내지 1×10^1 g/용량, 1×10^0 g/용량 내지 5×10^0 g/용량, 5×10^{-1} g/용량

내지 1×10^0 g/용량, 1×10^{-1} g/용량 내지 5×10^{-1} g/용량, 5×10^{-2} g/용량 내지 1×10^{-1} g/용량, 1×10^{-2} g/용량 내지 5×10^{-2} g/용량, 5×10^{-3} g/용량 내지 1×10^{-2} g/용량, 1×10^{-3} g/용량 내지 5×10^{-3} g/용량, 5×10^{-4} g/용량 내지 1×10^{-3} g/용량, 1×10^{-4} g/용량 내지 5×10^{-4} g/용량, 5×10^{-5} g/용량 내지 1×10^{-4} g/용량, 1×10^{-5} g/용량 내지 5×10^{-5} g/용량, 5×10^{-6} g/용량 내지 1×10^{-5} g/용량, 1×10^{-6} g/용량 내지 5×10^{-6} g/용량, 5×10^{-7} g/용량 내지 1×10^{-7} g/용량 항-CD40 mAb를 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 또한 약 0.04 mg/용량 내지 약 4 mg/용량 항-CD40 mAb를 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 또한 약 0.04 mg/용량 항-CD40 mAb를 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 또한 약 4 mg/용량 항-CD40 mAb를 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 또한 약 0.02 mg/용량 항-CD40 mAb를 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 또한 약 0.467 mg/용량 항-CD40 mAb를 포함할 수 있다.

[0115] 일부 경우에, 개인맞춤형 종양 백신은 또한 항-CD40 mAb를 여기에 및 이의 기술된 CD40 작용제로 대체(replace), 대용(substitute) 또는 조합할 수 있다. 일부 경우에, CD40 작용제는 또한 삼량체 CD40 리간드(CD40L), CD40L의 이소성 발현, 여기에 및 이들의 임의의 유도체, 또는 여기에 및 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 항-CD40 항체는 ABBV-927, ADC-1013, Selicrelumab, APX005M, ChiLob7/4, ADC-1013, SEA-CD40, CDX1140, CP-870893, 다세투주맙(dacetuzmab), 여기에 및 이들의 임의의 유도체, 또는 여기에 및 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. CD40 작용제는 또한 CD40L, GM.CD40L, MEDI5083(NCT03089645), HERACD40L, 듀오킨, 및 여기에 및 이들의 유도체, 또는 여기에 및 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다.

[0116] 항체는 IgA, IgD, IgE, IgG, IgM, 여기에 및 이들의 임의의 유도체, 또는 여기에 및 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 항-CD40 항체는 무린, 인간, 키메라 또는 인간화 항체를 포함할 수 있다. 다른 경우에, 항-CD40 항체는 폴리클로날 또는 단클로날 항체를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 항체는 닭, 염소, 기니피그, 햄스터, 말, 마우스, 래트, 양, 원숭이, 침팬지, 인간, 낙타, 상어, 토끼, 알파카, 라마, 또는 이들의 임의의 조합으로부터의 항체를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 항-CD40 항체는 온전한 항체 또는 항체 단편을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 항-CD40 항체는 IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, 여기에 및 이들의 임의의 유도체, 또는 여기에 및 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 항-CD40 항체는 이중특이적 항체, 단클론 항체, 단일-쇄 가변 단편(scFv), 단일-쇄 항원-결합 단편(scFab), 이중-가변 도메인 Ig(DVD-Ig), scFv-IgG 융합, scFv-Fc(불변영역), 중쇄항체(HcAb), 신규 항원 수용체 항체(IgNAR), 도메인 항체(dAb), 단일-dAb(sdAb), 디아바디, 인트라바디, 트리오맙, F(ab)2 이중특이성 항체, F(ab)3 삼중특이성 항체, BiTE 항체, DART 항체, tand 항체, 미니바디, Bis-scFv, 트리아바디, 테트라바디, 낙타 Ig, 상어 Ig, 여기에 및 이들의 단편, 여기에 및 이들의 유도체, 또는 여기에 및 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다.

[0117] 일부 구현예에서, CD40 및 TLR의 활성화는 별개의 면역 반응 경로를 독립적으로 활성화할 수 있다. 일부 경우에 CD40 및 TLR의 활성화가 중복되는 면역 반응 경로를 활성화할 수 있다. 일부 구현예에서, CD40 및 TLR의 활성화는 면역 반응 경로의 활성화에 부가 효과를 갖는다. 다른 경우에, CD40 및 TLR의 활성화는 활성화 면역 반응 경로에 상승 효과가 있다. 일부 구현예에서, CD40 및 TLR의 활성화는 항종양 반응에 부가적 또는 상승적 효과를 가질 수 있다. 일부 예에서, 항종양 반응은 종양 또는 종양 세포의 성장, 전이, 분화, 이동, 분열 또는 분비를 억제, 역전, 스트로핑(stropping), 감소, 저지(restraining), 억제(suppressing) 또는 금지하는 것을 포함할 수 있다.

[0118] 유기 및 무기 보조제

[0119] 일부 경우에, 면역자극 보조제는 유기 분자 면역자극 보조제를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 면역자극 보조제는 무기 분자 면역자극 보조제를 포함할 수 있다.

[0120] 유기 면역자극 보조제는 불활성화된 Mycobacterium tuberculosis, 스쿠알렌, 사포닌, 모노포스포릴 리피드 A(MPL), 여기에 및 이들의 임의의 유도체, 또는 여기에 및 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 예에서, 유기 면역자극 보조제는 또한 알가물린; 조류 글루칸; β -글루칸; 콜레라 독소 B 서브유닛; CRL1005: $x = 8$ 및 $y = 205$ 의 평균 값을 갖는 ABA 블록 중합체; γ 인슐린; 선형(비분지형)B-D(2 $\rightarrow$ 1) 폴리프락토폰라노실- α -D-글루코스(polyfructofuranoxyl- α -D-glucose); Gerbu 보조제 : N-아세틸글루코사민-(β 1-4)-N-아세틸무라밀-L-알라닐-D-글루타민(GMDP); 디메틸디옥타데실 암모늄 클로라이드(DDA); 아연 L-프롤린 염 복합체(Zn-Pro-8); 이미퀴모드(1-(2-메틸프로필)-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-4-아민; ImmTher™: N-아세틸글루코아미닐-N-아세틸무라밀-L-Ala-D-이소 Glu-L-Ala-무라메이트; 메틸 (2R)-2-[[[(2S)-2-[2-[(2S,3R,4R,5S,6R)-3-아세트아미도-2,5-디히드록시-6-(히드록시메틸)옥산-4-일]옥시프로판노일아미노]프로판노일]아미노]-5-아미노-5-옥소펜타노에이트; QS-21; S-28463: 4-아미노-a,a-디메틸-1H-이미다조[4,5-c]퀴놀린-1-에탄올; 살보캡티드: VQGEESNDK · HCl(IL-1 β

163-171 펩티드); 트레오닐-MDP(Termurtide™): N-아세틸무라밀-L-트레오닐-D-이소글루타민; 인터루킨(IL)-18; IL-1베타; IL-2; IL-12; IL-15; IL-4; IL10; γ 인터페론; NF κ B 조절 신호 단백질; DNA 올리고뉴클레오타이드, 예를 들어 C- 또는 G-함유 올리고뉴클레오타이드, 여기에 및 이들의 임의의 유도체, 또는 여기에 및 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 유기 면역자극 보조제는 또한 IL-18, IL-1 베타, IL-2, IL-12, IL-15, IL-4, IL10, γ 인터페론, NF κ B 조절 신호 단백질, 여기에 및 이들의 임의의 유도체, 또는 여기에 및 이들의 임의의 조합과같은 면역 조절 림포카인을 코딩하는 핵산 서열을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 유기 면역자극 보조제는 트레할로스-6,6'-디미콜레이트(TDM), 무라밀 디펩티드(MDP); AF 또는 SPT(스쿠알란 에멀전(5%); Tween 80(0.2%); AVRIDINE™(프로판디아민); BAY R1005™((N-(2-디옥시-2-L-류실아미노-b-D-글루코피라노실)-N-옥타데실-도데카노일-아미드 하이드로아세테이트); CALCITRIOL™(1-알파,25-디하이드록시-비타민 D3); 콜레라 홀로톡신; 콜레라-톡신-A1-단백질-A-D-단편 융합 단백질; 콜레라 독소의 서브-유닛 B, CRL 1005(블록 공중합체 P1205); 사이토카인-함유 리포솜; DDA(디메틸디옥타데실암모늄 브로마이드); DHEA(디히드로에피안드로스테론); DMPC(디미리스토일포스파티딜콜린); DMPG(디미리스토일포스파티딜글리세롤); DOC/알룸 복합체(디옥시콜릭산 소듐 염); Freund' s 완전 보조제, Freund' s 불완전 보조제, 감마 이눌린; Gerbu 아주반트(i) N-아세틸글루코사미닐-(P1-4)-N-아세틸무라밀-L-알라닐-D-글루타민(GMDP), ii) 디메틸디옥타데실암모늄 클로라이드(DDA), iii) 아연- L-프롤린염 복합체(ZnPro-8)의 혼합물; GM-CSF); GMDP(N-아세틸글루코사미닐-(b1-4)-N-아세틸무라밀-L-알라닐-D-이소글루타민); ImmTher™(N-아세틸글루코사미닐-N-아세틸무라밀-L-Ala-D-isoGlu-L-Ala-글리세롤 디팔미테이트); DRV(탈수-재수화 소포로부터 제조된 면역리포솜); ISCOMS™; ISCOPREP 7.0.3.™; 리포솜; LOXORIBINE™(7-알릴-8-옥소구아노신); LT 경구 보조제(E. coli 불안정한 장독소-전독소); MF59™; (스쿠알란-물 에멀전); MONTANIDE ISA 51™(정제된 불완전 Freund' s 보조제); MONTANIDE ISA 720™(대사성 오일 보조제); MPL™(3-Q-데사실-4'-모노포스포릴 리피드 A); MTP-PE 및 MTP-PE 리포솜((N-아세틸-L-알라닐-D-이소글루타미닐- L-알라닌-2-(1,2-디팔미토일-sn-글리세롤-3-(하이드록시포스포릴옥시))-에틸아마이드, 모노소듐 염); MURAMETIDE™(Nac-Mur-L-Ala-D-Gln-OCH3), MURAPALMITINE™ 및 D-MURAPALMITINE™(Nac-Mur-L-Thr-D-이소Gln-sn-글리세롤디팔미토일), NAGO(뉴라미니다아제-갈락토오스 산화효소); NISV(비이온성 계면활성제 소포); PLEURAN™(베타-글루칸), PLGA, PGA 또는 PLA(락트산과 글리콜산의 단일 중합체 및 공중합체; 미소구체/나노구체); PLURONIC L121™; PMMA(폴리메틸 메타크릴레이트); PODDS™(프로티노이드 미소구체); 폴리에틸렌 카바메이트 유도체; 폴리-rA: 폴리-rU(폴리아데닐산-폴리우리딜산 복합체); 폴리소르베이트 80(Tween 80); 단백질 달팽이관(Avanti Polar Lipids, Inc., Alabaster, Ala.); STIMULON™(QS-21); Quil-A(Quil-A 사포닌); S-28463(4-아미노-오텍-디메틸-2-에톡시메틸-1H-이미다조[4,5 c]퀴놀린- 1-에탄올); SAF-1™("Syntex 보조제 제형"), 샌다이 프로테오리포솜 및 샌다이-함유 지질 매트릭스; Span-85(소르비탄 트리올레이트); Specol(Marcol 52, Span 85 및 Tween 85의 에멀전); 스쿠알렌 또는 Robane®(2,6,10,15,19,23-헥사메틸테트라코산 및 2,6,10,15,19,23-헥사메틸-2,6,10,14,18,22-테트라코사헥산); 스테아릴티로신(옥타데실티로신 염산염); Theramid®(N-아세틸글루코사미닐-N-아세틸무라밀-L-Ala-D-이소Glu-L-Ala-디팔미톡시프로필아미드); 테로닐-MDP(Termurtide™ 또는 [thr 1]-MDP; N-아세틸무라밀-L-트레오닐-D-이소글루타민); Ty 입자(Ty-VLP 또는 바이러스-유사 입자); Walter-Reed 리포솜(수산화알루미늄에 흡착된 지질 A를 함유하는 리포솜); Pam3Cys를 포함하는 리포펩티드; Optivax(CRL1005), L121, Poloxamer4010)을 포함하는, 공중합체; BIORAL을 포함하는 달팽이관 Stealth를 포함하는 리포솜; QS21, Quil A, Iscomatrix를 포함하는 식물 유래 보조제; 토마틴(Tomatine); PLG; PMM; 이눌린; Romurtide, DETOX™, MPL, CWS, Mannose, CpG 핵산 서열, CpG7909, 인간 TLR 1-10의 리간드, 뮤린 TLR 1-13의 리간드, ISS-1018, IC31, 이미다졸퀴놀린, Rintatolimod, Ribis29, IMoxine, IRIVs, VLPs, 콜레라 독소, 열에 불안정한 독소, Pam3Cys, 플라젤린, GPI 앵커, LNFPIII/Lewis X, 항균성 펩티드, UC-1V150, RSV 융합 단백질, cdiGMP를 포함하는 보조제 유래 미생물; 또는 CGRP 신경펩티드를 포함할 수 있다. 유기 면역자극 보조제는 또한 양이온성 또는 다가양이온성 화합물을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 양이온성 또는 다중양이온성 화합물은 프로타민, 뉴클레오린, 스페르민 또는 스페르미딘, 또는 다른 양이온성 펩타이드 또는 단백질, 예를 들어 폴리-L-리신(PLL), 폴리-아르기닌, 염기성 폴리펩티드, 또는 HIV-바인딩 펩타이드, Tat, HIV-1 Tat(HIV), Tat-유래 펩타이드, Penetratin, VP22 유래 또는 유사 펩타이드, HSV VP22(단순 포진), MAP, KALA 또는 단백질 형질도입 도메인(PTD, PpT620, 프롤린이 풍부한 펩타이드, 아르기닌이 풍부한 펩타이드, 라이신이 풍부한 펩타이드, MPG-펩타이드(들), Pep-1, L-올리고머, 칼시토닌 펩타이드(들), 안테나페디아-유래 펩타이드(특히 Drosophila antennapedia), pAntp, pIsl, FGF, Lactoferrin, Transportan, Buforin-2, Bac715-24, SynB, SynB(1), pVEC, hCT-유래 펩타이드, SAP, 프로타민, 스페르민, 스페르미딘 또는 히스톤을 포함하는 세포 투과 펩타이드(CPP)를 포함할 수 있다. 다른 경우에 양이온성 또는 다가양이온성 화합물은 양이온성 다당류를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 양이온성 다당류는 키토산; 폴리브렌; 폴리에틸렌이민(PEI)을 포함하는 양이온성 중합체; DOTMA를 포함하는 양이온성 지질; 1,2-디-O-옥타데세닐-3-트리메틸암모늄 프로판(염화물 염); DMRIE; 디-C14-아미딘; DOTIM;

SAINT; DC-Chol; BGTC; CTAP: DOPC; DODAP; DOPE: 디올레일 포스파티딜에탄올-아민; DOSPA; DODAB; DOIC; DMEPC; DOGS: 디옥타데실아미도글리실스페르민; DIMRI: 디미리스토-옥시프로필 디메틸 히드록시에틸 암모늄 브로마이드; DOTAP: 디올레오일옥시-3-(트리메틸암모니오)프로판; DC-6-14: 0,0-디테트라데카노일-N-(트리메틸암모니오아세틸)디에탄올아민 클로라이드; CLIP1: rac-[(2,3-디옥타데실옥시프로필)(2-히드록시에틸)]-디메틸암모늄 클로라이드; CLIP6: rac-[2(2,3-디헥사데실옥시프로필-옥시메틸옥시)에틸]트리메틸암모늄 브로마이드; CLIPS: rac-[2(2,3-디헥사데실옥시프로필-옥시숙시닐옥시)에틸]-트리메틸암모늄; 올리고펙타민; 또는 아미노산 중합체 또는 역 폴리아미드를 포함하는 개질된 폴리아미노산을 포함하는 양이온성 또는 다가양이온성 중합체; PVP(폴리(N-에틸-4-비닐피리디늄 브로마이드))를 포함하는 개질된 폴리에틸렌; pDMAEMA(폴리(디메틸아미노에틸 메틸아크릴레이트))를 포함하는 개질된 아크릴레이트; pAMAM(폴리(아미도아민))을 포함하는 개질된 아미도아민; 디아민 말단 개질된 1,4 부탄디올 디아크릴레이트-co-5-아미노-1-펜탄올 중합체를 포함하는 개질된 폴리베타아미노에스테르(PBAE); 폴리프로필아민 텐드리머 또는 pAMAM 기반 텐드리머를 포함하는 텐드리머; PEI를 포함하는 폴리이민(들): 폴리(에틸렌이민), 폴리(프로필렌이민), 폴리알릴아민; 시클로텍스트린계 중합체, 텍스트란계 중합체, 키토산을 포함하는 당 골격계 중합체; PMOXA-PDMS 공중합체를 포함하는 실란 골격계 중합체; 하나 이상의 양이온성 블록(예: 위에서 언급한 양이온성 폴리머 중에서 선택됨)과 하나 이상의 친수성 또는 소수성 블록(예: 폴리에틸렌글리콜)의 조합을 포함하는 블록폴리머를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 유기 면역자극 보조제는 에멀전 보조제를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 에멀전 보조제는 스쿠알렌; DL-α-토코페롤(비타민 E); *Salmonella minnesota bacterium* 또는 *Quillaja saponaria* 나무의 지질; AS01B; AS01E; AS03; AS04; CFA; SAF; IFA; MF59; Provac; TiterMax; Montanide; 또는 Vaxfectin를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 유기 면역자극 아주반트는 여기에 및 이들의 임의의 유기 자극 보조제의 유도체 또는 조합; 여기에 및 이들의 임의의 유기 보조제의 미소구체 및 미세입자, 또는 여기에 및 이들의 임의의 유기 보조제의 나노구체 또는 나노입자를 포함할 수 있다.

[0121]

일부 경우에, 면역자극 보조제는 무기 분자 면역자극 보조제를 포함할 수 있다. 무기 면역자극 보조제는 세륨, 아연, 철, 알루미늄 및 갈륨과 같은 금속의 염을 포함할 수 있다. 일부 예에서, 무기 면역자극 보조제는 알루미늄-함유 화합물(명반)을 포함할 수 있다. 명반은 화학식 $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$, $(NH_4^+)(Al(SO_4)_2) \cdot 12H_2O$ 를 가지는 물질, 여기에 및 이들의 임의의 유도체, 또는 여기에 및 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 명반은 또한 알루미늄 옥시하이드록사이드($Al(OH)_3$) 또는 알루미늄 하이드록시포스페이트($Al(OH)_x(PO_4)_y$)를 포함할 수 있다. 일부 경우에는 알루미늄-함유 화합물도 Imject™ 명반을 포함할 수 있다. Imject™ 명반은 결정질 수산화마그네슘 및 수산화알루미늄을 포함할 수 있다. 명반은 또한 Alhydrogel®, Adju-Phos®, ADJUMER™(폴리포스파젠), 인산알루미늄 겔, 인산갈륨 겔, CAP™(인산갈륨 나노입자), 세슘 명반, 인산염 완충 식염수, Rehydrigel™, 여기에 및 이들의 임의의 유도체, 또는 여기에 및 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다.

[0122]

약화된 암세포

[0123]

일부 경우에, 개인맞춤형 종양 백신은 약독화된 암세포의 집단 또는 그룹을 포함할 수 있다. 약독화된 암세포는 치료를 받거나 받은 암세포 또는 암 세포 집단 또는 그룹을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 약독화된 암세포는 포유동물 세포일 수 있다. 일부 예에서, 약독화된 암세포는 비포유동물 세포일 수 있다. 일부 예에서, 약독화된 암세포는 마우스 세포를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 약독화된 암세포는 인간 세포일 수 있다. 일부 경우에, 약독화된 암세포는 살아있는 세포일 수 있다. 일부 구현예에서, 약독화된 암 세포는 정상 또는 건강한 세포에서 발견되지 않는 노화, 스트레스, 손상, 감염 또는 형질전환된 세포를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 약독화된 암 세포는 종양 또는 암세포를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 약독화된 암세포는 과성장 세포를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 약독화된 암세포는 과분할된 세포를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 약독화된 암세포는 과분화 세포를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 약독화된 암 세포는 줄기 세포를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 약독화된 암세포는 비분화 세포를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 약독화된 암세포는 유사분열 세포를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 약독화된 암세포는 감수분열 세포를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 약독화된 암세포는 성장-정지된 세포를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 약독화된 암세포는 복제-정지된 세포를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 약독화된 암세포는 분열-정지된 세포를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 약독화된 암세포는 유사분열-정지된 세포를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 약독화된 암세포는 분화-정지된 세포를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 약독화된 암세포는 감수분열-정지된 세포를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 약독화된 암세포는 원숭이, 침팬지, 쥐, 토끼, 돼지, 기니피그, 말, 낙타, 알파카, 라마, 개, 고양이, 소 세포를 포함할 수 있다.

[0124]

일부 경우에, 약독화된 암세포는 원발성 종양 또는 암세포를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 약독화된 암세포는

배양된 암세포를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 약독화된 암세포는 개체로부터 추출되고 추출 후에 시험관내에서 배양된 종양 또는 암세포를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 추출은 개체의 조직 생검으로부터 종양 또는 암세포를 채취하는 것을 포함할 수 있다. 일부 예에서, 추출은 개체의 종양 또는 암 부위의 생검으로부터 종양 또는 암 세포를 채취하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 추출은 개체의 순환 종양 또는 암 세포의 생검으로부터 종양 또는 암세포를 채취하는 것을 포함할 수 있다. 일부 예에서, 생검은 골 생검, 골수 생검, 유방 생검, 위장 생검, 폐 생검, 간 생검, 전립선 생검, 신경계 생검, 비뇨생식기 생검, 림프절 생검, 근육 생검, 피부 생검, 혈액 생검, 체액 생검, 심장 생검, 자궁내막 생검, 개방 생검, 센티널 림프절 생검, 여기에 및 이들의 임의의 유도체, 또는 여기에 및 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 예에서, 생검은 미세 바늘 흡인 생검, 코어 바늘 생검, 진공-보조 생검, 절제 생검, 면도 생검, 펀치 생검, 내시경 생검, 복강경 생검, 골수 흡인 생검, 액체 생검, 여기에 및 이들의 임의의 유도체, 또는 여기에 및 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 다른 경우에, 생검은 절개 생검 또는 절제 생검을 포함할 수 있다.

[0125] 일부 예에서, 약독화된 암세포는 추출 후 시험관내 배양 없이 개체로부터 추출된 종양 또는 암세포를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 개인맞춤형 종양 백신은 본원 및 이에 기술된 임의의 유형의 세포를 포함할 수 있다.

[0126] 개인맞춤형 종양 백신은 1×10^0 내지 1×10^1 약독화된 암세포, 5×10^0 내지 5×10^1 약독화된 암세포, 1×10^1 내지 1×10^2 약독화된 암세포, 5×10^1 내지 5×10^2 약독화된 암세포, 1×10^2 내지 1×10^3 약독화된 암세포, 5×10^2 내지 5×10^3 약독화된 암세포, 1×10^3 내지 1×10^4 약독화된 암세포, 5×10^3 내지 5×10^4 약독화된 암세포, 1×10^4 내지 1×10^5 약독화된 암세포, 5×10^4 내지 5×10^5 약독화된 암세포, 1×10^5 내지 1×10^6 약독화된 암세포, 5×10^5 내지 5×10^6 약독화된 암세포, 1×10^6 내지 1×10^7 약독화된 암세포, 5×10^6 내지 5×10^7 약독화된 암세포, 1×10^7 내지 1×10^8 약독화된 암세포, 5×10^7 내지 5×10^8 약독화된 암세포, 1×10^8 내지 1×10^9 약독화된 암세포, 5×10^8 내지 5×10^9 약독화된 암세포, 1×10^9 내지 1×10^{10} 약독화된 암세포, 5×10^9 내지 5×10^{10} 약독화된 암세포, 1×10^{10} 내지 1×10^{11} 약독화된 암세포, 5×10^{10} 내지 5×10^{11} 약독화된 암세포, 1×10^{11} 내지 1×10^{12} 약독화된 암세포, 5×10^{11} 내지 5×10^{12} 약독화된 암세포, 1×10^{12} 내지 1×10^{13} 약독화된 암세포, 5×10^{12} 내지 5×10^{13} 약독화된 암세포, 1×10^{13} 내지 1×10^{14} 약독화된 암세포, 5×10^{13} 내지 5×10^{14} 약독화된 암세포, 1×10^{14} 내지 1×10^{15} 약독화된 암세포, 5×10^{14} 내지 5×10^{15} 약독화된 암세포, 1×10^{15} 내지 1×10^{16} 약독화된 암세포, 5×10^{15} 내지 5×10^{16} 약독화된 암세포, 1×10^{16} 내지 1×10^{17} 약독화된 암세포, 5×10^{16} 내지 5×10^{17} 약독화된 암세포, 1×10^{17} 내지 1×10^{18} 약독화된 암세포, 5×10^{17} 내지 5×10^{18} 약독화된 암세포, 1×10^{18} 내지 1×10^{19} 약독화된 암세포, 5×10^{18} 내지 5×10^{19} 약독화된 암세포, 1×10^{19} 내지 1×10^{20} 약독화된 암세포, or 5×10^{19} 내지 5×10^{20} 약독화된 암세포를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 개인맞춤형 종양 백신은 1×10^5 , 2×10^5 , 3×10^5 , 4×10^5 , 5×10^5 , 6×10^5 , 7×10^5 , 8×10^5 , 9×10^5 , 1×10^6 , 2×10^6 , 3×10^6 , 4×10^6 , 5×10^6 , 6×10^6 , 7×10^6 , 8×10^6 , 9×10^6 , 또는 1×10^7 약독화된 암세포를 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 1×10^6 약독화된 암세포를 포함할 수 있다.

[0127] 약독화된 암세포의 치료학적으로 적절한 양은 1×10^0 내지 1×10^1 약독화된 암세포, 5×10^0 내지 5×10^1 약독화된 암세포, 1×10^1 내지 1×10^2 약독화된 암세포, 5×10^1 내지 5×10^2 약독화된 암세포, 1×10^2 내지 1×10^3 약독화된 암세포, 5×10^2 내지 5×10^3 약독화된 암세포, 1×10^3 내지 1×10^4 약독화된 암세포, 5×10^3 내지 5×10^4 약독화된 암세포, 1×10^4 내지 1×10^5 약독화된 암세포, 5×10^4 내지 5×10^5 약독화된 암세포, 1×10^5 내지 1×10^6 약독화된 암세포, 5×10^5 내지 5×10^6 약독화된 암세포, 1×10^6 내지 1×10^7 약독화된 암세포, 5×10^6 내지 5×10^7 약독화된 암세포, 1×10^7 내지 1×10^8 약독화된 암세포, 5×10^7 내지 5×10^8 약독화된 암세포, 1×10^8 내지 1×10^9 약독화된 암세포, 5×10^8 내지 5×10^9 약독화된 암세포, 1×10^9 내지 1×10^{10} 약독화된 암세포, 5×10^9 내지 5×10^{10} 약독화된 암세포, 1×10^{10} 내지 1×10^{11} 약독화된 암세포, 5×10^{10} 내지 5×10^{11} 약독화된 암세포, 1×10^{11} 내지 1×10^{12} 약독화된 암세포, 5×10^{11} 내지 5×10^{12} 약독화된 암세포, 1×10^{12} 내지 1×10^{13} 약독화된 암세포, 5×10^{12} 내지 5×10^{13} 약독화된 암세포, 1×10^{13} 내지 1×10^{14} 약독화된 암세포, 5×10^{13} 내지 5×10^{14} 약독화된 암세포, 1×10^{14} 내지 1×10^{15} 약독화된 암세포, 5×10^{14} 내지 5×10^{15} 약독화된 암세포, 1×10^{15} 내지 1×10^{16} 약독화된 암세포, 5×10^{15} 내지 5×10^{16} 약독화된 암세포, 1×10^{16} 내지 1×10^{17} 약독화된 암세포, 5×10^{16} 내지 5×10^{17} 약독화된 암세포, 1×10^{17} 내지 1×10^{18} 약독화된 암세포, 5×10^{17} 내지 5×10^{18} 약독화된 암세포, 1×10^{18} 내지 1×10^{19} 약독화된 암세포, 5×10^{18} 내지 5×10^{19} 약독화된 암세포, 1×10^{19} 내지 1×10^{20} 약독화된 암세포, or 5×10^{19} 내지 5×10^{20} 약독 암세포를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 치료학적으로 적절한 양의 약독화된 암세포는 1×10^5 , 2×10^5 , 3×10^5 , 4×10^5 , 5×10^5 , 6×10^5 , 7×10^5 , 8×10^5 , 9×10^5 , 1×10^6 , 2×10^6 , 3×10^6 , 4×10^6 , 5×10^6 , 6×10^6 , 7×10^6 , 8×10^6 , 9×10^6 , 또는 1×10^7 약독화된 암세포를 포함할 수 있다. 약독화된 암세포의 치료학적으로 적

절한 양은 1×10^6 약독화된 암세포를 포함할 수 있다.

[0128]

일부 경우에, 약독화된 암세포를 수득하는 치료는 암세포의 물리적 또는 화학적 치료를 포함할 수 있다. 치료는 암세포에 스트레스를 가하거나, 저지(arrest)하거나, 성장을 억제하거나, 손상시킬 수 있다. 치료는 암세포의 화학적 또는 물리적 구성을 변경할 수 있다. 치료는 암세포의 성분, 분자, 화학물질, 또는 여기에 및 이들의 임의의 유도체를 증가 또는 감소시킬 수 있다. 일부 예에서, 치료는 암세포의 DNA를 손상시킬 수 있다. 치료는 세포의 집단 또는 그룹의 0 %, 1 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, or 100 %를 스트레스, 저지, 성장-억제 또는 손상시킬 수 있다. 치료는 암 세포 집단 또는 그룹의 1 내지 5 %, 2 내지 6 %, 3 내지 7 %, 4 내지 8 %, 5 내지 9 %, 6 내지 10 %, 7 내지 11 %, 8 내지 12 %, 9 내지 13 %, 10 내지 14 %, 11 내지 15 %, 12 내지 16 %, 13 내지 17 %, 14 내지 18 %, 15 내지 19 %, 16 내지 20 %, 17 내지 21 %, 18 내지 22 %, 19 내지 23 %, 20 내지 24 %, 21 내지 25 %, 22 내지 26 %, 23 내지 27 %, 24 내지 28 %, 25 내지 29 %, 26 내지 30 %, 27 내지 31 %, 28 내지 32 %, 29 내지 33 %, 30 내지 34 %, 31 내지 35 %, 32 내지 36 %, 33 내지 37 %, 34 내지 38 %, 35 내지 39 %, 36 내지 40 %, 37 내지 41 %, 38 내지 42 %, 39 내지 43 %, 40 내지 44 %, 41 내지 45 %, 42 내지 46 %, 43 내지 47 %, 44 내지 48 %, 45 내지 49 %, 46 내지 50 %, 47 내지 51 %, 48 내지 52 %, 49 내지 53 %, 50 내지 54 %, 51 내지 55 %, 52 내지 56 %, 53 내지 57 %, 54 내지 58 %, 55 내지 59 %, 56 내지 60 %, 57 내지 61 %, 58 내지 62 %, 59 내지 63 %, 60 내지 64 %, 61 내지 65 %, 62 내지 66 %, 63 내지 67 %, 64 내지 68 %, 65 내지 69 %, 66 내지 70 %, 67 내지 71 %, 68 내지 72 %, 69 내지 73 %, 70 내지 74 %, 71 내지 75 %, 72 내지 76 %, 73 내지 77 %, 74 내지 78 %, 75 내지 79 %, 76 내지 80 %, 77 내지 81 %, 78 내지 82 %, 79 내지 83 %, 80 내지 84 %, 81 내지 85 %, 82 내지 86 %, 83 내지 87 %, 84 내지 88 %, 85 내지 89 %, 86 내지 90 %, 87 내지 91 %, 88 내지 92 %, 89 내지 93 %, 90 내지 94 %, 91 내지 95 %, 92 내지 96 %, 93 내지 97 %, 94 내지 98 %, 95 내지 99 %, 또는 96 내지 100 %를 스트레스, 저지, 성장-억제 또는 손상시킬 수 있다.

[0129]

일부 경우에, 개인맞춤형 종양 백신은 암 세포 또는 암 세포 집단에 치료제를 투여하는 것을 포함할 수 있다. 치료는 조사 처리를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 조사 처리는 전파, 마이크로파, 적외선(IR), 가시광선, 자외선(UV), X선 및 감마선의 사용을 포함할 수 있다. 감마선 조사 처리는 1Gy, 10 Gy, 20 Gy, 30 Gy, 40 Gy, 50 Gy, 60 Gy, 70 Gy, 80 Gy, 90 Gy, 100 Gy, 110 Gy, 120 Gy, 130 Gy, 140 Gy, 150 Gy, 160 Gy, 170 Gy, 180 Gy, 190 Gy, 200 Gy, 210 Gy, 220 Gy, 230 Gy, 240 Gy, 250 Gy, 260 Gy, 270 Gy, 280 Gy, 290 Gy, 300 Gy, 310 Gy, 320 Gy, 330 Gy, 340 Gy, 350 Gy, 360 Gy, 370 Gy, 380 Gy, 390 Gy, 400 Gy, 410 Gy, 420 Gy, 430 Gy, 440 Gy, 450 Gy, 460 Gy, 470 Gy, 480 Gy, 490Gy, 또는 500Gy 감마 방사선을 포함할 수 있다. 감마선 조사는 1 내지 25 Gy, 2 내지 26 Gy, 3 내지 27 Gy, 4 내지 28 Gy, 5 내지 29 Gy, 6 내지 30 Gy, 7 내지 31 Gy, 8 내지 32 Gy, 9 내지 33 Gy, 10 내지 34 Gy, 11 내지 35 Gy, 12 내지 36 Gy, 13 내지 37 Gy, 14 내지 38 Gy, 15 내지 39 Gy, 16 내지 40 Gy, 17 내지 41 Gy, 18 내지 42 Gy, 19 내지 43 Gy, 20 내지 44 Gy, 21 내지 45 Gy, 22 내지 46 Gy, 23 내지 47 Gy, 24 내지 48 Gy, 25 내지 49 Gy, 26 내지 50 Gy, 27 내지 51 Gy, 28 내지 52 Gy, 29 내지 53 Gy, 30 내지 54 Gy, 31 내지 55 Gy, 32 내지 56 Gy, 33 내지 57 Gy, 34 내지 58 Gy, 35 내지 59 Gy, 36 내지 60 Gy, 37 내지 61 Gy, 38 내지 62 Gy, 39 내지 63 Gy, 40 내지 64 Gy, 41 내지 65 Gy, 42 내지 66 Gy, 43 내지 67 Gy, 44 내지 68 Gy, 45 내지 69 Gy, 46 내지 70 Gy, 47 내지 71 Gy, 48 내지 72 Gy, 49 내지 73 Gy, 50 내지 74 Gy, 51 내지 75 Gy, 52 내지 76 Gy, 53 내지 77 Gy, 54 내지 78 Gy, 55 내지 79 Gy, 56 내지 80 Gy, 57 내지 81 Gy, 58 내지 82 Gy, 59 내지 83 Gy, 60 내지 84 Gy, 61 내지 85 Gy, 62 내지 86 Gy, 63 내지 87 Gy, 64 내지 88 Gy, 65 내지 89 Gy, 66 내지 90 Gy, 67 내지 91 Gy, 68 내지 92 Gy, 69 내지 93 Gy, 70 내지 94 Gy, 71 내지 95 Gy, 72 내지 96 Gy, 73 내지 97 Gy, 74 내지 98 Gy, 75 내지 99 Gy, 76 내지 100 Gy, 77 내지 101 Gy, 78 내지 102 Gy, 79 내지 103 Gy, 80 내지 104 Gy, 81 내지 105 Gy, 82 내지 106 Gy, 83 내지 107 Gy, 84 내지 108 Gy, 85 내지 109 Gy, 86 내지 110 Gy, 87 내지 111 Gy, 88 내지 112 Gy, 89 내지 113 Gy, 90 내지 114 Gy, 91 내지 115 Gy, 92 내지 116 Gy, 93 내지 117 Gy, 94 내지 118 Gy, 95 내지 119 Gy, 96 내지 120 Gy, 97 내지 121 Gy, 98 내지 122 Gy, 99 내지 123 Gy, 100 내지 124 Gy, 101 내지 125 Gy, 102 내지 126 Gy, 103 내지 127 Gy, 104 내지 128 Gy, 105 내지 129 Gy, 106 내지 130 Gy, 107 내지 131 Gy, 108 내지 132 Gy, 109 내지 133 Gy, 110 내지 134 Gy, 111 내지 135 Gy, 112 내지 136 Gy, 113 내지 137 Gy, 114 내지 138 Gy, 115 내지 139 Gy, 116 내지 140 Gy, 117 내지 141 Gy, 118 내지 142 Gy, 119 내지 143 Gy, 120 내지 144 Gy, 121 내지 145 Gy, 122 내지 146 Gy, 123 내지 147 Gy, 124 내지 148 Gy, 125 내지 149 Gy, 126 내지 150 Gy 감마 방사선을 포함할 수 있다. 감마선 조사는 50Gy 감마 방사선을 포함할 수 있다. 치료 또는 감마선 조사 처리는 48시간, 46시간, 44시간, 42시간, 40시간, 38시간, 36시간, 34시간, 32시간, 30시간, 28시간, 26시간, 24시간, 22시간, 20시간, 18시간, 16시간, 14시간, 12시간, 10시간, 8시간, 6시간, 4시간, 3

시간, 2시간 또는 1시간, 55분, 55분, 50분, 45분, 40분, 35분, 30분, 25분, 20분, 15분, 10분, 5분, 1분 또는 1분 미만을 포함할 수 있다. 암 세포는 한 번의 치료를 받을 수 있다. 암 세포는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 그 이상의 치료를 받을 수 있다.

[0130] 경우에 따라 개인맞춤형 종양 백신은 1×10^0 내지 1×10^1 감마선 조사 암세포, 5×10^0 내지 5×10^1 감마선 조사된 암세포, 1×10^1 내지 1×10^2 감마선 조사된 암세포, 5×10^1 내지 5×10^2 감마선 조사된 암세포, 1×10^2 내지 1×10^3 감마선 조사된 암세포, 5×10^2 내지 5×10^3 감마선 조사된 암세포, 1×10^3 내지 1×10^4 감마선 조사된 암세포, 5×10^3 내지 5×10^4 감마선 조사된 암세포, 1×10^4 내지 1×10^5 감마선 조사된 암세포, 5×10^4 내지 5×10^5 감마선 조사된 암세포, 1×10^5 내지 1×10^6 감마선 조사된 암세포, 5×10^5 내지 5×10^6 감마선 조사된 암세포, 1×10^6 내지 1×10^7 감마선 조사된 암세포, 5×10^6 내지 5×10^7 감마선 조사된 암세포, 1×10^7 내지 1×10^8 감마선 조사된 암세포, 5×10^7 내지 5×10^8 감마선 조사된 암세포, 1×10^8 내지 1×10^9 감마선 조사된 암세포, 5×10^8 내지 5×10^9 감마선 조사된 암세포, 1×10^9 내지 1×10^{10} 감마선 조사된 암세포, 5×10^9 내지 5×10^{10} 감마선 조사된 암세포, 1×10^{10} 내지 1×10^{11} 감마선 조사된 암세포, 5×10^{10} 내지 5×10^{11} 감마선 조사된 암세포, 1×10^{11} 내지 1×10^{12} 감마선 조사된 암세포, 5×10^{11} 내지 5×10^{12} 감마선 조사된 암세포, 1×10^{12} 내지 1×10^{13} 감마선 조사된 암세포, 5×10^{12} 내지 5×10^{13} 감마선 조사된 암세포, 1×10^{13} 내지 1×10^{14} 감마선 조사된 암세포, 5×10^{13} 내지 5×10^{14} 감마선 조사된 암세포, 1×10^{14} 내지 1×10^{15} 감마선 조사된 암세포, 5×10^{14} 내지 5×10^{15} 감마선 조사된 암세포, 1×10^{15} 내지 1×10^{16} 감마선 조사된 암세포, 5×10^{15} 내지 5×10^{16} 감마선 조사된 암세포, 1×10^{16} 내지 1×10^{17} 감마선 조사된 암세포, 5×10^{16} 내지 5×10^{17} 감마선 조사된 암세포, 1×10^{17} 내지 1×10^{18} 감마선 조사된 암세포, 5×10^{17} 내지 5×10^{18} 감마선 조사된 암세포, 1×10^{18} 내지 1×10^{19} 감마선 조사된 암세포, 5×10^{18} 내지 5×10^{19} 감마선 조사된 암세포, 1×10^{19} 내지 1×10^{20} 감마선 조사된 암세포, 또는 5×10^{19} 내지 5×10^{20} gamma ray irradiated 감마선 조사된 암세포를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 개인맞춤형 종양 백신은 1×10^5 , 2×10^5 , 3×10^5 , 4×10^5 , 5×10^5 , 6×10^5 , 7×10^5 , 8×10^5 , 9×10^5 , 1×10^6 , 2×10^6 , 3×10^6 , 4×10^6 , 5×10^6 , 6×10^6 , 7×10^6 , 8×10^6 , 9×10^6 , 또는 1×10^7 감마선 조사된 암세포를 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 1×10^6 감마선 조사된 암세포를 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 2×10^6 감마선 조사된 암세포를 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 2.5×10^6 감마선 조사된 암세포를 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 5×10^6 감마선 조사된 암세포를 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신은 5.5×10^6 감마선 조사된 암세포를 포함할 수 있다.

[0131] 일부 예에서, 약독화된 암세포를 수득하는 치료는 또한 화학적 치료를 포함할 수 있다. 화학적 처리는 반응성 산소종(ROS)(예: 슈퍼옥사이드, 하이드록실 라디칼 및 과산화수소), 탈아미노제(예: 사이토신을 우라실로 전환하여 전이 돌연변이를 일으킬 수 있는 아질산), 다환 방향족 탄화수소(PAH), 알킬화제(예: 에틸니트로소우레아, 니트로사민, 머스타드 가스 및 염화비닐), 방향족 아민 및 아마이드(예: 2-아세틸아미노플루오렌), 식물의 알칼로이드, 브롬 및 화학 구조에 브롬을 포함하는 일부 화합물, 아지드화나트륨, 소랄렌, 벤젠, 브롬화 에티딘, 프로플라빈, 다우노루비신 및 일부 금속(비소, 카드뮴, 크롬, 니켈, 철, 코발트)를 포함할 수 있다.

[0132] 암 환자를 치료하는 방법

[0133] 암 또는 종양에 걸린 개체를 대상체-특이적인 약제학적 조성물의 유효량으로 치료하는 방법이 본원에 기재되어 있다. 일부 경우에, 대상체-특이적 약제학적 조성물은 예방(prophylactic) 또는 예방(preventative) 조성물일 수 있다. 대상체-특이적 약제학적 조성물은 치료(therapeutic) 또는 치료(treatment) 약제학적 조성물일 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체-특이적 약제학적 조성물은 대상체가 암으로 진단되기 전에 이를 필요로 하는 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체-특이적 약제학적 조성물은 대상체가 암으로 진단된 후 이를 필요로 하는 대상체에게 투여될 수 있다.

[0134] 일부 예에서, 대상체-특이적 약제학적 조성물은 식세포작용 자극제 또는 여기에 및 이들의 유도체; 면역자극 보조제 또는 여기에 및 이들의 유도체; 및 약독화된 암 세포 또는 여기에 및 이들의 유도체를 포함할 수 있다.

[0135] 일부 예에서, 대상체 특이적 약제학적 조성물은 식세포작용 자극제 또는 여기에 및 이의 유도체; 면역자극 보조제 또는 여기에 및 이의 유도체; 및 약 1.0×10^3 내지 약 1.0×10^7 약독화된 암세포를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 대상체 특이적 약제학적 조성물은 만난; 면역자극 보조제 또는 여기에 및 이의 유도체; 및 약독화된 암 세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 대상체 특이적 약제학적 조성물은 약 2 mg/용량 내지 약 200 mg/용량의 만난; 면역자극 보조제 또는 여기에 및 이의 유도체; 및 약독화된 암 세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 대상체 특이적 약제학적

조성물은 세포막용 생체적합성 앵커(BAM)에 접합된 식세포작용 자극제 또는 여기에 및 이의 유도체; 면역자극 보조제 또는 여기에 및 이의 유도체; 및 약독화된 암세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 대상체 특이적 약제학적 조성물은 BAM에 접합된 만난, 면역자극 보조제 또는 여기에 및 이의 유도체; 및 약독화된 암세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 대상체 특이적 약제학적 조성물은 약 0.2 mg/용량 내지 약 20 mg/용량 BAM에 접합된 만난; 면역자극 보조제 또는 여기에 및 이의 유도체; 및 약독화된 암세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 대상체 특이적 약제학적 조성물은 여기에 및 이의 화학식 I을 포함하는 BAM에 접합된 만난; 면역자극 보조제 또는 여기에 및 이의 유도체; 및 약독화된 암세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다.

[0136] 일부 예에서, 대상체 특이적 약제학적 조성물은 식세포작용 자극제 또는 여기에 및 이의 유도체; Toll 유사 수용체(TLR) 작용제; 및 약독화된 암세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 대상체 특이적 약제학적 조성물은 식세포작용 자극제 또는 여기에 및 이의 유도체; R-848, 폴리(I:C), 리포테이코산(LTA), 또는 이들의 조합; 및 약독화된 암세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 대상체 특이적 약제학적 조성물은 식세포작용 자극제 또는 여기에 및 이의 유도체; 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량 R-848, 폴리(I:C), 리포테이코산(LTA), 또는 이들의 조합; 및 약독화된 암세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 대상체 특이적 약제학적 조성물은 식세포작용 자극제 또는 여기에 및 이의 유도체; R-848, 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량 폴리(I:C), 리포테이코산(LTA), 또는 이들의 조합; 및 약독화된 암세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 대상체 특이적 약제학적 조성물은 식세포작용 자극제 또는 본원 및 그의 유도체; R-848, 폴리(I:C), 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량 리포테이코산(LTA), 또는 이들의 조합; 및 약독화된 암세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다.

[0137] 일부 예에서, 대상체 특이적 약제학적 조성물은 식세포작용 자극제 또는 여기에 및 이의 유도체; 항-CD40 항체; 및 약독화된 암세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 대상체 특이적 약제학적 조성물은 식세포작용 자극제 또는 여기에 및 이의 유도체; 약 0.04 mg/용량 내지 약 4 mg/용량 항-CD40 항체; 및 약독화된 암세포, 세포 집단 또는 여기에 및 이의 유도체를 포함할 수 있다.

[0138] 일부 예에서, 대상체 특이적 약제학적 조성물은 BAM에 부착된 만난, R-848, 폴리(I:C), LTA, 항-CD40 항체, 및 조사된 암세포를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 대상체 특이적 약제학적 조성물은 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량 BAM에 부착된 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량 만난, 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량 R-848, 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량 폴리(I:C), 약 0.05 mg/용량 내지 약 5 mg/용량 LTA, 약 0.04 mg/용량 내지 약 4 mg/용량 항-CD40 항체, 및 약 1.0×10^3 내지 약 1.0×10^7 조사된 암세포를 포함할 수 있다.

[0139] 또한, 본원에는 또한 본원 및 이에 기재된 개인맞춤형 암의 유효량으로 이를 필요로 하는 개체를 치료하는 방법이 기재된다.

[0140] 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물의 제조 방법

[0141] 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물은 대상체의 종양으로부터 추출된 조사된 세포 집단을 식세포작용 자극제 및 면역자극 보조제와 동시에 혼합하는 것을 포함할 수 있다. 다른 경우에, 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물은 대상체의 종양으로부터 추출된 조사된 세포 집단을 식세포작용 자극제 및 면역자극 보조제와 순차적으로 혼합하는 것을 포함할 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물은 대상체의 종양으로부터 추출된 조사된 세포 또는 세포 집단과 만난-BAM, R-848, 항-CD40 mAb, 폴리(I:C), 및 LTA를 혼합하여 개인맞춤형 종양 백신을 형성하는 것을 포함할 수 있다.

[0142] 부형제

[0143] 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물은 부형제를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 부형제는 보존제, 보조제, 희석제 또는 안정화제를 포함할 수 있다. 일부 예에서 부형제는 오염을 방지할 수 있다. 일부 예에서 부형제는 보관 중 백신 효능을 안정화할 수 있다. 일부 예에서, 부형제는 글루타민산일나트륨, 수크로스, D-만노스, D-과당, 텍스트로스, 인간 혈청 알부민, 인산칼륨, 플라스돈 C, 무수화 락토스, 미세결정질, 셀룰로오스, 폴라크릴린 칼륨, 마그네슘 스테아레이트, 셀룰로오스 아세테이트 프탈레이트, 알코올, 아세톤, 피마자유, 수산화알루미늄, 염화나트륨, 염화벤제토늄, 포름알데히드, 글리세린, 아스파라긴, 구연산, 황산마그네슘, 구연산철암모늄, 탄산나트륨, 필수아미노산, L-페닐알라닌, 비필수아미노산, L-아르기닌염산염, D-트레할로스이수화물, D-

소르비톨, 트로메타몰, 티메로살, 젤라틴, 요소, 등장성 염화나트륨, 글루타르알데히드, 2-페녹시에탄올, 폴리소르베이트 80(트윈 80), 네오마이신 설페이트, 폴리믹신 B, 2-페녹시에탄올, 네오마이신, 폴리믹신 B 설페이트, 소 혈청 알부민, 효모 단백질, 스트렙토마이신 설페이트, 암모늄 티오시아네이트, 명반, 알루미늄 함유 화합물, 숙주 세포 DAN 벤조나아제, 쌀 단백질, 무정형 알루미늄 하이드록시인산 황산염, MRC-5 세포 단백질, 포르말린, 식염수, Tween20, 아미노글리코사이드 항생제, 붕산나트륨, 인산이나트륨 이수화물, 인산이수소나트륨 이수화물, 효모 DNA, 포스포로티오에이트 연결 올리고옥시뉴클레오타이드, 이염기 십이수화물, 일염기 탈수소, 인산 완충액, L-히스티딘, 염화칼슘, 소듐 타우로데옥시콜레이트, 오브알부민, 베타-프로피리올락톤, 하이드로코르티손 티메로살, 스쿠알렌, 소르비탄 트리올레이트, 시트르산 이수화물, 카나마이신, 바륨, 하이드로코르티손, 계란 단백질, 세틸트리메틸암모늄 브로마이드(CTAB), TRITON X-100, 알파-토코페릴 하이드로젠 속시네이트, 겐타마이신 설페이트, 말토덱스트린 17, 말토덱스트린 4, 아르기닌, 말토오스, 히스티딘, 칼슘 헤파타글루콘산, 말토덱스트린 13, 헤파린, 라피노오스, 마이오-이노시톨, 자당, 소르비톨, 아라비톨, 과당, 글루콘산 칼륨, 아도니톨, 자일리톨, 소듐 티오설페이트, 아르기닌, 2-히드록시프로필- β -사이클로덱스트린, TRIS, 시트르산나트륨, 들시톨, 글리세롤, 여기에 및 이들의 임의의 유도체, 여기에 및 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다.

[0144] 일부 예에서, 개인맞춤형 암 백신 또는 약제학적 조성물의 부형제는 무정형 당을 포함할 수 있다. 일부 예에서, 무정형 당은 중량제 및 단백질 안정화제를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 무정형 당은 유리 형성 당을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 무정형 당은 수크로오스, 라피노오스, 트레할로오스, 스타키오스, 락토오스, 말토오스, 여기에 및 이들의 임의의 유도체 또는 조합을 포함할 수 있다. 당은 부피 증가에 효과적인 양 또는 단백질 안정화에 효과적인 양을 포함할 수 있다. 중량% 단위를 기준으로, 당은 약 1-10%, 5-15%, 10-20%, 15-25%, 20-30%, 25-35%, 30-40%, 35-45%, 40-50%, 45-55%, 50-60%, 55-65%, 60-70%, 65-75%, 70-80%, 75-85%, 80-90%, 85-95%, 또는 90-100% 범위로 존재할 수 있다.

[0145] 일부 예에서, 개인 맞춤형 암 백신 또는 약제학적 조성물의 부형제는 중점제를 포함할 수 있다. 중점제는 중합체 물질을 포함할 수 있다. 중합체 물질은 하이드록시에틸셀룰로스(HEC), 하이드록시프로필메틸셀룰로스(HPMC), 하이드록시프로필셀룰로스(HPC), 메틸셀룰로스(MC), 하이드록시에틸메틸셀룰로스(HEMC), 또는 에틸하이드록시에틸셀룰로스(EHEC) 및 기타 셀룰로스 유도체를 포함할 수 있다.

[0146] 일부 구현예에서, 부형제는 부형제가 없는 항원, 식세포작용 자극제, 세포 또는 세포집단의 건조 고형 제제와 대비해 건조 고형 제제에서 항원, 식세포작용 자극제, 또는 세포 또는 세포 집단의 안정성을 증가시킬 수 있다. 일부 경우에 최소 하나의 부형제가 개인맞춤형 종양 백신에 사용될 수 있다. 일부 경우에, 다중 부형제는 임의의 단독의 부형제보다 더 큰 효과를 제공할 수 있고, 어떤 경우에는 다중 부형제의 첨가 효과보다 항원, 식세포작용 자극제, 또는 세포 또는 세포 집단의 안정성에 대해 더 큰 효과를 제공할 수 있다.

[0147] 부형제 또는 부형제들은 개인맞춤형 된 종양 백신의 중량 또는 부피 기준 약 0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100%의 총량으로 조성물에 존재할 수 있다. 일부 예에서, 부형제 또는 부형제들은 개인맞춤형 된 종양 백신의 중량 또는 부피 기준 0-10%, 5-15%, 10-20%, 15-25%, 20-30%, 25-35%, 30-40%, 35-45%, 40-50%, 45-55%, 50-60%, 55-65%, 60-70%, 65-75%, 70-80%, 75-85%, 80-90%, 85-95%, 또는 90-100%의 총량으로 조성물에 존재할 수 있다.

[0148] 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물은 희석제를 포함할 수 있다. 희석제는 물, PBS 버퍼, 염화나트륨, MenCWY, DTaP-IPV, 탄산칼슘, 크산탄, 본원 및 이들에 기재된 보조제, 여기에 및 이들의 유도체, 또는 여기에 및 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다.

[0149] 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물의 투여

[0150] 일부 경우에, 개인맞춤형 종양 백신은 대상체에서 전달 또는 투여를 위한 조성물 또는 제형으로 백신을 포장하는 것을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 본원에 제공된 조성물 또는 약제학적 조성물의 투여는 생물학적 작용의 원하는 부위에 백신 또는 약제학적 조성물의 전달을 가능하게 하는 데 사용될 수 있는 방법을 지칭할 수 있다. 전달은 영향을 받는 조직 또는 신체 부위에 직접 적용하는 것을 포함할 수 있다. 전달에는 두개내 주사가 포함될 수 있다. 전달은 실질 주사, 경막내 주사, 심실내 주사, 또는 수조내 주사를 포함할 수 있다. 본원에 제공된 조성물은 임의의 방법으로 투여될 수 있다. 투여 방법은 흡입, 동맥내 주사, 뇌실내 주사, 수조내 주사, 근육내 주사, 안와내 주사, 실질내 주사, 복강내 주사, 척수강내 주사, 척수강내 주사, 정맥내 주사, 뇌실내 주사, 정위주사, 피하주사 또는 이들의 임의의 조합에 의한 것일 수 있다. 전달은 비경구 투여(정맥내, 피하, 척추강내, 복강내, 근육내, 혈관내 또는 주입 포함), 경구 투여, 흡입 투여, 십이지장내 투여, 직장내 투여를 포함할 수

있다. 전달은 피부와 같은 표면의 외부 표면에 대한 국소 투여(예: 로션, 크림, 연고)를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 투여는 실질 주사, 경막내 주사, 심실내 주사, 수조내 주사, 정맥내 주사, 또는 비강내 투여 또는 이들의 임의의 조합에 의한 것이다. 일부 예에서 대상체는 감독의 부재 하에서 조성물을 투여할 수 있다. 일부 예에서, 대상체는 의료 전문가(예를 들어, 의사, 간호사, 의사의 보조자, 주문자, 호스피스 직원 등)의 감독 하에 조성물을 투여할 수 있다. 의료 전문가는 조성물을 투여할 수 있다. 일부 경우에 미용 전문가가 조성물을 투여할 수 있다.

[0151]

본원에 기재된 암을 가진 개체를 치료하는 방법은 암을 가지거나 암이 의심되는 개체에 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 본원에 기재된 암을 가진 개체를 치료하는 방법은 또한 암이 없거나 암이 의심되는 개체에 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물의 투여를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 암은 가시세포종, 세엽세포암종(Acinic cell carcinoma), 속귀신경집종(Acoustic neuroma), 말단 흑색점흑색종(Acral lentiginous melanoma), 선단한선종(Acrospiroma), 급성 호산구성 백혈병(Acute eosinophilic leukemia), 급성 림프모구성 백혈병(Acute lymphoblastic leukemia), 급성 거핵모구성 백혈병, 급성 단핵구성 백혈병, 성숙한 급성 골수모구 백혈병(Acute myeloblastic leukemia with maturation), 성숙한 급성 골수성 수지상 세포 백혈병(Acute myeloid dendritic cell leukemia with maturation), 급성골수성백혈병, 급성전골수구성백혈병, 아다만티노마(Adamantinoma), 샘암종(Adenocarcinoma), 샘낭암종(Adenoid cystic carcinoma) 선종, 샘종모양치원성종양(Adenomatoid odontogenic tumor), 부신피질샘암종(Adrenocortical carcinoma), 성인T-세포 백혈병, 공격성NK-세포 백혈병, 에이즈-관련 암, 에이즈-관련 림프종, 포상연부육종(Alveolar soft part sarcoma), 사기질모세포 섬유종(Ameloblastic fibroma), 향문암, 역형성 대세포 림프종, 역형성 갑상선암, 혈관면역모세포 T 세포 림프종, 혈관근육지방종, 혈관육종, 부록암, 성상세포종, 비정형 기형 횡문근 종양, 기저 세포 암종, 기저 유사 암종, B 세포 백혈병, B세포 림프종, 벨리니관 암종, 담도암, 방광암, 모세포종, 골암, 골종양, 뇌간신경교종, 뇌종양, 유방암, 브레너종양, 기관지종양, 세기관지폐포암, 갈색종양, 버킷림프종, 알려지지 않은 원발성 부위의 암, 카르시노이드 종양(Carcinoid Tumor), 암종, 상피내암, 음경의 암종, 알려지지 않은 원발성 부위의 암종, 암육종, 캐슬만병, 중추신경계 배아종양, 소뇌 성상세포종, 대뇌성상세포종, 자궁경부암, 담관암종, 연골종, 연골육종, 척색종(Chordoma), 용모암(Choriocarcinoma), 맥락열기 유두종(Choroid plexus papilloma), 만성 림프구 백혈병, 만성 단구성 백혈병(Chronic monocytic leukemia), 만성골수증식성질환(Chronic Myeloproliferative Disorder), 만성호중구백혈병, 투명세포종양, 결장암, 결장직장암, 두개인두종, 피부T세포림프종, 데고스병, 용기성피부섬유육종(Dermatofibrosarcoma protuberans), 거대유피낭종, 섬유조직형성성 작은 원형세포종양(Desmoplastic small round cell tumor), 광범위 B형 대세포 림프종, 배아형성이상 신경상피종양(Dysembryoplastic neuroepithelial tumor), 배아암종, 내배엽동종양, 자궁내막암(Endometrial cancer), 자궁내막암(Endometrial Uterine Cancer), 자궁내막 모양 종양(Endometrioid tumor), 장병증관련 T세포 림프종, 뇌실막모세포종, 뇌실막종, 상피양육종, 적혈구백혈병, 식도암, 피부신경모세포종, 유잉종양군(Ewing Family of Tumor), 유잉종 육종, 유잉육종, 두개의 생식세포종양, 생식샘외종자세포종(Extragenital Germ Cell Tumor), 간외담관암, 유방외 파제트병, 나팔관암, 태아내 태아, 섬유종, 섬유육종, 여포성 림프종, 여포성 갑상선암, 담낭암, 담낭암, 신경교종, 신경절신경종, 위암, 위림프종, 위장관암, 위장관 유암종, 위장관 기질종양, 생식세포종양, 생식세포종, 임신 용모막암, 임신성 용모세포종, 골거대세포종양, 교모세포종, 신경교종, 악성 뇌교종(Gliomatosis cerebri), 사구체종양, 글루카곤종, 생식샘모세포종, 과립막세포종양(Granulosa cell tumor), 모발세포백혈병, 모발세포백혈병, 두경부암, 두경부암, 심장암, 혈관모세포종, 혈관주위세포종, 혈관육종, 혈액암(Hematological malignancy), 간세포암종, 간비장 T-세포 림프종, 유전성 유방-난소암 증후군, Hodgkin 림프종, Hodgkin' 림프종, 인두암, 시상하부 신경교종, 염증성 유방암, 안내 흑색종, 섬세포암종, 섬세포종양, 소아골수단구성백혈병, 카포시육종, 카포시육종, 신장암, 클라츠킨종양, 크루켄베르그 종양, 후두암, 후두암, 악성흑색점흑색종(Lentigo maligna melanoma), 백혈병, 입술 및 구강암, 지방육종, 폐암, 황체종, 림프관종, 림프관육종, 림프상피종, 림프성 백혈병, 림프종, 거대글로불린혈증, 악성 섬유성 조직구종, 악성 섬유성 조직구종, 악성 신경교종, 악성 중피종, 악성 말초신경초종양, 악성 횡문근 종양, 악성 트리톤 종양, MALT 림프종, 외투 세포 림프종, 비만 세포 백혈병, 종격동 생식 세포 종양, 종격동 종양, 갑상선 수질암, 수모세포종, 수상피종, 흑색종, 수막종, 메르켈 세포 암종, 중피종, 잠복원발성을 동반한 전이성 편평 경부암, 전이성 요로상피암, 혼합 밀리종양, 단핵구 백혈병, 구강암, 점액성 종양, 다발성 내분비종양 증후군, 다발성 골수종, 식육종, 골수이형성 질환, 골수이형성 증후군, 골수성 백혈병, 골수육종, 골수증식성 질환, 점액종, 비강암, 비인두암, 신생물(Neoplasm), 신경초종(Neurinoma), 신경모세포종, 신경섬유종, 신경종(Neuroma), 결절성 흑색종, 비호지킨 림프종, 비흑색종 피부암, 비소세포폐암, 안종양, 회소성상세포종, 회돌기교종, 종양세포종, 시신경초 수막종, 구

강암, 구강인두암, 골육종, 난소암, 난소 상피암, 난소 생식 세포 종양, 난소 저악성 잠재성 종양, 유방 파제트 병, 범해안 종양, 췌장암, 갑상선 유두암, 유두종증, 부신경절종, 부비동암, 부갑상선암, 음경암, 혈관주위 상피양 세포종양, 인두암, 갈색세포종, 송과체 중간분화종양, 송과체종, 뇌하수체 세포종, 뇌하수체 선종, 뇌하수체 종양, 형질세포종양, 흉막폐모세포종, 다배아종, 전구체 T-림프모세포 림프종, 원발성 중추신경계 림프종, 원발성 삼출성 림프종, 원발성 간세포암, 원발성 간암, 원발성 복막암, 원발성 신경외배엽종양, 전립선암, 가성 복막종, 직장암, 신장 세포 암종, 15번 염색체의 NUT 유전자를 포함하는 호흡기 암종, 망막모세포종, 횡문근종, 횡문근육종, 리히터 형질전환, 천골기형종, 타액선암, 육종, 신경초종증, 피지선암종, 이차성 신생물, 정액종, 장액종양, Sertoli-Leydig 세포종양, 성대간질종양, Sezary 증후군, 인장 고리 세포 암종, 피부암, 작은 파란색 원형 세포 종양, 소세포암, 소세포폐암, 소세포림프종, 소장암, 연조직육종, 체세포종, 검댕사마귀, 척수종양, 척추종양, 비장변연부림프종, 편평세포암, 위암, 표재전이흑색종, 천막상피 원시 신경외배엽종양, 표면상피-기질종양, 활액육종, T-세포 급성림프모구성백혈병, T-세포 대과립림프구성백혈병, T-세포백혈병, T-세포림프종, T-세포전림프구성백혈병, 기형종, 말기림프암, 고환암, 테코마, 인후암, 흉선암, 흉선종, 갑상선암, 신우 및 요관의 이행세포암, 이행세포암, 우라칼 암, 요도암, 비뇨생식기 신생물, 자궁 육종, 포도막 흑색종, 질암, Verner Morrison 증후군, Verrucous 암종, 시각 경로 신경교종, 외음부 암, Waldenstrom 거대 글로불린혈증, Warthin 종양 또는 Wilms 종양을 포함할 수 있다.

[0152] 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물의 투여 또는 적용은 적어도 약 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, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100일 연속 또는 비연속일의 치료기간 동안 수행될 수 있다. 치료 기간은 약 1 내지 약 30일, 약 2 내지 약 30일, 약 3 내지 약 30일, 약 4 내지 약 30일, 약 5 내지 약 30일, 약 6 내지 약 30일, 약 7 내지 약 30일, 약 8 내지 약 30일, 약 9 내지 약 30일, 약 10 내지 약 30일, 약 11 내지 약 30일, 약 12 내지 약 30일, 약 13 내지 약 30일, 약 14 내지 약 30일, 약 15 내지 약 30일, 약 16 내지 약 30일, 약 17 내지 약 30일, 약 18 내지 약 30일, 약 19일 내지 약 30일, 약 20일 내지 약 30일, 약 21일 내지 약 30일, 약 22일 내지 약 30일, 약 23일 내지 약 30일, 약 24일 내지 약 30일, 약 25일 내지 약 30일, 약 26 내지 약 30일, 약 27 내지 약 30일, 약 28 내지 약 30일, 또는 약 29 내지 약 30일 일 수 있다.

[0153] 본원에 개시된 조성물의 투여 또는 적용은 적어도 약 1주, 적어도 약 1개월, 적어도 약 1년, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년, 적어도 약 5년, 적어도 약 6년, 적어도 약 7년, 적어도 약 8년, 적어도 약 9년, 적어도 약 10년, 적어도 약 15년, 적어도 약 20년, 또는 그 초과와 치료 기간 동안 수행될 수 있다. 투여는 대상체의 평생동안 한 달에 한 번 또는 1년에 한 번과 같이 대상체의 평생 동안 반복적으로 수행될 수 있다. 투여는 적어도 약 1년, 5년, 10년, 15년, 20년, 25년, 30년 또는 그 초과 동안 한 달에 한 번 또는 1년에 한 번과 같이 대상체의 수명의 실질적인 부분에 걸쳐 반복적으로 수행될 수 있다..

[0154] 일부 경우에, 약제학적 조성물을 포함하여 본원에서 제공되는 임의의 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물의 투여는 예를 들어 질병 또는 상태의 증상을 감소시키고/시킴거나 질병 또는 상태를 감소시키기 위한 유효량일 수 있다. 일부 예에서, 유효량은 원하는 효과를 달성하기에 충분한 양이다. 치료적 또는 예방적 적용과 관련하여, 유효량은 문제가 되는 상태의 유형 및 중증도, 그리고 개별 대상체의 특징, 예를 들어 약제학적 조성물에 대한 일반적인 건강, 연령, 성별, 체중 및 내성에 따라 달라질 것이다. 면역원성 조성물의 맥락에서, 일부 구현예에서 유효량은 병원체에 대한 보호 반응을 일으키기에 충분한 양이다. 다른 실시예에서, 면역원성 조성물의 유효량은 항원에 대한 항체 생성을 초래하기에 충분한 양이다. 일부 구현예에서, 유효량은 이를 필요로 하는 대상에게 수동 면역을 부여하는 데 필요한 양이다. 면역원성 조성물과 관련하여, 일부 구현예에서 유효량은 상기 기재된 인자에 더하여 의도된 용도, 특정 항원성 화합물의 면역원성 정도, 및 대상체의 면역계의 건강/반응성에 의존할 것이다.

[0155] 투여(Dosing)

[0156] 본원에 개시된 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물의 투여 또는 적용은 하루에 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 또는 24회 수행될 수 있다. 일부 경우에, 본원에 개시된 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물의 투여 또는 적용은 한 주에 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 21회 수행될 수 있다.. 일부 경우에, 본원에 개시된 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물의 투여 또는 적용은 한 달에 적어도 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, 또는 90회 수행될 수 있다.

[0157] 본원에 개시된 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물은 단일 용량 또는 분할 용량으로 투여/적용될 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물은 제1 시점 및 제2 시점에서 투여될 수 있다. 일부 경우에, 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물은 1시간, 2시간, 4시간, 8시간, 12시간, 16시간, 20시간, 1일, 2일, 4일, 7일, 2주, 4주, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 1년 또는 그 초과의 투여 시간의 차이로 첫 번째 투여가 다른 투여보다 먼저 투여되도록 투여될 수 있다.

[0158] 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물의 유효량은 종양의 크기를 감소시킬 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물은 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물의 투여 전 종양 크기의 0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100%로 종양 크기를 감소시킬 수 있다. 일부 예에서, 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물의 유효량은 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물의 투여 전에 종양 크기의 1-10%, 5-15%, 10-20%, 15-25%, 20-30%, 25-35%, 30-40%, 35-45%, 40-50%, 45-55%, 50-60%, 55-65%, 60-70%, 65-75%, 70-80%, 75-85%, 80-90%, 85-95% 또는 90-100%로 종양의 크기를 감소시킬 수 있다.

[0159] 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물의 유효량은 암세포의 수를 감소시킬 수 있다. 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물은 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물의 투여 전 암 세포 수의 0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100% 까지 암 세포 수를 감소시킬 수 있다. 일부 예에서, 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물의 유효량은 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물의 투여 전 암 세포 수의 1-10%, 5-15%, 10-20%, 15-25%, 20-30%, 25-35%, 30-40%, 35-45%, 40-50%, 45-55%, 50-60%, 55-65%, 60-70%, 65-75%, 70-80%, 75-85%, 80-90%, 85-95% 또는 90-100%까지 암 세포 수를 감소시킬 수 있다..

[0160] 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물의 유효량은 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물이 투여된 대상체의 수명을 연장할 수 있다. 일부 예에서, 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물의 유효량은 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물이 투여된 대상체의 수명을 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일, 10일, 11일, 12일, 13일, 14일, 15일, 16일, 17일, 18일, 19일, 20일, 21일, 22일, 23일, 24일, 25일, 26일, 27일, 28일, 29일, 30일, 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 12개월, 1년, 2년, 3년, 4년, 5년, 6년, 7년, 8년, 9년, 10년, 11년, 12년, 13년, 14년, 15년, 16년, 17년, 18년, 19년, 20년, 21년, 22년, 23년, 24년, 25년, 26년, 27년, 28년, 29년, 30년, 31년, 32년, 33년, 34년, 35년, 36년, 37년, 38년, 39년, 40년, 41년, 42년, 43년, 44년, 45년, 46년, 47년, 48년, 49년, 50년 또는 50년 초과까지 연장시킬 수 있다. 일부 예에서, 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물의 유효량은 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물이 투여된 대상체의 수명을 1일 내지 1개월, 25일 내지 6개월, 5개월 내지 12개월, 10개월 내지 2년, 1년 내지 5년, 4년 내지 10년, 9년 내지 15년, 14년 내지 20년, 19년 내지 25년, 24년 내지 30년, 29년 내지 35년, 34년 내지 40년, 39년 내지 45년, 또는 44년 내지 50년의 시간만큼 연장시킬 수 있다.

[0161] 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물의 유효량은 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물이 투여된 대상체의 암 발병을 지연시킬 수 있다. 일부 예에서, 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물의 유효량은 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물이 투여된 대상체의 암 발병을 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일, 10일, 11일, 12일, 13일, 14일, 15일, 16일, 17일, 18일, 19일, 20일, 21일, 22일, 23일, 24일, 25일, 26일, 27일, 28일, 29일, 30일, 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 12개월, 1년, 2년, 3년, 4년, 5년, 6년, 7년, 8년, 9년, 10년, 11년, 12년, 13년, 14년, 15년, 16년, 17년, 18년, 19년, 20년, 21년, 22년, 23년, 24년, 25년, 26년, 27년, 28년, 29년, 30년, 31년, 32년, 33년, 34년, 35년, 36년, 37년, 38년, 39년, 40년, 41년, 42년, 43년, 44년, 45년, 46년, 47년, 48년, 49년, 50년 또는 50년 초과만큼 지연시킬 수 있다. 일부 예에서, 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물의 유효량은 개인맞춤형 종양 백신 또는 약제학적 조성물이 투여된 대상체의 암 발병을 1일 내지 1개월, 25일 내지 6개월, 5개월 내지 12개월, 10개월 내지 2년, 1년 내지 5년, 4년 내지 10년, 9년 내지 15년, 14년 내지 20년, 19년 내지 25년, 24년 내지 30년, 29년 내지 35년, 34년 내지 40년, 39년 내지 45년 또는 44년 내지 50년 시간

의 양 만큼 지연시킬 수 있다

- [0162] 실시예
- [0163] 이들 실시예는 예시의 목적으로만 제공되며 본원에 제공된 청구 범위를 제한하지 않는다.
- [0164] 실시예 1: 피하 원발성 및 전이성 원거리 종양의 마우스 모델.
- [0165] 본원에서는 피하 원발성 및 전이성 원거리 종양을 연구하기 위한 마우스 모델을 생성하는 방법이 제공된다.
- [0166] 세포주
- [0167] CT26 결장 암종 세포(carcinoma cells)는 ATCC로부터 입수하였다. 종양 세포를 10%(vol/vol) FBS(Gibco), 100 Uml-1 페니실린, 100 μ gml-1 스트렙토마이신(Gibco)을 포함하는 완전 배지(RPMI 1640, Gibco)에서 배양했다. 사용된 모든 세포주는 PCR 증폭을 사용하여 마이코플라스마 오염에 대해 음성인 것으로 나타났다.
- [0168] CT26 종양-보유 마우스 모델
- [0169] 원발성 및 전이성 원거리 종양을 연구하기 위한 마우스 모델을 확립하기 위해 종양 세포를 우측 및 좌측 옆구리에 각각 주입하여 원발성 종양 및 원거리 전이성 종양을 형성하였다.
- [0170] 마우스를 유지하고, NCI 동물 사용 및 관리 위원회의 승인을 받아 실험을 수행했다. 암컷 BALB/c(6-8주령)는 Charles River Laboratory에서 구입했다. 100-200 μ L PBS에 현탁된 5.5×10^5 및 2.5×10^5 CT26 세포를 도 1a에 도시된 바와 같이 우측 또는 좌측 옆구리의 101 및 102 에 각각 피하 주사하였다. 종양 부피는 캘리퍼스를 사용하여 주당 2회 측정하고 공식: 부피(mm³) = $L \times W^2/2$, 여기서 L은 종양의 길이이고 W는 너비(밀리미터)이다. 도 1b는 식염수 주사 10일 후 CT26 종양 보유 마우스의 대표적인 사진을 나타낸다.
- [0171] 통계
- [0172] 동물 연구의 표본 크기는 경험적으로 결정되었다. 무작위화에 대한 포함 기준으로서 사용된 미리 설정된 시작 종양 크기는 파일럿 실험에 의해 결정되었다. 결과 측정 동안 그룹 할당에서 맹검되지 않은 조사자는 무작위화를 수동으로 수행했다. 모든 동물 연구에 대한 생존 증점은 다음 기준에 따라 정의되었다: (1) 종양 부피 2000 mm³ 초과, (2) 종양 직경2 cm 초과, (3) 종양에 걸친 심각한 비-치유 피부 괴사.
- [0173] GraphPad Prism 소프트웨어를 사용하여 종양 성장을 분석하고 Mann-Whitney 테스트 및 Dunn의 다중 비교 테스트로 Kruskal-Wallis를 사용하여 치료 그룹 간의 평균 종양 부피의 통계적 차이를 테스트했다. P 값 < 0.05는 통계적으로 유의한 것으로 간주되었다. 생존 분석을 위해 Kaplan-Meier 곡선이 생성되었다. P 값은 Log-rank(Mantel-Cox) 테스트를 사용하여 계산되었다.
- [0174] 실시예 2: 원발성 종양에서의 *in situ* MBTA 주사는 T-세포 의존적 대상체-특이적 면역 반응을 통해 원거리 종양 성장을 억제함
- [0175] 본원에서는 원발성 및 원거리 종양의 성장을 치료하기 위해 MBTA를 사용하는 방법을 제공한다.
- [0176] MBTA 면역요법 전략
- [0177] 도 2a는 MBTA 치료의 일반적인 전략을 보여준다. 수지상 세포, 대식세포, 단핵구 및 호중구와 같은 선천성 면역 세포에 대한 만난-BAM의 유도 효과를 강화하기 위해 3개의 TLR 리간드(리포-테이코산(LTA), 폴리이노신-폴리시티딜산(poly(I:C)), 레스퀴모드(R-848)), 및 면역자극성 항-CD40-mAb(재조합 마우스 CD40 융합 단백질, Bio X Cell, 카탈로그 번호: BE0016-2, 클론 번호: FGK4.5/ FGK45)가 보조제로써 통합되었다. *Bacillus subtilis*의 LTA는 TNF α 분비를 증가시키는 것으로 알려진 TLR2 매개 염증성 경로를 활성화 시킨다. 바이러스 dsRNA의 합성 유사체인 폴리(I:C)는 이전에 APC를 활성화하는 것으로 입증된 TLR3 매개 신호 전달을 활성화하고, 종양 관련 대식세포의 표현형을 조절하여 점점 더 면역지지가 되도록 하며, 종양 세포 사멸을 유도한다. 이미다조퀴놀린아민 및 바이러스 ssRNA의 합성 유사체인 R-848은 TLR7/8 경로를 활성화하여 Th1 세포 매개 면역을 유도한다. 일부 예에서, 항-CD40-mAb를 도입하여 T-세포 상에서 종양 괴사 인자 수용체인 CD40 수용체를 활성화시키기 위해 천연 리간드를 모방하였다.
- [0178] 수지상 세포(DC)는 개인맞춤형 종양 백신에 의한 항종양 반응의 유도에 사용된다. DC S 는 B 세포보다 T 세포의 증식을 유도하는데 100배 더 효과적이다. DC는 나이브 T 세포를 항원 특이적 세포독성 CD4⁺ 또는 CD8⁺ T 림프구로 만드는 가장 강력한 항원 제시 세포이다. DC는 MHC 클래스 II 분자에 외인성 항원을 제시하거나 MHC 클래스

I 분자에 내인성 항원을 제시할 수 있다. 일부 경우에 DC는 세포독성 T 림프구 생성에 필요한 MHC 분자에 외인성 항원을 나타낼 수도 있다. DC는 또한 T 헬퍼(Th)1, Th2 또는 Th17 분극 반응을 유도할 수 있다.

[0179] DC는 나이브 T 세포를 프라이머 처리하기 위해 성숙 과정을 거쳐야 한다. 미성숙 DC는 PAMP, 염증성 사이토카인 및 TLR 작용제; 흥선 기질 림프포이에틴; TLR 작용제 및 CD40 작용제; 또는 Wnt-B-카드헤린의 조합에 의해 성숙을 겪도록 유도될 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 개인맞춤형 종양 백신에서 DC는 LTA, 폴리(I:C), R-848 및 항-CD40 mAb의 조합에 의해 성숙될 수 있다.

[0180] DC는 선천성 면역과 적응 면역 반응 사이의 연결을 나타낸다: 선천성 면역 반응 세포로서, DC는 만난-BAM과 연관된 약독화된 암세포와 같은 병원체를 삼키거나 식균할 수 있다. 그런 다음 적응 면역 세포 T-세포의 활성화를 위해 림프절로 이동한다. 그곳에서 DC는 거의 세포막 표면의 MHC 분자를 사용하여 그의 세포 표면 상의 식균된 약독화 암세포의 항원을 소화하고 발현한다. 그런 다음 암 항원의 제시는 T-세포 분화 및 증식을 활성화시키고, 병원체가 제거된 후에도 오랫동안 면역학적 기억을 활성화한다. 면역계가 유사하거나 동일한 병원체를 만날 때 T 세포와 B 세포에 의한 강력한 면역 반응, 즉 적응 면역 반응이 촉발된다. 따라서 DC는 선천성 면역 반응과 적응 면역 반응 사이의 물리적 연결을 나타낸다.

[0181] 약물 합성

[0182] BAM(Mannan-BAM)에 대한 만난의 연결은 BAM의 소수성 올레일 그룹을 통해 만난이 종양 세포막에 고정되는 것을 용이하게 했다. BAM은 이어서 MASP1 및 MASP2 단백질의 동원을 통해서 선천성 면역 세포 상의 패턴 인식 수용체에 의한 만난의 인식을 이용하여 보체 성분(예: C2, C3 및 C4)을 활성화시켜서 선천성 면역 세포에 의한 종양 세포의 옵소닌 식세포작용을 유도하였다.

[0183] 종양 세포를 죽인 후, CD40 수용체에 대한 항-CD40-mAb의 결합은 항원 제시 세포를 활성화하여 림프절의 나이브 T-세포에 종양 항원을 제시한다. 이후 나이브 T-세포는 적응 면역 반응을 길게 지속하기 위하여 헬퍼 CD4⁺ 및 세포독성 CD8⁺ T-세포로 분화되었다.

[0184] 만난 및 Poly(I:C)는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO)에서 입수했다. LTA는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO) 및 InvivoGen(San Diego, CA)에서 입수했다. R-848은 Tocris Bioscience(Minneapolis MN)에서 입수했다. 일부 경우에, 항-마우스 CD40(클론: FGK4.5/GFK45)은 BioXCell(West Lebanon, NH)에서 입수했다. 세포막용 생체적합성 앵커(BAM)는 NOF America Corporation(White Plains, NY)에서 입수했다.

[0185] 만난-BAM 합성은 이전에 보고된 대로 수행되었다(Janotová et al. PLoS One 2014, 9, e85222. 아민화 만난은 이전에 보고된 대로 환원성 아민화에 의해 제조되었다(Torosantucci et al. J. Exp. Med. 2005, 202, 597). 암 모델 아세트이트(300 mg mL⁻¹) 환경에서 만난 용액을 pH 7.5 및 50 ° C에서 0.2 m 소듐 시아노보로하이드라이드로 5일 동안 환원했다. 용액은 4 ° C에서 밤새 PBS에 대해 MWCO 3500 투석 튜브(Serva, Heidelberg, Germany)를 사용하여 추가로 투석시켰다. 만난의 아미노기 상의 BAM의 결합은 Kato et al.(Biotechnol. Prog. 2004, 20, 897)에 따라 pH 7.3에서 수행되었다. BAM의 N-하이드록시숙신이미드(NHS) 기는 실온에서 1시간 이내에 만난의 아미노기와 반응시켰다. 투석 후 수득된 용액은 사용할 때까지 -20 ° C에서 냉동 보관했다.

[0186] *In situ* MBTA 주사

[0187] *In situ* MBTA 주사를 위해, PBS 중 0.2 mM 만난-BAM mL 당 0.5 mg R-848 (HCl 형태), 0.5 mg poly(I:C), 0.5 mg LTA, 및 0.4 mg 항-CD40으로 이루어진 치료 혼합물 50 µL를 종양 내 주사하였다.

[0188] 원발성 및 원격 종양의 MBTA 치료

[0189] 실시예 1의 마우스 모델을 이용하여 MBTA 치료의 유효성을 조사하였다.

[0190] 도 2b 에 언급된 바와 같이, 10일 후, 좌측 옆구리 종양(평균 좌측 옆구리 종양 부피 - 31.3 mm³)을 보유하는 마우스를 2개의 치료 아암으로 무작위 배정하였다: 정상 식염수(대조군) 및 우측 옆구리 종양에 *in situ* MBTA 주사. 치료는 3일 동안 매일 투여한 다음 총 4주 동안 매주 반복하였다. 종양 성장은 생존 종점까지 주 2회 평가되었다. 실험은 2회 수행하였다. 이들 마우스의 대표적인 사진을 도 2c에 나타내었다.

[0191] 도 2d 및 도 2e에 언급된 바와 같이, 치료 시작 4일 후, 우측 및 좌측 옆구리 종양 부피는 둘 다 *in situ* MBTA 주사된 마우스와 식염수 처리된 마우스 사이에서 통계적으로 유의한 차이를 나타낸다(*in situ* MBTA vs. 식염수 처리된 마우스의 종양 종양 부피 ± SEM: 우측 옆구리 처리된 종양 - 74.4 ± 8.8 대 150.2 ± 28.1 mm³. p =

0.0041; 좌측 옆구리 원거리 종양 - 39.7 ± 5.3 대 $111.0 \pm 11.5 \text{ mm}^3$, $p = 0.0006$).

[0192] *In situ* MBTA 주사된 마우스는 도 2f에 도시된 바와 같이, 식염수 처리된 마우스에 비해 유의하게 개선된 생존을 보였다(*in situ* MBTA vs. 식염수 처리된 마우스의 중앙 생존 $\pm$ SEM: 67 ± 11.7 vs. 18 ± 1.2 일, Log-rank test에 의한 $p = 0.0002$). 2/7(28.6%) MBTA 처리된 마우스는 연구 기간 동안 완전한 퇴행(CR)을 달성했다. 따라서 원발성 종양으로의 MBTA의 *in situ* 주사는 원위 종양 성장을 억제했다.

[0193] 관찰된 항종양 효과가 T-세포에 의해 매개되는지를 결정하기 위해, CT26 종양-보유 마우스에서 $CD4^+$ 또는 $CD8^+$ T-세포를 고갈시키기 위하여 항체를 치료 전과 치료 중에 투여하였다. $CD8^+$ 및 $CD4^+$ 고갈 그룹의 마우스에 각각 $250\mu\text{g}$ 의 $CD8$ -고갈 항체(클론 53-6.7; BioXcell) 및 $CD4$ -고갈 항체(클론 GK1.5; BioXcell)를 주사했다. 주사는 -2일, -1일, 치료 개시일(-2, -1, 0일)에 투여하고 그 이후에는 매주 투여하였다. T-세포 고갈은 도 2g에 도시된 바와 같이 치료 개시 16일 후 유세포 분석을 통해 확인되었다. $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T-세포 고갈 마우스는 도 2b에 도시된 바와 같이 동일한 *in situ* MBTA 치료 스케줄이 적용되었다. 도 2h와 2i는 치료 10일 후 원발성 종양과 원거리 종양 모두 비-T-세포 고갈된 *in situ* MBTA 처리 마우스, $CD4^+$ 고갈된 *in situ* MBTA 처리된 마우스, $CD8^+$ 고갈된 *in situ* MBTA 처리된 마우스 및 식염수 처리된 마우스 (중앙 종양 부피 $\pm$ SEM: $CD4^+$ 고갈된 vs. 비-T-세포 고갈된 *in situ* MBTA 처리 마우스 - 199.6 ± 71.3 vs. $136.9 \pm 19.8 \text{ mm}^3$, Bonferroni 조정된 $p > 0.05$)에 상응하는 종양 부피($p = 0.0019$ 및 0.0057)에서 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다는 것을 보여준다.

[0194] *In situ* MBTA 처리된 마우스 및 식염수 처리된 대조군 마우스 둘 모두의 $CD8^+$ 고갈된 원발성 종양 부피는 *in situ* MBTA 처리된 마우스에서 고갈된 비-T-세포에 대비해 유의하게 컸다(중앙 종양 부피 $\pm$ SEM: $CD8^+$ 고갈된 vs. 비-T-세포 고갈된 *in situ* MBTA 처리된 마우스 - 222.4 ± 31.9 vs. $136.9 \pm 19.8 \text{ mm}^3$ Bonferroni 조정된 $p = 0.0420$; 식염수 처리된 vs. 비-T-세포 고갈된 *in situ* MBTA 처리 마우스 - 595.4 ± 133.9 vs. $136 \pm 19.8 \text{ mm}^3$. Bonferroni 조정된 $p = 0.0111$). 따라서 $CD8^+$ T-세포는 원발성 종양의 종양 성장 조절에 유의한 영향을 미친다.

[0195] 도 2i에 도시된 것과 같이 원거리 종양 부피에서 $CD4^+$ 또는 $CD8^+$ 고갈된 *in situ* MBTA 처리 마우스와 식염수 처리 대조군 마우스 간에는 유의한 차이가 검출되지 않았다(중앙 종양 부피 $\pm$ SEM: $CD4^+$ 고갈된 *in situ* MBTA 처리 대 식염수 처리 마우스 - 448.7 ± 291.1 대 $607.4 \pm 121.1 \text{ mm}^3$. Bonferroni 조정된 $p > 0.05$, $CD8^+$ 고갈된 *in situ* MBTA 처리 대 식염수 처리 마우스 - 582.5 ± 75.6 대 $607.4 \pm 121.1 \text{ mm}^3$, Bonferroni 조정된 $p > 0.05$). 비-T-세포 고갈된 *in situ* MBTA 처리 마우스의 원거리 종양은 식염수 처리된 대조군 마우스의 종양보다 유의하게 작았다 (중앙 종양 부피 $\pm$ SEM: 비-T-세포 고갈된 *in situ* MBTA 처리된 vs. 식염수 처리된 마우스 - 158.7 ± 72.5 vs. $607.4 \pm 121.1 \text{ mm}^3$, Bonferroni 조정된 $p = 0.0074$). 좌측 옆구리 종양 성장 데이터는 $CD4^+$ 및 $CD8^+$ T-세포가 전이성 원거리 종양의 종양 성장 조절에 유의한 영향을 미친다는 것을 시사한다. 더욱이, 상기 언급된 4개의 처리군 사이의 생존율은 유의하게 상이했다 (Log-rank test $p = 0.0003$). 또한, 도 2j에 도시된 것과 같이, $CD4^+$ 및 $CD8^+$ 고갈된 *in situ* MBTA 처리된 마우스 둘 다 식염수 처리된 대조군 마우스에 대비해 생존에 유의한 개선을 나타내지 않았다(중앙 생존 $\pm$ SEM: $CD4^+$ 고갈된 *in situ* MBTA 처리 대 식염수 처리 마우스 - 21 ± 3.2 vs. 17 ± 0.9 일, Tukey-Kramer 조정된 $p > 0.05$). 비-T-세포 고갈된 *in situ* MBTA 처리된 마우스는 식염수 처리된 대조군 마우스 보다 생존에서 유의한 개선을 입증했다(비-T-세포 고갈된 *in situ* MBTA 처리된 마우스 vs. 식염수 처리된 마우스의 중앙 생존 $\pm$ SEM: 28 ± 2.4 vs. 17 ± 0.9 , Tukey-Kramer 조정된 $p > 0.0002$). 따라서 원위 종양에서 MBTA의 치료 효과는 T 세포에 의존한다.

[0196] 도 2f에서 *in situ* MBTA 주사된 마우스의 중앙 생존을 비교할 때, *in situ* MBTA 주사된 처리군의 비-T-세포 고갈된 마우스는 감소된 중앙 생존 시간을 가졌다(도 2f에서 *in situ* MBTA 주사된 마우스 vs. 비-T-세포 고갈된 *in situ* MBTA 주사된 마우스의 중앙 생존 $\pm$ SEM: 도 2j에서 67 ± 11.7 vs. 28 ± 2.4 일). 생존 시간의 차이는 각 실험의 실험 설계에 기인할 수 있다: 도 2f의 동물은 좌측 옆구리에 2.5×10^5 CT26 종양 세포를 피하 접종하여 원거리(대표적인 전이성) 종양을 확립한 반면, 실험에서의 동물은 5.0×10^5 CT26 종양 세포를 접종했다. 치료 시작 시, 이 섹션의 동물은 도 2f의 동물과 비교하여 상당히 더 큰 좌측 옆구리 원위 종양을 발달시

켰고, 따라서 연구 종점에 실질적으로 더 빨리 도달했다. 그럼에도 불구하고 좌측 옆구리 종양을 확립하는 데 사용되는 CT26 세포의 수에서 앞서 언급한 차이에도 불구하고, 두 실험 모두 원발성 종양에 MBTA로 *in situ* 처리는 대조군과 비교할 때 원위 종양의 종양성장을 유의하게 감소시켰고, MBTA 처리된 마우스의 종양 생존을 개선시켰음을 독립적으로 확인시켜준다.

[0197] 실시예 3: 유세포분석을 이용한 종양의 면역표현형(I.P.)

[0198] 본원은 종양의 I.P.를 위한 유세포 분석 방법을 제공한다.

[0199] CT26 종양을 실시예 1에서와 같이 우측 및 좌측 옆구리에 확립하였다. 두 개의 독립적인 I.P. 실험 세트는 치료 시작 후 10일 및 16일 후에 완료되었다. 각 I.P. 실험은 대조군(n=5) 및 MBTA 처리된 마우스(n=5)로 구성되었다. 마우스를 희생시킨 후, 우측 및 좌측 옆구리 종양을 모두 절제하고 종양 해리 키트(Miltenyi Biotec)를 사용하여 효소 소화의 존재 하에 GentleMACS 해리기(Miltenyi Biotec)를 사용하여 기계적 파괴를 수행했다.

[0200] 유세포 염색을 위한 항체를 표 2에 나열했다.

표 2

[0201] : 유세포 분석에 사용된 항체

항체 실험	표적	형광색소	클론	소스
선천성 면역 세포 분석	CD45.2	APC/시아닌7	104	BioLegend, 미국, cat. no. 109824
선천성 면역 세포 분석	CD11c	APC	HL3	BD Biosciences, 미국, cat. no. 550261
선천성 면역 세포 분석	I-A/I-E(MHC II)	브릴리언트 바이올렛 711TM	M5/114.15.2	BioLegend, 미국, cat. no. 107643
선천성 면역 세포 분석	CD11b	PE	M1/70	BioLegend, 미국, cat. no. 101208
선천성 면역 세포 분석	Ly-6G	PE /Cy7	1A8	BioLegend, 미국, cat. no. 127618
선천성 면역 세포 분석	Ly-6C	BV421	AL-21	BD Biosciences, 미국, cat. no. 562727
선천성 면역 세포 분석	CD206(MMR)	FITC	C068C2	BioLegend, 미국, cat. no. 141704
선천성 면역 세포 분석	live/dead	요오드화 프로피듐	해당 없음	BioLegend, 미국, cat. no. 421301
적응 면역 세포 분석	CD45.2	PE	104	BioLegend, 미국, cat. no. 109808
적응 면역 세포 분석	TCR β 사슬	PE/Cy7	H57-597	BioLegend, 미국, cat. no. 109222
적응 면역 세포 분석	CD4	APC/시아닌7	GK1.5	BioLegend, 미국, cat. no. 100414
적응 면역 세포 분석	CD8a	브릴리언트 바이올렛 711TM	53-6.7	BioLegend, 미국, cat. no. 100759
적응 면역 세포 분석	CD19	APC	1D3/CD19	BioLegend, 미국, cat. no. 152409
적응 면역 세포 분석	live/dead	요오드화 프로피듐	해당 없음	BioLegend, 미국, cat. no. 421301
사이토카인 분석	CD45	브릴리언트 바이올렛 785TM	30-F11	BioLegend, 미국, cat. no. 103149
사이토카인 분석	CD4	Alexa Fluor® 647	RM4-5	BioLegend, 미국, cat. no. 100530
사이토카인 분석	CD8a	BUV737	53-6.7	BD Biosciences, 미국, cat. no. 564297
사이토카인 분석	IFN γ	브릴리언트 바이올렛 605TM	XMG1.2	BioLegend, 미국, cat. no. 505839
사이토카인 분석	그란자임 B	FITC	QA16A02	BioLegend, 미국, cat. no. 372206

사이토카인 분석	TNF α	브릴리언트 바이올렛 510TM	MP6-XT22	BioLegend, 미국, cat. no. 506339
사이토카인 분석	LIVE/DEAD 고정가능한 근적외선	LIVE/DEAD 고정 가능한 근적외선	해당 없음	ThermoFisher Scientific, L10119
사랑채 분석	CD45	브릴리언트 바이올렛 785TM	30-F11	BioLegend, 미국, cat. no. 103149
사랑채 분석	CD4	Alexa Fluor® 647	RM4-5	BioLegend, 미국, cat. no. 100530
사랑채 분석	CD8a	BUV737	53-6.7	BD Biosciences, 미국, cat. no. 564297
사랑채 분석	H-2L(d) MuLV gp70 env AH1423-431(SPSYVYHQF) 사랑채	PE	해당 없음	Emory University의 NIH Tetramer Core Facility
사랑채 분석	LIVE/DEAD	DAPI	해당 없음	BD Biosciences, 미국, cat. no. 564907

[0202] 종양의 I.P. 분석에 사용된 게이팅 전략을 수행하였다. 특정 면역 세포 집단은 다음과 같이 정의되었다: 수지상 세포(CD45.2 + CD11c + MHCII+); 대식세포(CD45.2 + CD11c-CD11b + Ly6G-Ly6C-/낮음); 단핵구(CD45.2 + CD11c-CD11b + Ly6G-Ly6C 높음); MHC 클래스 II + 단핵구(CD45.2 + CD11c-CD11b + Ly6G-Ly6C 높은 MHCII+); 호중구(CD45.2 + CD11c-CD11b + Ly6G+); CD4+ T-세포(CD45.2 + TCR β + CD4+CD8-); CD8+ T-세포(CD45.2 + TCR β +CD4-CD8+); B 세포(CD45.2 + TCR β -CD19+). 세포 내 사이토카인 염색 및 유세포 분석 - T 세포를 포함하는 현탁액을 PBS에서 고정 가능한 live/dead stain(Invitrogen)으로 염색한 후 FACS 완충액(0.5% BSA 및 0.1% 아지드화 나트륨이 포함된 PBS)에서 표면 항체 염색하였다. 세포내 염색을 위해, 염색을 하기 전에 5시간 동안 PMA/이오노마이신 및 단백질 수송 억제제를 함유하는 세포 자극 각테일(eBioscience)로 세포를 먼저 자극하였다. 다음으로 세포를 고정 및 투과화(eBioscience) 후 표면 분자에 대해 세포를 염색한 다음 사이토카인 항체로 염색하였다. 염색된 세포를 유세포분석기(LSRII; BD Bioscience)로 분석하였다. FlowJo 소프트웨어(TreeStar)를 사용하여 데이터 분석을 수행하였다.

[0203] 실시예 4: MBTA 처리 후 CT26 종양에 대한 대상체-특이적 선천성 면역 강화

[0204] 본원에서는 선천성 면역을 갖는 CT26 종양을 치료하기 위해 MBTA 치료를 사용하는 방법을 제공한다.

[0205] 실시예 1에서 피하 종양 모델의 종양 미세환경의 면역 프로파일을 추가로 평가하기 위해 실시예 3에 따라 종양의 면역표현형(I.P.)을 수행하였다. MBTA 치료 시작 후 10일과 16일 후에 우측 및 좌측 옆구리 종양을 모두 채취했다.

[0206] 면역 세포 집단의 시간적 변화를 설명하기 위하여, 도 3a에 나타난 바와 같이 2개의 별개의 시점에서 완료되었다. 제1 시점은 제1 치료 후 10일 후 및 MBTA의 *in situ* 주사 후 6시간 이내에 수행되었다. 치료 직후 면역 세포 집단의 급성 변화에 대한 통찰력을 제공하기 위해 두 번째 치료 세트의 최종 주사와 일치하도록 10일이 선택되었다. 제2시점은 면역 세포 조성의 중간 변화를 평가하기 위해 6일 후인 16일에 수행되었다.

[0207] 도 3b 및 도 3c에 나타난 바와 같이, 식염수 처리된 대조군 마우스와 비교하여, 원발성 종양으로의 MBTA의 *in situ*주사는 MBTA 처리된 마우스의 원발성 및 전이성 원거리 종양 둘 다 내로의 면역 세포(CD45+ 세포)의 침윤을 유의하게 증가시켰다. 도 3d는 대조군에 비해 MBTA 처리된 마우스에서 두드러진 수지상(CD45.2 + CD11c + MHCII+) 및 호중구성(CD45.2 + CD11c-CD11b + Ly6G+) 염증 반응을 나타내었다. 6일 후, 우측 옆구리 종양에 대한 I.P.(16일차) 분석 결과에 따르면 도 3d 및 도 3e에 나타난 바와 같이, DC 및 MHC 클래스 II 양성 단핵구(CD45.2 + CD11c-CD11b + Ly6G-Ly6C 높은 MHC II+)를 포함한 호중구의 유의한 감소 및 APC에서의 증가를 나타냈다. 원위, 비-처리된 좌측 옆구리 종양에서 선천성 면역 세포 집단의 평가는 도 3f 및 도 3g에 나타난 바와 같이 대조군에 비해 MBTA 처리된 마우스의 종양에서 I.P.(10일차)에 대한 증가된 호중구성 면역 반응에 이어서 I.P.(16일차)에 APC(DC 및 MHC 클래스 II 양성 단핵구)의 유의한 증가를 나타냈다. 이러한 결과는 MBTA 요법이 종양에 대한 호중구성 및 APC 추적을 용이하게 하여 종양 세포의 식균 작용의 촉진 및 대상체-특이적 적응 면역 반응의 추가 발달을 위한 처리가 이루어지는 것을 시사한다. 도 3d 및 도 3f는 도 3h에 도시된 바와 같이 대식세포의 전체 양(CD45.2 + CD11c-CD11b + Ly6GLy6C-/낮음)에 유의한 변화가 없지만, CD206 양성 대안적으로 활성화된 대식세포(AAM) 집단—또한, M2-대식세포(CD45.2 + CD11c-CD11b + Ly6GLy6C-/낮은 CD206+)로 공지됨—의

평가는 AAM 집단이 I.P. 10일차 및 16일차 둘 다에 원발성(MBTA 처리된) 종양에서 유의하게 감소되었음을 입증하였다. 도 3i는 MBTA 처리된 마우스로부터의 원위 종양의 AAM 집단이 I.P. 10일차에 유의하게 감소되었음을 보여준다. TLR 작용제 및 항-CD40-mAb는 M1-유사 표현형을 향한 종양 연관 대식세포(TAM)의 극성화를 왜곡하는 것으로 나타났다.

[0208] 실시예 5: MBTA 치료 후 CT26 종양에 대한 강화된 대상체-특이적 적응 면역 반응

[0209] 본원에서는 적응 면역 반응이 있는 CT26 종양을 치료하기 위해 MBTA 치료를 사용하는 방법을 제공한다.

[0210] 실시예 4 에 기재된 바와 같이 I.P. 10일차 및 16일차의 결과는 또한 도 4a 및 도 4b 에 나타난 바와 같이 대조군과 비교하여 MBTA 처리된 마우스의 원발성 및 원거리 종양 둘 모두에서 적응 면역 세포의 전반적인 증가를 나타내었다. 도 4a는 MBTA 처리된 마우스의 원발성 종양에서 CD8⁺ T-세포(CD45.2 + TCR β + CD4-CD8⁺) 및 B 세포(CD45.2 + TCR β -CD19⁺) 집단이 통계적으로 증가되었음이 I.P. 16일차에 입증된 것을 나타낸다. I.P.(10일차) 및 I.P.(16일차) 분석은 도 4b에 도시된 바와 같이 대조군과 비교하여 MBTA 처리된 마우스의 종양에서 CD8⁺ T-세포 및 B 세포 집단 모두가 유의하게 증가되었음을 나타내었다. 이러한 결과는 원발성 종양에 MBTA를 *in situ* 주사하면 원위의 치료되지 않은 종양에 대한 적응 면역 세포의 전체 양을 증가시켜 대표적인 전이성 병변에서 T-세포 염증 반응을 조절하는 MBTA의 치료 가능성을 강조한다는 것을 시사한다.

[0211] CD4⁺(CD45.2 + TCR β +CD4⁺ CD8⁻) 및 CD8⁺ T-세포 집단을 원거리 종양에서 추출하고 시험관 내에서 PMA/이오노마이신으로 자극하여 IFN γ , TNF α 및 그란자임 B 의 세포내 발현을 평가했다. I.P.(10일차) 및 I.P.(16일차)에 MBTA 처리된 마우스로부터 채취한 T-세포는 도 4c 에 나타난 바와 같이 대조군보다 IFN γ 및 TNF α 의 생산이 더 높았다. 특히, CD8⁺ T-세포는 I.P.(10일차)에 IFN γ 및 I.P.(10일차) 및 (16일차) 사이의 6일 간격 동안 TNF α 에서 유의한 증가를 입증하였다. 도 4d는 또한 통계적으로 유의하지는 않지만 증가된 그란자임 B 양성 CD8⁺ T 세포 집단을 보여준다. 따라서, MBTA 치료는 원거리 종양 내에서 CD8⁺ T 세포의 양과 활성화를 유의하게 증가시키며, 이는 MBTA-유도된 종양 성장 억제에서의 주요 역할을 시사한다. AH-1이 로딩된 H-2Ld 사탕체를 사용하여 MBTA 요법이 CT26, gp70₄₂₃₋₄₃₁ (AH-1) (Huang, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1996, 93, 9730.)의 면역우성 에피토프에 대해 더 많은 양의 CD8⁺ T-세포(CTL)를 생성하는지를 평가했다. 분석을 위해 치료 시작 11일 후 *in situ* MBTA 처리된 및 대조군 마우스의 말초 혈액 샘플 및 원거리 종양을 수집하였다. 도 4e에 나타난 바와 같이, *in situ* MBTA 처리된 마우스는 대조군에 비해 전혈에서 AH-1/H-2Ld 특이적 CD8⁺ T-세포의 유의한 더 높은 백분율을 가졌다(Mann-Whitney U 테스트에 의한 p = 0.02). *in situ* MBTA 처리된 마우스는 또한 도 4f 에 나타난 바와 같이 대조군에 비해 원거리 종양 내에서 AH-1/H-2Ld 특이적 CD8⁺ T-세포를 증가시켰다(Mann-Whitney U 테스트에 의한 p = 0.06). 따라서, *in situ* MBTA 주사는 MBTA 치료 시작 후 11일 이내에 혈액 및 전이성 원거리 종양에서 순환하는 AH-1-특이적 CD8⁺ T-세포 클론을 증가시킨다.

[0212] 종합하면, MBTA의 *in situ* 주사는 대표적인 원발성 및 전이성 종양의 면역 표현형에 상당한 변화를 가져왔다. 원발성 종양에서 MBTA 치료는 처음에 강한 호중구 및 DC 우세를 특징으로 하는 선천성 염증 반응을 생성하고 APC 집단(MHC II⁺ 단핵구 및 DC)의 유의한 증가가 뒤따랐다. 전이성 원거리 종양에서 MBTA 치료는 종양에 침윤하는 CD8⁺ T-세포와 B 세포의 전체 공급을 증가시켜서 적응성 면역 반응을 강화했다. 원거리 종양에서 추출한 T-세포는 양이 많을 뿐만 아니라 대조군에 비해 IFN γ 및 TNF α 사이토카인의 더 높은 발현을 보여주어, 향상된 종양 제거 활성을 입증했다. 종합적으로, *in situ* MBTA 치료에서 본 발명자들의 발견은 대표적인 전이성 종양의 종양 거부를 유발하였다.

[0213] 실시예 6: rCT26-MBTA 백신은 CT26-보유 마우스에서 강력한 대상체-특이적 항종양 면역 반응을 생성한다

[0214] 본원에서는 rCT26-MBTA 백신을 사용하여 강력한 항종양 면역 반응을 생성하는 방법을 제공한다.

[0215] rCT26-MBTA 백신의 생성

[0216] 도 5a에 도시된 바와 같이, CT26 세포는 시험관내에서 증폭되고 이어서 백신 용량당 1X10⁶ 백만 세포로 분취된다. CT26 세포는 137 Cs MARK I 모델 조사기(JL Shepherd & Associates, San Fernando, CA)를 사용하여 50 Gy로 준-치사적으로 조사되어 종양 세포 아포토시스를 유도하고 백신 부위에서 종양 세포의 생장을 방지한다. CT26 종양 세포는 도 5b에 도시된 바와 같이 초기에 조사되어 종양 세포의 아포토시스를 유도하고 rCT26-MBTA 백신의 성분으로 사용될 때 종양 성장을 방지한다.

[0217] rCT26-MBTA 백신의 경우 100 μ L의 하기 치료 혼합물을 rCT26 - MBTA 처리된 마우스의 우측 옆구리에 피하 주사하였다: a) 50 μ L PBS 중에 현탁된 1 x 10⁶개의 방사선 조사된 CT26 세포, 및 b) PBS 중 0.2 mM 만난-BAM의

mL 당 0.5 mg R-848 (HCl 형태), 0.5 mg 폴리(I:C), 0.5 mg LTA, 및 0.4 mg 항-CD40으로 이루어진 50 μ L의 치료 혼합물. 백신 용량 (a)를 이어서 1 시간 동안 (b) (마우스 당 용량, 50 μ L)와 함께 펄스화 (인큐베이션)하고, 만산-BAM의 종양 세포 막 내로의 시험관내 통합을 용이하게 하여, 치료 혼합물을 형성하였다. 이어서, 이를 이어서 명시된 치료 스케줄에 따라 처리된 동물의 우측 옆구리에 피하 주사하였다. rCT26 백신을 투여받은 마우스에 100 μ L PBS 중에 현탁된 1×10^6 개의 방사선 조사된 종양 세포(마우스 당 용량)를 주사하였다.

[0218] rCT26-MBTA 백신을 사용한 강력한 면역 반응 생성

[0219] rCT26-MBTA 백신을 접종한 마우스는 CT26-특이적 항원에 대해 CD8+ T 세포 반응을 생성할 수 있다.

[0220] 도 5c에 도시된 바와 같이, 암컷 BALB/c 마우스의 좌측 옆구리에 실시예 1 에 기재된 방법을 사용하여 CT26 세포를 피하 접종 하였다. 11일 후, 마우스는 보통 식염수(대조군; n=7), 조사된 CT26 세포(rCT26; n=7) 또는 MBTA 백신으로 펄스된 rCT26(rCT26-MBTA; n=8)의 3개의 처리 그룹으로 무작위 배정하였다. 치료는 4주 동안 주당 3회 연속적으로 우측 옆구리에 피하 주사되었다(12회 투여). 실험은 2회 수행되었다.

[0221] 도 5d에 나타난 바와 같이, 식염수 처리된 대조군, rCT26 및 rCT26-MBTA 처리된 마우스(p = 0.0108)에 해당하는 종양 부피에서 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다.

[0222] 사후 비교 분석에 따르면 rCT26-MBTA 백신 접종된 마우스는 각각 치료 6일 및 15일 후 rCT26 또는 식염수 백신 접종 마우스에 비해 종양 종양 부피가 유의하게 더 작은 것으로 나타났다(6일차: rCT26-MBTA vs. rCT26의 백신 접종된 마우스의 종양 종양 부피 $\pm$ SEM - 47.7 ± 19.0 vs. 247.1 ± 37.3 mm³. Bonferroni 조정된 p = 0.0279, 15일차: rCT26-MBTA vs. 식염수 백신 접종된 마우스의 종양 종양 부피 - 67.6 ± 137.7 vs. 971.2 ± 320.3 . Bonferroni 조정된 p = 0.0420). rCT26과 식염수 처리 마우스 사이에 종양 부피의 유의한 차이는 관찰되지 않았다(Bonferroni 조정된 p > 0.05). 도 5e에 나타난 바와 같이 rCT26-MBTA 백신 처리 그룹의 마우스는 또한 생리 식염수 또는 rCT26 백신 접종된 마우스와 비교할 때 생존의 유의한 증가(rCT26-MBTA vs. 식염수 처리 마우스의 종양 생존 $\pm$ SEM: 44 ± 9.2 vs. 20 ± 1.9 일, Tukey-Kramer 조정된 p = 0.0071, rCT26-MBTA vs rCT26 백신 접종된 마우스의 종양 생존: 44 ± 9.2 대 20 ± 2.1 일, Tukey-Kramer 조정된 p = 0.0034), 개선된 종양 성장 제어를 나타내었다. 도 5e에 나타난 바와 같이, 대조적으로, rCT26 백신 처리 그룹의 마우스는 식염수 처리된 마우스에 비해 생존이 개선되지 않았다(rCT26 vs. 식염수 처리 마우스의 종양 생존 $\pm$ SEM: 20 ± 2.1 vs. 20 ± 1.9 일, Tukey-Kramer 조정된 p > 0.05). 도 5e에 나타난 바와 같이, rCT26-MBTA 백신 접종된 마우스의 1/8 또는 12.5%가 연구 기간 동안 CR을 달성하였다. 따라서 총 12회의 rCT26-MBTA 백신 접종을 통한 치료는 강력한 항종양 면역 반응을 성공적으로 생성할 수 있다. 본 발명자들은 또한 말초 혈액과 원위의 치료되지 않은 종양 내에서 발견되는 AH-1/H-2Ld-특이적 CD8+ T-세포의 양을 평가했다. 말초 혈액 샘플은 치료 시작 10일 후 및 총 2회의 예방 접종을 받은 후 수집되었다. 초기 항원 자극 후 T-세포 활성화에 대해 알려진 타임라인에 따라 치료 시작 22일 후 및 총 4회의 백신 접종을 받은 후 종양을 채취했다(Pennock et al. Adv. Physiol. Educat. 2013, 37, 273). rCT26-MBTA 백신 처리된 마우스는 도 5f에 나타난 바와 같이 대조군 마우스보다 전혈에서 유의하게 더 많은 AH-1/H-2Ld-특이적 CD8+ T-세포를 가졌다(Kruskal-Wallis 테스트에 의한 p = 0.0018). 종양에서 AH-1/H-2Ld-특이적 CD8+ T-세포의 존재를 조사하기 위해, 종양 침윤 림프구를 분리하고 유세포 분석에 의해 분석하였다. rCT26-MBTA 백신을 접종한 마우스는 유사하게 도 5g 에 나타난 바와 같이 대조군에 비해 종양 내에서 유의하게 더 많은 AH-1/H-2Ld-특이적 CD8+ T-세포를 가졌다 (Kruskal-Wallis 테스트에 의한 p = 0.0169), rCT26 백신을 접종한 처리된 마우스는 또한 통계적으로 유의하지는 않지만 식염수 처리된 마우스와 비교할 때 전혈 및 종양 내에서 더 많은 AH-1/H-2Ld-특이적 CD8+ T-세포를 가졌다(Kruskal-Wallis 테스트에 의해 각각 p = 0.1642 및 0.6469). AH-1-MHC 사랑체 결과는 대조군 마우스와 비교할 때 rCT26-MBTA 백신 접종 마우스의 전혈 및 종양 내에서 유의하게 더 많은 AH-1-특이적 CD8+ T-세포 클론이 발견되었음을 시사하며, CT26-특이적 항원에 대한 CD8+ T 세포 반응을 생성하는 이의 잠재력을 보여준다.

[0223] MBTA 처리는 전반적으로 내약성이 우수하였다: 도 5h에 나타난 바와 같이, *in situ* MBTA 처리된 마우스는 처리 전 수준과 비교할 때 처리 시작 3일 후 평균 체중의 유의한 급격한 감소를 나타내었다. 체중 감소는 치료 시작 7일 후에 회복되었다. rCT26-MBTA 백신으로 처리된 마우스는 도 5i에 나타난 바와 같이 체중에 유의한 변화가 없었다. *in situ* MBTA 또는 rCT26-MBTA 백신을 접종한 마우스 중 어느 것도 본 발명자들의 연구에서 예기치 않게 사망하지 않았다.

[0224] 실시예 7: MBTA 치료는 CT26 세포에 대한 대상체-특이적 면역학적 기억을 유도한다 MBTA 치료를 사용하여 CT26 종양에 대한 면역학적 기억을 유도하는 방법이 본원에 제공된다.

- [0225] MBTA 치료는 주변 및 두개내 모두에서 부모 종양의 재발을 방지하기 위해 내구성 있고 강력한 면역학적 기억을 생성할 수 있다.
- [0226] 실시예 1 의 방법으로 확립된 CT26 종양의 완전 관해(CR)(n=4)를 달성한 모든 마우스는 치료 마지막 날로부터 최소 50일이 경과한 후에 첼린지되었다. CT26 종양의 CR을 달성한 마우스(n = 4)와 나이브 암컷 BALB/c 마우스에 100 μ L PBS에 현탁된 4.5×10^5 CT26 세포를 초기 치료 부위의 반대쪽 좌측 옆구리에 접종했다. 도 6a 및 6b는 모든 CR 마우스가 종양 성장의 증거를 나타내지 않은 반면, 모든 대조군 마우스는 종양이 발생하고 상응하는 종말점에 도달하여 CT26 종양 항원에 대한 효과적인 면역학적 기억의 유도를 확인함을 보여준다.
- [0227] MBTA 치료에 의해 생성된 면역학적 기억은 또한 말초 순환을 넘어 중추 신경계(CNS) 내의 CT26 종양에 관여한다.
- [0228] 안정적인 루시페라제 발현을 갖는 CT26-Luc 세포를 사용하여 두개내 종양 성장의 모니터링을 용이하게 하였다. CR(n = 4) 및 나이브 암컷 BALB/c 마우스 모두 전두엽에 CT26-Luc 세포를 접종했다. 5 ug mL^{-1} DNase I을 함유하는 2 μ L HBSS 중 1.0×10^4 CT26-Luc 세포를 이전에 보고된 바와 같이, Toda et al. (Cancer Gene Ther. 2002, 9, 356)에 따라, Hamilton 주사기 (Hamilton Company)를 사용하여, 브레그마의 1 mm 로트랄, 2 mm 우측 중간선, 및 우측 전두엽에서 두개골 표면으로부터 2 mm 깊이로 진입 부위를 통해 정위적으로 주사하였다. 기화된 이소플루란을 통해 외과적 마취를 수득했다.
- [0229] 도 6c 및 도 6d 에 나타난 바와 같이, 이전에 처리된 마우스 중 어느 것도 두개내 종양 형성의 증거를 나타내지 않은 반면, 모든 대조군 마우스는 두개내 종양이 발생하고 상응하는 종말점에 도달하였다. 종합하면, 재-첼린지 실험은 내구성이 있을 뿐만 아니라 말초 및 두개내 모두에서 부모 종양의 재발을 예방하기에 충분히 강력한 MBTA 처리된 마우스가 CT26 세포에 대한 면역학적 기억을 발달시켰다.
- [0230] 실시예 8: 체표면적에 기초한 인간 등가선량(HED) 계산
- [0231] 신체 표면적에 기초하여 MBTA 성분의 HED를 계산하는 방법이 본원에 제공된다.
- [0232] 문헌[Nair AB, Jacob S. 동물과 인간 간의 용량 변환에 대한 간단한 실습 가이드.. J Basic Clin Pharma 2016;7:27-31]의 상세한 내용을 참조한다.
- [0233] HED를 계산하는 공식은 다음과 같다.
- $$\text{HED}(\text{mg/kg}) = \text{동물용량}(\text{mg/kg}) \frac{\text{동물 } K_m}{\text{인간 } K_m}$$
- [0234]
- [0235] 마우스 $K_m = 3$
- [0236] 인간 $K_m = 37$
- [0237] 이 공식을 사용하여 만난, BAM, Poly I:C, LTA, R-848 및 항-CD40 항체의 최대 권장 시작 용량을 표 3에 나타내었다.

표 3

[0238] : 신체 표면적을 기반으로 한 최대 권장 시작 용량(MRSD)

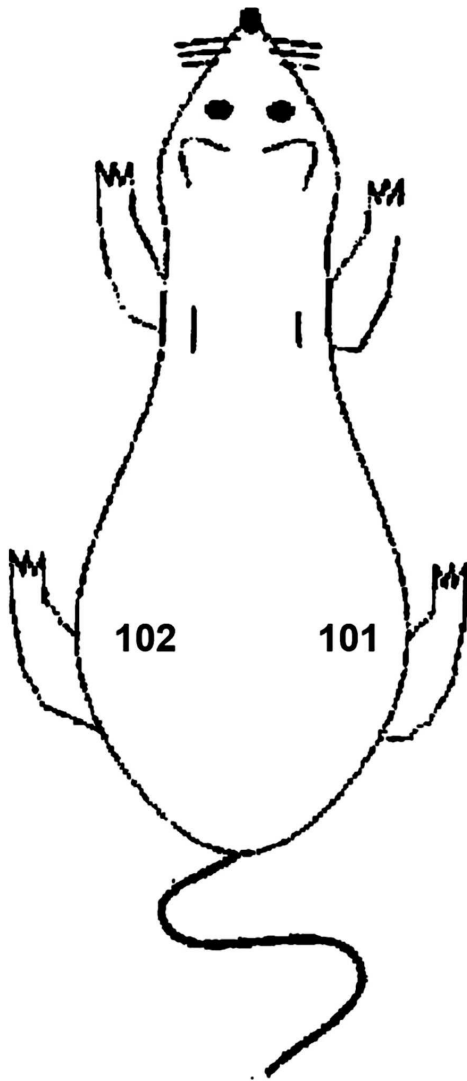
성분	마우스당 순량(mg)(~20g)	동물 NOEL (mg/kg)	HED (mg/kg)	HED/안전 계수 (10)(mg/kg)	최대 권장 시작 용량 (MRSD, 성인 60kg 가정) (mg/일)
만난	0.95	47.5	3.85135135	0.385135135	23.10810811
BAM	0.098	4.9	0.3972973	0.03972973	2.383783784
Poly I:C	0.024	1.2	0.0972973	0.00972973	0.583783784
LTA	0.024	1.2	0.0972973	0.00972973	0.583783784
R-848	0.024	1.2	0.0972973	0.00972973	0.583783784
항-CD40	0.02	1	0.0778378	0.00778378	0.4670269

[0239] 본 명세서에 인용된 모든 간행물 및 특허는 각각의 개별 간행물 또는 특허가 구체적이고 개별적으로 참조로 포함되도록 지시되었고 간행물이 인용되는 것과 관련하여 방법 및/또는 물질을 개시하고 설명하기 위해서 참조로

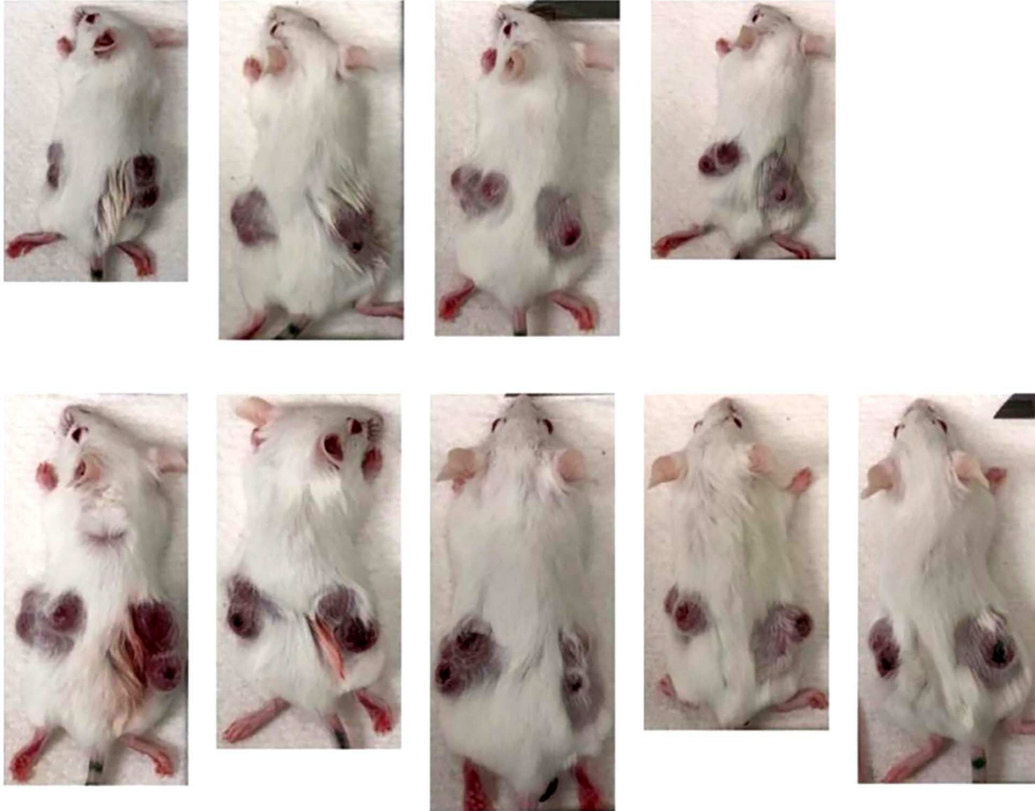
본 명세서에 포함된다. 임의의 간행물의 인용은 출원일 전 그의 개시에 대한 것이며 본 발명이 선행 발명으로 인해 그러한 간행물보다 선행할 자격이 없음을 인정하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 또한, 제공된 발행일은 실제 발행일과 다를 수 있으므로 별도로 확인해야 할 수 있다. 참조로 본 명세서에 포함된 문서에 명시된 용어의 정의가 본 명세서에 명시적으로 정의된 용어의 정의와 충돌하는 정도까지, 본 명세서에서 명시된 정의가 우선한다.

도면

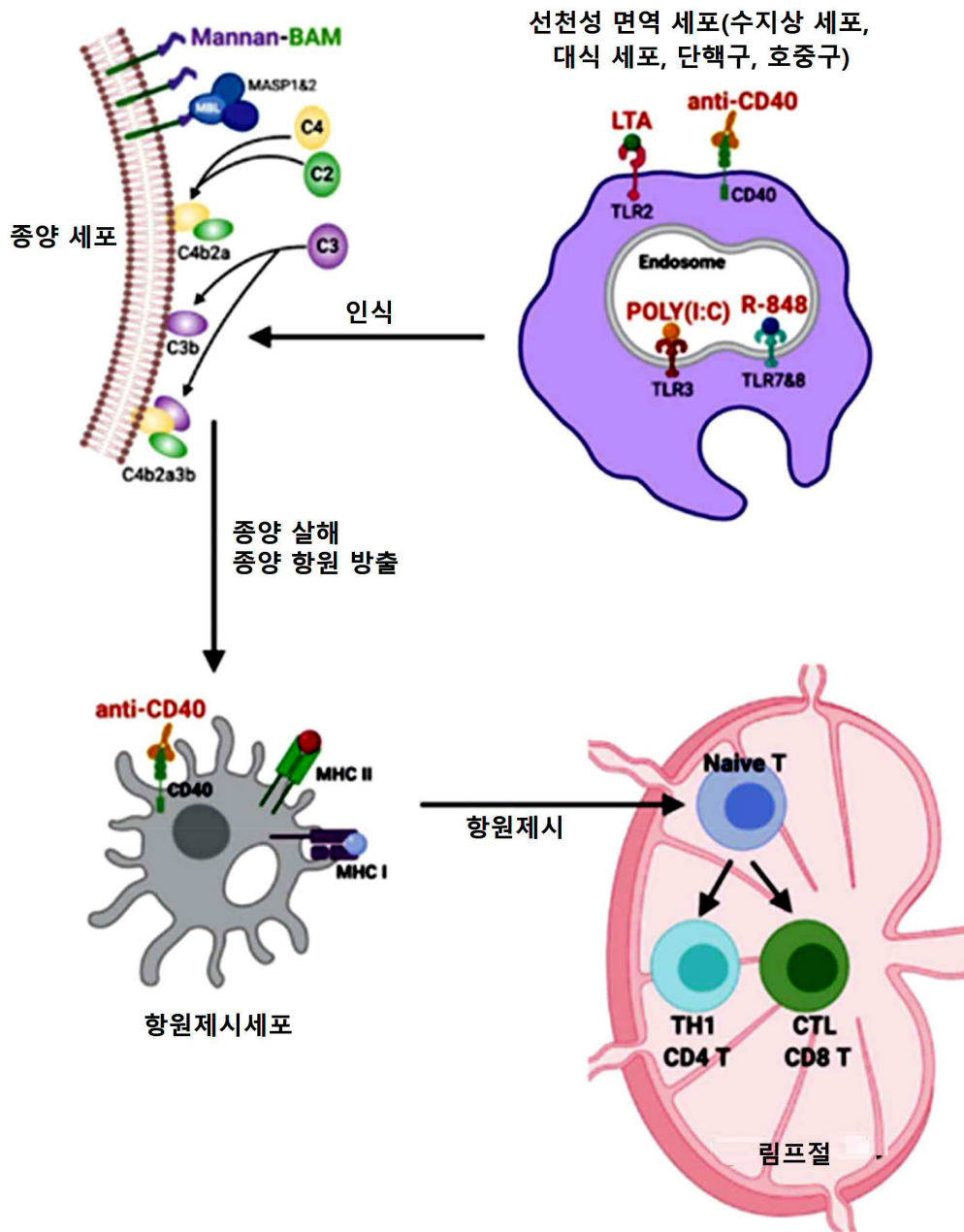
도면1a



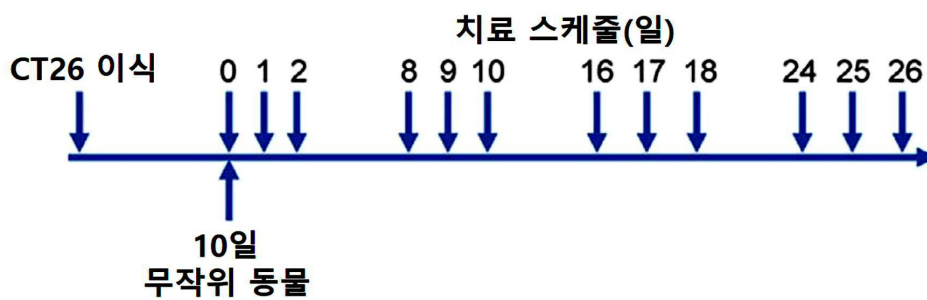
도면1b



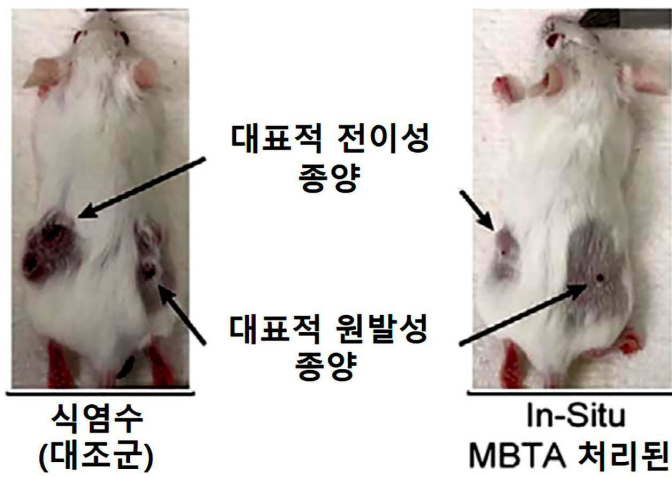
도면2a



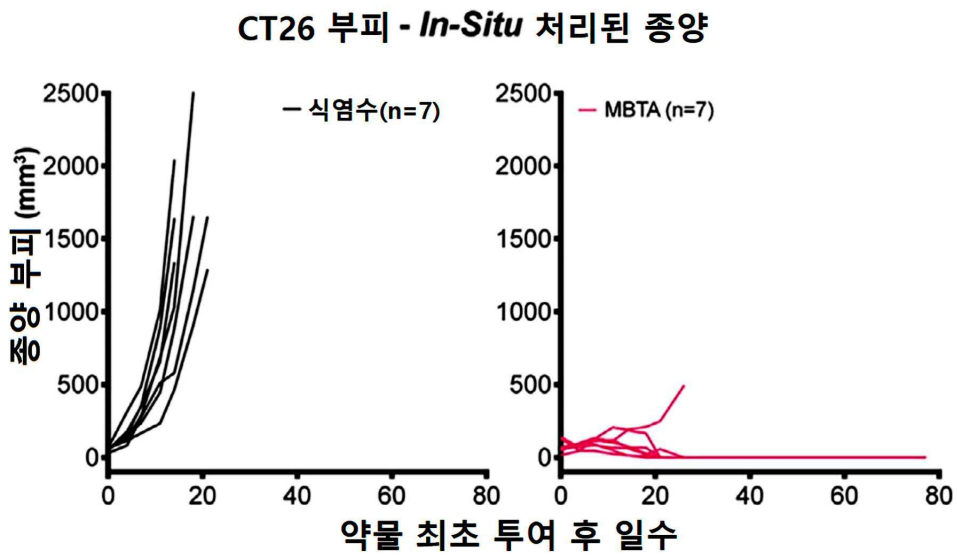
도면2b



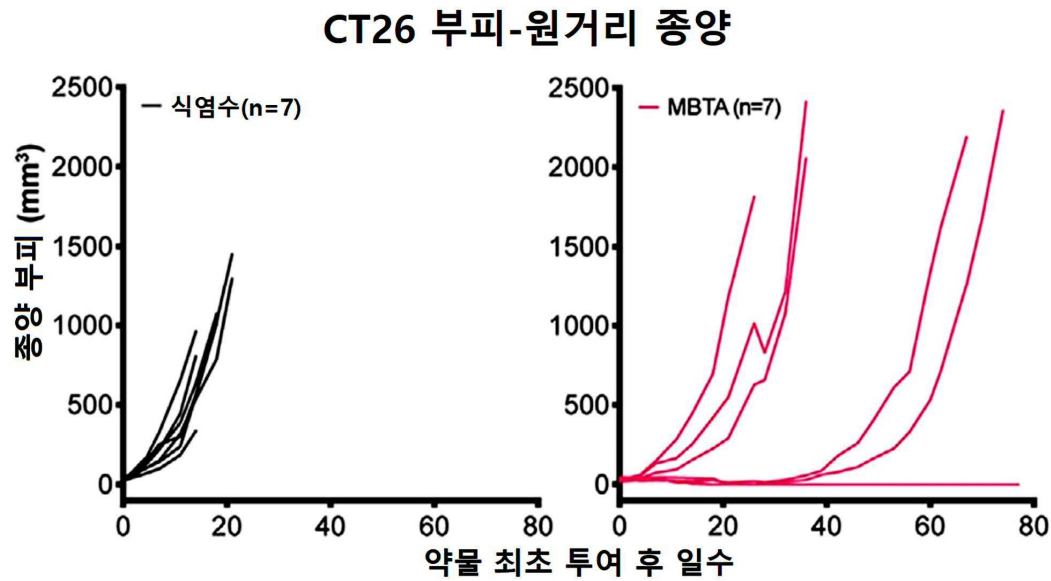
도면2c



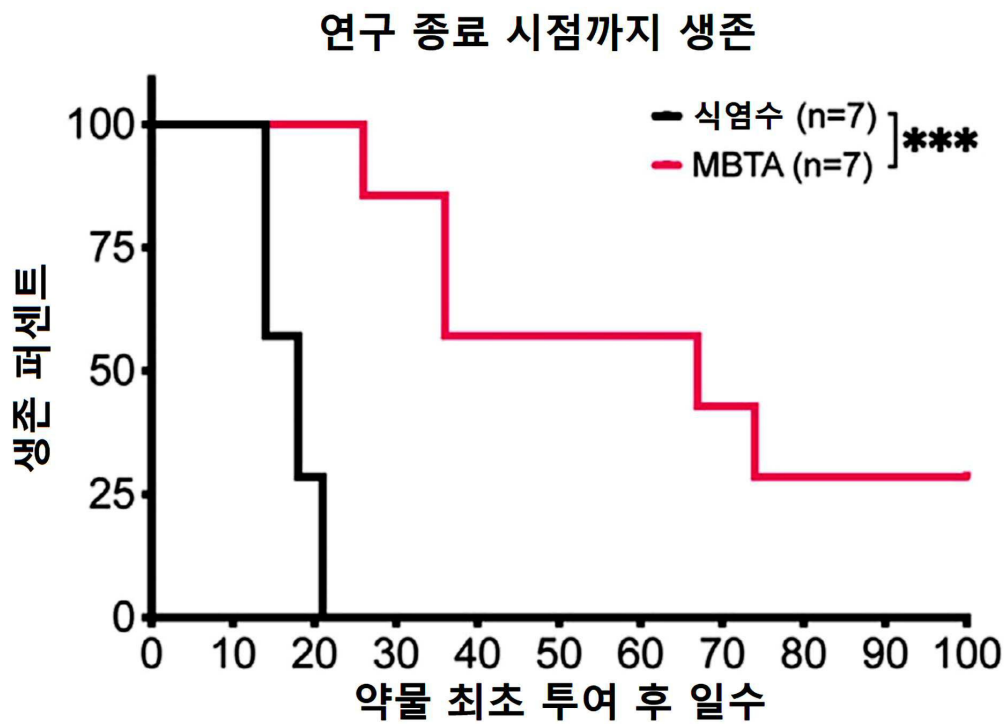
도면2d



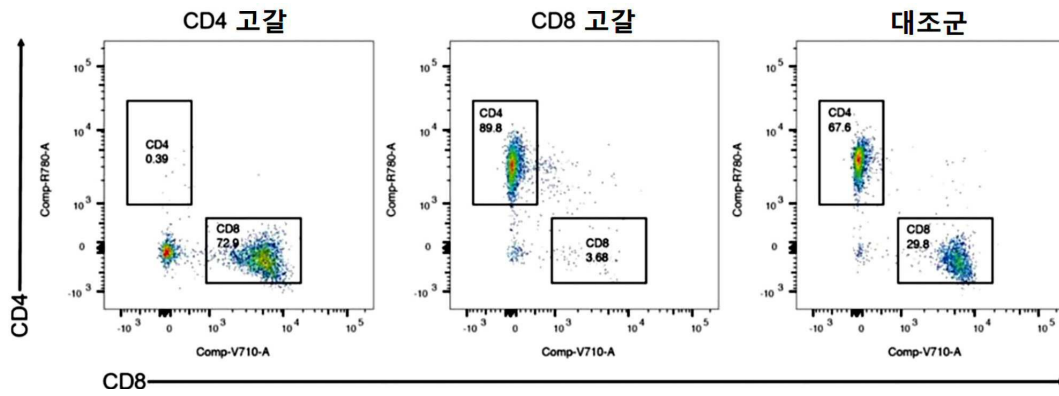
도면2e



도면2f

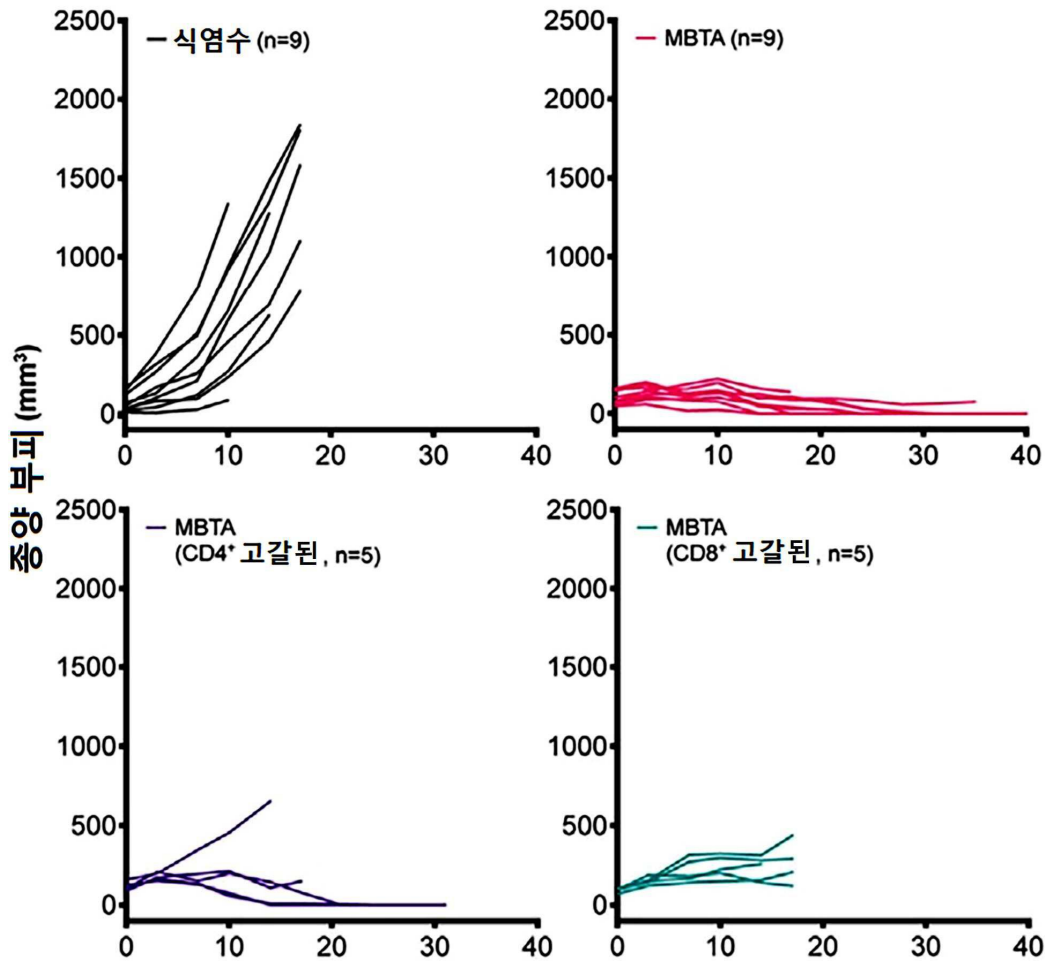


도면2g



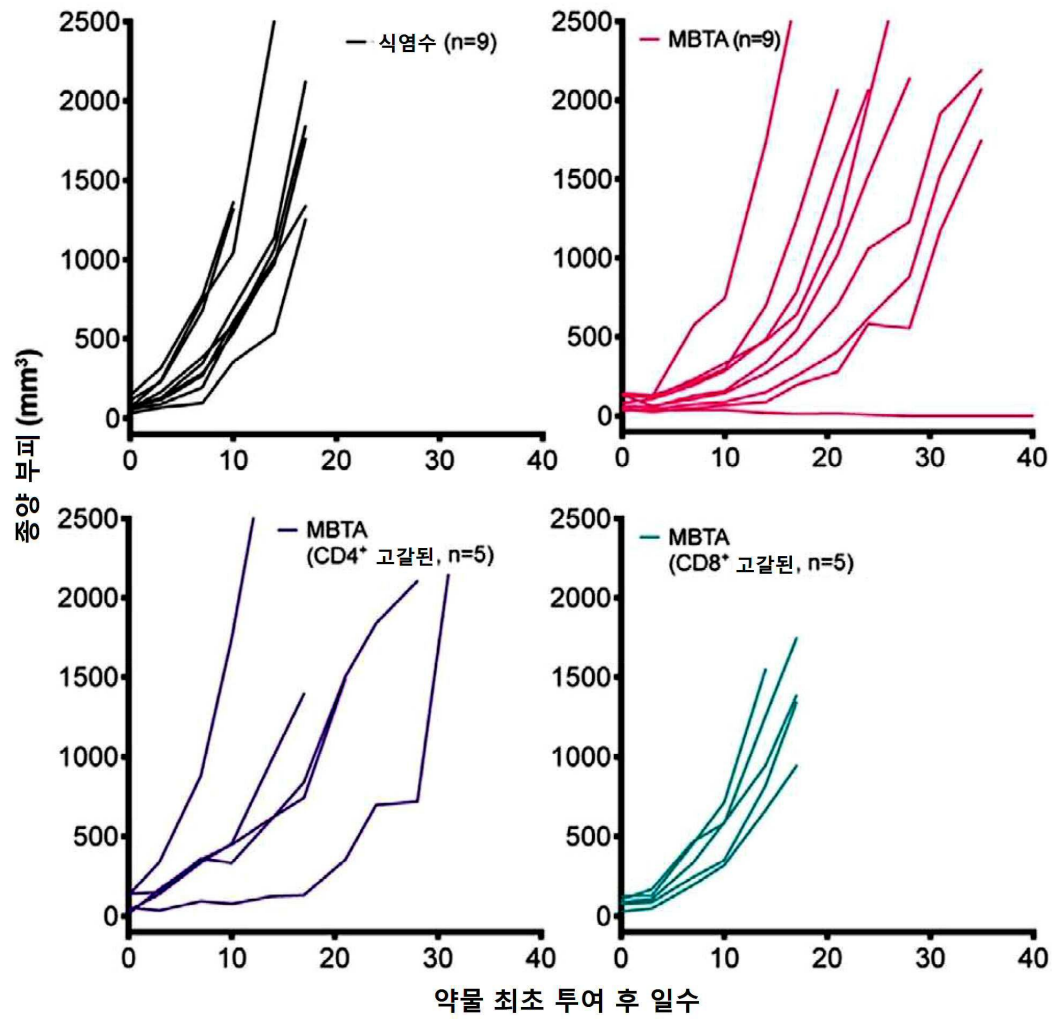
도면2h

CT26 부피 - *In-Situ* 처리된 종양

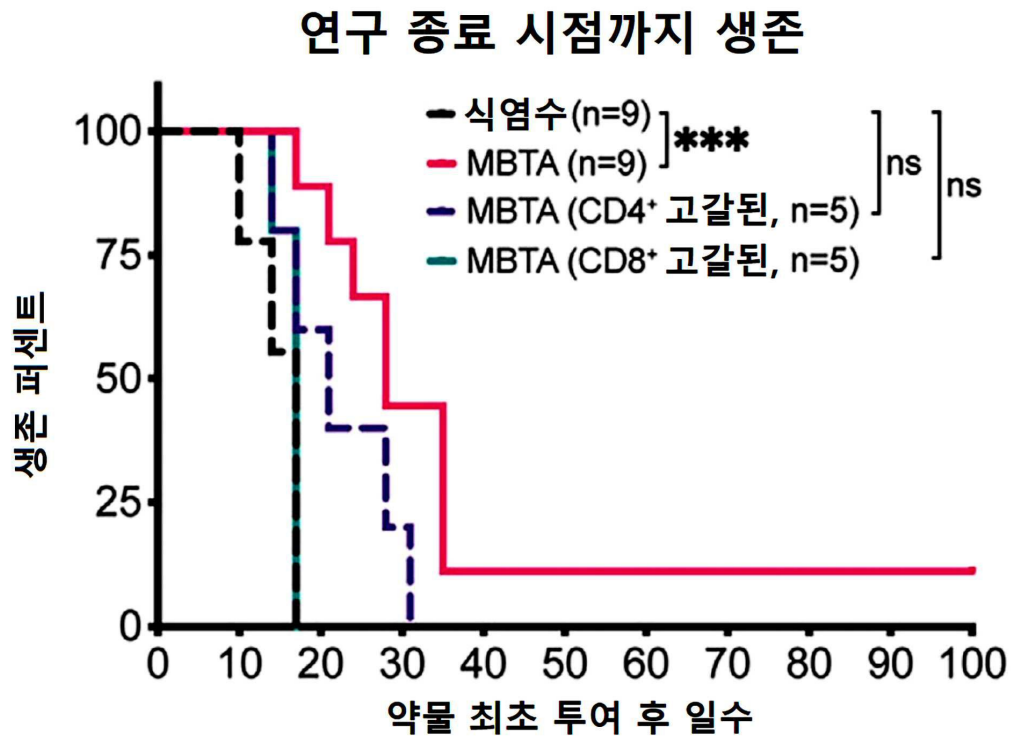


도면2i

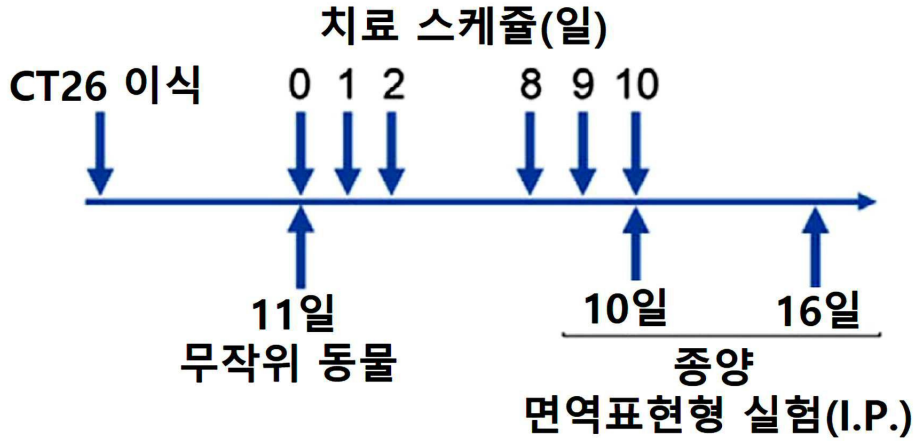
CT26 부피 - 원거리 종양



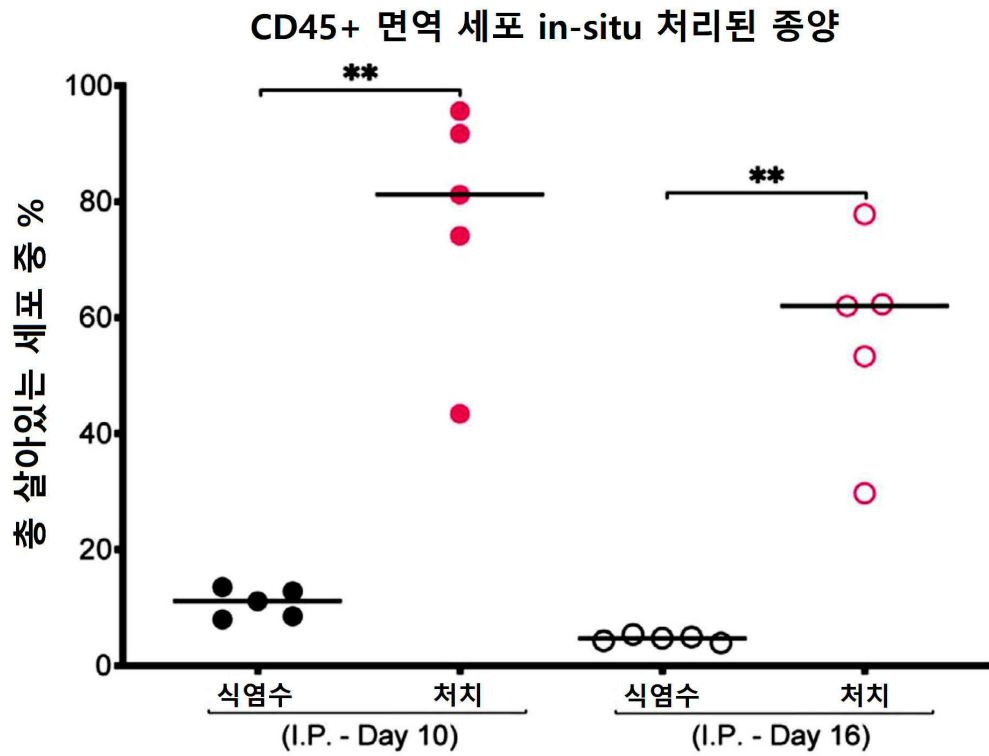
도면2j



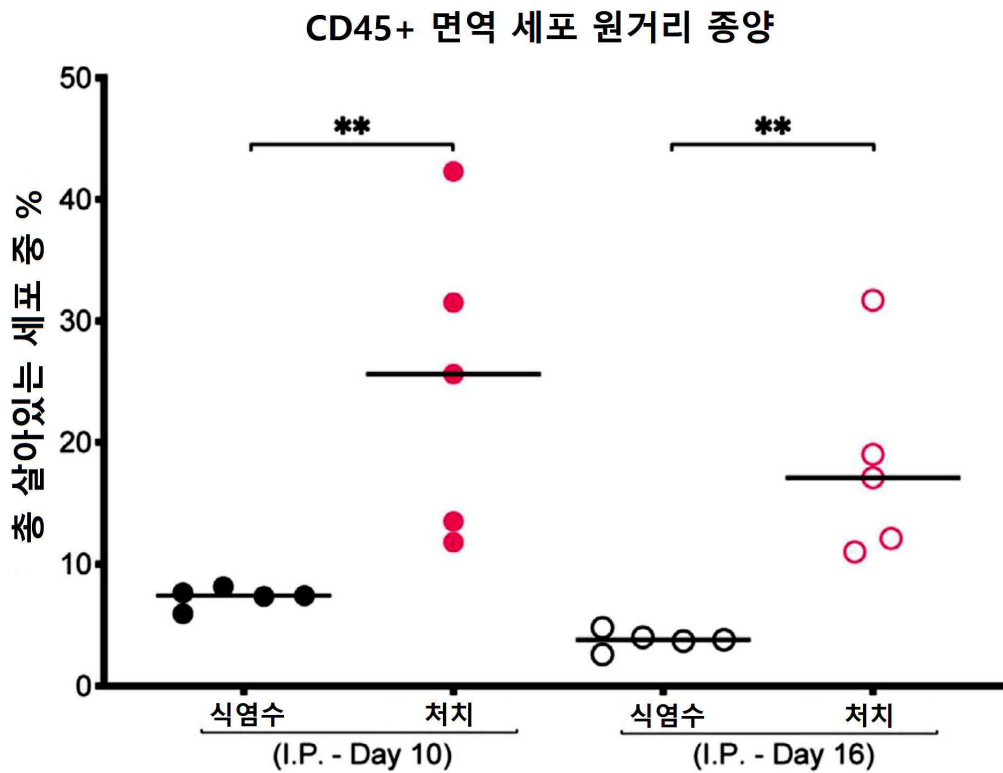
도면3a



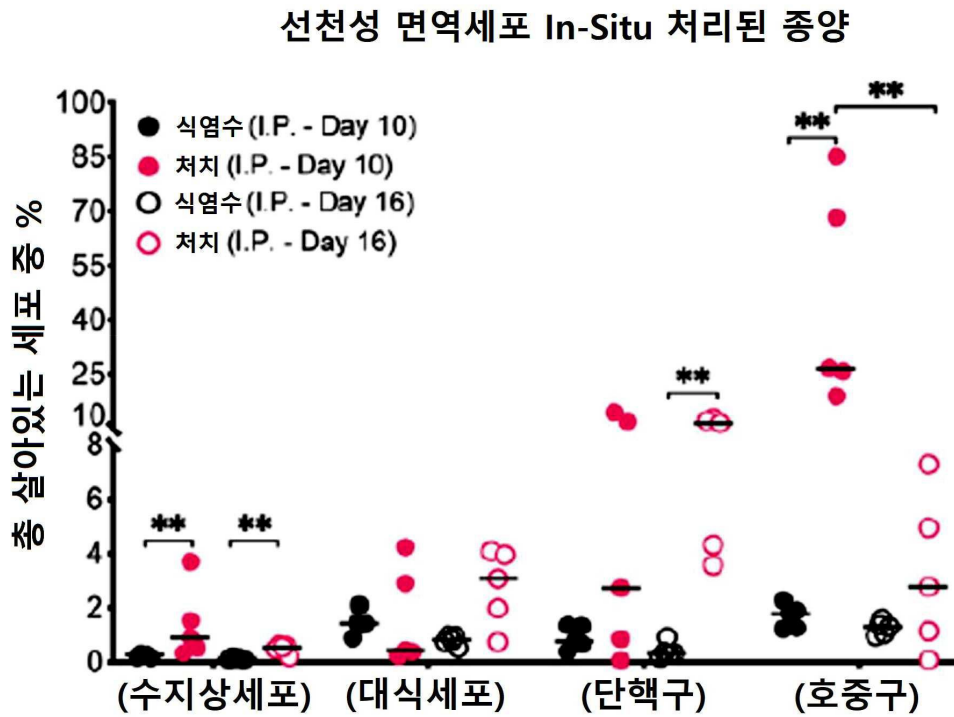
도면3b



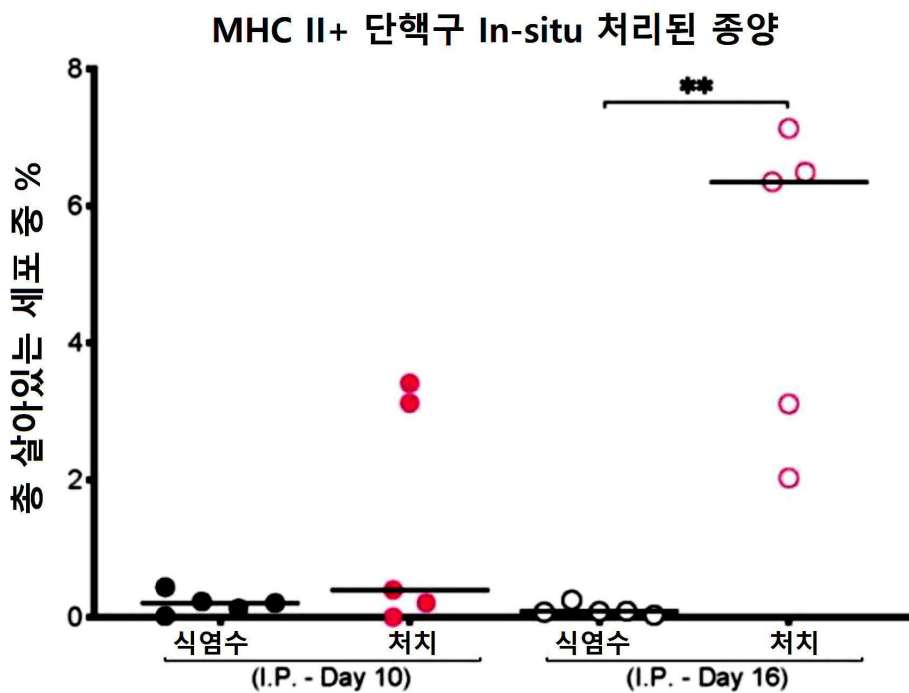
도면3c



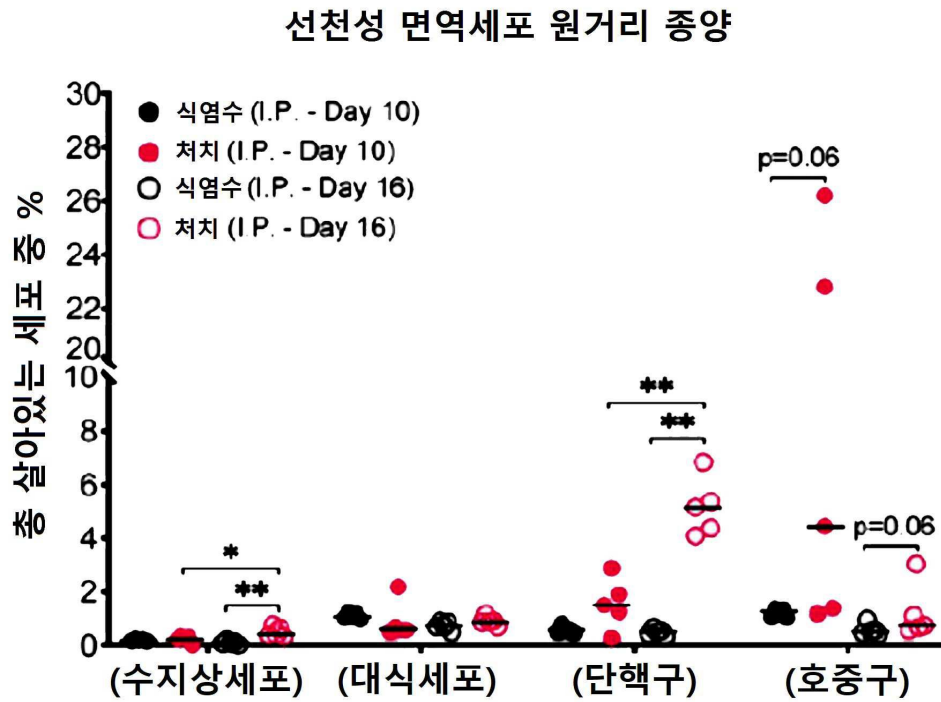
도면3d



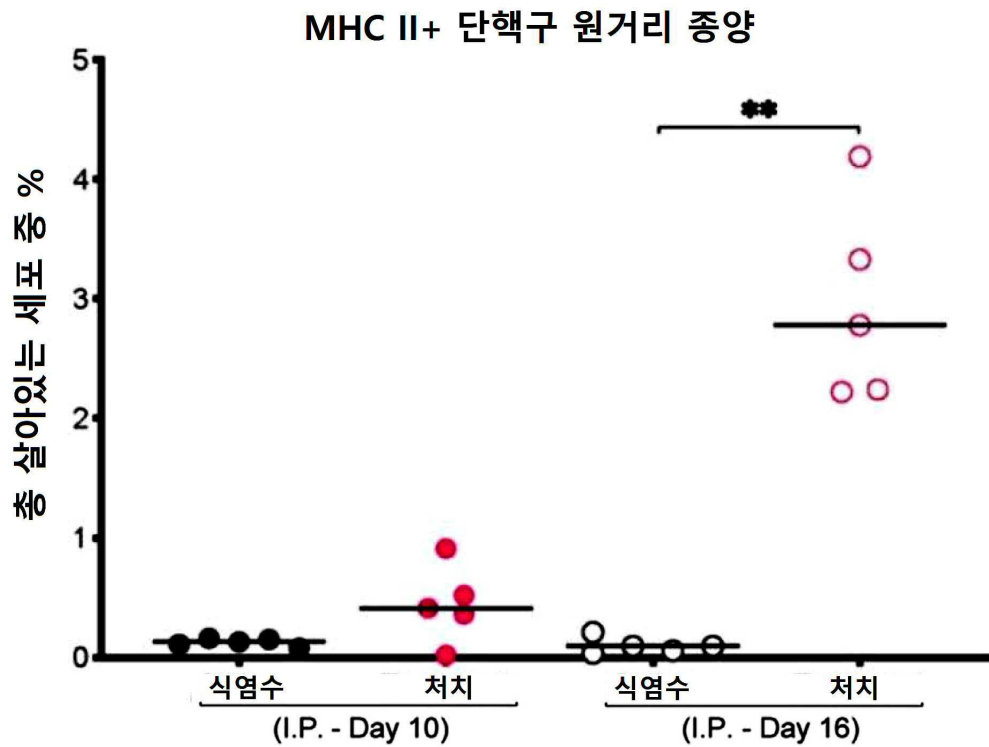
도면3e



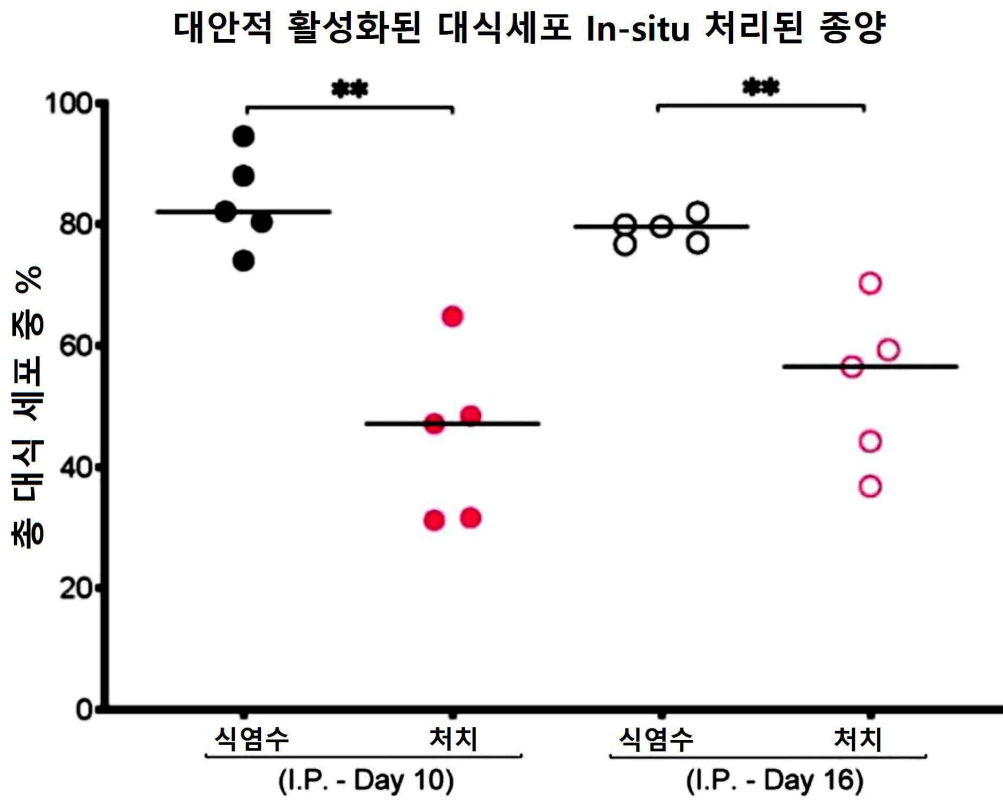
도면3f



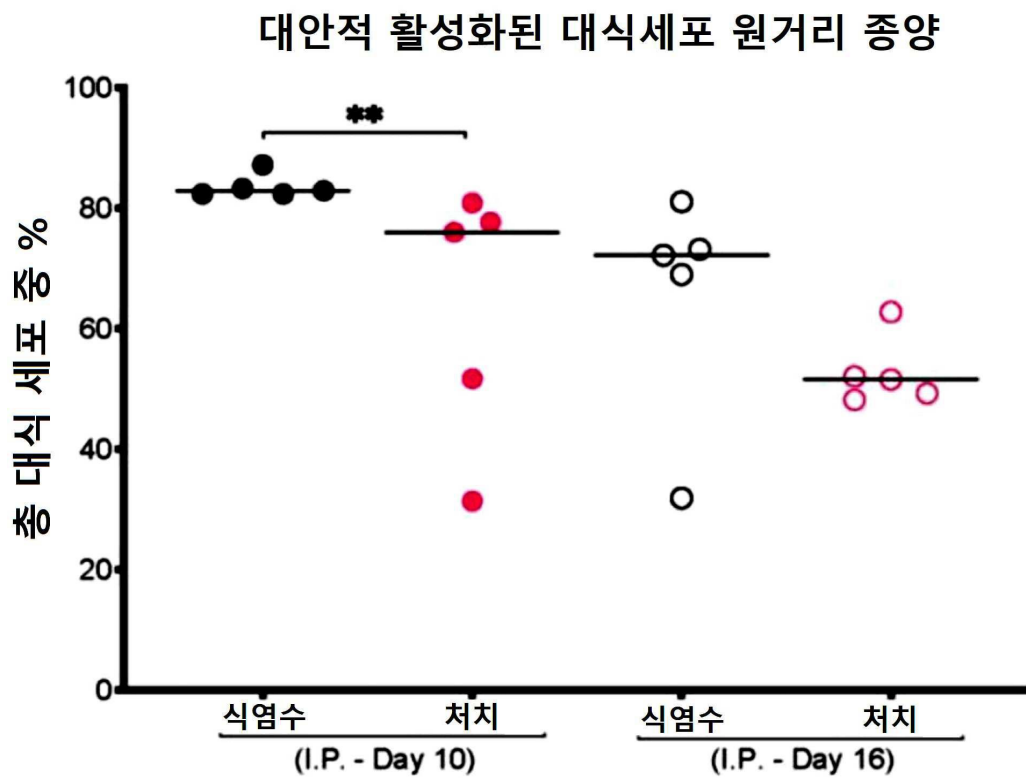
도면3g



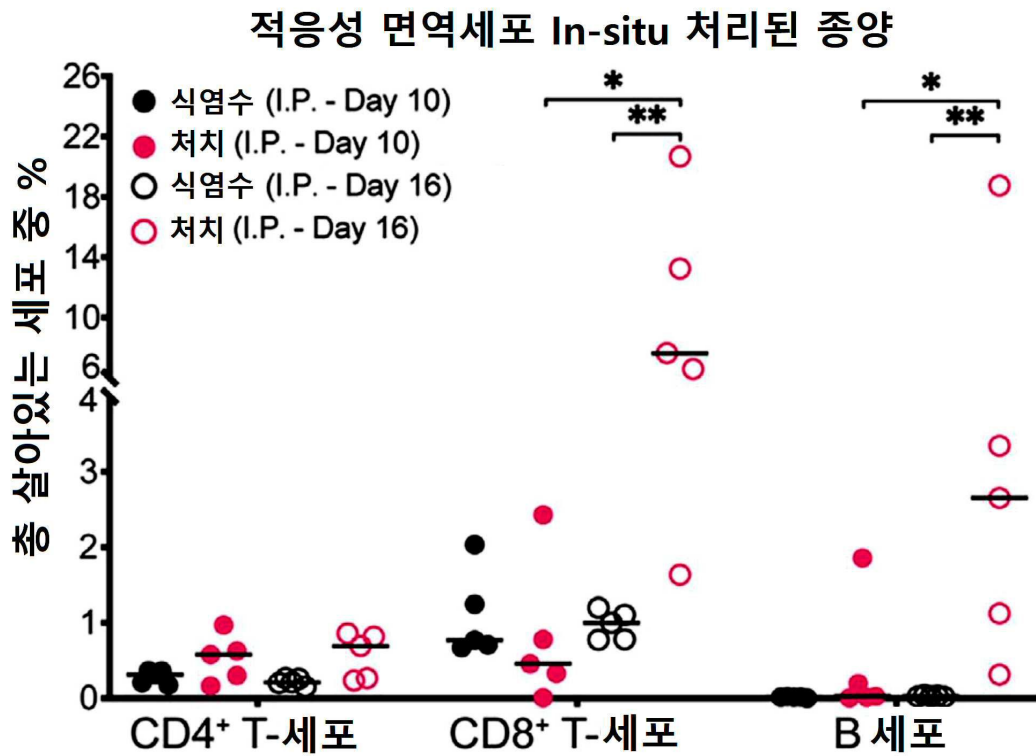
도면3h



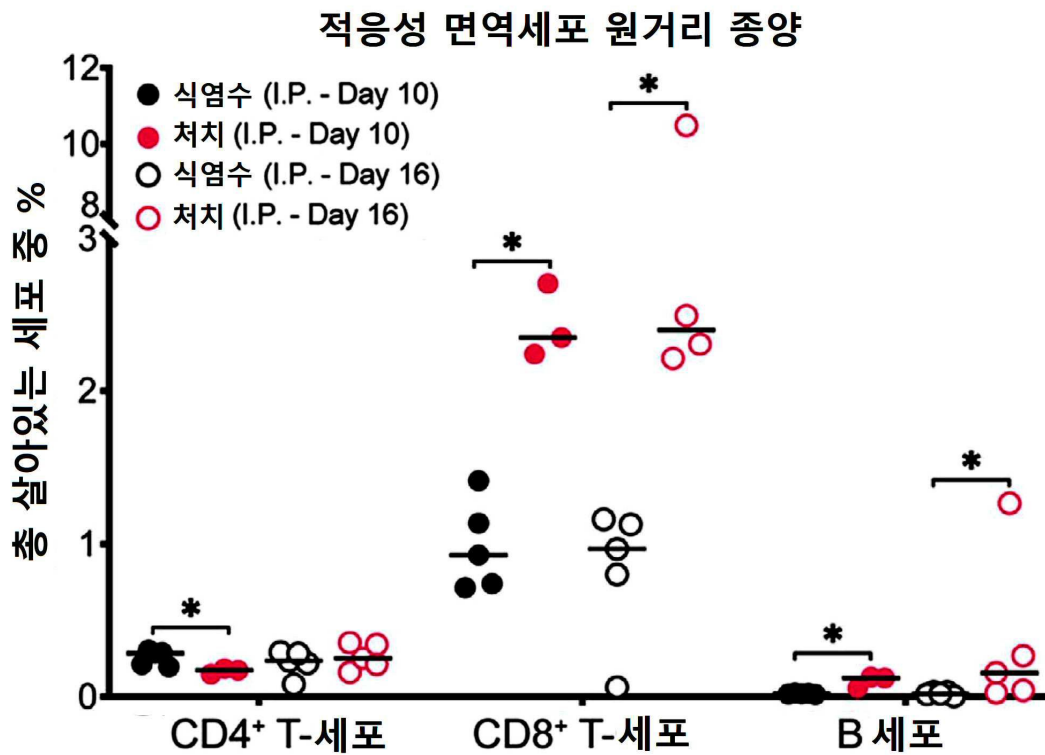
도면3i



도면4a

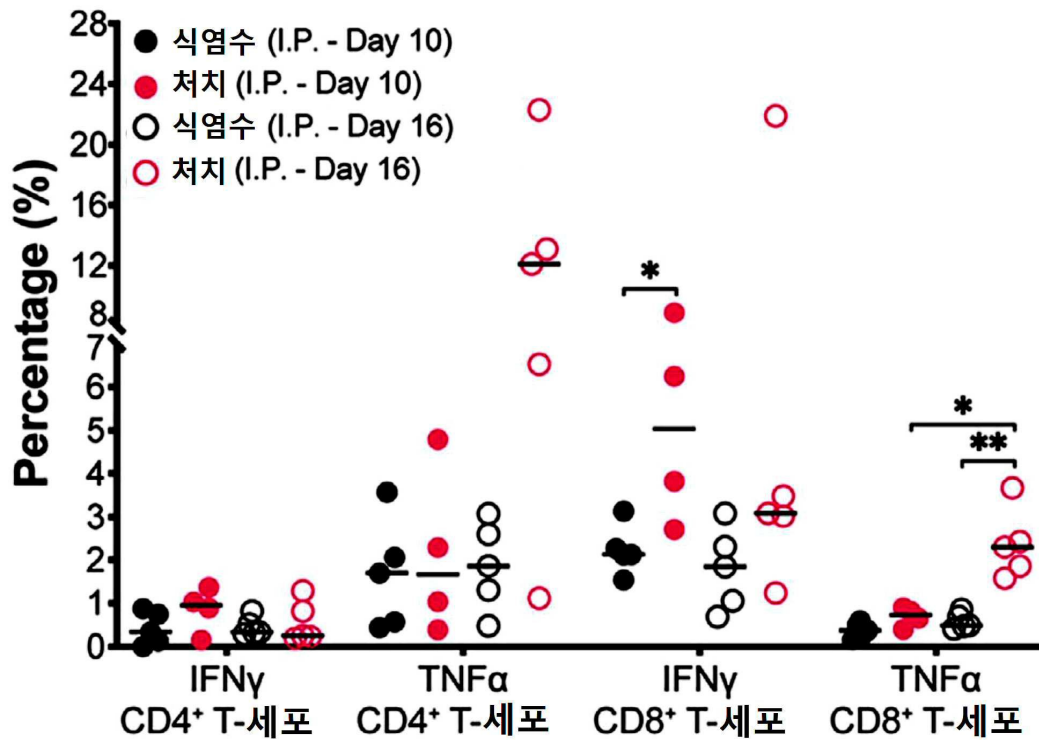


도면4b



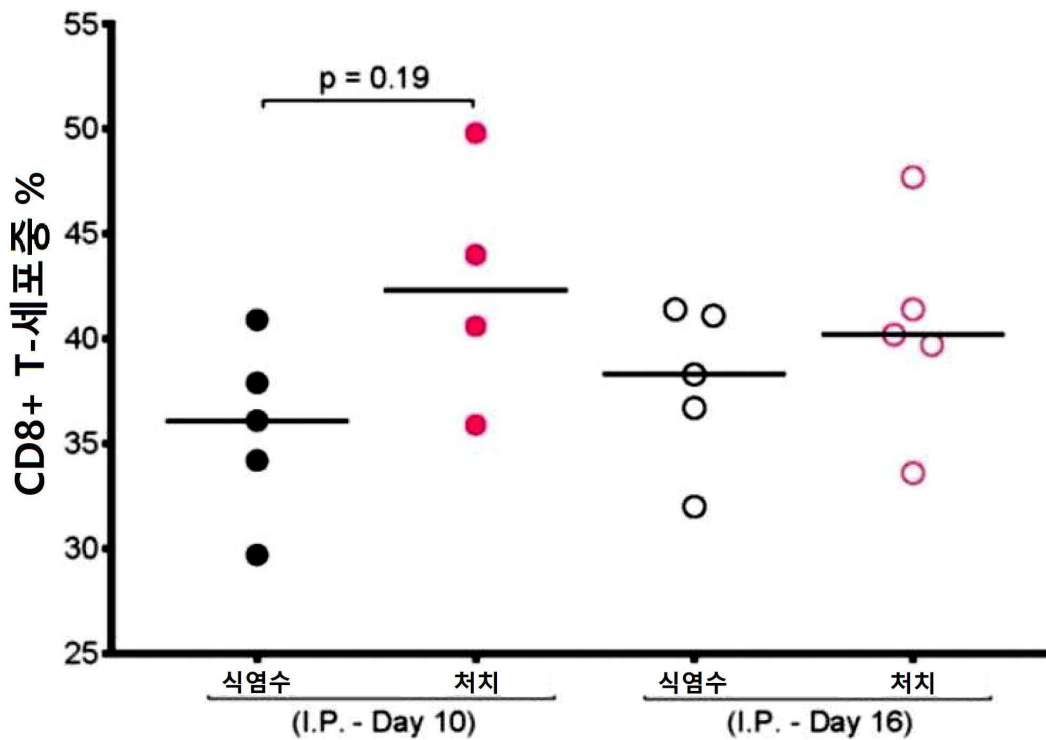
도면4c

원거리 종양의 기능 분석



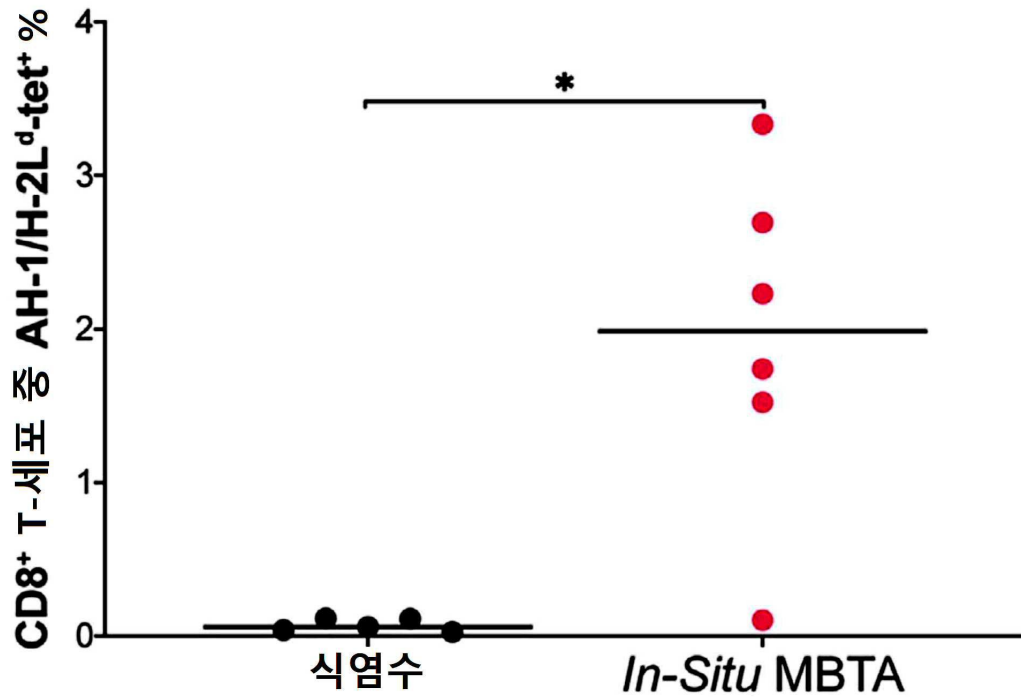
도면4d

그란자임 B+ CD8+ T-세포 원거리 종양



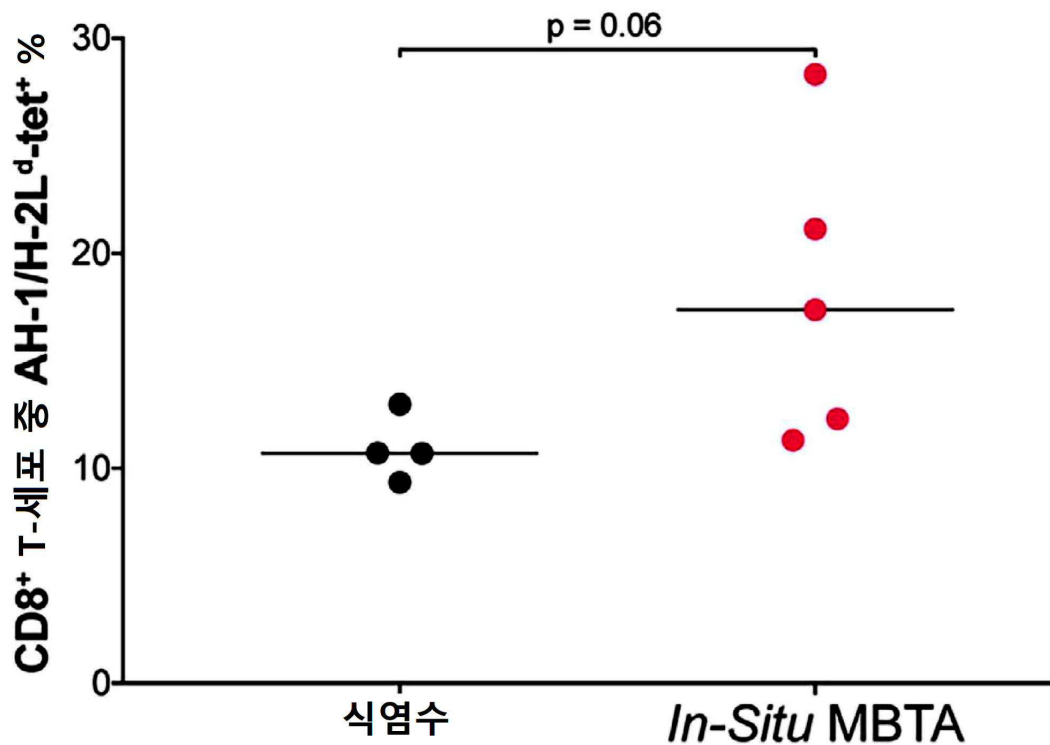
도면4e

혈액 내 AH-1/H-2L^d-사량체 반응성 CD8⁺ T-세포

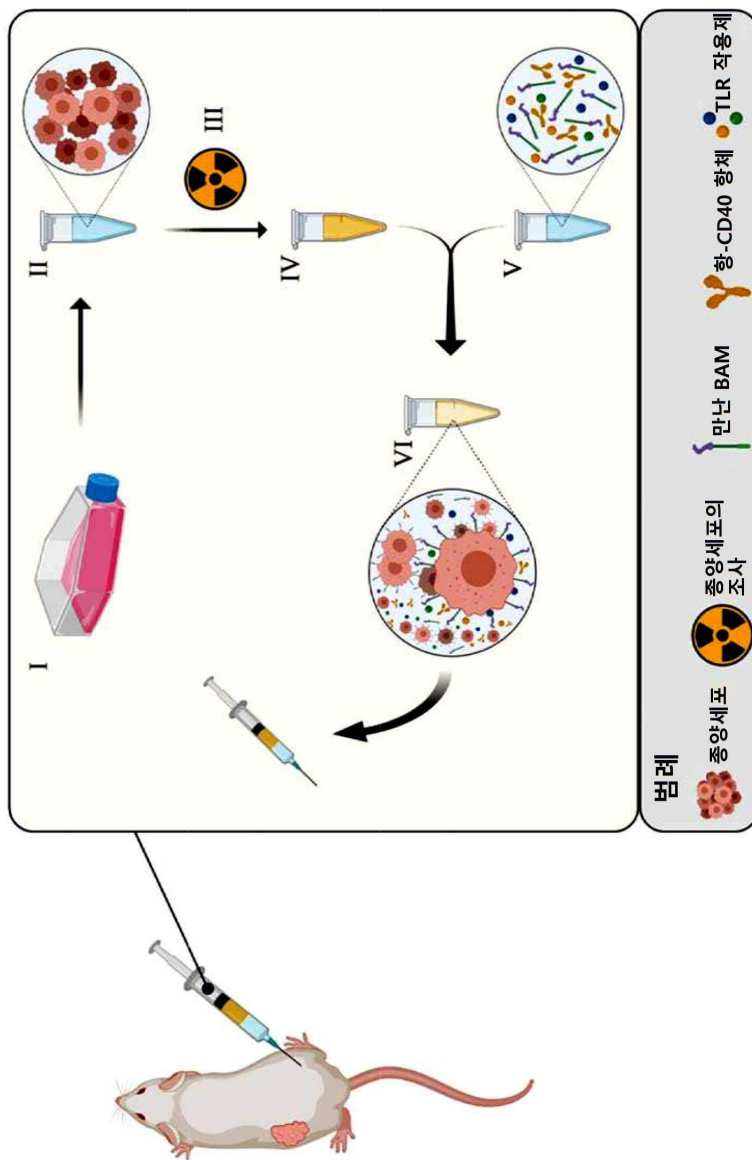


도면4f

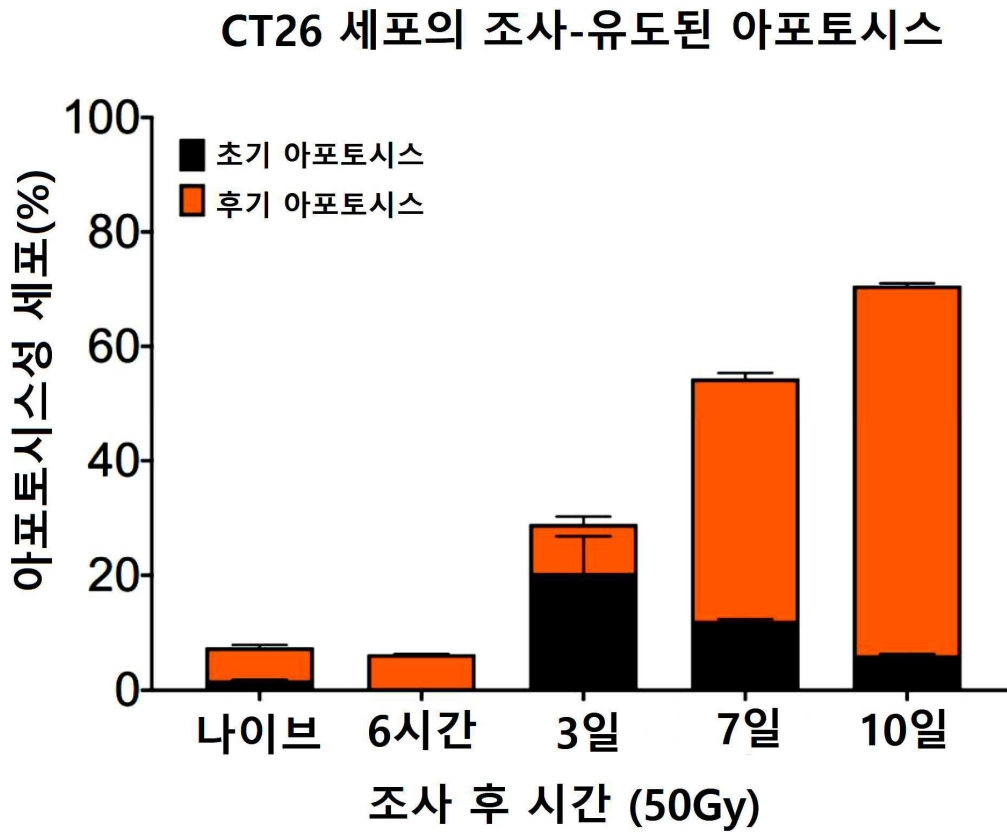
원거리 종양에서 AH-1/H-2L^d-사량체 반응성 CD8⁺ T-세포



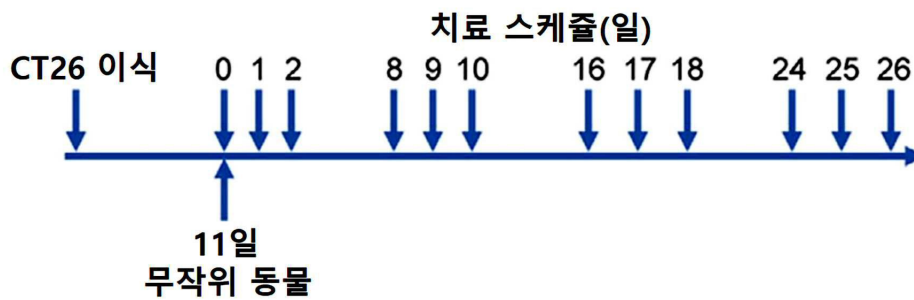
도면5a



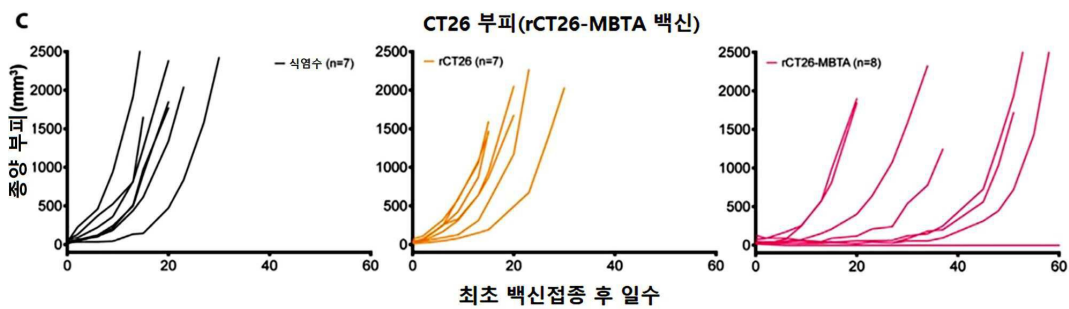
도면5b



도면5c

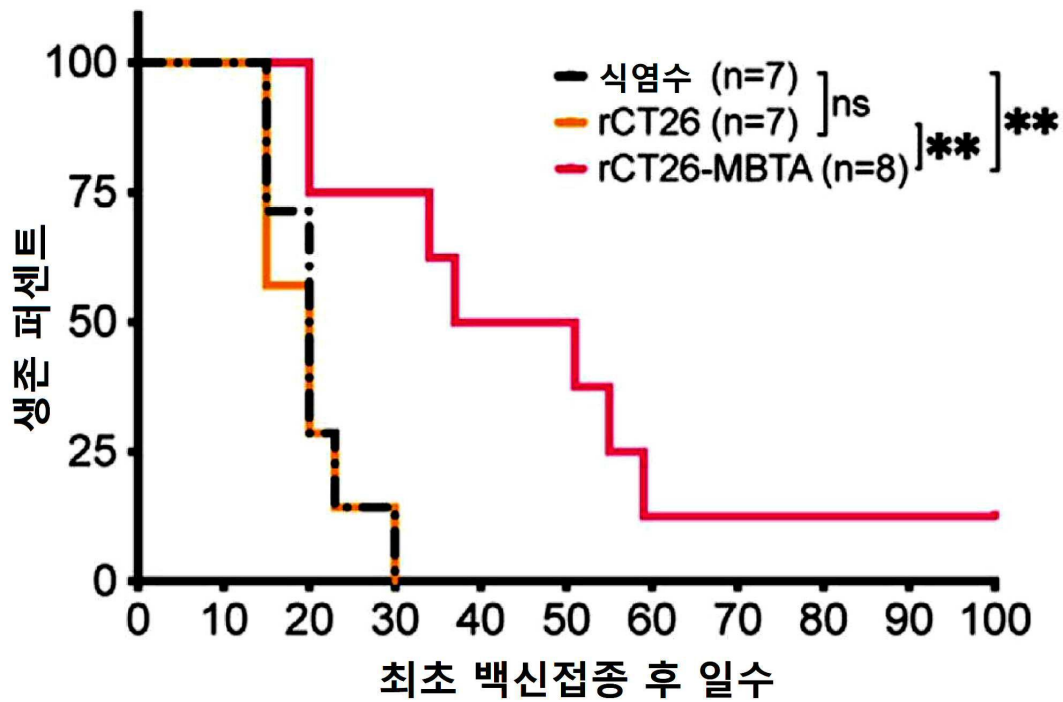


도면5d



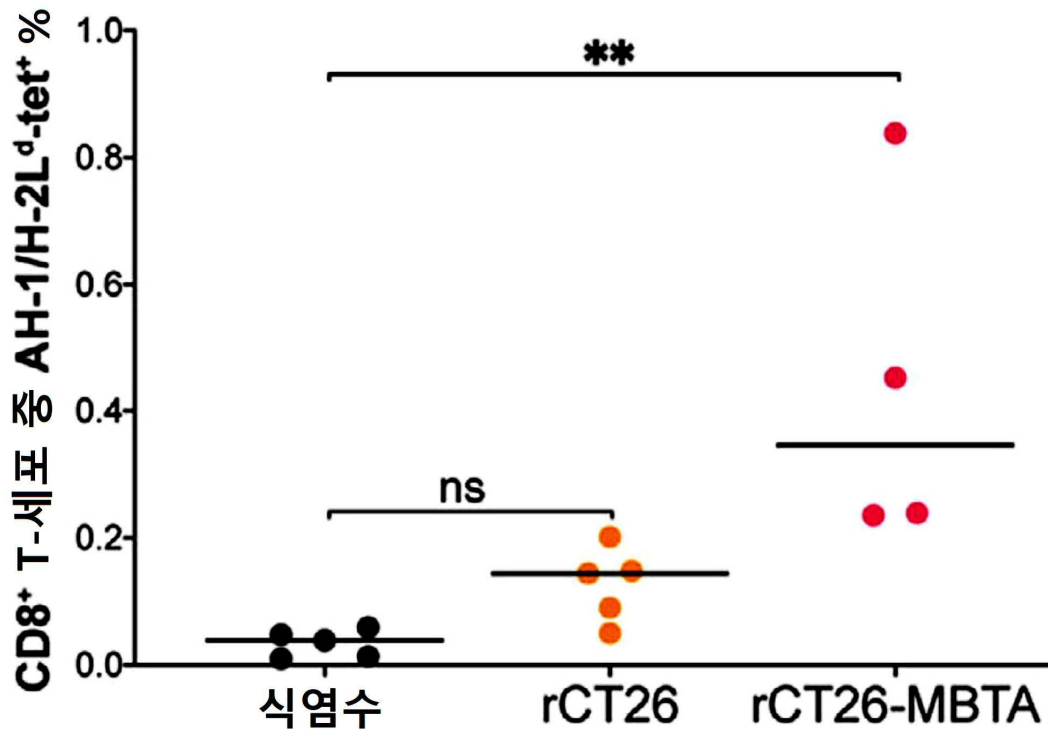
도면5e

연구 종료시점까지 생존



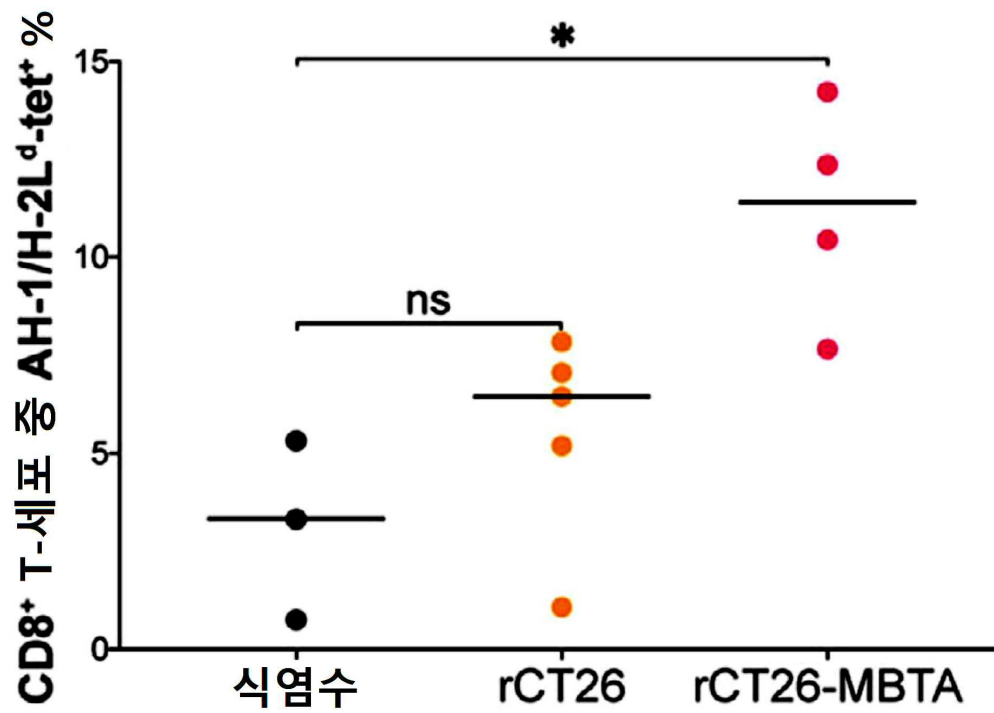
도면5f

혈액 내 AH-1/H-2L^d-사양체 반응성 CD8⁺ T-세포



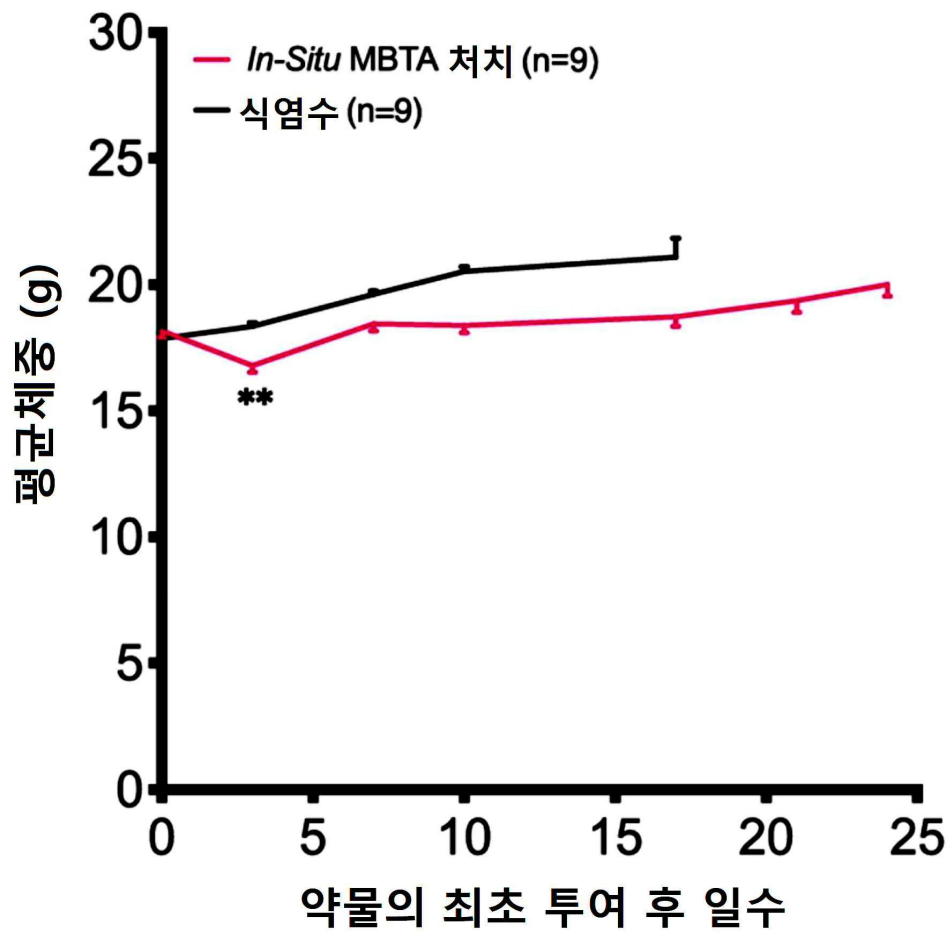
도면5g

종양 내 AH-1/H-2L^d-사양체 반응성 CD8⁺ T-세포



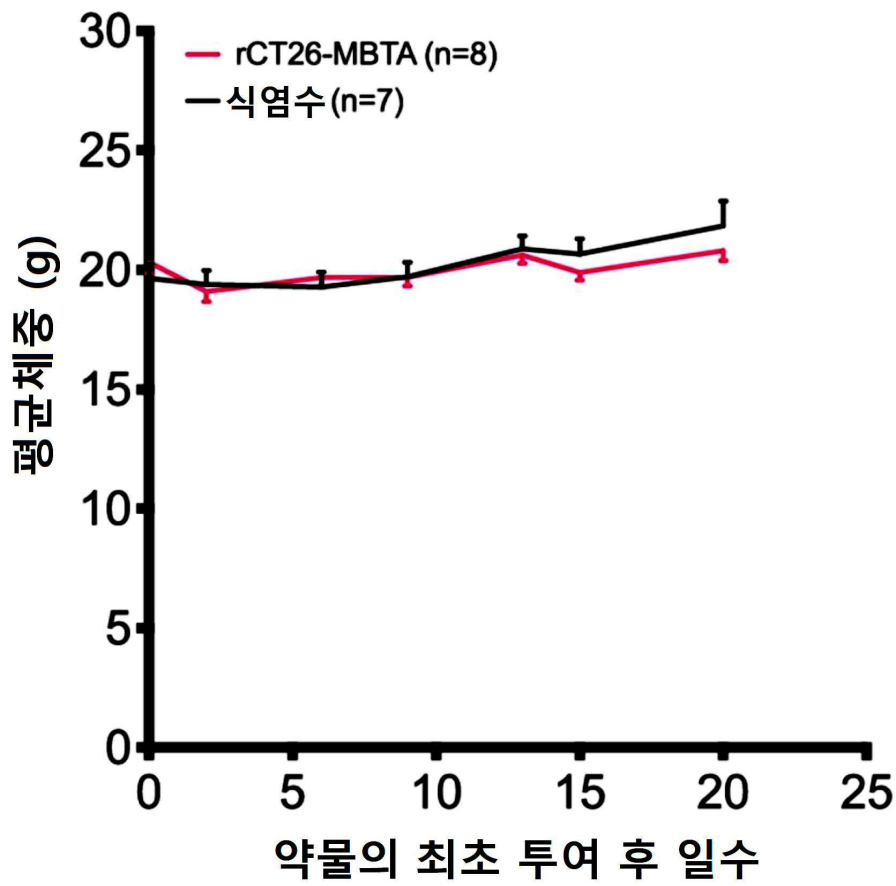
도면5h

In-situ MBTA 처리된 마우스의 체중



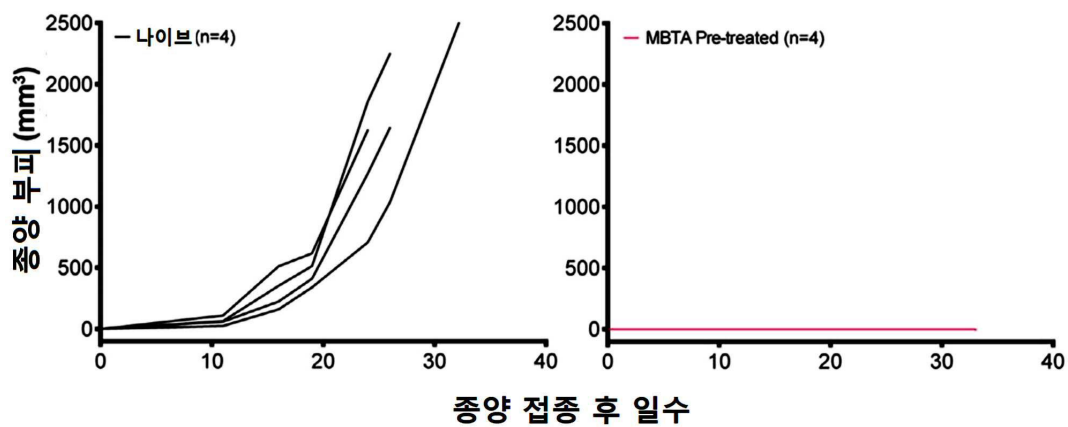
도면5i

백신 접종된 마우스의 체중



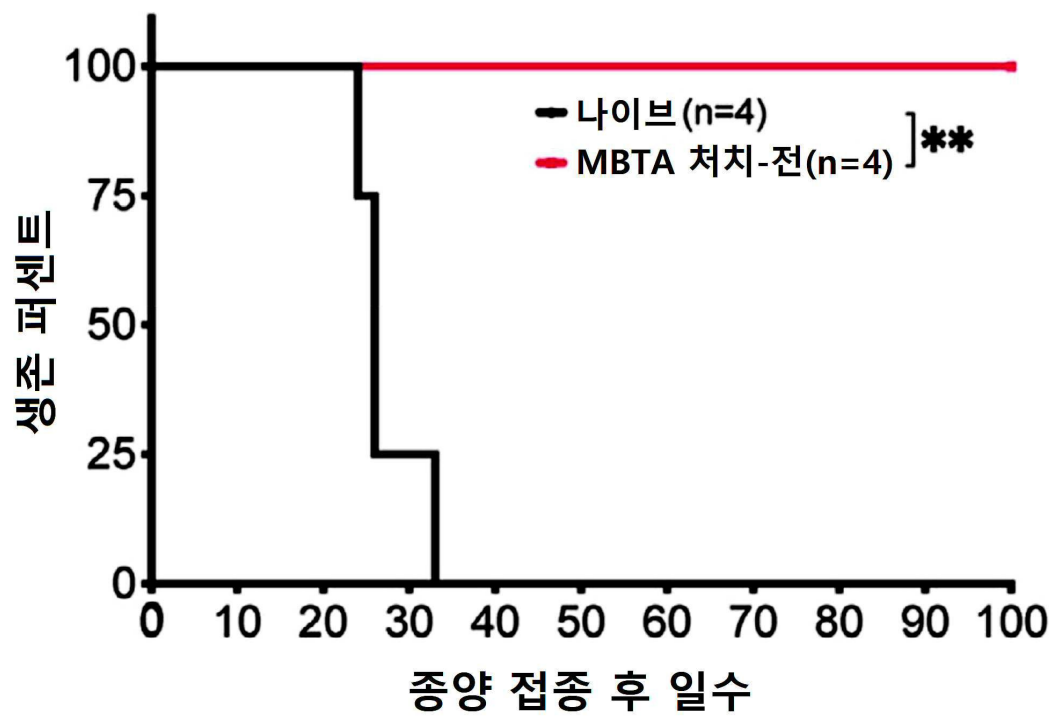
도면6a

CT26 측부 재-챌린지

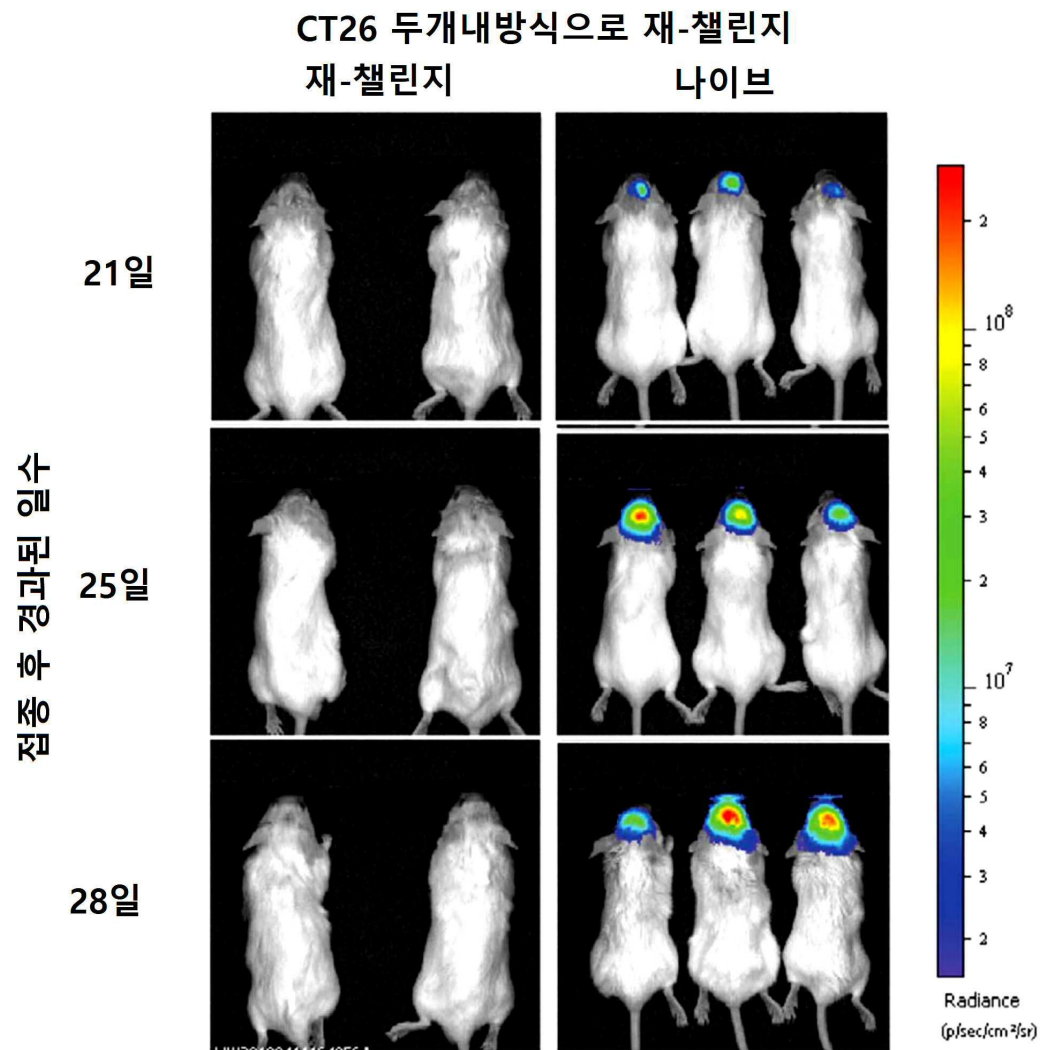


도면6b

연구 종료시점까지 생존



도면6c



도면6d

CT26 두개내방식으로 챌린지

