(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0055044
(43) 공개일자 2024년04월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/573 (2021.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) *A61P 31/14* (2006.01)
A61P 31/18 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01) *C07K 14/705* (2006.01)
C12N 5/0783 (2010.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/573 (2013.01)
A61K 39/4613 (2023.05)
(21) 출원번호 10-2024-7010710
(22) 출원일자(국제) 2022년08월31일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년03월29일
(86) 국제출원번호 PCT/US2022/042147
(87) 국제공개번호 WO 2023/034377
국제공개일자 2023년03월09일
(30) 우선권주장
63/239,566 2021년09월01일 미국(US)

(71) 출원인
에이브이엠 바이오테크놀로지, 엘엘씨
미국, 워싱턴 98109, 시애틀, 1749 덱스터 에비뉴 엔
(72) 발명자
데이셔, 테레사
미국, 워싱턴 98109, 노스 시애틀, 1749 덱스터 에비뉴, 에이브이엠 바이오테크놀로지, 엘엘씨
맥케이, 스캇 웨인
미국, 워싱턴 98109, 노스 시애틀, 1749 덱스터 에비뉴, 에이브이엠 바이오테크놀로지, 엘엘씨
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이처영, 장제환

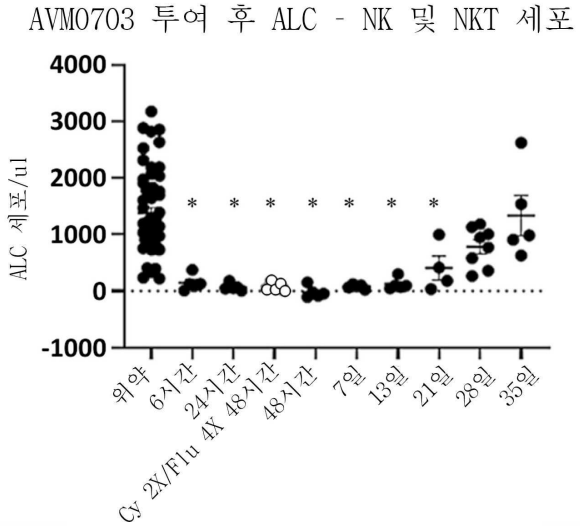
전체 청구항 수 : 총 40 항

(54) 발명의 명칭 **림프구 집단 및 이를 생산하는 방법**

(57) 요 약

본 발명은 신규한 림프구 집단, 이를 생산하는 방법, 및 질환 치료에서 이의 용도에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 39/4621 (2023.05)
A61K 39/46433 (2023.05)
A61K 39/46434 (2023.05)
A61K 39/464411 (2023.05)
A61K 45/06 (2013.01)
A61P 31/14 (2018.01)
A61P 31/18 (2018.01)
A61P 35/00 (2018.01)
A61P 37/00 (2018.01)
(72) 발명자
파르타사라티, 바이슈나비
미국, 워싱턴 98109, 노스 시애틀, 1749 덱스터 에비뉴, 에이브이엠 바이오테크놀로지, 엘엘씨
자히드, 욤나
미국, 워싱턴 98109, 노스 시애틀, 1749 덱스터 에비뉴, 에이브이엠 바이오테크놀로지, 엘엘씨

명 세 서

청구범위

청구항 1

자연 살해 T 세포-유사 세포[natural killer T-cell like cell, NKT-유사 세포]의 집단을 생산하는 방법으로서, 대상에게 덱사메타손 염기의 적어도 약 6 mg/kg 인간 등가 용량[human equivalent dose, HED]과 동등한 용량으로 글루코코르티코이드 수용체[glucocorticoid-receptor, GR] 조절제를 투여하는 단계를 포함하되,

상기 NKT 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타 및 iTCR을 발현하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 NKT-유사 세포 집단은 적어도 세포의 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가

i) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR 알파/베타, CD34 및/또는 ICAM3을 발현하고/하거나,

ii) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, 및/또는 TCR 알파/베타를 발현하고/하거나,

iii) CD4를 발현하지 않는, 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타 및 iTCR, 그리고

i) CD16 및 NKp44;

(ii) TCR 알파/베타;

(iii) CD16, NKp44 및 TCR 알파/베타;

(iv) CD16, NKp44, CD8, CD14 및 CD19;

(v) CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19 및 CD45; 또는

(vi) CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, 및 TCR 알파/베타를 발현하는, 방법.

청구항 4

제2항 또는 제3항에 있어서, 상기 NKT-유사 세포는

i) CD3+/어두움;

ii) CD8+/어두움;

iii) CD3+/어두움 및 CD8+/어두움이되,

임의로, 발현 수준은 공통 공급원에서 유래한 참조 세포 집단의 평균 발현 수준에 비례하여 결정되고, 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제와 접촉되지 않은, 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제는 글루코코르티코이드이되, 임의로, 상기 글루코코르티코이드는 덱사메타손, 히드로코르티손, 메틸프레드니솔론, 프레드니손, 프레드니솔론, 프레드닐리덴, 코르티손, 부데소니드, 베타메타손, 플루메타손 및 베클로메타손으로 이루어진 군에서 선택되는, 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 글루코코르티코이드는 덱사메타손, 베타메타손, 및 메틸프레드니솔론으로 이루어진 군에서 선택되는, 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 글루코코르티코이드는 덱사메타손 또는 베타메타손인, 방법.

청구항 8

제5항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 덱사메타손은 덱사메타손 나트륨 포스페이트인, 방법.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 글루코코르티코이드는

i) 덱사메타손 염기의 적어도 약 6 내지 12 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

ii) 덱사메타손 염기의 적어도 약 6 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

iii) 덱사메타손 염기의 적어도 약 12 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

iv) 덱사메타손 염기의 적어도 약 15 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

v) 덱사메타손 염기의 적어도 약 21 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

vi) 덱사메타손 염기의 적어도 약 24 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

vii) 덱사메타손 염기의 약 15 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

viii) 덱사메타손 염기의 약 24 mg/kg 인간 등가 용량[HED]; 또는

ix) 덱사메타손 염기의 약 45 mg/kg 인간 등가 용량[HED]의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 글루코코르티코이드는 단일 급성 용량으로 투여되거나, 약 72시간 동안 총 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 글루코코르티코이드의 하나 이상의 추가 용량을 투여하는 방법.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 NKT 세포 활성제, T 세포 활성제 및/또는 NK 세포 활성제를 상기 대상에게 투여하는 단계를 더 포함하는 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 NKT 세포 활성제, T 세포 활성제 및/또는 NK 세포 활성제는 글루코코르티코이드를 투여하고 1시간 이내 또는 약 1시간 이후에 투여되는, 방법.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상은 암, 자가면역질환, 또는 감염성 질환으로 이루어진 군에서 선택되는 질환을 갖거나, 갖는 것으로 의심되거나, 또는 진단되고/진단되거나, 상기 NKT-유사 세포는 상기 대상에서 암, 자가면역질환, 또는 감염성 질환으로 이루어진 군에서 선택되는 질환을 치료하는, 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 암은 고형 종양 암인, 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 암은 림프종, 바람직하게는 B 세포 림프종, T 세포 림프종, 또는 비호지킨 림프종, 또는 백혈병, 바람직하게는 T-ALL 또는 B-ALL인, 방법.

청구항 17

제14항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 NKT-유사 세포는 종양 침윤을 통해 상기 암을 치료하는, 방법.

청구항 18

제14항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 NKT-유사 세포는 다른 면역 세포가 종양으로 침윤하는 것을 촉진하는, 방법.

청구항 19

제14항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 NKT-유사 세포는 CD1d-유도 세포자멸사를 통해 암세포를 직접 사멸하는, 방법.

청구항 20

제14항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 NKT-유사 세포는 종양 괴사를 유발하여 상기 암을 치료하는, 방법.

청구항 21

제14항에 있어서, 상기 자가면역질환은 다발성 경화증, 전신 경화증, 근위축성 축삭 경화증, 제1형 당뇨병[type 1 diabetes mellitus, T1D], 피부경화증, 천포창 및 루푸스로 이루어지는 군에서 선택되는, 방법.

청구항 22

제14항에 있어서, 상기 감염성 질환은 HIV, 또는 코로나바이러스, 예컨대, COVID-19의 감염으로부터 유발되는 질환인, 방법.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상에서 유래한 샘플 또는 상기 대상에서 온 NKT-유사 세포의 집단을 단리하는 단계를 더 포함하되,

임의로, 상기 단리하는 단계는

i) 글루코코르티코이드를 투여하고 적어도 48시간 후에 수행되거나,

ii) 글루코코르티코이드를 투여하고 48시간 내지 13일에 수행되는, 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 샘플은 혈액, 혈장, 종양 생검 또는 외과적으로 제거된 종양, 골수, 간, 지방 또는 지방 조직으로 이루어진 군에서 선택되는, 방법.

청구항 25

제23항 또는 제24항에 있어서, 단리된 NKT-유사 세포를 확장하는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 26

제23항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단리된 NKT-유사 세포를 NKT 세포 활성제, T 세포 활성제 및/또는 NK 세포 활성제로 활성화시키는 단계를 더 포함하되,

임의로, 상기 NKT 세포 활성제는 알파 GalCer 및 설파티드에서 선택되고,

임의로, 상기 T 세포 활성제는 졸레드로네이트 및 메바스타틴에서 선택되며, 및

임의로, 상기 NK 세포 활성제는 IL-2, IL-12, IL-15, IL-18, IL-21로 이루어진 군에서 선택되는, 방법.

청구항 27

제23항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단리된 NKT-유사 세포에 단백질을 암호화하는 핵산을 도입하는 단계 및 상기 단백질의 발현이 촉진되는 조건에서 상기 세포를 배양하는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 단백질은 T 세포 수용체[T-cell receptor, TCR], 키메라 항원 수용체[chimeric antigen receptor, CAR] 및 분열되고 일반적이며 프로그램 가능한 CAR[split, universal and programmable CAR, SUPRA-CAR] 중 하나 이상으로 이루어진 군에서 선택되는, 방법.

청구항 29

제23항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 NKT-유사 세포를 확장하는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 30

제23항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 NKT-유사 세포를 NKT 세포 활성제, T 세포 활성제 및/또는 NK 세포 활성제로 활성화시키는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 31

대상에서 암, 자가면역질환, 또는 감염성 질환을 치료하는 방법으로서, 제1항 내지 제30항 중 어느 한 항의 단리된 NKT-유사 세포의 치료 유효량을 상기 대상에게 투여하는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 따른 방법에서 사용되는 글루코코르티코이드.

청구항 33

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 따른 방법에서 사용되는 의약의 제조를 위한 글루코코르티코이드의 용도.

청구항 34

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 따른 방법에 의해 생산되는, 단리된 NKT-유사 세포 또는 NKT-유사 세포의 집단.

청구항 35

단리된 NKT-유사 세포로서, CD56, TCR 감마/델타, 및 iTCR을 발현하되, 임의로,

i) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR 알파/베타, CD34 및/또는 ICAM3을 발현하고/하거나,

ii) CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, 및/또는 TCR 알파/베타를 발현하고/하거나,

iii) CD4를 발현하지 않는 것을 특징으로 하는, 단리된 NKT-유사 세포.

청구항 36

제35항에 있어서, 상기 NKT-유사 세포 또는 이의 전구체는 TCR 감마/델타를 발현하기 위해 형질감염, 형질도입 또는 달리 변형된 적이 없는, 단리된 NKT-유사 세포.

청구항 37

제35항 또는 제36항에 있어서, 상기 NKT-유사 세포 또는 이의 전구체는 iTCR을 발현하기 위해 형질감염, 형질도입 또는 달리 변형된 적이 없는, 단리된 NKT-유사 세포.

청구항 38

제35항 내지 제37항에 있어서, 상기 NKT-유사 세포 또는 이의 전구체는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR 알파/베타, CD34 및/또는 ICAM3를 발현하기 위해 형질감염, 형질도입 또는 달리 변형된 적이 없는, 단리된 NKT-유사 세포.

청구항 39

NKT-유사 세포의 단리된 집단으로서, 상기 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타 및 iTCR을 발현하되, 임의로,

i) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR 알파/베타, CD34 및/또는 ICAM3을 발현하고/하거나,

ii) CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, 및/또는 TCR 알파/베타를 발현하고/하거나,

iii) CD4를 발현하지 않는, NKT-유사 세포의 단리된 집단.

청구항 40

대상에서 암, 자가면역질환, 또는 감염성 질환을 치료하는 방법에서 사용되는 글루코코르티코이드로서, 상기 방법은 덱사메타손 염기의 약 6 내지 45 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 글루코코르티코이드를 상기 대상에게 투여하는 단계를 포함하되,

상기 글루코코르티코이드는 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타 및 iTCR을 발현하고, 임의로,

i) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR 알파/베타, CD34 및/또는 ICAM3을 발현하고/하거나,

ii) CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, 및/또는 TCR 알파/베타를 발현하고/하거나,

iii) CD4를 발현하지 않는 것을 특징으로 하는 NKT-유사 세포의 집단을 유도하는, 글루코코르티코이드.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 개시내용은 신규한 림프구 집단, 이를 생산하는 방법, 및 질환 치료에서 이의 용도에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 개시내용은 고용량 글루코코르티코이드, 글루코코르티코이드 수용체 효능제[agonist] 및 ICAM3 조절제를 사용하여 자연 살해 T 세포 유사 세포[natural killer T cell-like cell, NKT 유사 세포]의 신규 집단을 생산하는 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 본 저자들은 이전에 고농도의 글루코코르티코이드가 입양 T 세포 요법과 같은 세포 면역 요법의 효능을 향상시키기 위해 환자를 조절하는 데 사용될 수 있음을 발견하였고, 국제 특허 출원 PCT/US2018/025517(WO2018/183927로 공개됨)에 기재되어 있다. 해당 출원에서, 저자들은 화학 요법 및 방사선 매개 전처치와 관련된 독성에 주목했으며, 이는 비장의 세포질을 비선택적으로 파괴하는 것으로 여겨진다. 저자들은 세포 면역 요법을 받는 암 환자에게 혜택을 주기 위해 글루코코르티코이드(스테로이드의 하위 분류) 및 다른 비독성 림프구 제거제를 급성 용량으로 제공하였다.

[0003] 국제 특허 출원 PCT/US2019/054395(WO2020/072713으로 공개됨)에서 본 저자들은 또한 다른 세포의 세포 수에 실질적으로 영향을 미치지 않으면서 말초 혈액 림프구의 림프 제거를 유발하기 위해 고농도의 글루코코르티코이드의 사용을 기술하였다. 해당 출원에서, 저자들은 고농도의 글루코코르티코이드가 예를 들어 당뇨병 자가면역을 담당하는 소도 특이적 자가반응성 T 세포를 포함하는 말초 혈액 림프구를 제거할 수 있지만 호중구, 혈소판, 적혈구 및 줄기세포(HSC 및 MSC 모두)는 보존한다고 보고하였다. 저자들은 화학요법에 필적하는 효능으로 안전한 면역학적 재설정을 수행할 수 있는 비골수파괴 요법으로 글루코코르티코이드를 제공하였다.

[0004] - - -

[0005] 세포독성 화학요법 사용을 줄이는 것이 국립 암 연구소의 최우선 목표이다. 종종 고형 종양이라고 불리는 암종은 전체 암의 80 내지 90%를 차지하지만 새로운 암 치료법 개발로 표적화하기 어려운 것으로 입증되었다. 키메라 항원 수용체[Chimeric antigen receptor, CAR] T 세포 요법은 CD-19 발현 B 세포 급성 림프구성 백혈병의 치료에서 놀라운 성공을 보여주었다. 그러나, 고형 종양에 대한 CAR T 세포 요법을 제한하는 많은 장애물이 있다: 종양으로의 비효과적인 이동[trafficking]과 고형 종양의 면역억제성 미세 환경은 T 세포 효능을 제한한다. 또한, CAR T 요법은 사이토카인 방출 증후군[cytokine release syndrome, CRS], 신경부종, 및 이식편대 숙주질환[graft versus host disease, GvHD]을 비롯한 심각한 부작용과 관련이 있다. 더욱이, CAR T 요법은 완치적이지 않으며, 최소 잔존 질환[minimal residual disease]이 음성인 경우에도 최대 50%의 대상이 12개월 이내에 재발한다(문헌[Nie et al, 2020]). CAR T 주입 전 사전 치료 또는 '전처치[preconditioning]'는 생존 기간 연장과 관련 있고, 고용량의 화학 요법을 동반한 전처치는 최상의 결과와 관련 있지만 가장 심각한 독성 역시 존재한다. CAR T 표적 항원의 발현 결여로 인한 종양 회피[tumor escape] 또는 종양내 항원의 이질적 발현으로 인해 발생하는 것으로 여겨지는 재발을 감소시키도록 설계된 이중특이적 CAR T 제품은 1세대 CAR T보다 더 효과적인 것으로 보이지는 않는다(문헌[Gill et al, 2021). CAR T의 이러한 한계를 해결하기 위해, 본 분야는 자연 살해[Natural killer, NK], NK/NKT 세포 CAR 및 감마 델타(γδ)T 세포 제품으로 옮겨가고 있다.

[0006] 자연 살해 T 세포[NKT]는 T 세포와 자연 살해[NK] 세포의 특성을 공유하는 이질성 T 세포 집단이다. 기존의 T 세포와 달리 NKT는 흉선에서 나올 때 기능적으로 성숙하고, 빠른 사이토카인 생산을 위해 초회항원자극을 받는다. NKT는 CD1d 발현 암세포 및 종양 미세환경 대식세포를 직접 죽이고, IFN감마 및 IL-4와 같은 면역 활성화 사이토카인을 빠르게 생성 및 방출하며, 수지상 세포[dendritic cell, DC], NK 세포, 및 B 및 T 림프구와 같은 다른 면역 세포를 활성화할 수 있다. 임상적으로, 불변 NKT[invariant NKT, iNKT]는 '자가 배양 활성화 iNKT'의 주사, 알파 Gal Cer(NKT 활성화제) 담지된 수지상 세포 또는 단핵구를 투여하여 내인성 NKT를 활성화하거나, 알파 Gal Cer의 합성 유사체인 KRN7000과 같은 NKT 활성화제 항체 또는 리간드를 투여함으로써 다양한 상이한 암에 대해 사용될 수 있다.

[0007] 그러나, iNKT 생성을 유도하는 데 사용되는 이러한 방법 중 어느 것도 암 환자에게 효과적인 것으로 입증되지 않았고, iNKT 수준은 암 환자에서 감소했으며 임상 시험은 실망스러웠다. iNKT 수준은 노인에서도 유사하게 낮다(문헌[Tarazona et al, 2003, 그 전체가 본원에 참조로 포함됨]). 흑색종에서 '자가 배양 활성화 NKT'의 사용은 아홉 명의 환자 중 세 명에서 효과적이었으며, 결과는 종양 침윤 NKT의 수와 직접 관련이 있었다(문헌[Wolf et al, 2018] 및 문헌[Nair et al, 2017], 그 전체가 본원에 참조로 포함됨). 그러나, 이 접근 방식은 암 환자의 NKT 수가 적고, IFN 감마 1형과 종양 촉진 IL-4 2형 사이를 이동하는 iNKT의 가소성으로 인해 제한되었다.

[0008] 암 치료에서, 키나제 억제제[kinase inhibitor, KI]는 기존의 세포독성 화학요법에 비해 내약성이 우수하다. 그러나, 피로, 고혈압, 발진, 상처 치유 장애, 골수 억제, 및 설사, 갑상선 기능, 뼈 대사, 선형 성장, 생식선 기능, 태아 발달, 부신 기능, 및 포도당 대사의 이상을 포함하는 유의한 독성이 키나제 억제제와 여전히 연관되어 있다. 많은 환자들이 KI의 독성 때문에 용량 감량이 필요하며, 이는 만성적으로 복용해야 한다(문헌[Lodisch et al, 2013], 그 전체가 본원에 참조로 포함됨). 또한, KI에 대한 저항성은 일반적이며 치료의 시간에 따라 달라진다(문헌[Bhullar 2018], 그 전체가 본원에 참조로 포함됨).

[0009] 암 치료와 관련된 독성을 줄이려는 노력에도 불구하고, 이러한 독성을 관리하기 위한 물리적 비용과 의료 비용은 여전히 중요한 문제로 남아 있다. 예를 들어, 혈액암 환자의 최대 41%가 새로운 키나제/프로테아좀 억제제 또는 생물학적 제제와 관련된 물리적 및 재정적 유독성 때문에 이들 약물의 복용을 중단하기로 선택한다(문헌[Mato 2018], 문헌[Kadri 2017], 문헌[Mato 2016] 및 문헌[Barrett 2010], 각각 그 전체가 본원에 참조로 포함됨).

[0010] T 세포는 면역 반응에서 중요한 역할을 하는 일종의 림프구이다. T 세포는 세포 표면에 T 세포 수용체가 있다는 점에서 다른 유형의 림프구와 구별된다. T 세포 수용체[T-cell receptor, TCR]는 주요 조직적합성 복합체[major histocompatibility complex, MHC] 분자에 결합된 항원 단편을 인식하는 역할을 하며 두 개의 서로 다른 단백질 사슬의 이종이량체이다. 인간에서 T 세포의 95%에서 TCR은 알파(α) 사슬 및 베타(β) 사슬(각각 TRA 및 TRB에 의해 암호화됨)로 이루어지는 반면, T 세포의 5%에서 TCR은 감마 및 델타(γ/δ) 사슬(각각 TRG 및 TRD에 의해 암호화됨)로 이루어진다. 이 비율은 병에 걸린 상태(예컨대, 백혈병)에서 달라진다.

[0011] MHC-제한된 알파 베타 T 세포와 대조적으로, 감마 델타 T 세포는 활성화를 위해 항원 처리 및 펩티드 에피토프의 주요 조직적합성 복합체[MHC] 제시가 필요하지 않지만, 일부는 MHC 클래스 Ib 분자를 인식한다. 일부 감마

델타 T 세포는 감염 또는 종양 형성으로 인한 세포 스트레스의 마커를 인식한다. 감마 델타 T 세포는 지질 항원을 인식하는 역할을 하는 것으로도 여겨진다.

[0012] 감마 델타 T 세포는 사이토카인(IFN-γ, TNF-α, IL-17) 및 케모카인(RANTES, IP-10, 림포탁틴)의 생성에 의한 감염/형질전환된 세포의 인식, 감염 또는 형질전환된 표적 세포(퍼포린, 그랜자임, TRAIL)의 세포 용해, 및 다른 세포와의 상호작용 후 광범위한 기능적 가소성을 나타낸다. 감마 델타 T 세포는 MHC-비제한된 방식으로 다양한 암을 인식 및 용해할 수 있고, 감염성 질환에서 보호 기능을 갖고, 다양한 감염성 질환의 진행 및 예후와 관련이 있는 것으로 나타났다(문헌[Gogoi et al, 2013]; 문헌[Pauza et al, 2018]; 문헌[Zheng et al, 2012]; 문헌[Dong et al, 2018]; 문헌[Zhao et al 2018]; 모두 그 전체가 본원에 참조로 포함됨). 일부 감마 델타 T 세포는 또한 상황에 따라 항원 제시 세포로 작용할 수도 있다(문헌[Himoudi et al, 2012]). 따라서 감마 델타 T 세포는 면역 요법 개발에서 상당한 관심을 받고 있다.

[0013] - - -

[0014] 현재 이용 가능한 치료법보다 더 안전하고 더 적은 독성 및/또는 더 큰 효능과 관련된 암, 자가면역 장애, 및 감염성 질환(미생물성 질환이라고도 함)에 대한 추가 치료에 대한 필요성이 존재한다. 더 간단하고 독성이 적으며 비용이 덜 드는 치료가 필요하다.

발명의 내용

[0015] 본 발명은 비이환[naïve] 대상에서 고용량의 글루코코르티코이드가 많은 유형의 말초 혈액 림프구의 림프 제거를 유발하는 작용을 하지만, 자연 살해 T 세포-유사 세포[Natural Killer T cell-like cell, NKT-유사 세포]의 신규 집단의 생산/활성화/동원을 유도한다는 놀라운 발견에 기초한다. 알려진 NKT 세포의 특성을 제시하는 것 외에도, 이 NKT-유사 세포의 신규 집단은 암세포를 직접 포식할 수 있으므로 고형암에 대한 치료제로서 고농도의 글루코코르티코이드의 가능성을 확장한다. 이들 세포는 CD3가 높은 CD49b+이고, CD3가 높은 CD49b- 집단에서 유래하며, 본원의 다른 곳에서 더 자세히 설명된 바와 같이 이들이 발현하는 표면 단백질의 패턴이 특징적이다.

[0016] 암, 자가면역질환 또는 전염병을 앓고 있는 대상과 같은 이환[non-naïve] 대상의 경우, 고용량 글루코코르티코이드는 질병/암성 림프구를 제거하지만 정상 림프구는 보존한다. 이론에 얽매이는 것은 아니지만, 본 저자들은 고용량 글루코코르티코이드에 의해 유도/동원되는 NKT-유사 세포가 감마 델타 TCR을 발현하기 때문에 암 대상이 아닌 비이환 환자의 림프구 제거를 발생시킨다는 가설을 세웠고, 이러한 감마 델터 TCR은 암, 자가반응성 림프구 및 감염된 세포를 포함하는 스트레스를 받는 세포에서 100 내지 1000배 더 높게 발현되거나 선택적으로 발현되는 포스포항원을 인식한다. 병원체/질환이 없는 환경인 비이환 대상에서는 NKT-유사 세포가 인식할 수 있는 스트레스를 받은 세포가 없으며, 스트레스를 받은 세포가 없을 경우, NKT-유사 세포가 정상 림프구를 인식하고 제거할 수 있다.

[0017] 본 저자들은 또한 고용량 투여 후, 글루코코르티코이드 분자가 ICAM3와 같은 세포간 접착 분자에 결합하고 차단할 수 있음을 발견하였다. 결합은 협력적이며 최대 26개의 분자가 ICAM3의 첫 번째 Ig 도메인에 결합할 수 있다. ICAM3는 림프구, 단핵구 및 호중구와 같은 세포뿐만 아니라 흑색종 및 골육종과 같은 암세포 유형에서 상당한 수준으로 발현된다. 덱사메타손과 ICAM3 사이의 상호작용에 대한 분자 모델링은 이들이 낮은 친화성 수소결합을 통해 상호작용한다는 것을 확인한다. 이론에 얽매이는 것은 아니지만, 본 저자들은 본 발명의 신규 NKT-유사 세포의 유도 및/또는 동원이, 본원의 다른 곳에 보다 상세히 기술된 바와 같이, ICAM3 및 글루코코르티코이드, 글루코코르티코이드 수용체 효능제[agonist] 및 ICAM3 조절제 사이의 이러한 저친화성 수소결합 상호작용을 통해 발생할 수 있다는 가설을 세웠다.

[0018] 따라서, 첫 번째 양태에서, 본 발명은 자연 살해 T 세포 유사 세포(NKT-유사 세포) 집단을 생산하는 방법, 대상에게 글루코코르티코이드 수용체[glucocorticoid-receptor, GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제(덱사메타손과 같은 글루코코르티코이드일 수 있음)를 덱사메타손 염기의 적어도 약 6 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공하되, 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제는 대상에서 NKT-유사 세포 집단을 유도 및/또는 동원한다.

[0019] 본 발명의 NKT-유사 세포는 마커 발현의 신규한 패턴을 나타낸다. 특히, 본원에 기술된 방법에 의해 생산/동원된 NKT-유사 세포는 CD56 및 TCR 감마/델타(γδTCR)뿐만 아니라 불변 TCR[invariant TCR, iTCR]을 발현한다. 따라서, 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타 및 iTCR을 발현하는 것을 특징으로 한다. 본원에 기술된 방법에 의해 생산/동원된 NKT-유

사 세포는 또한 활성화된 세포의 마커인 CD16 및 NKp44를 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, 및/또는 TCR 알파/베타를 발현하고/하거나, CD4를 발현하지 않는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR 알파/베타, CD34 및/또는 ICAM3를 발현하고/하거나, CD4를 발현하지 않는 것을 특징으로 한다.

[0020] 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, 및 iTCR을 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD16 및 NKp44를 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16 및 NKp44를 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR 및 TCR 알파/베타를 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44 및 TCR 알파/베타를 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD8, CD14 및 CD19를 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD8, CD14, CD19 및 TCR 알파/베타를 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD8, CD14, CD19, 및 CD45를 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD19, CD45, 및 TCR 알파/베타를 발현한다.

[0021] 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타 및 iTCR을 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD16 및 NKp44를 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, 및 NKp44을 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR 및 TCR 알파/베타를 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, 및 TCR 알파/베타를 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD8, CD14 및 CD19를 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD8, CD14, CD19, 및 TCR 알파/베타를 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD19, 및 CD45를 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD19, CD45 및 TCR 알파/베타를 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 최소 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 및 TCR 알파/베타를 발현하는 것을 특징으로 한다.

[0022] 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD4를 발현하지 않는다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD4을 발현하지 않는 것을 특징으로 한다.

[0023] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD3을 발현할 수 있다. 일부 이러한 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD3+/어두움을 발현할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD8을 발현할 수 있다. 일부 이러한 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD8+/어두움을 발현할 수 있다. NKT-유사 세포는 CD3+/어두움 및/또는 CD8+/어두움으로 기술될 수 있다.

[0024] NKT-유사 세포는 비이환 대상에서 이러한 특성을 갖는 것으로 기술될 수 있다. NKT-유사 세포는 종양성/암성 또는 자가면역 상태에서 이러한 특성을 갖는 것으로 기술될 수 있다. 세포 마커의 발현 수준은 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제와 접촉되지 않은 공통 공급원으로부터 유래된 참조 NKT-유사 세포 집단의 평균 발현 수준과 비교하여 결정될 수 있다. 마커의 발현은 예를 들어 본원에 기술된 장비, 시약 및/또는 조건(단독 또는 조합으로)을 사용하여 수행되는 유세포 분석에 의해 측정될 수 있다.

[0025] 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제는 글루코코르티코이드일 수 있다. 일부 구현예에서, 글루코코르티코이드는 덱사메타손, 히드로코르티손, 메틸프레드니솔론, 프레드니손, 프레드니솔론, 프레드닐리덴, 코르티손, 부데소니드, 베타메타손, 플루메타손 및 베클로메타손으로 이루어진 군에서 선택된다.

[0026] 바람직한 구현예에서, 글루코코르티코이드는 덱사메타손, 베타메타손, 및 메틸프레드니손(바람직하게는 덱사메

타손 또는 베타메타손)으로 이루어진 군에서 선택된다.

[0027] 일부 구현예에서, 글루코코르티코이드는 덱사메타손 염기, 덱사메타손 나트륨 포스페이트, 덱사메타손 헤미숙시네이트, 덱사메타손 나트륨 숙시네이트, 덱사메타손 숙시네이트, 덱사메타손 이소니코티네이트, 덱사메타손-21-아세테이트, 덱사메타손 포스페이트, 덱사메타손-21-포스페이트, 덱사메타손 테뷰테이트, 덱사메타손-17-발레레이트, 덱사메타손 아세테이트 일수화물, 덱사메타손 피발레이트, 덱사메타손 팔미테이트, 덱사메타손-21-팔미테이트, 덱사메타손 디프로피오네이트, 덱사메타손 프로피오네이트, 덱사메타손 아세테이트 무수물, 덱사메타손-21-페닐프로피오네이트, 덱사메타손-21-설포벤조에이트, 덱사메타손 헤모-설페이트, 덱사메타손 설페이트, 덱사메타손 벨록실, 덱사메타손산, 덱사메타손 아세퓨레이트, 덱사메타손 카르복시미드, 덱사메타손 시페실레이트, 덱사메타손 21-포스페이트 이나트륨염, 덱사메타손 메실레이트, 덱사메타손 리놀레이트, 덱사메타손 글루코시드, 덱사메타손 글루쿠로니드, 덱사메타손 요오드아세테이트, 덱사메타손 옥세타논, 카르복시메틸티오-덱사메타손, 덱사메타손비스에톡심, 덱사메타손 에폭시드, 덱사메타손리놀레레이데이트, 덱사메타손 메틸오르쏘발레레이트, 덱사메타손 스페르민, 6-히드록시 덱사메타손, 덱사메타손 트리부틸아세테이트, 덱사메타손 아스파르트산, 덱사메타손 갈락토피라노스, 덱사메타손 염산염, 히드록시 덱사메타손, 카르복시 덱사메타손, 데스옥시 덱사메타손, 덱사메타손 부타존, 덱사메타손 시클로덱스트린, 디히드로 덱사메타손, 옥소 덱사메타손, 프로피오닐옥시 덱사메타손, 덱사메타손 갈락토다이, 덱사메타손 이소니코티네이트, 덱사메타손 인산수소나트륨, 덱사메타손 알데하이드, 덱사메타손 피블레이트, 덱사메타손 트리데실레이트, 덱사메타손 크로토네이트, 덱사메타손 메탄술포네이트, 덱사메타손 부틸아세테이트, 데히드로 덱사메타손, 덱사메타손 이소티오시아나토에틸 티오에테르, 덱사메타손 브로모아세테이트, 덱사메타손 헤미글루타레이트, 데옥시 덱사메타손, 덱사메타손 클로람부실레이트, 덱사메타손 멜팔라네이트, 포르밀옥시 덱사메타손, 덱사메타손 부티레이트, 덱사메타손 라우레이트, 덱사메타손 아세테이트, 및 덱사메타손 형태를 함유하는 임의의 병용 치료제로 이루어진 군에서 선택된다.

[0028] 일부 구현예에서, 글루코코르티코이드는 덱사메타손 나트륨 포스페이트인, 덱사메타손일 수 있다.

[0029] 본 발명의 방법은 특정 글루코코르티코이드 용량의 투여를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 글루코코르티코이드는 다음과 동등한 용량으로 투여된다.

[0030] 덱사메타손 염기의 약 6 내지 12 mg/kg 인간 등가 용량[human equivalent dose, HED];

[0031] 덱사메타손 염기의 적어도 약 6 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

[0032] 덱사메타손 염기의 적어도 약 12 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

[0033] 덱사메타손 염기의 적어도 약 15 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

[0034] 덱사메타손 염기의 적어도 약 18 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

[0035] 덱사메타손 염기의 적어도 약 21 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

[0036] 덱사메타손 염기의 적어도 약 24 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

[0037] 덱사메타손 염기의 최대 약 45 mg/kg 인간 등가 용량[HED].

[0038] 일부 바람직한 구현예에서, 글루코코르티코이드는 덱사메타손 염기의 적어도 약 18 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 투여된다. 일부 다른 바람직한 구현예에서, 글루코코르티코이드는 덱사메타손 염기의 적어도 약 6 내지 18 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 투여된다. 일부 다른 바람직한 구현예에서, 글루코코르티코이드는 덱사메타손 염기의 적어도 약 15 내지 18 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 투여된다.

[0039] 일부 구현예에서, 글루코코르티코이드는 다음과 동등한 용량으로 투여된다.

[0040] 덱사메타손 포스페이트의 약 6 내지 12 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

[0041] 덱사메타손 포스페이트의 적어도 약 6 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

[0042] 덱사메타손 포스페이트의 적어도 약 12 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

[0043] 덱사메타손 포스페이트의 적어도 약 15 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

[0044] 덱사메타손 포스페이트의 적어도 약 18 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

[0045] 덱사메타손 포스페이트의 적어도 약 21 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

[0046] 덱사메타손 포스페이트의 적어도 약 24 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

[0047] 덱사메타손 포스페이트의 최대 약 45 mg/kg 인간 등가 용량[HED].

[0048] 일부 바람직한 구현예에서, 글루코코르티코이드는 덱사메타손 포스페이트의 적어도 약 18 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 투여된다. 일부 다른 바람직한 구현예에서, 글루코코르티코이드는 덱사메타손 포스페이트의 적어도 약 6 내지 18 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 투여된다. 일부 다른 바람직한 구현예에서, 글루코코르티코이드는 덱사메타손 포스페이트의 적어도 약 15 내지 18 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 투여된다.

[0049] 글루코코르티코이드 용량은 mg/kg 값 범위의 mg/kg 값을 갖는 덱사메타손의 인간 등가 용량[HED]으로 정의될 수 있되, 해당 범위는 전술한 mg/kg 값 중 두 개에 의해 제한된다. 예를 들어, 글루코코르티코이드 용량은 6 내지 45 mg/kg의 덱사메타손 HED로 정의될 수 있다. 다른 예시에서, 글루코코르티코이드 용량은 12 내지 24 mg/kg의 덱사메타손 HED로 정의될 수 있다.

[0050] 글루코코르티코이드는 단일 급성 용량으로 투여하거나, 약 72시간 동안 총 용량으로 투여할 수 있다. 더욱이, 해당 방법은 글루코코르티코이드의 하나 이상의 용량을 추가로 투여하는 것을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 다음 시기에 하나 이상의 추가 용량이 투여된다. 선행 글루코코르티코이드 투여 후 24시간 내지 120시간, 선행 글루코코르티코이드 투여 후 24시간 내지 48시간, 선행 글루코코르티코이드 투여 후 72시간 내지 120시간, 첫 번째 글루코코르티코이드 투여 후 24, 48, 72, 96, 120, 144 또는 168시간마다, 첫 번째 글루코코르티코이드 투여 후 매주 1회, 첫 번째 글루코코르티코이드 투여 후 매 2주에 1회, 첫 번째 글루코코르티코이드 투여 후 매월 1회, 또는 첫 번째 글루코코르티코이드 투여 후 매주 2회.

[0051] 개시된 방법은 개시내용의 NKT-유사 세포의 활성화를 위한 단계를 포함할 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 방법은 NKT 세포 활성화제, T 세포 활성화제, 및/또는 NK 세포 활성화제를 대상에게 투여하는 단계를 더 포함할 수 있다. NKT 세포 활성화제는 알파 GalCer, 설파티드, 또는 NKT-활성화 항체로 이루어진 군에서 선택될 수 있다. NKT 세포 활성화제는 알파 GalCer 담지된 수지상 세포 또는 단핵구일 수 있다. T 세포 활성화제는 졸레드로네이트(zoledronate), 메바스타틴(mevastatin), 또는 T 세포 활성화 항체로 이루어진 군에서 선택될 수 있다. NK 세포 활성화제는 IL-2, IL-12, IL-15, IL-18, IL-21, 또는 NK 세포 활성화 항체로 이루어진 군에서 선택될 수 있다. NKT 세포 활성화제, T 세포 활성화제, 및/또는 NK 세포 활성화제는 글루코코르티코이드 투여 후 1 내지 48시간 이내에 또는 약 1 내지 48시간 후에 투여될 수 있다.

[0052] 일부 구현예에서, 대상은 인간이다. 일부 구현예에서, 대상은 인간화 면역체계를 갖는 포유동물 대상, 예컨대, 인간 면역체계[human immune system, HIS] 마우스이다. 바람직하게는, 대상은 인간이다.

[0053] 대상은 암, 자가면역질환, 또는 감염성 질환(미생물 질환이라고도 함)을 갖거나 갖는 것으로 의심될 수 있다(또는 진단된 적이 있다). 암은 고형 종양일 수 있다. 또는, 암은 림프종, 바람직하게는 B 세포 림프종 또는 T 세포 림프종일 수 있다. 일부 바람직한 구현예에서, 암은 비호지킨 림프종일 수 있다.

[0054] 암은 다음으로 이루어진 군에서 선택될 수 있다. 편평세포암(예를 들어 상피편평세포암); 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 폐의 선암종 및 폐의 편평암종을 포함하는 폐암; 복막암; 간세포암; 위장관암을 포함하는 위암 또는 위장암; 췌장암; 교모세포종; 자궁경부암; 난소암; 간암; 방광암; 간종양; 유방암; 대장암; 직장암; 결장직장암; 자궁내막암 또는 자궁암; 침샘암종; 신장암 또는 신암; 전립선암; 외음부암; 갑상선암; 간암종; 항문암종; 음경암종; 및 두경부암.

[0055] 본 발명의 NKT-유사 세포는 종양 침윤을 통해 암을 치료할 수 있다. 본 발명의 NKT-유사 세포는 면역 활성화 사이토카인의 방출을 통해 암을 치료할 수 있다. 본 발명의 NKT-유사 세포는 암세포를 포식 및 사멸함으로써 암을 치료할 수 있다. 본 발명의 NKT-유사 세포는 다른 면역 세포의 종양내로의 침윤을 촉진함으로써 암을 치료할 수 있다. 본 발명의 NKT-유사 세포는 CD1d-유도 세포자멸사를 통해 암을 치료할 수 있다. 본 발명의 NKT 유사 세포는 종양 괴사를 통해 암을 치료할 수 있다. 본 발명의 NKT-유사 세포는 본 발명의 NKT-유사 세포에서 감마-델타 T 세포 수용체의 발현을 통해 종양 세포에 의해 생성된 높은 수준의 포스포항원을 인식함으로써 암을 치료할 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 본 발명은 본 발명의 NKT-유사 세포를 유도, 동원 또는 투여함으로써 종양 괴사를 유발하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 본 발명의 NKT-유사 세포를 유도, 동원 또는 투여함으로써 암 세포의 CD1d-유도 세포자멸사를 유발하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 본 발명의 NKT-유사 세포를 사용하여 암세포를 포식하고/하거나 사멸하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본 발명은 암 세포 포스포항원에 의해 감마-델타 발현 NKT 유사 세포를 활성화시킨 후, NKT-유사 세포상의 NK 수용체를 통

해 암 세포를 인식하고 사멸하는 방법을 제공한다.

[0056] 대상이 자가면역질환을 갖거나, 갖는 것으로 의심되는 (또는 진단된 적이 있는) 구현예에서, 자가면역질환은 다발성 경화증, 전신 경화증, 근위축성 측삭 경화증, 제1형 당뇨병[type 1 diabetes mellitus, T1D], 피부경화증, 천포창, 또는 루푸스일 수 있다. 대상이 감염성 질환을 갖고 있거나, 갖는 것으로 의심되는 (또는 진단된 적이 있는) 구현예에서, 감염성 질환은 HIV, 헤르페스, 간염 또는 인유두종 바이러스일 수 있다. 일부 구현예에서, 감염성 질환은 HIV이다. 일부 바람직한 구현예에서, 감염병은 COVID-19(코로나바이러스 2019; 중증 급성호흡기증후군 코로나바이러스 2, SARS-CoV-2에 의해 유발된 질환)일 수 있다.

[0057] 본 발명의 방법은 단리 및/또는 확장 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어, 방법은 대상으로부터 또는 대상으로부터 유래된 샘플로부터 NKT-유사 세포 집단을 단리하는 단계를 포함할 수 있다. 임의로, 단리 단계는 글루코코르티코이드 투여 후 적어도 48시간 후, 글루코코르티코이드 투여 후 48시간 내지 13일, 또는 글루코코르티코이드 투여 후 6시간 내지 48시간에 수행될 수 있다. 일부 구현예(예를 들어, 대상이 암, 감염성 질환 또는 미생물 질환, 또는 자가면역질환을 갖는 구현예)에서, NKT-유사 세포를 단리하는 단계는 글루코코르티코이드 투여 후 3시간 이내에, 바람직하게는 글루코코르티코이드 투여 후 1시간 이내에 수행될 수 있다. 일부 구현예에서, 단리 단계는 글루코코르티코이드 투여 후 30분 내지 60분에 수행될 수 있다.

[0058] 샘플은 혈액, 혈장, 종양 생검 또는 외과적으로 제거된 종양, 골수, 간, 비장 생검, 및 지방 또는 지방 조직으로 이루어진 군에서 선택될 수 있다. 일부 구현예에서, 방법은 단리된 NKT-유사 세포를 확장하는 단계를 더 포함한다. 일부 구현예에서, 방법은 단리된 NKT-유사 세포를 NKT 세포 활성화제, T 세포 활성화제 및/또는 NK 세포 활성화제로 활성화시키는 단계를 포함한다. NKT 세포 활성화제, T 세포 활성화제, 및/또는 NK 세포 활성화제는 본원의 다른 곳에서 기술된 바와 같을 수 있다.

[0059] 본 발명의 단리된 NKT-유사 세포는 예를 들어, 세포에 핵산을 형질감염시킴으로써 더 조작될 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 방법은 단백질을 암호화하는 핵산을 단리된 NKT-유사 세포에 도입하는 단계, 및 해당 단백질의 발현을 촉진하는 조건하에 세포를 배양하는 단계를 더 포함한다. 단백질은 T 세포 수용체[T-cell receptor, TCR], 키메라 항원 수용체[chimeric antigen receptor, CAR], 분열되고 일반적이며 프로그램 가능한 CAR[split, universal and programmable CAR, SUPRA-CAR] 중 하나 이상일 수 있다. CAR 및/또는 TCR은 CD19, CD20, CD22, GD2, CD133, EGFR, GPC3, CEA, MUC1, 메소텔린, IL-13R, PSMA, ROR1, CAIX, Her2로 이루어진 군에서 선택된 항원에 결합하는 항원 결합 도메인을 포함한다.

[0060] 본 발명의 NKT 세포는 의약에서 용도를 탐색한다. 예를 들어, 본 발명의 단리된 NKT 세포는 의학적으로, 예를 들어, 대상에서 암, 자가면역질환, 또는 감염성 질환(미생물 질환으로도 불림)의 치료에 사용될 수 있다. 이들 구현예에서, 방법은 본원에 개시된 방법을 통해 단리된 NKT-유사 세포의 치료 유효량을 언급된 해당 질환 중 하나를 앓고 있는 대상에게 투여하는 것을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 단리된 NKT-유사 세포가 투여된 대상은 NKT-유사 세포가 단리된 동일한 대상이다. 또한, 단리된 NKT-유사 세포가 투여된 대상은 NKT-유사 세포가 단리된 대상과 상이하다.

[0061] NKT-유사 세포는 정맥내 주사, 복강내 주사, 림프내 주사, 척추강내 주사, 뇌척수액[cerebrospinal fluid, CSF]내 주사, 종양내 직접 주사, 및 고형 종양 위 또는 근처에 도포한 젤로 이루어진 군에서 선택되는 방법에 의해 대상에 투여된다.

[0062] 본 발명은 또한 본원에 개시된 치료법에 사용하기 위한 의약의 제조에서 글루코코르티코이드의 용도로 확장된다.

[0063] 본 발명은 NKT 세포의 집단을 유도하기 위한 덱사메타손 또는 다른 글루코코르티코이드의 사용으로 추가로 확장되되, NKT-유사 세포의 집단은 진술 101 내지 148 중 어느 하나에 따른 방법에 의해 유도된다.

[0064] 본 발명은 NKT 세포의 집단을 동원하기 위한 덱사메타손 또는 다른 글루코코르티코이드의 사용으로 추가로 확장되며, 여기서 NKT-유사 세포의 집단은 진술 101 내지 148 중 어느 하나에 따른 방법에 의해 동원된다.

[0065] 또한, 본 발명의 NKT-유사 세포에서 유래하는 유도만능 줄기세포가 제공된다. 따라서, 일 양태에서, 본 발명은 유도만능 줄기세포[induced pluripotent stem cell, iPSC]를 생산하는 방법을 제공하고, 방법은 iPSC를 생산하기 위해 본원에 개시된 방법에 의해 단리된 NKT 세포를 재프로그래밍하는 것을 포함한다. 재프로그래밍은 Oct3/4, Klf4, Sox2, 및 C-myc를 암호화하는 하나 이상의 핵산을 NKT-유사 세포에 도입하는 것을 포함할 수 있다. 핵산은 DNA(예를 들어, DNA 발현 카세트) 또는 RNA 분자일 수 있다. 재프로그래밍은 Sox1, Sox3, Sox15, Klf1, Klf2, Klf5, L-myc, N-myc, 나노그(Nanog), 및/또는 LIN28 중 하나 이상을 암호화하는 하나 이상의 발현

카세트를 NKT-유사 세포내로 도입하는 것을 더 포함할 수 있다. 재프로그래밍은 Sox1, Sox3, Sox15, Klf1, Klf2, Klf5, L-myc, N-myc, 나노그(Nanog), 및/또는 LIN28 암호화 mRNA 중 하나 이상을 NKT-유사 세포내로 도입하는 것을 더 포함할 수 있다. 그런 다음 iPSC는 예를 들어, NKT-유사 세포로 또는 NKT 세포 계통으로 분화하도록 유도될 수 있다.

[0066] 발명은 또한 본원에 개시된 방법에 의해 생산되는 단리된 자연 살해 T 세포-유사 세포(NKT-유사 세포) 또는 NKT-유사 세포의 집단을 제공한다. 이와 관련하여, 본 발명의 NKT-유사 세포는 이들의 발현 프로파일(들)에 의해 정의될 수 있으며, 이는 본원의 다른 곳에서 기술된 바와 같을 수 있다. 예를 들어, 본 발명은 세포가 CD56, TCR 감마/델타 및 iTCR을 발현하고, 임의로, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, 및/또는 TCR 알파/베타 중 하나 이상을 발현하고/하거나, CD4를 발현하지 않는 것을 특징으로 하는 단리된 자연 살해 T 세포 유사 세포(NKT 유사 세포)를 제공한다. 단리된 NKT-유사 세포는 질환이 없는 대상에서 유래할 수 있다.

[0067] 본 발명은 또한 자연 살해 T 세포-유사 세포(NKT-유사 세포)의 단리된 집단을 제공한다. NKT-유사 세포의 단리된 집단은 이들의 발현 프로파일(들)에 의해 정의될 수 있으며, 이는 본원의 다른 곳에서 기술된 바와 같을 수 있다. 예를 들어, NKT-유사 세포의 단리된 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타 및 iTCR을 발현하고/하거나, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 및/또는 TCR 알파/베타 중 하나 이상을 발현하고/하거나, CD4를 발현하지 않는 것을 특징으로 한다.

[0068] 본 발명은 대상의 암, 자가면역질환 또는 감염성 질환(미생물 질환이라고도 함)의 치료 방법에 사용하기 위한 글루코코르티코이드를 제공하고, 방법은 글루코코르티코이드를 대상에게 덱사메타손의 약 6 내지 45 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동일한 용량으로 투여하는 것을 포함하되, 글루코코르티코이드는 본원에 정의된 바와 같이, 본 발명의 NKT-유사 세포 집단을 유도/활성화/동원한다. 예를 들어, 본 발명은 암 환자에서 종양 괴사를 유도하고/하거나, 종양 침윤을 유발하고/하거나, 면역 활성화 사이토카인을 방출하고/하거나, 종양 세포를 포식 및 사멸하고/하거나, 다른 면역 세포의 종양으로의 침윤을 촉진하고/하거나, CD1d-유도 세포자멸사를 유발하는 방법에 사용하는 방법으로서, 본원에 정의된 바와 같이, 본 발명의 NKT-유사 세포 집단을 유도하기 위해 덱사메타손의 약 6 내지 45 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 대상에게 글루코코르티코이드를 투여하는 단계를 포함하는 방법으로 사용되는 글루코코르티코이드를 제공한다. 예를 들어, 본 발명은 암 환자에서 종양 괴사를 유도하고/하거나, 종양 침윤을 유발하고/하거나, 면역 활성화 사이토카인을 방출하고/하거나, 종양 세포를 포식 및 사멸하고/하거나, 다른 면역 세포의 종양으로의 침윤을 촉진하고/하거나, CD1d-유도 세포자멸사를 유발하는 방법으로서, 본원에 정의된 바와 같이, 본 발명의 NKT-유사 세포 집단을 동원하기 위해 덱사메타손의 약 6 내지 45 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 환자에게 글루코코르티코이드를 투여하는 단계를 포함하는 방법에 사용되는 글루코코르티코이드를 제공한다. 예를 들어, 본 발명은 암 환자에서 바이러스의 사멸을 유도하고, 면역 활성화 사이토카인을 방출하고, 바이러스에 감염된 세포를 포식 및 사멸하고, 다른 면역 세포의 바이러스 감염된 기관으로의 침윤을 촉진하기 위한 방법으로서, 본원에 정의된 바와 같이, 본 발명의 NKT-유사 세포 집단을 유도하기 위해 덱사메타손의 약 6 내지 45 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 대상에게 글루코코르티코이드를 투여하는 것을 포함하는 방법으로 사용되는 글루코코르티코이드를 제공한다. 덱사메타손의 HED는 본원에 공개된 값의 범위에서 임의의 값을 취할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0069] 본 개시내용의 원리를 예시하는 구현예 및 실험은 이제 첨부 도면을 참조하여 논의할 것이다.

도 1. 급성 고용량 덱사메타손은 비이환[naïve] 마우스에서 마우스 림프구 수를 감소시킨다. 고용량 덱사메타손 [18 mg/kg HED 덱사메타손 포스페이트(DP)] 후 6시간, 24시간, 48시간, 7일, 13일, 및 21일에 전혈구 수(세포/ul = CBC에서 얻은 절대 수)로 측정된 절대 림프구 수(ALC - NK 및 NKT 세포)는 위약에 비해 유의하게 감소하였다. 투여 후 6시간 및 48시간에 거의 완전한 림프절제가 관찰되었으며, 이는 표준 Cy/Flu 화학요법(13 mg/kg HED 시클로포스파미드 및 0.8 mg/kg HED 플루다라빈)으로 달성된 것과 유사한 효과이다.

도 2. 급성 고용량 덱사메타손은 비이환 마우스에서 마우스 B 림프구 수를 감소시킨다. 고용량 덱사메타손(18 mg/kg HED DP) 후 6시간, 24시간, 48시간, 7일, 13일, 및 21일에 전혈구 수(세포/ul = CBC에서 얻은 절대 수)로 측정된 B 림프구 수는 위약에 비해 유의하게 감소하였다. B 림프구에 대한 림프절제 효과는 표준 Cy/Flu 화학요법(13 mg/kg HED 시클로포스파미드 및 0.8 mg/kg HED 플루다라빈)으로 달성된 것과 유사한 효과이다.

도 3. 급성 고용량 덱사메타손은 비이환 마우스에서 마우스 단핵구 수를 감소시킨다. 고용량 덱사메타손(18 mg/kg HED DP) 후 6시간, 24시간, 및 48시간에 전혈구 수(세포/ul = CBC에서 얻은 절대 수)로 측정된 단핵구 수

는 위약에 비해 유의하게 감소하였다. 단핵구에 대한 절제 효과는 표준 Cy/Flu 화학요법(13 mg/kg HED 시클로포스파미드 및 0.8 mg/kg HED 플루다라빈)에 의해 달성된 것보다 우수하다.

급성 고용량 덱사메타손은 비이환 마우스에서 마우스 호중구 수를 감소시킨다. 고용량 덱사메타손(18 mg/kg HED DP) 후 6시간, 24시간, 및 48시간에 전혈구 수(세포/ul = CBC에서 얻은 절대 수)로 측정한 호중구 수는 위약에 비해 유의하게 감소하였다.

도 5. 급성 고용량 덱사메타손은 마우스 혈소판을 보존한다. 급성 고용량 덱사메타손(18 mg/kg HED DP)은 전혈구 수(세포/ul = CBC에서 얻은 절대 수)로 측정한 혈소판 수에 영향을 미치지 않는다. 따라서 급성 고용량 덱사메타손은 수혈의 필요성을 없애고, 화학 요법에 대한 더 안전하고 독성이 없는 대안을 제공한다. 혈소판은 글루코코르티코이드 수용체[glucocorticoid receptor, GR]를 발현하므로 혈소판에 대한 효과가 없다는 것은 글루코코르티코이드 수용체 독립적인 작용기전을 시사한다.

도 6. 급성 고용량 덱사메타손은 조혈모세포를 보존한다. 위약 또는 급성 고용량 덱사메타손으로 처치한 비이환 마우스에서 6시간 내지 35일 시점에 측정된 살아있는 조혈모세포의 수를 나타낸다. 급성 고용량 덱사메타손(18 mg/kg HED DP)은 살아있는 조혈 줄기세포의 수를 유의하게 변화시키지 않는다. 따라서, 급성 고용량 덱사메타손으로 대표되는 비골수파괴 요법은 면역 재설정 후 조혈 회복을 위해 줄기세포를 수혈할 필요를 제거할 수 있다.

도 7. 급성 고용량 덱사메타손은 NKT 상향 조절(도 7) 및 NKT 세포의 신규 집단[AVM-NKT] 생성을 유도한다. 고용량 덱사메타손(18 mg/kg HED DP) 후 6시간, 및 24시간에 전혈구 수(세포/ul = CBC에서 얻은 절대 수)로 측정된 총 NKT 세포 수는 위약에 비해 감소하였다. 놀랍게도, 고용량 덱사메타손 48시간까지 전혈구 수로 측정한 총 NKT 세포 수가 증가한 다음, 고용량 덱사메타손 치료 후 약 13일까지 점진적으로 감소한다. 표준 Cy/Flu 화학요법(13 mg/kg HED 시클로포스파미드 및 0.8 mg/kg HED 플루다라빈)의 투여로 NKT 세포 수에서 이러한 증가는 치료 후 48시간에 관찰되지 않는다.

도 8. 고용량 덱사메타손 치료 후, 말초 혈액에서 두 개의 NKT 집단을 확인할 수 있다. 급성 고용량 덱사메타손 이후 유세포 분석에 의한 말초 혈액을 조사하여 두 개의 NKT 세포 집단을 확인하였다. 이전에 기술된 NKT 세포에 상응하는 CD3보통CD49b+(인간의 CD56)로 정의된 NKT 세포(중앙 직사각형 게이트); 및, CD3높음CD49b+로 정의된 NKT 세포의 신규 집단(인간의 CD56; AVM-NKT 세포; 중앙 오른쪽 직사각형 게이트). AVM-NKT보다 1/2에서 1로그 낮은 평균 형광 강도[Mean Fluorescent Intensity, MFI]로 CD3를 발현하는 알려진 NKT 세포와 비교하여, AVM-NKT 세포는 CD49b+(인간의 CD56) 및 CD3가 매우 밝다.

도 9. AVM-NKT 상향조절의 시간 경과. CBC 및 유세포 분석 결과를 사용한 혈액 마이크로리터당 AVM-NKT 세포의 정량화. AVM-NKT 세포는 1회 고용량 덱사메타손(HED 18.1 mg/kg DP PO) 처치 후 48시간 내지 13일에 비이환 마우스의 혈액에서 분명하다; * = 통계적으로 유의함.

도 10a. 고용량 덱사메타손(HED 18 mg/kg DP) 치료로 유발된 A20 종양 환경의 변화. 48시간 후, 위약과 비교하여 고용량 덱사메타손으로 치료한 마우스의 종양에서 괴사 증가가 분명하였다.

도 10b. AVM-NKT 세포는 18 mg/kg HED 덱사메타손 포스페이트 투여로부터 3시간 이내에 생쥐의 옆구리에 이식된 A20 림프종을 최대로 제거하는 반면(왼쪽 도면), 혈액 및 흉선으로의 A20 전이는 투여로부터 24시간 후에 최대로 사라지고(중간 도면), 골수로의 A20 전이는 투여로부터 48시간 후에 최대로 사라진다(오른쪽 도면). 마우스 옆구리에 100 μL의 냉각된 매트리젤(Matrigel)과 혼합된 100 μL의 PBS에 A20 림프종 2 x 10^6 개의 세포를 접종하였다. 3시간, 24시간 및 48시간 후에 마우스를 안락사하고 종양, 혈액, 골수 및 흉선을 채취하여 살아있는 A20 세포의 유세포 분석 검출을 위해 단일 세포 현탁액으로 만들었다.

도 11. 급성 고용량 덱사메타손(AVM0703; HED 18.1 mg/kg PO)은 위약에 비해 A20 B 세포 림프종의 성장을 유의하게 지연시킨다. 고용량 덱사메타손 또는 위약의 투여일은 화살표로 표시된다.

도 12. 3 내지 6 mg/kg DSP로 치료한 골관절염 환자의 CD45/CD56 산점도. AVM-NKT 세포(사각형 상자로 표시함)가 확인되었으며 마우스에서와 같이 CD45는 어둡고 CD56(마우스의 CD49b)는 매우 밝다.

도 13. 6 mg/kg AVM0703 투여 1시간 및 3시간 후의 건강한 혈액 공여자와 전립선암 환자의 유세포 분석 데이터. 전립선암 환자에서 신규한, CD45가 어둡고 CD56가 밝은 세포 집단(원)은 주입 1시간 후에 분명하게 보인다. 이러한 데이터는 인간 환자가 마우스에서 확인된 AVM-NKT 세포에 해당하는 세포를 동원한다는 것을 나타낸다.

도 14. AVM0703 치료 환자에 대한 용해된 전혈 유세포 분석 결과는 살아있는 세포 CD56+ 게이트의 이중 양성 γ

δTCR 및 iTCR 세포를 나타낸다. CD56+ 세포는 γδTCR 및 iTCR에 대한 산점도에 나타난다(왼쪽). CD56+ 세포의 51%는 γδTCR과 iTCR 모두에 대해 양성이다. 그런 다음 γδTCR+iTCR+ 사분면(AVM_NKT)을 CD16 및 NKp44 발현에 대해 평가하였다(오른쪽). CD16 및 NKp46은 활성화된 상태를 나타내는 AVM_NKT 세포의 거의 100%에서 발현되었다.

도 15. AVM_NKT 세포의 101-001 크기(FSC) 및 복잡성[SSC] 산점도. 6 mg/kg AVM0703(DP) 주입 1시간 후, 1시간에 걸쳐 IV 주입하고, 전혈을 채취하여 주위 온도[ambient]하에 AVM Biotechnology로 배송하였다. 실온의 암실에서 15분 동안 혈액을 패널 항체로 염색하였다. RBC 용해는 MilliQ 물로 희석한 1X BD FACS 용해 용액(BD Bioscience) 1 mL를 첨가하여 암실에서 10분간 실온에서 수행하였다. 샘플을 2 mL 1X DPBS CMF(Gibco)로 세척하고, 300 uL의 1X DPBS CMF에 재현탁한 후, 5 uL의 7AAD(Biolegend)를 살아있는/죽은 세포 측정을 위해 각 샘플에 첨가하고, 실온에서 암실에서 5분간 배양하였다. MacsQuant 16 유세포 분석기(Miltenyi, Serial #40150)에서 획득을 위해 250 uL의 샘플을 채취하였다. 살아있는 백혈구는 감마 델타 TCR 및 불변 TCR을 공동 발현하는 CD56+ 세포에 대해 게이트되었으며, 전방 대 측면 산점도에서 붉은색으로 표시된다. 붉은색으로 표시된 세포는 호중구 및 큰 과립 림프구와 같은 큰 과립 세포가 속하는 것으로 알려진 전방 대 측면 산점도에 속한다.

도 16. 환자 101-001 CD56+γδTCR+invTCR+ 세포에 대한 유세포 분석 데이터. 왼쪽 위 산점도: 사전 주입; 오른쪽 위 산점도: 주입 후 1시간; 왼쪽 아래 산점도: 주입 후 3일차; 오른쪽 아래 산점도: 주입 후 14일차. 전혈은 도 15에 기술된 바와 같이 처치하였으며, 샘플은 MacsQuant 16 Flow Cytometer(Miltenyi, Serial #40150)에서 획득하였다. 살아있는 백혈구를 CD56+ 세포에 게이트한 다음, 이들 CD56+ 세포를 감마 델타 TCR 대 불변 TCR 염색을 보여주는 산점도에 표시하였다. CD56과 감마 델타 TCR 및 불변 TCR을 발현하는 세포는 각 산점도의 오른쪽 위 사분면에서 발견된다. 본 환자는 AVM0703 6 mg/kg을 주입하고 14일에 유의한 수의 CD56+gdTCR+invTCR+ 세포(마이크로리터 혈액당 79개 세포)의 증거를 나타냈다.

도 17. 환자 103-002 CD56+γδTCR+invTCR+ 세포에 대한 유세포 분석 데이터. 왼쪽 위 산점도: 사전 주입; 오른쪽 위 산점도: 주입 후 1시간; 왼쪽 아래 산점도: 주입 후 3일차; 오른쪽 아래 산점도: 주입 후 14일차. 전혈은 도 15에 기술된 바와 같이 처치하였으며, 샘플은 MacsQuant 16 Flow Cytometer(Miltenyi, Serial #40150)에서 획득하였다. 살아있는 백혈구를 CD56+ 세포에 게이트한 다음, 이들 CD56+ 세포를 감마 델타 TCR 대 불변 TCR 염색을 보여주는 산점도에 표시하였다. CD56과 감마 델타 TCR 및 불변 TCR을 발현하는 세포는 각 산점도의 오른쪽 위 사분면에서 발견된다. 본 환자는 종양 환경이 이러한 NKT-유사 세포를 유도하고 동원할 수 있다는, 종양 보유 마우스의 관찰과 일치하는 순환 CD56+gdTCR+invTCR+ 세포(마이크로리터당 89개 세포)에 대한 기준선 증거를 보유하였다. 이들 CD56+ gdTCR+ invTCR+ 세포는 6 mg/kg 투여 후 3일 동안 마이크로리터당 366개 세포의 순환 수준에 도달하였다.

도 18. 환자 103-005 CD56+γδTCR+invTCR+ 세포에 대한 유세포 분석 데이터. 왼쪽 위 산점도: 사전 주입; 오른쪽 위 산점도: 주입 후 1시간; 아래: 주입 후 3일차. 전혈은 도 15에 기술된 바와 같이 처치하였으며, 샘플은 MacsQuant 16 Flow Cytometer(Miltenyi, Serial #40150)에서 획득하였다. 살아있는 백혈구를 CD56+ 세포에 게이트한 다음, 이들 CD56+ 세포를 감마 델타 TCR 대 불변 TCR 염색을 보여주는 산점도에 표시하였다. CD56과 감마 델타 TCR 및 불변 TCR을 발현하는 세포는 각 산점도의 오른쪽 위 사분면에서 발견된다. 9 mg/kg 주입으로부터 1시간 후, 기준선 CD56+ gdTCR+ invTCR+ 세포(마이크로리터당 347개 세포)가 마이크로리터당 22개 세포로 크게 감소하였으며, 이는 9 mg/kg DP에 반응한 순환 세포의 활성화 및 종양 귀소를 시사하고, 이는 본 환자의 종양 발적[tumor flare]에 대한 임상 관찰과 일치하며, 종양 환경이 이러한 NKT-유사 세포의 생성을 유도할 수 있지만 글루코코르티코이드는 세포를 최적으로 활성화하고 종양 세포로 귀소하고 종양세포를 제거하도록 촉발하기 위해서는 덱사메타손 포스페이트 또는 다른 글루코코르티코이드가 필요하다는 A20 림프종 보유 마우스의 관찰과 일치한다.

도 19. 환자 108-001 제1 주입 CD56+γδTCR+invTCR+ 세포에 대한 유세포 분석 데이터. 왼쪽 위 산점도: 사전 주입; 오른쪽 위 산점도: 주입 후 1시간; 아래: 주입 후 3일차. 전혈은 도 15에 기술된 바와 같이 처치하였으며, 샘플은 MacsQuant 16 Flow Cytometer(Miltenyi, Serial #40150)에서 획득하였다. 살아있는 백혈구를 CD56+ 세포에 게이트한 다음, 이들 CD56+ 세포를 감마 델타 TCR 대 불변 TCR 염색을 보여주는 산점도에 표시하였다. CD56과 감마 델타 TCR 및 불변 TCR을 발현하는 세포는 각 산점도의 오른쪽 위 사분면에서 발견된다. 9 mg/kg AVM0703 주입으로부터 1시간 후, 혈액 내 CD56+ gdTCR+ iTCR+ 세포는 기준선에서 최대 20배 증가하였고(5.8 내지 112 세포/uL), 3일차에도 상승된 상태를 유지하였다(36 세포/uL). 본 환자는 AVM0703 주입 후 3일차에 시력 회복과 함께 유의한 임상 반응을 보였다.

도 20. 환자 108-003 CD56+γδTCR+invTCR+ 세포에 대한 유세포 분석 데이터. 왼쪽 위 산점도: 사전 주입; 오른쪽 위 산점도: 주입 후 1시간; 왼쪽 아래 산점도: 주입 후 3일차; 오른쪽 아래 산점도: 주입 후 14일차. 전혈은 도 15에 기술된 바와 같이 처치하였으며, 샘플은 MacsQuant 16 Flow Cytometer(Miltenyi, Serial #40150)에서 획득하였다. 살아있는 백혈구를 CD56+ 세포에 게이트한 다음, 이들 CD56+ 세포를 감마 델타 TCR 대 불변 TCR 염색을 보여주는 산점도에 표시하였다. CD56과 감마 델타 TCR 및 불변 TCR을 발현하는 세포는 각 산점도의 오른쪽 위 사분면에서 발견된다. CD56+γδTCR+invTCR+ 세포는 기준선에서 혈액 마이크로리터당 24개 세포에서, 12 mg/kg 주입으로부터 14일 후에 마이크로리터당 94개 세포로 시간이 지남에 따라 증가하였다. 본 환자는 14일차에 종양 발적 반응 및 입원이 필요한 인두염 증상, 그리고 질환 부위인 목 림프절에 대한 극적인 면역 귀소를 보였다. 본 환자의 임상 반응 및 CD56+γδTCR+invTCR+ 세포의 유세포 분석 검출은 이들 세포가 종양 부위로 우선적으로 귀소하는 것과 일치한다.

도 21. 환자 108-004 CD56+γδTCR+invTCR+ 세포에 대한 유세포 분석 데이터. 왼쪽 위 산점도: 사전 주입; 오른쪽 위 산점도: 주입 후 1시간; 아래: 주입 후 3일차. 전혈은 도 15에 기술된 바와 같이 처치하였으며, 샘플은 MacsQuant 16 Flow Cytometer(Miltenyi, Serial #40150)에서 획득하였다. 살아있는 백혈구를 CD56+ 세포에 게이트한 다음, 이들 CD56+ 세포를 감마 델타 TCR 대 불변 TCR 염색을 보여주는 산점도에 표시하였다. CD56과 감마 델타 TCR 및 불변 TCR을 발현하는 세포는 각 산점도의 오른쪽 위 사분면에서 발견된다. 환자 108-004는 어떤 시점에서도 CD56+γδTCR+invTCR+ 세포의 증거를 보이지 않았고, 치료에 대한 임상 반응이 없었던 6 mg/kg 이상의 급성 고용량 DP로 치료받은 유일한 환자이며, 이는 이러한 NKT-유사 세포의 유도 및 동원에 의해 매개되는 항종양 활성과 일치한다.

도 22. 환자 108-002 CD56+γδTCR+invTCR+ 세포에 대한 유세포 분석 데이터. 왼쪽 위 산점도: 사전 주입; 오른쪽 위 산점도: 주입 후 1시간; 왼쪽 아래 산점도: 주입 후 3일차; 오른쪽 아래 산점도: 주입 후 14일차. 전혈은 도 15에 기술된 바와 같이 처치하였으며, 샘플은 MacsQuant 16 Flow Cytometer(Miltenyi, Serial #40150)에서 획득하였다. 살아있는 백혈구를 CD56+ 세포에 게이트한 다음, 이들 CD56+ 세포를 감마 델타 TCR 대 불변 TCR 염색을 보여주는 산점도에 표시하였다. CD56과 감마 델타 TCR 및 불변 TCR을 발현하는 세포는 각 산점도의 오른쪽 위 사분면에서 발견된다.

도 23a 내지 **c**. 겉보기에 건강한 혈액 공여자의 γδTCR+invTCR+ 이중특이적 CD56+ 세포 산점도. 12명의 건강한 혈액 공여자에 대하여, 총 CD56+ WBC의 γδTCR+iTCR+ 세포의 산점도를 표시하였다. 전혈은 도 15에 기술된 바와 같이 처치하였으며, 샘플은 MacsQuant 16 Flow Cytometer(Miltenyi, Serial #40150)에서 획득하였다. 살아있는 백혈구를 CD56+ 세포에 게이트한 다음, 이들 CD56+ 세포를 감마 델타 TCR 대 불변 TCR 염색을 보여주는 산점도에 표시하였다. CD56과 감마 델타 TCR 및 불변 TCR을 발현하는 세포는 각 산점도의 오른쪽 위 사분면에서 발견된다. 일부 '건강한' 공여자는 CD56+γδTCR+invTCR+ 세포의 순환 수준을 갖는데, 이는 이러한 세포가 전혀 없는 비이환 마우스와 대조적이다. 비이환 마우스는 기본적으로 병원체가 없는 상태로 유지되고 감염되지 않는 반면, '건강한' 공여자는 무증상이거나 진단되지 않은 감염, 자가면역질환 또는 이러한 NKT-유사 세포의 발현을 유발하는 암을 앓고 앓지 않을 수도 있다.

도 24. AVM0703은 인간화 마우스의 혈액 내로 γδTCR+invTCR+ 이중특이적 CD56+ 세포의 동원을 유도한다. AVM0703은 CD16+인 CD56+ TCRγδ+(hCD45+ 세포의 12%)를 유도하여 활성화된 상태를 시사한다(마우스 10 Taconic NOG-EXL). 마우스 백혈구는 살아있는 집단에 이어 인간 CD45+ 세포에 대해 게이트된다. 다른 실험에서 새로운 AVM-NKT 세포를 포함하는 집단으로 확인된 인간 CD45+ 어두움 세포(왼쪽 위 도면, 파란색 및 원으로 표시됨)는 CD56 및 gdTCR의 산점도로 표시된다(오른쪽 위 도면). CD56+gdTCR+ 세포는 오른쪽 위 사분면에 존재한다. 파란색으로 표시된 거의 모든 인간 CD45+ 어두움 세포는 CD56+gdTCR+ 오른쪽 위 사분면에서 발견된다. 그런 다음 인간 CD45+어두움, CD56+, gdTCR+ 세포를 CD8(왼쪽 아래 도면) 및 CD16(오른쪽 아래 도면) 발현에 대한 평균 형광 강도[MFI]의 히스토그램에서 파란색으로 식별한다. 80% 이상의 세포가 세포독성 세포 유형을 나타내는 CD8 양성이고, 활성화된 세포 유형을 나타내는 CD16 양성이다.

도 25. > 18 mg/kg AVM0703 HED는 hCD45+ 세포의 2 내지 12%에서 이중특이적 면역세포 동원을 유도한다(위쪽 도면: 마우스 M5 5.14%; 아래 도면: 마우스 M7 2.37%; CRL-NCG 인간화 마우스). 백혈구는 살아있는 세포와 인간 CD45+ 세포에 대해 게이트된 후 CD56 및 gdTCR 발현에 대한 산점도로 표시된다(왼쪽 도면). hCD45+, CD56+, gdTCR+ 세포는 오른쪽 위 사분면에서 발견되며 붉은색으로 표시된다. 그런 다음 인간 CD45+CD56+gdTCR+ 세포는 불변 TCR에 대한 MFI으로 보여주는 히스토그램으로 표시된다(오른쪽 도면). 이들 세포 중 97% 넘게 불변 TCR을 발현한다.

도 26. > 18 mg/kg AVM0703 HED는 hCD45+ 세포의 2 내지 12%에서 이중특이적 면역세포 동원을 유도한다(위쪽 도면: 마우스 M1 3.35%; 아래 도면: 마우스 M3 4.13%; CRL-NCG 인간화 마우스). 백혈구는 살아있는 세포와 인간 CD45+ 세포에 대해 게이트된 후 CD56 및 gdTCR 발현에 대한 산점도(왼쪽 도면)로 표시된다. hCD45+, CD56+, gdTCR+ 세포는 오른쪽 위 사분면에서 발견되며, 붉은색으로 표시된다. 그런 다음 인간 CD45+CD56+gdTCR+ 세포는 불변 TCR에 대한 MFI으로 보여주는 히스토그램으로 표시된다(오른쪽 도면). 이들 세포 중 97% 넘게 불변 TCR을 발현한다.

도 27. AVM0703은 인간화 마우스에서 γδTCR+invTCR+ 이중특이적 활성화 CD56+ 골수 세포를 유도한다. > 18 mg/kg AVM0703 HED 처치된 인간화 마우스는 골수에 hCD45+ 세포의 0.3 내지 8.5%에서 이중특이적 면역 세포를 갖는다(위 도면: 마우스 M90; 아래 도면: 마우스 M88; Taconic-NOG-EXL 인간화 마우스). 이중특이적 γδTCR+invTCR+ 세포의 약 90%가 CD16+이며, 이는 활성화된 상태를 나타낸다. 왼쪽 위 도면에서 iTCD는 iTCR이다. 골수 세포는 살아있는 세포에 대해 게이트된 다음 CD56을 발현하는 인간 CD45+ 세포는 gdTCR 및 inv TCR 발현에 대한 산점도(왼쪽 도면)로 표시된다. 그런 다음 인간 CD45+ CD56+ gdTCR+ invTCR+ 세포는 CD16에 대한 MFI를 보여주는 히스토그램으로 표시된다(오른쪽 도면). 이들 세포 중 약 90%가 CD16을 발현하며 이는 활성화된 상태를 나타낸다.

도 28. AVM0703은 인간화 마우스에서 γδTCR+invTCR+ 이중특이적 활성화 CD56+ 골수 세포를 유도한다. > 18 mg/kg AVM0703 HED 처치된 인간화 마우스는 골수에 hCD45+ 세포의 0.3 내지 8.5%에서 이중특이적 면역 세포를 갖는다(위 도면: 마우스 M5; 아래 도면: 마우스 M7; CRL-NCG 인간화 마우스). 이중특이적 γδTCR+invTCR+ 세포의 약 90%가 CD16+이며, 이는 활성화된 상태를 나타낸다. 골수 세포는 살아있는 세포에 대해 게이트된 다음 CD56을 발현하는 인간 CD45+ 세포는 gdTCR 및 inv TCR 발현에 대한 산점도(왼쪽 도면)로 표시된다. 그런 다음 인간 CD45+CD56+gdTCR+invTCR+ 세포는 CD16에 대한 MFI를 보여주는 히스토그램으로 표시된다(오른쪽 도면). 이들 세포 중 약 90%가 CD16을 발현하며 이는 활성화된 상태를 나타낸다.

도 29. AVM0703은 인간화 마우스에서 골수 세포 생산을 유도한다. 첫 번째 AVM0703 또는 위약 투여 후 두 마리의 위약 마우스(위 플롯)와 한 마리의 AVM0703 처치 마우스(아래 플롯)의 데이터가 표시된다. 왼쪽 위: M12 위약 마우스; 오른쪽 위: M90 위약 마우스; 아래: M88 32 mg/kg AVM0703 처치한 마우스. 산점도에 원으로 표시된 림프구와 함께 전방 및 측면 산점도가 표시된다. 위약 처치한 인간화 마우스(위 플롯)는 명확한 집단 없이 비림프구의 무작위 출현을 갖는다. AVM0703을 투여한 마우스(아래 플롯)는 첫 번째 투여 후 림프구 집단보다 측면 산란이 더 높은 뚜렷한 비림프구 세포 집단의 증거를 보인다. 도 30에 나타낸 바와 같이 반복 투여는 이러한 비림프구 집단을 추가로 유도하는데, 이는 골수 세포 및 큰 과립형 림프구에 대해 예상되는 신호와 유사한 전방 대 측면 산란 신호를 갖는다.

도 30. AVM0703은 인간화 마우스에서 골수 세포 생산을 유도한다. 두 번째 AVM0703 또는 위약 투여 후 두 마리의 위약 마우스(위 플롯)와 한 마리의 AVM0703 처치 마우스(아래 플롯)의 데이터가 표시된다. 왼쪽 위: M12 위약 마우스; 오른쪽 위: M90 위약 마우스; 아래: M88 32 mg/kg AVM0703 처치한 마우스. 반복 투여는 AVM0703 투여 마우스에서 비림프구 집단을 추가로 유도하는데, 이는 골수 세포 및 큰 과립 림프구에 대해 예상되는 신호와 유사한 전방 대 측면 산란 신호를 갖는다.

도 31. 인간화 마우스는 대부분 인간 림프 세포를 갖는다. M12 위약 마우스에서 첫 번째 투여 후 림프구는 대부분 인간 CD45+(위 플롯)이고 소수의 골수 세포는 대부분 mCD45+(아래 플롯)이다. 위약 처치된 마우스에 대해 전방 대 측면 산점도가 표시되고, 인간화 마우스에서 림프구는 대부분 인간 CD45+(위 플롯에서 초록색으로 표시)이고 소수의 골수 세포는 대부분 mCD45+(아래 플롯에서 빨간색으로 표시)임을 입증한다.

도 32. AVM0703 투여는 인간화 마우스에서 골수 세포 생산을 유도한다. M12 위약: 마우스 림프구는 전체 마우스 백혈구의 13%이다(왼쪽 위). 인간 림프구는 전체 인간 백혈구의 60%이다(오른쪽 위). 총 림프구는 전체 백혈구의 45%이다.

도 33. AVM0703 투여는 인간화 마우스에서 골수 세포 생산을 유도한다. M90 위약: 마우스 림프구는 전체 백혈구의 12.5%에 불과하다. 인간 림프구는 전체 인간 백혈구의 31.5%이다. 총 림프구는 총 백혈구의 30%이다.

도 34. AVM0703 투여는 인간화 마우스에서 골수 세포 생산을 유도한다. M88 AVM0703: 마우스 림프구는 전체 백혈구의 5.7%에 불과하다. 인간 림프구는 전체 인간 백혈구의 58%이다. 총 림프구는 전체 백혈구의 32%이다. 본 도면의 데이터는 AVM0703 투여 후 위약 처치된 인간화 마우스와 비교하여 전체 림프구 집단이 전체 WBC의 약 45%에서 전체 WBC의 약 32%로 감소함을 보여준다. 골수 세포 생산의 유도는 림프성 백혈구의 비율을

감소시킨다.

도 35. AVM0703 투여는 인간화 마우스에서 골수 세포 생산을 유도한다. M01 AVM0703: 마우스 림프구는 전체 백혈구의 6.7%에 불과하다. 인간 림프구는 전체 인간 백혈구의 67%이다. 총 림프구는 전체 백혈구의 35%이다. 본 도면의 데이터는 AVM0703 투여 후 위약 처치된 인간화 마우스와 비교하여 전체 림프구 집단이 전체 WBC의 약 45%에서 전체 WBC의 약 35%로 감소함을 보여준다. 골수 세포 생산의 유도는 림프성 백혈구의 비율을 감소시킨다.

도 36. AVM0703 투여는 인간화 마우스에서 골수 세포 생산을 유도한다. M03 AVM0703: 마우스 림프구는 전체 백혈구의 23.7%에 불과하다. 인간 림프구는 전체 인간 백혈구의 47%이다. 총 림프구는 전체 백혈구의 40%이다. 본 도면의 데이터는 AVM0703 투여 후 위약 처치된 인간화 마우스와 비교하여 전체 림프구 집단이 전체 WBC의 약 45%에서 전체 WBC의 약 40%로 감소함을 보여준다. 골수 세포 생산의 유도는 림프성 백혈구의 비율을 감소시킨다.

도 37. AVM0703 투여는 인간화 마우스에서 골수 세포 생산을 유도한다. M05 AVM0703: 마우스 림프구는 전체 백혈구의 2.0%에 불과하다. 인간 림프구는 전체 인간 백혈구의 50.1%이다. 총 림프구는 전체 백혈구의 20.9%이다. 본 도면의 데이터는 AVM0703 투여 후 위약 처치된 인간화 마우스와 비교하여 전체 림프구 집단이 전체 WBC의 약 45%에서 전체 WBC의 약 21%로 감소함을 보여준다. 골수 세포 생산의 유도는 림프성 백혈구의 비율을 감소시킨다.

도 38. AVM0703 투여는 인간화 마우스에서 골수 세포 생산을 유도한다. M07 AVM0703: 마우스 림프구는 전체 백혈구의 20.4%에 불과하다. 인간 림프구는 전체 인간 백혈구의 58.2%이다. 총 림프구는 전체 백혈구의 41.9%이다.

도 39. AVM0703 투여는 인간화 마우스에서 골수 세포 생산을 유도한다. M10 AVM0703: 마우스 림프구는 전체 백혈구의 5.2%에 불과하다. 인간 림프구는 전체 인간 백혈구의 37.5%이다. 총 림프구는 전체 백혈구의 28.1%이다. 본 도면의 데이터는 AVM0703 투여 후 위약 처치된 인간화 마우스와 비교하여 전체 림프구 집단이 전체 WBC의 약 45%에서 전체 WBC의 약 30%로 감소함을 보여준다. 골수 세포 생산의 유도는 림프성 백혈구의 비율을 감소시킨다.

도 40. AVM0703 처치된 마우스의 ACT AVM-NKT 세포는 AVM0703으로 전처치된 마우스의 종양(왼쪽 위)과 비장(오른쪽 위)에서 살아있는 MOPC315 세포의 총 수를 유의하게 감소시켰다. AVM0703 전처치 후 ACT에서도 혈액(왼쪽 아래) 및 골수(오른쪽 아래)에서 살아있는 MOPC315가 감소하는 경향이 나타났다. 단일 세포 처리 및 유세포 분석법(CD138 + CD4+) 후에 분석된 balb/c 마우스의 피하 종양(왼쪽 위), 비장(오른쪽 위), 골수(왼쪽 아래) 및 혈액(오른쪽 아래) 내 다양한 집단의 살아있는 MOPC315 세포 분포를 나타냈다. 세포 수여자 집단(n=8)은 적응 세포 전이[adoptive cell transfer, ACT]로부터 48시간 전에 18 mg/kg HED AVM0703으로 전처치(구강 위관 영양법)되었다. ACT에 대한 이중특이적 γδTCR+ invTCR+ NKT-유사 세포를 유도하기 위해 49마리의 비이환 공여자 balb/c 마우스에 45 mg/kg의 AVM0703을 경구 투여한 반면, 8마리의 비이환 balb/c 마우스에는 ACT 96시간 전에 위약을 경구 투여하였다(마우스당 330만 개의 비장세포 I.V. 주입; AVM0703 또는 위약 투여된 마우스의 비장세포를 각각 채취함). 집단명의 첫 번째 부분은 전처치된[preconditioned, PC] 수용체 집단을 지명하는 반면, 두 번째 부분은 공여자 세포가 AVM0703 마우스 또는 위약으로부터 공급되었는지 여부를 지적한다(예를 들어, AVM18 PC - AVM ACT는 ACT 48시간 전에 18 mg/kg AVM0703으로 전처치되고, 채취 96시간 전에 1x 45 mg/kg을 투여한 마우스의 비장 세포를 I.V. 주입한 집단이다). 모든 마우스는 ACT로부터 약 18시간 후에 희생되었다. 전처치 시 평균 종양 부피는 약 130 mm^3였다. (*) P<0.05 (Kruskal-Wallis 테스트 - '위약 PC-위약 ACT' 집단과 비교한 집단 - 집단). AVM0703 처치된 마우스의 ACT 세포는 AVM0703으로 전처치된 쥐의 종양과 비장에서 살아있는 MOPC315 세포의 총 수를 크게 감소시켰다. 또한, 감소가 통계적으로 유의하지는 않았지만, AVM0703을 사용한 전처치에 이어 위약 처치된 마우스 세포의 ACT는 내인성 이중특이적 NKT-유사 세포를 유도/동원시키는 AVM0703 전처치의 능력에 기반하여, 예상한 바와 같이 MOPC315 접종한 마우스에서 살아있는 MOPC315 세포가 감소하는 경향을 보여주었다. 결과는 통계적으로 유의하지 않았지만 AVM0703 전처치에 이은 ACT는 혈액 및 골수에서도 살아있는 MOPC315가 감소하는 경향을 또한 보여주었다.

도 41. 환자 103-007(외투세포 림프종). 절대 림프구 수[Absolute lymphocyte count, ALC]는 AVM0703이 기준선 림프구 증가증이 있는 환자 한 명에서만 림프구를 감소시키는 것으로 나타났다.

도 42. 환자 103-007에서는 AVM0703 투여 후 단핵구, 혈소판, 적혈구용적률 및 RBC가 감소하지 않았다.

도 43. 초약리학적 용량과 동등한 농도에서 GCR 활성화가 없음을 입증하는 생체 외/시험관내 덱사메타손 CRC. 마우스 전혈[whole blood, WB] 및 비장 세포[splenocyte, spl]를 증가하는 농도의 덱사메타손 염기와 함께 6시간 동안 배양한 후 Viobility™(Miltenyi Biotec) 및 eBioscience™ Calcein AM Viability Dye (Invitrogen, ThermoFisher Scientific)를 사용하여 살아 있는/죽은 세포에 대해 공동 염색한 후 CBC 분석(WB) 또는 유세포 분석(spl)으로 세포 수(WB) 또는 세포자멸사(spl)를 측정하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0070] 본 개시내용은 자연 살해 T 세포 유사 세포(NKT-유사 세포) 집단, 단리된 NKT 유사 세포 또는 이러한 방법에 의해 생산된 NKT-유사 세포의 단리된 집단을 생산/활성화/동원시키는 방법, 그리고 NKT-유사 세포가 대상에서 유도되거나 대상에게 투여되는 치료 방법에 관한 것이다. 본 개시내용은 글루코코르티코이드 덱사메타손과 같은 고용량의 글루코코르티코이드 수용체 조절제가 불변 TCR(iTCR+)을 발현하는 γδ 자연 살해 T 유사 세포(CD56+ γδTCR+)의 생산 및 동원을 유도할 수 있다는 저자들의 발견에 기반한다. 신규 발견된 이들 세포 및 이들 세포의 집단은 본원에서 자연 살해 T 세포 유사 세포(NKT-유사 세포)로 지칭되지만, 예를 들어, 자연 살해 T 세포(NKT 세포), CD56+ γδTCR+ iTCR+ NKT 세포, 또는 AVM-NKT 세포로도 지칭될 수 있다. 본원에 사용된 용어 '세포 집단'은 유사한 특성을 공유하는 세포의 집합 또는 집단, 예를 들어, 표면 단백질 발현의 특징적인 패턴을 공유하는 다중 세포의 집합 또는 집단을 의미할 수 있다. 예를 들어, 세포 집단은 CD56, TCR 감마/델타 및 iTCR을 모두 발현하는 세포 집단 또는 집합을 의미할 수 있다.

[0071] 본원에 사용된, 이러한 세포를 '동원한다'는 것은 이들 세포가 림프 기관/조직(예를 들어, 흉선 및 비장) 밖 및 (이후 다른 부위, 예를 들어, 종양 부위로 이동할 수 있는) 전신 순환계로 이동하는 것을 촉진하는 것을 의미할 수 있다. 개시된 방법은 다수의 상기 양태를 포함할 수 있다. 예를 들어, 본 개시내용의 방법은 흉선 및/또는 비장 및/또는 골수에서 본원에 기술된 NKT-유사 세포 집단의 생산을 유도하고, 흉선및/또는 비장 및/또는 골수으로부터 본원에 기술된 NKT-유사 세포 집단을 동원할 수 있다.

[0072] 본원에 개시된, NKT-유사 세포 집단을 생산하는 방법은 대상에게 글루코코르티코이드 수용체[glucocorticoid-receptor, GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제를 투여하는 것을 포함한다. ICAM3 조절제는 ICAM3 신호 전달을 활성화하거나 ICAM3 배출을 유발하여 대상에서 NKT 유사 세포가 유도되도록 할 수 있다. 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제는 대상에서 NKT-유사 세포의 집단을 유도한다. 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제는 대상에서 NKT-유사 세포의 집단을 동원할 수 있다.

[0073] 또한, 개시된 방법에 의해 생산될 수 있는 NKT-유사 세포의 단리된 집단 및 단리된 NKT-유사 세포가 개시된다.

[0074] 개시된 NKT-유사 세포는 이들이 발현하는 표면 단백질의 패턴을 특징으로 할 수 있다. 일부 구현예에서, 개시된 NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR 알파/베타, CD34 및/또는 ICAM3을 발현할 수 있다. 일부 구현예에서, 개시된 NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 및/또는 TCR 알파/베타를 발현할 수 있다. 일부 구현예에서, 개시된 NKT 세포는 CD4를 발현하지 않을 수 있다.

[0075] 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 TCR 감마/델타, 및 iTCR을 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, 및 iTCR을 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD45, TCR 감마/델타, 및 iTCR을 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD45, CD56, TCR 감마/델타, 및 iTCR을 발현한다.

[0076] 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD16을 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 TCR 감마/델타, iTCR 및 CD16을 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR 및 CD16을 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD45, TCR 감마/델타, iTCR 및 CD16을 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD45, CD56, TCR 감마/델타, iTCR, 및 CD16을 발현한다.

[0077] 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD16 및 NKp44를 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 TCR 감마/델타, iTCR 및 CD16을 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16 및 NKp44를 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD45, TCR 감마/델타, iTCR, CD16 및 NKp44를 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD45, CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16 및 NKp44를 발현한다.

[0078] 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 TCR 알파/베타를 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 TCR 감마/델타, iTCR 및 TCR 알파/베타를 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR 및 TCR 알파/베타를 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD45, TCR 감마/델타, iTCR 및 TCR 알파/베타를 발현

한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD45, CD56, TCR 감마/델타, iTCR 및 TCR 알파/베타를 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD45, CD56, TCR 감마/델타, iTCR, TCR 알파/베타 및 CD16을 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD45, CD56, TCR 감마/델타, iTCR, TCR 알파/베타, CD16 및 NKp44를 발현한다.

[0079] 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44 및 TCR 알파/베타를 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD8, CD14, CD19, 및 CD45를 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD19, 및 CD45 및 TCR 알파/베타를 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, CD16, NKp44, CD8, CD14, 및 CD19를 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD8, CD14, 및 CD19를 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD45, CD56, TCR 감마/델타, 및 iTCR을 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD45, CD56, TCR 감마/델타, iTCR 및 TCR 알파/베타를 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD45, CD56, TCR 감마/델타, iTCR, TCR 알파/베타 및 CD8을 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR 및 CD8을 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD8 및 CD3를 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, CD34 및 ICAM3를 발현한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, CD34, ICAM3 및 NKp44를 발현한다.

[0080] 개시된 NKT-유사 세포의 집단과 관련된 구현예에서, NKT-유사 세포의 집단은 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99%의 세포가 상기 개괄된 마커 또는 마커 조합을 발현하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0081] 따라서, 개시된 NKT-유사 세포의 집단과 관련된 구현예에서, NKT-유사 세포의 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR 알파/베타, CD34 및/또는 ICAM3을 발현한다는 점을 특징으로 할 수 있다. 개시된 NKT-유사 세포 집단과 관련된 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 이상이 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, 및/또는 TCR 알파/베타를 발현한다는 점을 특징으로 할 수 있다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD4를 발현하지 않는 것을 특징으로 한다.

[0082] 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 TCR 감마/델타 및 iTCR을 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타 및 iTCR을 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD45, TCR 감마/델타 및 iTCR을 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD45, CD56, TCR 감마/델타 및 iTCR을 발현하는 것을 특징으로 한다.

[0083] 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD16을 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 TCR 감마/델타, iTCR 및 CD16을 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR 및 CD16을 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD45, TCR 감마/델타, iTCR 및 CD16을 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD45, CD56, TCR 감마/델타, iTCR 및 CD16을 발현하는 것을 특징으로 한다.

[0084] 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD16 및 NKp44를 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 TCR 감마/델타, iTCR 및 CD16을 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, 및 NKp44을 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD45, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, 및 NKp44을 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD45, CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, 및 NKp44를 발현하는 것을 특징으로 한다.

[0085] 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 TCR 알파/베타를 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90,

95, 96, 97, 98 또는 99%가 TCR 감마/델타, iTCR, 및 TCR 알파/베타를 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, 및 TCR 알파/베타를 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD45, TCR 감마/델타, iTCR, 및 TCR 알파/베타를 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD45, CD56, TCR 감마/델타, iTCR, 및 TCR 알파/베타를 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 최소 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD45, CD56, TCR 감마/델타, iTCR, TCR 알파/베타 및 CD16을 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD45, CD56, TCR 감마/델타, iTCR, TCR 알파/베타, CD16, 및 NKp44를 발현하는 것을 특징으로 한다.

[0086] 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, 및 TCR 알파/베타를 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD19, 및 CD45를 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD19, CD45 및 TCR 알파/베타를 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD8, CD14 및 CD19를 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD8, CD14, CD19, 및 TCR 알파/베타를 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD45, CD56, TCR 감마/델타 및 iTCR을 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD45, CD56, TCR 감마/델타, iTCR, 및 TCR 알파/베타를 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 최소 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD45, CD56, TCR 감마/델타, iTCR, TCR 알파/베타 및 CD8을 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR 및 CD8을 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD8, 및 CD3을 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, CD34 및 ICAM3을 발현하는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, CD34, ICAM3 및 NKp44를 발현하는 것을 특징으로 한다.

[0087] 세포상의 표면 단백질의 발현은 당업자에게 잘 알려진 기술, 예를 들어, 효소 결합 면역흡착 검정[enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA], 자기 활성화 세포 분류[magnetic-activated cell sorting, MACS] 또는 유세포 분석 기술을 사용하여 쉽게 결정할 수 있다. 유세포 분석은 형광 태그가 붙은 항체에 의해 결합된 세포에서 산란된 빛 특성을 사용하여 관심 표면 단백질을 발현하는 세포를 식별한다. 유세포 분석은 세포가 관심 단백질을 발현하는지 여부를 확인할 수 있을 뿐만 아니라 형광 강도를 기준으로 세포에서 발현되는 단백질의 양을 나타낼 수도 있다. 유세포 분석 판독에서, 그리고 본원에 사용된 '+' (또는 '양성')는 주어진 표면 단백질의 발현을 나타내고, '-' (또는 '음성')는 주어진 표면 단백질의 발현이 없음을 표시하고, '+/-'는 주어진 표면 단백질의 두 가지 방식의 발현을 나타낸다. '밝음[bright]'(종종 '높음[high]' 또는 "++"), '어두움[dim]'(종종 '낮음[low]') 및 '보통[moderate]'과 같은 표현은 특정 세포 표면 단백질의 상대적인 양을 나타내는 데 사용된다.

[0088] *CD3*

[0089] CD3(분화 클러스터 3)는 세포독성 T 세포(CD8+ 미접촉 T 세포) 및 T 헬퍼 세포(CD4+ 비접촉 T 세포)를 활성화하는 데 도움이 되는 T 세포 공동 수용체이다. CD3가 T 세포 활성화에 필요하기 때문에, 이를 표적으로 하는 약물(예를 들어, 단일클론항체)이 제1형 당뇨병 및 다른 자가면역질환에 대한 면역 억제 치료제(예를 들어, 오텔릭시주맙)로 조사되고 있다. 본 발명의 NKT-유사 세포는 활성화 후 CD3 발현을 상실한다(T 세포 활성화의 공지된 현상 - 예를 들어, 문헌 [Valle et al, J Immunol. 2015 Mar 1;194(5):2117-27) 참조]. 따라서, CD3 형광 강도(예를 들어, 세포가 CD3+/어두움 또는 CD3+/밝음인지 여부)는 세포가 활성화되는지 여부에 의존할 수 있다.

[0090] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD3을 발현한다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT 세포는

CD3+/어두움을 발현한다. 본 개시내용의 NKT-유사 세포 집단과 관련된 구현예에서, NKT-유사 세포의 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD3을 발현할 수 있다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포의 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD3+/어두움일 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT 세포는 CD3+/밝음이다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포의 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD3+/밝음일 수 있다.

[0091] *CD4*

[0092] CD4(분화 클러스터 4)는 T-헬퍼 세포 및 단핵구를 포함한 면역 세포의 표면에서 발견되는 당단백질이다. CD4는 T 세포 수용체[TCR]의 공동 수용체로, 항원 유도 T 세포 활성화를 위해 항원 제시 세포와 통신하는 데 도움을 준다. CD4의 교차 연결은 Fas 리간드 경로를 통해 T 세포 세포자멸사를 유도할 수 있다.

[0093] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD4를 발현하지 않는다. 본 개시내용의 NKT-유사 세포 집단과 관련된 구현예에서, NKT-유사 세포의 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD4를 발현하지 않을 수 있다.

[0094] *CD8*

[0095] CD8(분화 클러스터 8)은 T 세포 수용체[TCR]에 대한 공동 수용체 역할을 하는 막관통 당단백질이다. 주로 세포독성 T 세포의 표면에서 발현되지만, 자연 살해 세포에서도 발현된다. T 세포에서는 T 세포 - 항원 상호 작용 및 T 세포 신호 전달에서 역할을 한다.

[0096] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD8을 발현한다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD8+/어두움이다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD8+/보통이다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD8+/밝음이다. 본 개시내용의 NKT-유사 세포 집단과 관련된 구현예에서, NKT-유사 세포의 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD8을 발현할 수 있다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포의 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD8+/어두움일 수 있다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포의 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD8+/보통일 수 있다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포의 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD8+/밝음일 수 있다.

[0097] *CD14*

[0098] CD14(분화 클러스터 14)는 적응 면역계의 일부로서 대식세포에 의해 주로 발현되는 단백질이다. 이는 지질다당류와 결합하여 체내 균을 검출하는 데 도움을 주며, 최초로 기술된 패턴 인식 수용체이다.

[0099] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD14를 발현한다. 본 개시내용의 NKT-유사 세포 집단과 관련된 구현예에서, NKT-유사 세포의 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD14를 발현할 수 있다.

[0100] *CD19*

[0101] CD19(분화 클러스터 19; B-림프구 항원 CD19, B 림프구 표면 항원 B4, T 세포 표면 항원 Leu-12, 및 CVID3으로도 알려짐)는 모든 B 계통 세포에서 발현되는 막관통 단백질이다. 인간 B 세포에서 이는 세포질 신호 전달 단백질을 세포막에 모으는 적응 단백질 역할을 하며, CD19/CD21 복합체 내에서 B 세포 수용체 신호 전달 경로의 역치를 감소시키는 역할도 한다.

[0102] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD19를 발현한다. 본 개시내용의 NKT-유사 세포 집단과 관련된 구현예에서, NKT-유사 세포의 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD19를 발현할 수 있다.

[0103] *CD34*

[0104] CD34(분화 클러스터 34)는 세포-세포 부착 인자로서 기능하고 T 세포가 림프절로 들어가는 데 필요한 세포 표면 당단백질이다. CD34를 발현하는 세포는 일반적으로 조혈 세포로서, 탯줄과 골수에서 발견되거나 혈관의 내피 세포인 내피 전구세포에서 발견되지만, 림프관(흉막 림프관 제외), 비만 세포, 간질과 피부 진피 부속물 주변의 (인자 XIIIa 음성인) 수지상 세포의 하위 집단, 연조직 종양의 세포에서는 발견되지 않는다.

[0105] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD34를 발현한다. 본 개시내용의 NKT-유사 세포 집단과 관련

된 구현예에서, NKT-유사 세포의 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD34를 발현할 수 있다.

[0106] *CD45*

[0107] CD45(분화 클러스터 45; 단백질 티로신 포스파타아제, 수용체 유형; PTPRC로도 알려짐)는 T-세포 및 B 세포 항원 수용체 신호 전달의 필수 조절자, 및 모든 백혈구의 마커이다. CD45 발현은 TCR에 의한 T 세포 활성화에 필수적이다. CD45는 CD26에 대한 수용체일 수 있다.

[0108] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD45을 발현한다. 본 개시내용의 NKT-유사 세포 집단과 관련된 구현예에서, NKT-유사 세포의 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD45을 발현할 수 있다.

[0109] CD45는 CD45의 이소형, 예를 들어 CD45RA, CD45RO 및/또는 CD45RABC(CD45R로도 알려짐, B220으로도 알려짐)일 수 있다.

[0110] *CD56*

[0111] CD56(분화 클러스터 56; 신경 세포 부착 분자, NCAM으로도 알려짐)은 신경세포, 신경교 및 골격근의 표면에서 발현되는 동형 결합 당단백질이다. CD56 발현은 자연 살해 세포와 관련이 있다.

[0112] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD56을 발현한다. 본 개시내용의 NKT-유사 세포 집단과 관련된 구현예에서, NKT-유사 세포의 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56을 발현할 수 있다.

[0113] *ICAM3*

[0114] ICAM-3(세포간 접착 분자[Intercellular Adhesion Molecule-3], CD50으로도 알려짐)은 림프구, 단핵구, 호산구 및 호중구(뿐만 아니라 세기관지, 림프종 세포, 일부 흑색종, 육종 및 기타 암세포)에서 발현된다.

[0115] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 ICAM3을 발현한다. 본 개시내용의 NKT-유사 세포 집단과 관련된 구현예에서, NKT-유사 세포의 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 ICAM3을 발현할 수 있다.

[0116] *주요 조직적합성 복합체[Major Histocompatability Complex]; MHC*

[0117] MHC는 1936년 Gorer 및 Snell 등에 의해 발견되었다. 마우스에 대한 피부 이식 실험에서 자기 인식과 비자기 인식이 유전적 배경에 달렸음이 밝혀졌다. Snell 등은 자기/비자기를 결정하는 마우스 유전자 집단을 조직적합성-2[histocompatibility-2, H-2]로 명명하였다. MHC의 게놈 유전자좌는 MHC 고전적 클래스 I 및 클래스 II 분자(항원)로 알려진 다형성 세포막 결합 당단백질을 암호화하며, 이는 각각 순환하는 세포독성 및 보조 T 림프구에 단편화된 단백질의 펩티드를 제시함으로써 면역 반응을 조절한다. 고전적 MHC 클래스 1 단백질은 HLA-A, HLA-B 및 HLA-C로 세분된다(문헌[Nakamura et al, 2019], 그 전체가 본원에 참조로 포함됨). 반대로, HLA-E, HLA-F, HLA-G, MHC 클래스 I 폴리펩티드 관련 서열 A[polypeptide-related sequence A, MICA] 및 FcRn 등은 비-비고전적 MHC 클래스 I로 분류된다.

[0118] MHC의 고전적인 클래스 I 분자는 대부분의 조직에서 발현되며 b2-마이크로글로불린과 비공유적으로 결합하여 이들의 활성화 및/또는 세포독성을 유도하기 위해 특이적 CD8+ T 세포의 T-세포 수용체에 대해 세포 내에서 처리된 펩티드 항원(이는 8 내지 11개 아미노산 길이임)을 제시한다(문헌[Shiina et al 2016], 그 전체가 본원에 참조로 포함됨). 처리된 펩티드는 세포 자체의 프로테옴 또는 외부 세포내 병원체에서 발생할 수 있다. 성숙한 수지상 세포는 MHC 클래스 I 시스템을 사용하여 세포내 이입에 의해 포획된 항원에서 유래하는 펩티드를 제시한다. 교차 제시라고 하는 이 과정은 말초 림프 기관에서 특정 T CD8+ 림프구의 반응을 시작하는 데 중요한 역할을 한다(문헌[Shiina et al]). 또한, MHC 고전적 클래스 I 단백질은 세포독성 T 세포 및 자연 살해 세포의 세포독성 활성을 조절하는 살해-세포 면역글로불린-유사 수용체 및 골수단핵구 및 다른 백혈구 계통에서 발현되는 백혈구 면역글로불린-유사 수용체에 대한 리간드로서 작용할 수 있다. 고전적 클래스 I 항원과 대조적으로, 고전적 클래스 II 항원은 면역계의 CD4+ 헬퍼 T 림프구에 대한 림프 세포 표면의 외인성 펩티드(15 내지 25개 아미노산 길이)의 제시에 특화된 이종이량체 구조를 형성한다. 클래스 II 유전자 발현은 주로 B 세포, 단핵구, 대식세포, 상피 세포, 수지상 세포 및 활성화된 T 세포와 같은 림프 세포로 제한된다. MHC 클래스 II 단백질은 HLA-DR, HLA-DP 및 HLA-DQ로 확인되었다. MHC 클래스 II 유전자는 HLA-DRA1, HLA-DQA1, HLA-DPA1 암호화 α 사

슬, HLA-DRB1, HLA-DRB3, HLA-DRB4, HLA-DRB5 (HLA-DRB3/4/5), HLA-DQB1, 및 HLA-DPB1 암호화 β 사슬을 포함한다. HLA-DRA1은 HLA-DRB1 또는 HLA-DRB3/4/5와 이종이량체를 형성한다(문헌[akamura et al). 유사하게, HLA-DQA1 및 HLA-DPA1은 또한 각각 HLA-DQB1 및 HLA-DPB1과 연관된다. HLA-DR은 항원 집단에 따라 DR1, DR51, DR52, DR53 및 DR8로 구성된 다섯 개 집단으로 나뉜다. DR1 및 DR8 집단은 모두 발현된 유전자로서 DRB1으로만 이루어진다. 반대로, DR51, DR52, 및 DR53 그룹은 공통으로 DRB1을 함유하고 또한 DRB1 유전자로부터 유전자 복제에 의해 생성된 것으로 생각되는, DRB5, DRB3, 및 DRB4를 각각 발현한 유전자로 이루어진다(문헌[Nakamura et al] 참조).

[0119] 고전적 클래스 I 및 클래스 II 유전자 모두 종종 항원 제시 능력의 개체 간 가변성을 보존하고 종이 다양한 감염원으로부터 자연 선택 압력을 방어하고 생존하는 데 도움을 주기 위해 고도로 다형성이다. 비고전적 클래스 I 및 클래스 II 항원은 구조가 고전적 클래스 I 또는 클래스 II 대응물과 유사하지만 일반적으로 훨씬 덜 다형성이고, 고전적 클래스 I 또는 클래스 II 항원과 뚜렷하게 다른 가변적이거나 제한된 조직 발현 및 기능을 갖는다. 더욱이, 여러 비고전적 MHC 클래스 I 유전자는 MHC 외부에 위치한다(문헌[Shiina et al] 참조).

[0120] HLA 복합체의 유전자좌(예를 들어, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR, HLA-DQ, 및 HLA-DP)는 다형성이 많아, 조합(일배체형)이 매우 크다. 그러나, MHC는 강한 연관 불균형을 나타내며, 이는 여러 유전자좌에서 대립 유전자의 비무작위 연관이 나타나는 것이다. MHC 영역에서 이러한 연관 불균형은 종종 MHC의 각 위치에 대해 특정 조합을 유발한다. 두 개의 유전적 다형성이 동일한 염색체에 존재할 때, 두 개의 다형성은 연결된 것으로 분류된다(문헌[Nakamura et al]). 유전적 재조합이 생물학적으로 관례적인 방식으로 일어났다는 점을 감안할 때, 서로 다른 부위의 다형성은 연결된 상태와 같이 결정될 수 없다. 그러나, 연관 불균형은 먼 부위의 다형성 정보를 기반으로 특정 유전자 다형성을 매우 높은 확률로 예측할 수 있는 상태이다. MHC에서, 유전자 좌위가 6번 염색체의 좁은 영역에 집중되어 있어 각 유전자 간의 재조합이 일어날 가능성이 적다. 따라서, HLA-A, HLA-B, HLA-C, 및 HLA-DRB1과 같은 유전자는 종종 연관 불균형 상태에서 유전된다. HLA 유전자 다형성 분석이 진행됨에 따라, 특정 종족에서 자주 발견되는 특정 질병과 관련된 일배체형이 밝혀지고 있다. 이러한 종족 집단 특유의 일배체형은 종족 집단을 형성하는 과정에 관여하는 것으로 생각된다. 따라서, 이러한 일배체형은 일반적으로 민족적 뿌리를 찾는 데 사용된다.

[0121] 인간에서, MHC 고전적 클래스 I 유전자는 조혈 줄기세포 이식 후 장기 이식 거부 및 이식편대 숙주질환에 결정적으로 관여한다. HLA 클래스 I 분자와 수많은 자가면역질환 뿐만 아니라 감염성 질환 및 약물 이상반응 사이에 다양한 연관성이 입증되었다. 적응 면역 반응을 정교화하는 데 필수적인 역할 외에도, MHC 클래스 I 유전자의 역할은 임신 유지, 짝 선택 및 친족 인식과 같은 번식의 다양한 단계에서 입증되었다. MHC는 또한 이차적 역할을 수행하는 조직적합성으로 근친교배를 피하고 성적 선택을 주로 하는 시스템으로 간주되었다. MHC 클래스 I 유전자 산물은 또한 중추 신경계 발달 및 가소성, 신경 세포 상호 작용, 시냅스 기능 및 행동, 대뇌 반구 전문화, 신경 및 정신 장애에 영향을 미친다. 그러므로, 인간 MHC 클래스 I 영역은 가장 생물 의학적으로 다양하고 중요한 게놈 영역 중 하나이다(문헌[Shiina et al]).

[0122] *TCR 감마/델타*

[0123] T 세포 수용체 감마 델타(TCR 감마/델타; TCR γδ)는 하나의 γ(감마) 사슬 및 하나의 δ(델타) 사슬로 이루어진 T 세포 수용체이다. TCR 감마/델타 발현 T 세포(감마 델타 T 세포)는 암세포뿐만 아니라 암세포, 미생물 및 바이러스 감염 세포 및 자가반응성 림프구와 같은 스트레스 세포에서 발현되는 지질 항원의 중요한 인식자이다. 감마 델타 T 세포는 다양한 외부 인자에 대한 신속한 유익한 반응을 허용하는 보다 진화적으로 원시적인 타고난 면역계와 B 세포 및 T 세포가 동일한 항원에 의한 후속적인 도전에 대해 오래 지속되는 기억으로 이어지는 느리지만 고도로 항원 특이적 면역 반응을 조정하는 적응 면역계 사이의 경계에 위치하는 몇 가지 특성을 나타낸다. 감마 델타 T 세포는 TCR 유전자를 재배열하여 접합 다양성을 생성하고 기억 표현형을 발달시킬 수 있다는 점에서 적응 면역의 구성 요소로 간주될 수 있다.

[0124] 가장 흔한 인간의 감마 델타 변이체는 혈액의 Vγ9/Vδ2 변이이며, 종양에서 Vδ1 형 감마 델타 T 세포는 예후와 관련이 있다. Vδ3 변이체는 또한, 암 위험을 감소시키는 CMV 감염 후 Vδ2 음성 변이체가 있는 것과 같이 기술되었다. MHC-제한된 알파 베타 T 세포와 대조적으로, 감마 델타 T 세포는 MHC 클래스 Ib를 인식할 수 있지만 항원 처치 및 펩티드 에피토프의 MHC 제시가 필요하지 않다. 결과적으로, 종양 세포는 MHC 및 감마 델타 T 세포를 하향 조절하여 검출을 회피할 수 없고 따라서 또한 낮은 돌연변이 부하로 종양을 죽일 수 있는 동일한 잠재력을 가지며 내성 문제의 영향을 덜 받는다. 감마 델타 T 세포 종양 침윤도 생존율과 가장 높은 상관관계를 보였고 이식편대 숙주질환 발병률은 낮았다. 감마 델타 T 세포는 종양을 감지하기 위해 다양한 조직에

자연적으로 자리 잡고 있으며 알파 베타 T 세포보다 동종 요법에 선호된다.

[0125] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 TCR 감마/델타를 발현한다. 본 개시내용의 NKT-유사 세포 집단과 관련된 구현예에서, NKT-유사 세포의 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99%가 TCR 감마/델타를 발현할 수 있다. NKT-유사 세포는 델타 1(δ1), 델타 2(δ2), 델타 3(δ3) 또는 델타 5(δ5) 델타 사슬을 포함하는 TCR 감마/델타를 발현할 수 있다. 즉, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 델타 1, 또는 델타 2, 또는 델타 3 또는 델타 5 양성일 수 있다. 본 개시내용의 NKT-유사 세포 집단과 관련된 구현예에서, NKT-유사 세포의 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 이상이 델타 1, 델타 2, 델타 3 또는 델타 5 양성일 수 있다.

[0126] *불변 TCR[invariant TCR, iTCR]*

[0127] 불변 TCR[iTCR]은 인간에서는 Vβ11 사슬에 연결된 Vα24-Jα18 사슬로 구성되고, 마우스에서는 Vβ2, Vβ7 또는 Vβ8.2 사슬과 우선적으로 쌍을 이루는 Vα14-Jα18 사슬로 구성되는 고도로 보존된 불변 수용체이다. iTCR은 기존 T 세포와 자연 살해 세포의 특성을 모두 갖는 독특한 선천 유형 T 림프구인 불변 자연 살해 T 세포(iNKT)에 의해 발현된다. 이 세포는 종양 세포를 직접 사멸하고 수지상 세포[dendritic cell, DC], 자연 살해[natural killer, NK] 세포, T 및 B 세포의 항종양 기능을 전이활성화[trans-activate]한다. iNKT 세포 활성화는 일반적으로 당지질 항원을 제시하는 CD1d에 의한 iTCR의 참여를 요구한다.

[0128] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 iTCR을 발현한다. 본 개시내용의 NKT-유사 세포 집단과 관련된 구현예에서, NKT-유사 세포의 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 iTCR을 발현할 수 있다.

[0129] *TCR 알파/베타*

[0130] T 세포 수용체 알파 베타(TCR 알파/베타; TCR αβ)는 하나의 α(알파) 사슬 및 하나의 β(베타) 사슬로 구성된 우세한 TCR 이종이량체이다.

[0131] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT 세포는 TCR 알파/베타를 발현한다. 본 개시내용의 NKT-유사 세포 집단과 관련된 구현예에서, NKT-유사 세포의 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99%가 TCR 알파/베타를 발현할 수 있다.

[0132] *CD16*

[0133] CD16(분화 클러스터 16, FcγRIII로도 알려짐)은 활성화된 자연 살해 세포에 존재하는 막관통 단백질이자 세포 활성화의 마커이다.

[0134] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD16을 발현할 수 있다. 본 개시내용의 NKT-유사 세포 집단과 관련된 구현예에서, NKT-유사 세포의 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD16을 발현할 수 있다.

[0135] *NKp44*

[0136] NKp44(분화 클러스터 336, 천연 세포 독성 유발 수용체 2로도 알려짐)는 활성화된 NK 세포에서 선택적으로 발현되는 세포 표면 수용체이자 세포 활성화의 마커이다.

[0137] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 NKp44를 발현한다. 본 개시내용의 NKT-유사 세포 집단과 관련된 구현예에서, NKT-유사 세포의 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 NKp44를 발현할 수 있다.

[0138] 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 및/또는 TCR 알파/베타를 발현할 수 있다. 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD4를 발현하지 않을 수 있다. 일부 바람직한 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, 및 iTCR을 발현한다. 일부 바람직한 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD16 및 NKp44를 발현한다. 일부 바람직한 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16 및 NKp44를 발현한다. 일부 바람직한 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR 및 TCR 알파/베타를 발현한다. 일부 바람직한 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44 및 TCR 알파/베타를 발현한다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, 및 NKp44, 그리고 하나 이상의 CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 및/또는 TCR 알파/베타를 발현한다. 일부 구현예에서, 본 개시내용

의 NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, 및 TCR 알파/베타, 그리고 하나 이상의 CD3, CD8, CD14, CD19 및/또는 CD45를 발현한다.

[0139] 일부 바람직한 특정 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD56, TCR 감마/델타, 및/또는 iTCR을 발현한다.

[0140] 본 개시의 NKT-유사 세포 집단과 관련된 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 NKT 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, 및/또는 TCR 알파/베타를 발현한다는 점을 특징으로 할 수 있다. 일부 이러한 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 NKT-유사 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD4를 발현하지 않는 것을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 NKT-유사 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타 및 iTCR을 발현하는 것을 특징으로 할 수 있다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 NKT-유사 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD16 및 NKp44를 발현하는 것을 특징으로 할 수 있다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 NKT-유사 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, 및 NKp44을 발현하는 것을 특징으로 할 수 있다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 NKT-유사 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, 및 TCR 알파/베타를 발현하는 것을 특징으로 할 수 있다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 NKT-유사 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR 및 TCR 알파/베타를 발현하는 것을 특징으로 할 수 있다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 NKT-유사 세포의 적어도 최소 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44 및 TCR 알파/베타, 그리고 하나 이상의 CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 및/또는 TCR 알파/베타를 발현하는 것을 특징으로 할 수 있다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 NKT-유사 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR 및 TCR 알파/베타, 그리고 하나 이상의 CD3, CD8, CD14, CD19 및/또는 CD45를 발현하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0141] 일부 특정 구현예에서, NKT-유사 세포 집단은 NKT-유사 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타 및 iTCR을 발현하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0142] *감마/델타 T 세포*

[0143] 감마 델타 T 세포 표면 마커 특성은 CD3, CD4, CD8, CD69, CD56, CD27, CD40, CD40L, CD45RA, CD45, CD83, CD16, CD16a, CD16b, ICOS, CD161, Fas, CLEC7A/덱틴-1, FasL, 이카데린, IL-18R 알파, IL-23R, NKG2D/CD314, NKG2E, 오클루딘, TKR2, TRAIL, TCR-Vg9, TCR-Vd2, TCR-Vd1, TCR-Vd3, TCR-범 g/d, NKG2D, 단일클론 케모카인 수용체 항체 CCR5, CCR6, CCR7, CXCR3, CXCR4, 또는 CXCR5 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다(그러나 이에 제한되지 않는다). 본 발명의 NKT-유사 세포의 표면 마커 특징은 이들 중 하나/그 이상을 포함할 수 있다. 감마 델타 T 세포는 CCL2/JE/MCP-1, CXCL13/BLC/BCA-1, 베타-디펜신 2, 베타-디펜신 3, 알파-디펜신 1, EGF, KGF/FGF-7, FGF-10, GM-CSF, 그래눌리신, 그랜자임 A, 그랜자임 B, IFN-감마, IGF-I/IGF-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-12/IL-23 p40, IL-12 p70, IL-13, IL-17/IL-17A, IL-22, IL-6/IL-6R 알파 복합체, LAP (TGF-베타 1), TGF-베타, 및/또는 TNF-알파를 포함할 수 있다(그러나 이에 제한되지 않는다). 본 발명의 NKT-유사 세포는 이들 중 하나/그 이상을 분비할 수 있다.

[0144] 본 개시내용의 NKT-유사 세포 및 NKT-유사 세포 집단은 이들 세포가 CD56, TCR 감마/델타 및 iTCR을 발현한다는 점을 특징으로 할 수 있다. TCR 감마/델타와 iTCR을 모두 발현하는 세포가 제조될 수 있지만(예를 들어 iTCR을 사용한 TCR 감마/델타 양성 세포의 형질도입), 저자들이 아는 한 이러한 세포는 이전에 자연적으로 발생하는 것으로 기술된 적이 없다(즉, 이들 중 하나 또는 둘 모두가 재조합으로 도입되지는 않음). 따라서 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 고용량 글루코코르티코이드 투여 후 대상에서 자연 발생, 생산 및/또는 동원된다는 점에서 고유하다. 즉, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 이들 중 하나 또는 둘 다의 재조합 발현의 필요 없이 TCR 감마/델타 및 iTCR을 모두 발현하고, 유리하게는 γδTCR/iTCR 세포주의 사용과 관련된 단점을 피한다는 점에서 고유하다. 따라서, 본 개시내용의 단리된 NKT-유사 세포 및 NKT-유사 세포 집단은 자연 발생적인 것으로 기술될 수 있다. 본 개시내용의 세포 및 세포 집단은 TCR 감마/델타를 발현하도록 형질감염, 형질도입되거나 달리 유전적으로 변형되지 않았다. 본 개시내용의 세포 및 세포 집단은 TCR 감마/델타를 암호화하는 핵산을 세포 또는 세포들에 도입함으로써 변형되지 않았다. 본 개시내용의 세포 및 세포 집단은 iTCR을 발현하도록 형질감염, 형질도입되거나 달리 유전적으로 변형되지 않았다. 본 개시내용의 세포 및 세포 집단은 iTCR을 암호화하는 핵산을 세포 또는 세포들에 도입함으로써 변형되지 않았다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 세포 및 세포 집단은 TCR 알파/

베타를 발현하도록 형질감염, 형질도입되거나 달리 유전적으로 변형되지 않았을 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 세포 및 세포 집단은 TCR 알파/베타를 암호화하는 핵산을 세포 또는 세포들에 도입함으로써 변형되지 않았을 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 세포 및 세포 집단은 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR 알파/베타, CD34 및/또는 ICAM3를 발현하도록 형질감염, 형질도입 또는 달리 유전적으로 변형되지 않았을 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 세포 및 세포 집단은 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 및/또는 TCR 알파/베타를 발현하도록 형질감염, 형질도입되거나 달리 유전적으로 변형되지 않았을 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 세포 및 세포 집단은 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR 알파/베타, CD34 및/또는 ICAM3를 암호화하는 핵산을 세포 또는 세포들에 도입함으로써 변형되지 않았을 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 세포 및 세포 집단은 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 및/또는 TCR 알파/베타를 암호화하는 핵산을 세포 또는 세포들에 도입함으로써 변형되지 않았을 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 세포 및 세포 집단은 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR 알파/베타, CD34 또는 ICAM3를 발현하도록 형질감염, 형질도입 또는 달리 유전적으로 변형되지 않았을 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 세포 및 세포 집단은 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 또는 TCR 알파/베타를 발현하도록 형질감염, 형질도입되거나 달리 유전적으로 변형되지 않았을 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 세포 및 세포 집단은 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR 알파/베타, CD34 또는 ICAM3를 암호화하는 핵산을 세포 또는 세포들에 도입함으로써 변형되지 않았을 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 세포 및 세포 집단은 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45 또는 TCR 알파/베타를 암호화하는 핵산을 세포 또는 세포들에 도입함으로써 변형되지 않았을 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 세포 및 세포 집단은 대상으로부터 단리될 수 있다. 대상은 본원의 다른 곳에서 정의된 대상일 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 세포 및 세포 집단은 이들이 유도/동원된 대상으로부터 단리될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 세포 및 세포 집단은 대상에게 글루코코르티코이드를 투여한 후 이들이 유도/동원된 대상으로부터 단리될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 세포 및 세포 집단은 본원의 다른 곳에 개시된 방법을 통해 이들이 유도/동원된 대상으로부터 단리될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 세포 및 세포 집단은 본원의 다른 곳에 개시된 방법에 의해 생산되고 단리될 수 있다.

[0145] 본 개시내용과 관련하여 ICAM3 조절제는 ICAM3에 결합하고 본 발명의 NKT-유사 세포의 유도 및/또는 동원을 촉진하는 것이다. ICAM3에 결합하는 ICAM3 조절제는 대안적으로 ICAM3 결합 분자, ICAM3 결합제 등으로 지칭될 수 있다. ICAM3 조절제는 ICAM3 길항제/ICAM3 억제제일 수 있거나, ICAM3 효능제[agonist]/활성화제일 수 있다.

[0146] 이러한 ICAM3 조절제는 예를 들어, ICAM3 또는 이의 일부에 대해 생성된 항ICAM3 항체, ICAM3의 소분자 조절제(예컨대, ICAM3의 활성화제 또는 억제제), 및 ICAM3에 결합하는 펩티드 작용제/단백질을 포함할 수 있다. ICAM3 조절제를 확인하는 적절한 수단은 당업자에게 잘 알려졌을 것이다. 예를 들어, 항ICAM3 항체는 항체 분자의 라이브러리와 ICAM3 에피토프를 접촉시키는 단계, 및 해당 에피토프에 결합할 수 있는 라이브러리의 하나 이상의 특이적 항체 분자를 선택하는 단계를 포함할 수 있는 방법에 의해 확인할 수 있다. 또는, 예를 들어, ELISA 또는 유세포 분석을 사용하여 결정된 경쟁과 함께 공지된 항ICAM3 항체를 사용하는 경쟁 결합 분석을 사용하여 이들을 확인될 수 있다. 유사하게, ICAM3의 소분자 조절자는 방사성 리간드 결합 분석 및 기능 분석과 같은 일상적인 스크리닝 실험에 의해 확인될 수 있다.

[0147] 전술한 바와 같이, 본 저자들은 ICAM3에 결합하고 ICAM3에 조절 작용을 발휘하는 글루코코르티코이드 수용체 조절제(예를 들어, 덱사메타손 및 다른 글루코코르티코이드)의 놀라운 능력을 발견하였다. 따라서, 일부 구현예에서, ICAM3 조절제는 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제일 수 있다. 일부 구현예에서, ICAM3 조절제는 글루코코르티코이드, 예를 들어 덱사메타손 또는 베타메타손일 수 있다. ICAM3 조절제는 덱사메타손과 같은 글루코코르티코이드와 동일한 ICAM3 영역에 결합하는 분자일 수 있다. ICAM3 조절제는 ICAM3의 SER31 및/또는 MET49 잔기와의 상호작용을 통해 ICAM3에 결합하는 분자일 수 있다. ICAM3 조절제는 ICAM3의 THR38, LEU40, LEU56, VAL59 및/또는 ILE65 잔기와의 상호작용을 통해 ICAM3에 결합하는 분자일 수 있다. ICAM3 조절제는 ICAM3의 PHE21, VAL22, GLU32, LYS33, TRP51, 및/또는 ALA52 잔기와의 상호작용을 통해 ICAM3에 결합하는 분자일 수 있다. ICAM3 조절제는 ICAM3의 SER25, ASN23, GLU37, PHE54, 및/또는 GLN75 잔기와의 상호작용을 통해 ICAM3에 결합하는 분자일 수 있다. ICAM3 조절제는 ICAM3의 PHE21, VAL22, ASN23, SER25, SER31, GLU32, LYS33, GLU37, THR38, LEU40, MET49, TRP51, ALA52, PHE54, LEU56, VAL59, ILE65, 및/또는 GLN75 잔기와의 상호작용을 통해 ICAM3에 결합하는 분자일 수 있다. ICAM3 조절제는 항-ICAM3 항체, ICAM3의 소분자 조절제(ICAM3의 활성화제 및 억제제 포함), 또는 ICAM3 결합을 위해 덱사메타손과 같은 글루코코르티코이드와 경쟁하는 ICAM3에 결합하는 펩

티드 작용제/단백질과 같은 임의의 분자일 수 있다. ICAM3 조절제는 항 ICAM3 항체, 예를 들어, ICR 8.1 또는 이의 인간화 버전일 수 있다. 당업자는 ICAM3의 동일한 영역에 대한 결합을 결정할 수 있는 적합한 기술, 예를 들어, 분자 모델링 또는 경쟁 결합 분석에 대해 알고 있다.

[0148] 본원에 사용된 용어 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제는 글루코코르티코이드, 글루코코르티코이드 수용체 작용제, 및 글루코코르티코이드 수용체에 결합하는 임의의 화합물을 포함한다. 글루코코르티코이드와 같은 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제는 유전자 발현을 활성화하거나 억제하는 막 GR 및 세포질 GR을 통해 효과를 발휘한다. 글루코코르티코이드 및 GR 조절제의 바람직한 림프 제거 효과 중 일부는 게놈 효과에 추가하여 막 GR 또는 기타 비-게놈 효과를 통해 매개되는 것으로 여겨진다. 글루코코르티코이드는 투여된 글루코코르티코이드의 농도와 치료 기간에 따라 림프구 수준에 다양한 영향을 미치는 것으로 보고되었다. 일반적으로, 만성 치료에 일반적으로 사용되는 저용량에서, 글루코코르티코이드는 말초혈액에서 골수로 림프구를 재분배하는 것으로 보고되었으며, 중간 용량에서 글루코코르티코이드는 골수, 비장과 흉선에서 말초혈액으로 유입되고 백혈구가 재분배되는 것으로 생각되는 백혈구 증가증을 유발하는 것으로 보고되었고, 고용량에서 글루코코르티코이드는 세포자멸사와 괴사를 유발하여 림프구에 림프독성 작용을 한다. 효과 지속 기간은 또한 용량 수준에 따라 다르다. 예를 들어, 문헌[Fauci et al(1976)]은 단일 경구 0.24 mg/kg 덱사메타손 투여량이 말초 혈액 T 및 B 림프구를 80% 억제하고 12시간에 회복이 시작되고 24시간이 지나면 정상 수준이라고 보고한다. 본 저자들은 이전에 (국제 특허 출원 PCT/US2019/054395에서) 3 mg/kg 이상의 덱사메타손 급성 경구 투여량이 투여 후 24 내지 48시간에 말초혈액 T 및 B 세포를 감소시키기 위해 필요하며, 투여 후 약 5 내지 14일에 발생하는 기준선 수준으로 돌아감을 입증하였다.

[0149] 개시된 방법에 사용될 수 있는 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제는 예를 들어, 선택적 글루코코르티코이드 수용체 조절제[selective glucocorticoid receptor modulator, SEGRM] 및 선택적 글루코코르티코이드 수용체 효능제[selective glucocorticoid receptor agonist, SEGRA]를 포함한다. 개시된 방법에서 사용될 수 있는 글루코코르티코이드, 선택적 글루코코르티코이드 수용체 조절제, 및 선택적 글루코코르티코이드 수용체 작용제[SEGRA]는 당업자에게 잘 알려져 있다.

[0150] 일부 이러한 글루코코르티코이드는 덱사메타손, 덱사메타손 함유제, 히드로코르티손, 메틸프레디손, 프레드니손, 코르티콘, 부데소니드, 베타메타손 및 베클로메타손을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 다른 글루코코르티코이드는 프레드니솔론, 모메타손 푸로에이트, 트리암시놀론 아세토니드, 및 메틸프레드니솔론을 포함한다.

[0151] 따라서, 본 개시내용의 방법의 일부 구현예에서, 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제는 글루코코르티코이드일 수 있다. 일부 이러한 구현예에서, 글루코코르티코이드는 덱사메타손, 히드로코르티손, 메틸프레드니솔론, 프레드니손, 프레드니솔론, 프레드닐리덴, 코르티손, 부데소니드, 베타메타손, 플루메타손 및 베클로메타손으로 이루어진 군에서 선택될 수 있다. 일부 바람직한 구현예에서, 글루코코르티코이드는 덱사메타손, 베타메타손, 및 메틸프레드니손으로 이루어진 군에서 선택될 수 있다. 일부 특히 바람직한 구현예에서, 글루코코르티코이드는 덱사메타손 또는 베타메타손일 수 있다.

[0152] 일부 구현예에서, 글루코코르티코이드는 덱사메타손 염기, 덱사메타손 나트륨 포스페이트, 덱사메타손 헤미숙시네이트, 덱사메타손 나트륨 숙시네이트, 덱사메타손 숙시네이트, 덱사메타손 이소니코티네이트, 덱사메타손-21-아세테이트, 덱사메타손 포스페이트, 덱사메타손-21-포스페이트, 덱사메타손 테뷰테이트, 덱사메타손-17-발레레이트, 덱사메타손 아세테이트 일수화물, 덱사메타손 피발레이트, 덱사메타손 팔미테이트, 덱사메타손-21-팔미테이트, 덱사메타손 디프로피오네이트, 덱사메타손 프로피오네이트, 덱사메타손 아세테이트 무수물, 덱사메타손-21-페닐프로피오네이트, 덱사메타손-21-설포벤조에이트, 덱사메타손 헤모-설페이트, 덱사메타손 설페이트, 덱사메타손 벨록실, 덱사메타손산, 덱사메타손 아세퓨레이트, 덱사메타손 카르복시미드, 덱사메타손 시페실레이트, 덱사메타손 21-포스페이트 이나트륨염, 덱사메타손 메실레이트, 덱사메타손 리놀레이트, 덱사메타손 글루코시드, 덱사메타손 글루쿠로니드, 덱사메타손 요오드아세테이트, 덱사메타손 옥세타논, 카르복시메틸티오-덱사메타손, 덱사메타손비스에톡심, 덱사메타손 에폭시드, 덱사메타손리놀레레이데이트, 덱사메타손 메틸오르쏘발레레이트, 덱사메타손 스페르민, 6-히드록시 덱사메타손, 덱사메타손 트리부틸아세테이트, 덱사메타손 아스파르트산, 덱사메타손 갈락토피라노스, 덱사메타손 염산염, 히드록시 덱사메타손, 카르복시 덱사메타손, 데스옥시 덱사메타손, 덱사메타손 부타존, 덱사메타손 시클로덱스트린, 디히드로 덱사메타손, 옥소 덱사메타손, 프로피오닐옥시 덱사메타손, 덱사메타손 갈락토다이, 덱사메타손 이소니코티네이트, 덱사메타손 인산수소나트륨, 덱사메타손 알데하이드, 덱사메타손 피블레이트, 덱사메타손 트리데실레이트, 덱사메타손 크로토네이트, 덱사메타손 메탄술포네이트, 덱사메타손 부틸아세테이트, 데히드로 덱사메타손, 덱사메타손 이소티오시아나토에틸 티오에테

르, 덱사메타손 브로모아세테이트, 덱사메타손 헤미글루타레이트, 데옥시 덱사메타손, 덱사메타손 클로람부실레이트, 덱사메타손 멜팔라네이트, 포르밀옥시 덱사메타손, 덱사메타손 부티레이트, 덱사메타손 라우레이트, 덱사메타손 아세테이트, 및 덱사메타손 형태를 함유하는 임의의 조합 치료로 이루어진 군에서 선택될 수 있다. 일부 바람직한 구현예에서, 글루코코르티코이드는 덱사메타손 염기 또는 덱사메타손 나트륨 포스페이트일 수 있다.

[0153] 본 개시내용의 일부 구현예에서, 글루코코르티코이드 수용체 조절제는 앞서 언급된 작용제[agent] 중 하나 이상이 아닐 수 있다.

[0154] 본 개시내용의 방법에서, 글루코코르티코이드-수용체[GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제는 약 6 mg/kg 인간 등가 용량[HED]의 덱사메타손 염기와 동등한 용량, 또는 적어도 약 6 mg/kg HED의 덱사메타손 포스페이트과 동등한 용량으로 투여된다.

[0155] 다른 글루코코르티코이드 또는 글루코코르티코이드 수용체 조절제의 등가 용량은 공개적으로 사용 가능한 코르티코이드 변환 알고리즘, 바람직하게는 http://www.medcalc.com 을 사용하여 쉽고 빠르게 계산할 수 있다. 예로서, 3 내지 12 mg/kg 덱사메타손은 19 내지 75 mg/kg 프레드니손으로 변환된다. 프레드니손의 생물학적 반감기는 약 20시간인 반면 덱사메타손의 생물학적 반감기는 약 36 내지 54시간이므로, 프레드니손은 동등한 생물학적 용량으로 매 24시간마다 19 내지 75 mg/kg을 투여될 것이다. 보다 구체적으로, 12 mg/kg 용량의 덱사메타손은 매 24시간마다 약 2 내지 약 3회 반복 투여해야 하는 75 mg/kg 용량의 프레드니솔론에 해당한다. 10 mg/kg 용량의 베타메타손은 약 12 mg/kg 덱사메타손이고 덱사메타손과 유사한 약력학적 (생물학적) 반감기를 갖는다.

[0156] 본 출원의 실시예에서 덱사메타손 용량은 인간 등가 용량[HED]으로 주어진다. 인간 등가 용량[HED]을 계산하는 방법은 당업계에 알려져 있다. 예를 들어, FDA의 의약품평가연구센터[Centre for Drug Evaluation and Research, CDER]는 2005년에 많이 인용된 지침 문서(미국 보건부 CDER, 2005)를 발행하였고, 이는 해당 문서 7쪽의 표 1에 체표면적을 기반으로 동물 투여량을 HED로 변환하기 위한 확립된 알고리즘(종간 투여량을 외삽하기 위해 일반적으로 허용되는 방법)을 제시한다. 참고로, 아래 표 1에 이를 전재하였다. 당업자는 아래에 설명된 mg/kg 단위인 동물 용량, HED가 표 1의 오른쪽 열에 있는 표준 변환 계수를 사용하여 쉽게 계산된다는 것을 이해한다.

표 1. 체표면적을 기준으로 한, 동물 용량의 인간 등가 용량으로의 변환

		mg/kg 단위의 동물 용량을 mg/kg 단위의 HED[a]로 변환하기 위해서는:	
종[species]	mg/kg 단위의 동물 용량을 mg/m^2 단위의 용량으로 변환하기 위해서는 k_m을 곱함	하기로 동물 용량을 나눔	하기로 동물 용량을 곱함
인간	37	---	---
아동(20 kg)[b]	25	---	---
마우스	3	12.3	0.08
햄스터	5	7.4	0.13
래트	6	6.2	0.16
페렛	7	5.3	0.19
기니피그	8	4.6	0.22
토끼	12	3.1	0.32
개	20	1.8	0.54
영장류:			
원숭이[c]	12	3.1	0.32
마모셋	6	6.2	0.16
다람쥐원숭이	7	5.3	0.19
개코원숭이	20	1.8	0.54
마이크로 돼지	27	1.4	0.73
미니 돼지	35	1.1	0.95

[0157]

[0158] [a] 60 kg 인간을 가정함. 목록에 없는 종의 경우 또는 표준 범위를 벗어난 중량의 경우, HED는 다음 식으로 계산할 수 있음.
HED = 동물 용량(mg/kg) x (동물 중량(kg)/인간 중량(kg))$^{0.33}$
[b]이 k_m 값은 건강한 아동이 제1상 시험에 자원하는 경우가 거의 없기 때문에 참고용으로만 제공됨.
[c] 예를 들어, 시노몰구스(cynomolgus), 붉은털원숭이(rhesus), 및 짧은꼬리(stumptail).

[0159] 본 개시내용의 방법의 일부 구현예에서, 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제는 덱사메타손 염기 또는 덱사메타손 포스페이트의 적어도 약 12 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 투여된다. 다른 바람직한 구현예에서, 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제는 덱사메타손 염기 또는 덱사메타손 포스페이트의 적어도 약 15 mg/kg 또는 적어도 약 18 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 투여된다. 다른 바람직한 구현예에서, 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제는 덱사메타손 염기 또는 덱사메타손 포스페이트의 적어도 약 21 mg/kg 또는 적어도 약 24 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 투여된다. 일부 바람직한 구현예에서, 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제는 덱사메타손 염기 또는 덱사메타손 포스페이트의 약 12 mg/kg 인간 등가 용량[HED], 또는 덱사메타손 염기 또는 덱사메타손 포스페이트의 약 15 mg/kg 인간 등가 용량[HED] 또는, 덱사메타손 염기 또는 덱사메타손 포스페이트의 약 18 mg/kg 인간 등가 용량[HED] 또는, 덱사메타손 염기 또는 덱사메타손 포스페이트의 약 21 mg/kg 인간 등가 용량[HED] 또는, 덱사메타손 염기 또는 덱사메타손 포스페이트의 약 24 mg/kg 인간 등가 용량[HED] 또는, 덱사메타손 염기 또는 덱사메타손 포스페이트의 약 30 mg/kg 인간 등가 용량[HED] 또는, 덱사메타손 염기 또는 덱사메타손 포스페이트의 약 45 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 투여된다.

[0160] 일부 바람직한 구현예에서, 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제는 덱사메타손 염기 또는 덱사메타손 포스페이트의 적어도 약 6 내지 45 mg/kg 인간 등가 용량[HED], 덱사메타손 염기 또는 덱사메타손 포스페이트의 적어도 약 15 내지 24 mg/kg 인간 등가 용량[HED], 덱사메타손 염기 또는 덱사메타손 포스페이트의 적어도 약 6 내지 12 mg/kg 인간 등가 용량[HED], 덱사메타손 염기 또는 덱사메타손 포스페이트의 적어도 약 6 내지 18 mg/kg 인간 등가 용량[HED], 덱사메타손 염기 또는 덱사메타손 포스페이트의 적어도 약 12 내지 15 mg/kg 인간 등가 용량[HED], 덱사메타손 염기 또는 덱사메타손 포스페이트의 적어도 약 18 내지 30 mg/kg 인간 등가 용량[HED], 덱사메타손 염기 또는 덱사메타손 포스페이트의 적어도 약 15 내지 18 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 투여된다. 감염성 질환이 코로나바이러스, 예를 들어, COVID-19에 의한 감염으로 인한 질환인 구현예에서, 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제는 바람직하게는 덱사메타손 염기 또는 덱사메타손 포스페이트의 약 18 내지 30 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 투여된다.

[0161] 본 개시내용의 방법에서, 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제는 단일 급성 용량으로, 또는 약 24, 48, 또는 72시간에 걸쳐 제공된 총 용량으로 투여될 수 있다. 일부 바람직한 구현예에서, 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제는 단일 급성 용량으로 투여된다. 다른 바람직한 구현예에서, 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제는 약 72시간의 기간에 걸쳐 제공되는 총 용량으로 투여된다.

[0162] 코로나바이러스(예컨대, COVID-19) 감염으로 인한 질환과 같은 감염성 질환을 갖거나, 갖고 있다고 의심되거나, 진단받은 적이 있는 일부 구현예에서, 글루코코르티코이드 수용체 조절제(바람직하게는 덱사메타손 또는 베타메타손일 것임)는 수성 매질의 용액으로 투여할 수 있다. 일부 이러한 구현예에서, 글루코코르티코이드 수용체 조절제는 약 24 mg/ml 덱사메타손 포스페이트(20 mg/ml 덱사메타손 염기; 26.2 mg/ml 덱사메타손 나트륨 포스페이트)와 같은 농도로 제공되고, 덱사메타손 염기의 약 18 내지 30 mg/kg 인간 등가 용량[HED]의 최대 목표 용량으로 약 1 내지 2시간의 기간에 걸쳐 정맥내[intravenous, IV] 주입에 의해 투여될 수 있다. 다른 구현예에서, 글루코코르티코이드 수용체 조절제는 오렌지 주스 또는 구연산(pH 3.3 내지 4.2)에 용해된 덱사메타손 정제로 제공되고 덱사메타손 염기의 약 18 내지 30 mg/kg 인간 등가 용량[HED]의 최대 목표 용량으로 경구 또는 위관을 통해 투여될 수 있다.

[0163] 본 개시내용의 방법의 일부 구현예에서, 방법은 하나 이상의 추가 용량의 글루코코르티코이드-수용체[GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제를 대상에게 투여하는 단계를 포함할 수 있다.

[0164] 이러한 맥락에서, 하나 이상의 용량은 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제의 첫 번째 또는 이전 용량에 대해 추가로 투여되고 따라서 후속 또는 두 번째, 세 번째, 네 번째 용량 등으로 명명될 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 하나 이상의 추가 용량은 이전 용량 (투여) 후 약 24, 48, 72, 96, 120, 144, 또는 168시간에 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 추가 용량은 이전 용량 (투여) 후 약 24, 48, 72,

96, 120, 144, 또는 168 시간마다 투여될 수 있다. 일부 다른 구현예에서, 하나 이상의 추가 용량은 이전 용량 (투여) 후 매주 1회, 2주마다 1회, 3주마다 1회, 또는 매월 1회 투여될 수 있다. 일부 다른 구현예에서, 하나 이상의 추가 용량은 이전 용량 (투여) 후 매주 2회 투여될 수 있다.

[0165] 일부 구현예에서, 하나 이상의 추가 용량은 이전 용량 (투여) 후 약 24시간 내지 168시간에 투여될 수 있다. 다른 구현예에서, 하나 이상의 추가 용량은 이전 용량 (투여) 후 약 24시간 내지 120시간, 약 24시간 내지 72시간, 또는 약 24시간 내지 48시간에 투여될 수 있다. 일부 다른 구현예에서, 하나 이상의 추가 용량은 이전 용량 (투여) 후 약 48시간 내지 168시간, 약 48시간 내지 120시간, 또는 약 48시간 내지 72시간에 투여될 수 있다. 일부 다른 구현예에서, 하나 이상의 추가 용량은 이전 용량 (투여) 후 약 72시간 내지 168시간, 또는 약 72시간 내지 120시간에 투여될 수 있다.

[0166] 일부 구현예에서, 후속 용량은 초기 용량 후 7일에 제공된다. 일부 구현예에서, 후속 용량은 초기 용량 후 14일에 제공된다. 일부 구현예에서, 후속 용량은 초기 용량 후 21일에 제공된다.

[0167] 대상이 T 세포 림프종을 갖거나, 갖는 것으로 의심되거나, 진단받은 일부 구현예에서, 하나 이상의 추가 용량은 의사가 결정할 수 있는 기간 동안 21일마다, 또는 14일마다 또는 5 내지 7일마다 투여될 수 있다.

[0168] 대상이 B 세포 림프종을 갖거나, 갖는 것으로 의심되거나, 진단받은 일부 구현예에서, 하나 이상의 추가 용량은 의사가 결정할 수 있는 기간 동안 21일마다, 또는 14일마다 또는 5 내지 7일마다 투여될 수 있다.

[0169] 본 개시내용의 방법의 일부 구현예에서, 방법은 NKT 세포 활성화제, T 세포 활성화제, 및/또는 NK 세포 활성화제를 대상에게 투여하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0170] 본원에 사용된 용어 NKT 세포 활성화제는 NKT 세포의 활성화를 촉발하는 임의의 작용제 또는 분자를 포함한다. NKT 세포의 활성화는 활성화 마커와 Th1 및 Th2 사이토카인 및 케모카인의 상향조절과 연관되어 있다. 개시된 방법에 사용될 수 있는 NKT 세포 활성화제는 당업자에게 잘 알려져 있다.

[0171] 일부 이러한 NKT 세포 활성화제는 아디포카인, 렙틴, 아디포넥틴, 아펠린, 케메린, MCP-1, PAI-1, RBP4, 비스파틴, 오멘틴, 바스핀, 프로그래뉼린, CTRP-4, 사이토카인, IL-1α, IL-1β, IL-1RA. IL-18, IL-33, IL-36α, IL-36β, IL-36ɣ. IL-36RA, IL-37, IL-38, IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-21, IFN-α, IFN-β, IFN-δ, IFN-ε, IFN-κ, IFN-τ, IFN-ω, IFN-ɣ, IFN-λ1, IFN-λ2, IFN-λ3, IFN-λ4, IL-6, IL-11, IL-31, CLCF1, CNTF, 렙틴, LIF, OSM, iL-12, IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E, IL-17F, 4-1BBL, BAFF, CD40LG, CD70, CD95L/CD178, EDA-A1, LTA/TNF-β, TNF-α, TNFSF4, TNFS8, TNFSF10, TNFSF11, TNFSF12, TNFSF13, TNFSF15, TGF-β1, TGF-β2, TGF-β3, IL-13, G-CSF, GM-CSF, CSF1. 케모카인, CXCL1-CXCL17, CC, CCL1-CCL28, CX3CL1, XCL1, XCL2, 미오카인, BDNF, 데코린, 아이리신, 미오스타틴, 미오넥틴, 오스테오넥틴, 프로스타글란딘, PGI2, PGD2, PGE2, PGF2α, 프로스타미드, 프로스타미드 I2, 프로스타미드 D2, 프로스타미드 E2, 프로스타미드 F2α, 바이로킨, 성장 인자, 아드레노메둘린, 안지오포이에틴, 자가분비 운동 인자, 골형성 단백질, 섬모 신경영양 인자, 백혈병 억제 인자, M-CSF, EGF, 에프린 A1-A5, 에프린 B1-B3, 에리트로포이에틴, FGF1-FGF23, 소태아소마토트로핀, GDNF, 뉴르투린, 페르세핀, 아르테민, 성장 분화 인자-9, 간세포성장인자, 간세포 유래성장인자, 인슐린, 인슐린 유사 성장 인자 ½, 각질세포 성장 인자, 이동촉진인자, 대식세포-자극 단백질, 뉴레귤린 1-4, 뉴로트로핀 ¾, 신경성장인자, 태반성장인자, 혈소판유래성장인자, 신장효소, T 세포 성장 인자, TGF-α, TGF-β, VEGF, Wnt 신호전달 경로, 항-NKG2D 항체 또는 이의 리간드 MICA(MHC 클래스 I 사슬 관련 서열 A), DNAM-1 결합, 4-1BB 결합, PD-1 억제제, NKT 활성화제, α-갈락토실세라마이드, α-글루코로노실세라마이드, α-갈투론실세라마이드, α-갈락토실디아실기로세롤, 포스파티딜이노시톨-마노시다제, α-글루토실디아실글리세롤, 콜레스테롤 α-글루코시드, β-글락토실세라마이드, 이소글로보트리헥소실세라마이드, 포스파티딜에탄올아민, 포스파티딜이노시톨, 포스파티딜콜린, 집먼지 추출물, GSL-1, NKp44L, ULBP, 병원체 유래 분자 구조, PAMP, LPS, 병원체 유래 RNA, 병원체 유래 DNA, 바이러스 리간드, 합성 α-갈라코실세라마이드, KRN7000, PBS44, PBS57, 항염증제, IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-28A, IL-28B, IL-29를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0172] 본 개시내용의 일부 구현예에서, NKT 세포 활성화제는 상기 인용된 작용제 중 하나 이상이 아닐 수 있다.

[0173] 활성화 후, NKT 세포는 NKp44를 발현하고, 낮은 CD3 및 CD49b 발현 그리고 IL-10, TGF-β, IFN감마, IL-4 및 여러 Th1 및 Th2 사이토카인, 인간 클래스 I 제한 T 세포 관련 분자[class-I restricted T cell associated molecule, CRTAM], CCL3/MIP1a, CCL4/MIP1h 및 CCL5/란테스 및 XCL1/림포탁틴, 그랜자임, CD45RO+ CD62L+, CD25, IL2R베타, GM-CSF, IL-2, IL-13, TNF알파, IL-17, IL-21, CD44, CD69, 및 IL-22를 발현한다. 또한, 종양

환경에서, NKT 세포는 모든 측면에서 종양 세포를 향해 이동하는 라인으로 조직화된다.

[0174] 본 개시내용의 방법의 일부 바람직한 구현예에서, NKT 세포 활성화제는 알파 GalCer(알파-갈락토실세라마이드; α-GalCer) 설파티드(3-O-설포갈락토실세라마이드; SM4; 황산화 갈락토세레브로시드), 또는 NKT-활성화 항체로 이루어진 군에서 선택될 수 있거나, 퍼포린, 산화질소, IL-2, 인터페론 알파 및 감마, TGF베타, TNF알파, TNF베타, G-CSF, VEGF, FGF-18, IL-17, CXCL5, CXCR2, CXCR5, CCR4-CCL17/22, CCR8-CCL1, CCR10-CCL28, 및 CXCR3-CCL9/10/11, CCL5, CXCR9, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CXCL9 또는 CXCL10, 인터페론(interferon, IFN) γ유도성 케모카인 CXCL9, CXCL10, 및 CXCL11, CCL5 및 CXCL9, CCR5, IL-32, IL-6, IL-7, IL-10, IL-18, G-CSF, M-CSF, MCP-1, MCP-3, IP-10, MIG, 또는 MIP-1α일 수 있다. 본 개시내용의 방법의 일부 다른 바람직한 구현예에서, NKT 세포 활성화제는 알파 GalCer 담지된 수지상 세포 또는 단핵구일 수 있다.

[0175] 본원에 사용된 용어 T 세포 활성화제는 T 세포의 활성화를 촉발하는 임의의 작용제 또는 분자를 포함한다. T 세포는 TCR과 항원성 펩티드 및 MHC의 상호 작용을 통해 그리고 비항원 특이적 공동자극제(예컨대, 사이토카인 인터루킨 1)를 통해 활성화될 수 있다. T 세포의 활성화는 증가된 사이토카인 및 케모카인 생성, 수지상 세포 성숙 유도, 대식세포 모집, 및 증가된 세포용해 활성과 관련이 있다. 감마 델타 T 세포의 활성화는 또한 표피 완전성을 유지하는 성장 인자(예컨대, IGF-1, VEGF 및 FGF-2)의 생성 증가, 뿐만 아니라 알파 베타 T 세포에 대한 항원 제시와 관련될 수 있다. T 세포의 활성화는 또한 표면 마커의 발현 패턴의 변화와 연관될 수 있다. 감마 델타 T 세포의 경우, 이는 다음 마커 표현형 중 하나 이상을 포함할 수 있다. CD5-, CD4-/CD8- (이중 음성), CD3+, CD69, CD56, CD27, CD45RA+, CD45, TCR-Vg9+, TCR-Vd2+, TCR-Vd1+, 및/또는 TCR-Vd3+. 개시된 방법에 사용될 수 있는 T 세포 활성화제는 당업자에게 잘 알려져 있다.

[0176] 일부 이러한 T 세포 활성화제는 아디포카인, 렙틴, 아디포넥틴, 아펠린, 케메린, MCP-1, PAI-1, RBP4, 비스파틴, 오멘틴, 바스핀, 프로그래뉼린, CTRP-4, 사이토카인, IL-1α, IL-1β, IL-1RA. IL-18, IL-33, IL-36α, IL-36β, IL-36γ. IL-36RA, IL-37, IL-38, IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-21, IFN-α, IFN-β, IFN-δ, IFN-ε, IFN-κ, IFN-τ, IFN-ω, IFN-γ, IFN-λ1, IFN-λ2, IFN-λ3, IFN-λ4, IL-6, IL-11, IL-31, CLCF1, CNTF, leptin, LIF, OSM, iL-12, IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E, IL-17F, 4-1BBL, BAFF, CD40LG, CD70, CD95L/CD178, EDA-A1, LTA/TNF-β, TNF-α, TNFSF4, TNFS8, TNFSF10, TNFSF11, TNFSF12, TNFSF13, TNFSF15, TGF-β1, TGF-β2, TGF-β3, IL-13, G-CSF, GM-CSF, CSF1. 케모카인, CXCL1-CXCL17, CC, CCL1-CCL28, CX3CL1, XCL1, XCL2, 미오카인, BDNF, 데코린, 아이리신, 미오스타틴, 미오넥틴, 오스테오넥틴, 프로스타글란딘, PGI2, PGD2, PGE2, PGF2α, 프로스타미드, 프로스타미드 I2, 프로스타미드 D2, 프로스타미드 E2, 프로스타미드 F2α, 바이로킨, 성장 인자, 아드레노메둘린, 안지오포이에틴, 자가분비 운동 인자, 골형성 단백질, 섬모 신경영양 인자, 백혈병 억제 인자, M-CSF, EGF, 에프린 A1-A5, 에프린 B1-B3, 에리트로포이에틴, FGF1-FGF23, 소태아소마토트로핀, GDNF, 뉴르투린, 페르세핀, 아르테민, 성장 분화 인자-9, 간세포성장인자, 간세포유래성장인자, 인슐린, 인슐린 유사 성장 인자 ½, 각질세포 성장 인자, 이동촉진인자, 대식세포-자극 단백질, 뉴레귤린 1-4, 뉴로트로핀 ¾, 신경성장인자, 태반성장인자, 혈소판유래성장인자, 신장효소, T 세포 성장 인자, TGF-α, TGF-β, VEGF, Wnt 신호전달 경로, NKT 활성화제, α-갈락토실세라마이드, α-글루코로노실세라마이드, α-갈투론실세라미드, α-갈락토실디아실기로세롤, 포스파티딜이노시톨-마노시다제, α-글루토실디아실글리세롤, 콜레스테롤 α-글루코시드, β-글락토실세라미드, 이소글로보트리헥소실세라마이드, 포스파티딜에탄올아민, 포스파티딜이노시톨, 포스파티딜콜린, 집먼지 추출물, GSL-1, NKp44L, ULBP, 병원체 유래 분자 구조, PAMP, LPS, 병원체 유래 RNA, 병원체 유래 DNA, 바이러스 리간드, 합성 α-갈라코실세라마이드, KRN7000, PBS44, PBS57, 항염증제, IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-28A, IL-28B, IL-29를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0177] 개시내용의 방법의 일부 바람직한 구현예에서, T 세포 활성화제는 졸레드로네이트(zoledronate), 메바스타틴(mevastatin), 또는 T 세포 활성화 항체로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.

[0178] 본 개시내용의 일부 구현예에서, T 세포 활성화제는 전술한 작용제 중 하나 이상이 아닐 수 있다.

[0179] 본원에 사용된 용어 NK 세포 활성화제는 NK 세포의 활성화를 촉발하는 임의의 작용제 또는 분자를 포함한다.

[0180] 일부 이러한 NK 세포 활성화제는 아디포카인, 렙틴, 아디포넥틴, 아펠린, 케메린, MCP-1, PAI-1, RBP4, 비스파틴, 오멘틴, 바스핀, 프로그래뉼린, CTRP-4, 사이토카인, IL-1α, IL-1β, IL-1RA. IL-18, IL-33, IL-36α, IL-36β, IL-36γ. IL-36RA, IL-37, IL-38, IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-21, IFN-α, IFN-β, IFN-δ, IFN-ε, IFN-κ, IFN-τ, IFN-ω, IFN-γ, IFN-λ1, IFN-λ2, IFN-λ3, IFN-λ4, IL-6, IL-11, IL-31, CLCF1, CNTF, leptin, LIF, OSM, iL-12, IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E, IL-17F, 4-1BBL, BAFF, CD40LG,

CD70, CD95L/CD178, EDA-A1, LTA/TNF-β, TNF-α, TNFSF4, TNFS8, TNFSF10, TNFSF11, TNFSF12, TNFSF13, TNFSF15, TGF-β1, TGF-β2, TGF-β3, IL-13, G-CSF, GM-CSF, CSF1. 케모카인, CXCL1-CXCL17, CC, CCL1-CCL28, CX3CL1, XCL1, XCL2, 미오카인, BDNF, 데코린, 아이리신, 미오스타틴, 미오넥틴, 오스테오넥틴, 프로스타글란딘, PGI2, PGD2, PGE2, PGF2α, 프로스타미드, 프로스타미드 I2, 프로스타미드 D2, 프로스타미드 E2, 프로스타미드 F2α, 바이로킨, 성장 인자, 아드레노메둘린, 안지오포이에틴, 자가분비 운동 인자, 골형성 단백질, 섬모 신경영양 인자, 백혈병 억제 인자, M-CSF, EGF, 에프린 A1-A5, 에프린 B1-B3, 에리트로포이에틴, FGF1-FGF23, 소태아소마토트로핀, GDNF, 뉴르투린, 페르세핀, 아르테민, 성장 분화 인자-9, 간세포성장인자, 간세포 유래성장인자, 인슐린, 인슐린 유사 성장 인자 ½, 각질세포 성장 인자, 이동촉진인자, 대식세포-자극 단백질, 뉴레귤린 1-4, 뉴로트로핀 ¾, 신경성장인자, 태반성장인자, 혈소판유래성장인자, 신장효소, T 세포 성장 인자, TGF-α, TGF-β, VEGF, Wnt 신호전달 경로, NKT 활성화제, α-갈락토실세라마이드, α-글루코로노실세라마이드, α-갈투론실세라미드, α-갈락토실디아실기로세롤, 포스파티딜이노시톨-마노시다제, α-글루토실디아실글리세롤, 콜레스테롤 α-글루코시드, β-글락토실세라미드, 이소글로보트리헥소실세라마이드, 포스파티딜에탄올아민, 포스파티딜이노시톨, 포스파티딜콜린, 집먼지 추출물, GSL-1, NKp44L, ULBP, 병원체 유래 분자 구조, PAMP, LPS, 병원체 유래 RNA, 병원체 유래 DNA, 바이러스 리간드, 합성 α-갈라코실세라마이드, KRN7000, PBS44, PBS57, 항염증제, IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-28A, IL-28B, IL-29를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0181] 본 개시내용의 방법의 일부 바람직한 구현예에서, NK 세포 활성화제는 IL-2, IL-12, IL-15, IL-18, IL-21 또는 NK 세포 활성화 항체로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.

[0182] 본 개시내용의 일부 구현예에서, NK 세포 활성화제는 전술한 작용제 중 하나 이상이 아닐 수 있다.

[0183] 본 개시내용의 방법의 일부 구현예에서, NKT 세포 활성화제, T 세포 활성화제 및/또는 NK 세포 활성화제는 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제의 용량 투여로부터 24, 48, 72, 96, 120, 144, 또는 168시간 이내에 투여될 수 있다. 일부 바람직한 구현예에서, NKT 세포 활성화제, T 세포 활성화제, 및/또는 NK 세포 활성화제는 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제의 용량을 투여한 후 1, 3, 또는 48시간 이내 또는 그 부근에 투여될 수 있다. 일부 특히 바람직한 구현예에서, NKT 세포 활성화제, T 세포 활성화제, 및/또는 NK 세포 활성화제는 일정 용량의 글루코코르티코이드 투여 후 1, 3, 또는 48시간 이내에 또는 그 부근에 투여될 수 있다.

[0184] 용어 '대상' 및 '환자'는 본원에서 상호교환 가능하게 사용되고, 인간 또는 동물을 지칭한다. 본 개시내용의 방법의 일부 구현예에서, 대상은 포유동물일 수 있다. 일부 바람직한 구현예에서, 대상은 성별이나 인종을 불문한 인간일 수 있다. 일부 구현예에서, 인간은 성인 인간이다. 본 개시내용의 방법의 일부 구현예에서, 대상은 건강한 성인 인간 대상과 같은 건강한 대상일 수 있다. 이러한 맥락에서 건강한 대상은 질환에 걸리지 않은 대상이다. 바람직하게는, 대상은 인간이거나 인간화 면역 체계를 가진 포유동물, 예컨대 인간 면역 체계[human immune system, HIS] 마우스이다. 더 바람직하게는, 대상은 인간이다.

[0185] 본 개시내용의 방법의 일부 구현예에서, 대상은 암, 자가면역질환 또는 감염성 질환(미생물 질환이라고도 함)으로 이루어진 군에서 선택된 질환을 갖거나, 갖는 것으로 의심되거나, 또는 진단을 받았을 수 있다.

[0186] 본원에 사용된 '암'은 비정상적인 세포의 제어되지 않은 성장을 특징으로 하는 질환을 지칭한다. 암 세포는 국소적으로 또는 혈류와 림프계를 통해 신체의 다른 부분으로 퍼질 수 있다. 다양한 암의 예가 본원에 기재되어 있으며 유방암, 전립선암, 난소암, 자궁경부암, 피부암, 췌장암, 결장직장암, 신암, 간암, 뇌암, 림프종, 백혈병, 폐암 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 용어 '종양' 및 '암'은 본원에서 상호교환 가능하게 사용되고, 예를 들어, 두 용어 모두 고체 및 액체, 예를 들어, 미만성 또는 순환성 종양을 포함한다. 본원에 사용된 용어 '암' 또는 '종양'은 전악성, 뿐만 아니라 악성 암 및 종양을 포함한다.

[0187] 본 개시내용의 일부 구현예에서, 암은 다음과 같을 수 있다. 입술의 악성신생물, 편도의 악성신생물, 혀의 악성신생물, 잇몸의 악성신생물, 구강의 악성신생물, 이하선의 악성신생물, 침샘의 악성신생물, 인두의 악성신생물, 식도 악성신생물, 위 악성신생물, 소장 악성신생물, 결장 악성신생물, 직장 S자 결장 연결부 악성신생물, 직장 악성신생물, 항문 악성신생물, 간 악성신생물, 담낭의 악성신생물, 담도의 악성신생물, 췌장의 악성신생물, 장관의 악성신생물, 비장의 악성신생물, 비강 및 중이의 악성신생물, 부비동의 악성신생물, 후두의 악성신생물, 기관의 악성신생물 기관지 및 폐의 악성신생물, 흉선의 악성신생물, 심장, 종격동 및 흉막의 악성신생물, 호흡기 및 흉부 내 기관의 악성신생물, 뼈 및 사지의 관절 연골의 악성신생물, 두개골 및 얼굴 뼈의 악성신생물, 척주의 악성신생물, 늑골, 흉골 및 쇄골의 악성신생물, 골반뼈, 천골 및 미저골의 악성신생물, 피부의 악성 흑색

종, 입술의 악성 흑색종, 안각을 포함하는 눈꺼풀의 악성 흑색종, 귀 및 외이도의 악성 흑색종, 얼굴의 악성 흑색종, 항문 피부의 악성 흑색종, 유방 피부의 악성 흑색종, 어깨를 포함한 사지의 악성 흑색종, 메르켈 세포 암종, 입술 피부의 기저세포암종, 입술 피부의 편평세포암종, 피부/안각을 포함하는 눈꺼풀 기타 및 상세불명의 악성신생물, 피부/귀 및 외이도 악성신생물, 피부/및 상세불명 얼굴 부위 기타 및 상세불명의 악성신생물, 기타 및 상세불명 얼굴 부위 피부의 기저세포암종, 얼굴 피부 및 얼굴 상세불명 부위의 편평세포암종, 두피 및 목 피부의 기저세포암종, 두피 및 목 피부의 편평세포암종, 몸통 피부의 기저세포암종, 항문 피부의 기저세포암종, 유방 피부의 기저세포암종, 몸통 피부의 편평세포암종, 항문 피부의 편평세포암종, 유방 피부의 편평세포암종, 몸통의 기타 부분 피부의 편평세포암종, 피부/어깨를 포함하는 사지 기타 및 상세불명의 악성신생물, 피부/어깨를 포함하는 사지 기저세포암종, 피부/어깨를 포함하는 사지 편평세포암종, 엉덩이를 포함하는 사지 피부의 기저세포암종, 엉덩이를 포함하는 사지 피부의 편평세포암종, 중피종, 카포시 육종, 말초 신경 및 자율신경계의 악성신생물, 후복막 및 복막의 악성신생물, 기타 결합 및 연조직의 악성신생물, 흉부 결합 및 연조직의 악성신생물, 복부의 결합 및 연조직의 악성신생물, 골반의 결합 및 연조직의 악성신생물, 상세불명의 몸통 및 연조직의 악성신생물, 결합 및 연조직의 중첩 부위의 악성신생물, 상세불명의 결합 및 연조직의 악성신생물, 위장관기질종양, 유방의 악성신생물, 외음부의 악성신생물, 질의 악성신생물, 자궁경부의 악성신생물, 자궁체의 악성신생물, 상세불명부 자궁의 악성신생물, 난소의 악성신생물, 기타 및 상세불명의 여성생식기의 악성신생물, 태반의 악성신생물, 음경의 악성신생물, 전립선의 악성신생물, 고환의 악성신생물, 기타 및 상세불명의 남성생식기의 악성신생물, 신장의 악성신생물, 신우의 악성신생물, 요관의 악성신생물, 방광의 악성신생물, 기타 및 상세불명의 비뇨기관의 악성신생물, 눈 및 부속기의 악성신생물, 수막의 악성신생물, 뇌의 악성신생물, 척수, 뇌신경의 악성신생물, 시신경의 악성신생물, 기타 및 상세불명 뇌신경의 악성신생물, 상세불명의 중추신경계의 악성신생물, 갑상선의 악성신생물, 부신의 악성신생물, 내분비샘 및 관련구조의 악성신생물, 악성신경내분비종양, 악성유암종, 이차신경내분비종양, 머리, 얼굴과 목의 악성신생물, 흉부의 악성신생물, 복부의 악성신생물, 골반의 악성신생물, 사지의 악성신생물, 하지의 악성신생물, 림프절의 이차성 및 상세불명의 악성신생물, 호흡기 및 소화기의 이차성 악성신생물, 신장 및 신우의 이차성 악성신생물, 방광 및 기타 상세불명의 비뇨기관의 이차성 악성신생물, 피부의 이차성 악성신생물, 뇌 및 뇌수막의 이차성 악성신생물, 신경계 및 상세불명의 부분의 이차성 악성신생물, 뼈 및 골수의 이차성 악성신생물, 난소의 이차성 악성신생물, 부신의 이차 악성신생물, 호지킨 림프종, 여포성 림프종, 비-여포성 림프종, 소세포 B-세포 림프종, 외투세포 림프종, 미만성 거대 B-세포 림프종, 림프모구성 (미만성) 림프종, 버킷 림프종, 기타 비-여포성 림프종, 비-여포성 (미만성) 림프종, 상세불명, 성숙 T/NK-세포 림프종, 세자리병, 말초 T-세포 림프종, 비분류, 역형성 대세포 림프종, ALK-양성, 역형성 대세포 림프종, ALK-음성, 상세불명의 피부 T-세포 림프종, 기타 성숙 T/NK-세포 림프종, 상세불명, 성숙 T/NK-세포 림프종, 기타 및 상세불명 유형의 비-호지킨 림프종, 악성 면역증식성 질환 및 특정 기타 B 세포 림프, 다발성 골수종 및 악성 형질 세포 신생물, 림프성 백혈병, 급성 림프모구성 백혈병[Acute lymphoblastic leukemia, ALL], B 세포 유형의 만성 림프구성 백혈병 B 세포 유형의 전림프구성 백혈병, 헤어리 세포 백혈병, 성인 T-세포 림프종/백혈병(HTLV-1-관련), T 세포 유형의 전림프구성 백혈병, 성숙 B 세포 백혈병 버킷 유형, 기타 림프성 백혈병, 림프성 백혈병, 상세불명의, 골수성 백혈병, 급성 골수아구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, BCR/ABL-양성, 비정형 만성 골수성 백혈병, BCR/ABL-음성, 골수성 육종, 급성 전골수구성 백혈병, 급성 골수단구성 백혈병, 11q23-이상이 있는 급성 골수성 백혈병, 기타 골수성 백혈병, 상세불명의 골수성 백혈병, 단핵구성 백혈병, 만성 골수단핵구 백혈병, 소아 골수단구성 백혈병, 기타 단핵구 백혈병, 상세불명의 단핵구성 백혈병, 기타 특정 세포 유형의 백혈병, 급성 적혈구성 백혈병, 급성 거핵모구성 백혈병, 비만 세포 백혈병, 골수섬유증을 동반한 급성 범골수증, 분류되지 않은 골수이형성 질환, 기타 특정 백혈병, 상세불명의 세포형 백혈병, 상세불명의 세포형 만성 백혈병, 상세불명의 백혈병 기타 및 상세불명의 림프양, 조혈 조직 악성신생물, 구강, 식도 및 위의 제자리암종, 직장 S자 결장 연결부 제자리암종, 직장 제자리암종, 항문 및 항문관의 제자리암종, 기타 및 장의 상세불명 부분의 제자리암종, 장의 상세불명 부분의 제자리암종, 기타 장의 제자리암종, 간, 담낭 및 담관의 제자리암종, 기타 특정 소화기관의 제자리암종, 상세불명의 소화기관의 제자리암종, 중이 및 호흡기계의 제자리암종, 후두의 제자리암종, 기관의 제자리암종, 기관지 및 폐의 제자리암종, 호흡기계의 다른 부위의 제자리암종, 제자리 흑색종, 입술의 제자리 흑색종, 안각을 포함한 눈꺼풀의 제자리 흑색종, 귀 및 외이도의 제자리 흑색종, 상세불명의 얼굴의 일부 제자리 흑색종, 두피와 목의 제자리 흑색종, 몸통의 제자리 흑색종, 항문 피부의 제자리 흑색종, 유방 (피부) (연조직)의 제자리 흑색종, 어깨를 포함한 상지의 제자리 흑색종, 엉덩이를 포함한 하지의 제자리 흑색종, 다른 부위의 제자리 흑색종, 피부의 제자리암종, 입술 피부의 제자리암종, 안각을 포함한 눈꺼풀 피부의 제자리암종, 귀 및 외이도의 제자리암종, 얼굴의 기타 및 상세불명 부위 피부의 제자리암종, 두피 및 목 피부의 제자리암종, 몸통 피부의 제자리암종, 어깨를 포함한 상지 피부의 제자리암종, 엉덩이를 포함한 하지 피부의 제자리암종, 다른 부위의 피부 제자리암종, 유방의 제자리암

종, 유방의 소엽 제자리암종, 유방의 관내 제자리암종, 기타 상세불명 유형의 유방 제자리암종, 상세불명 유형의 유방 제자리암종, 자궁경부의 제자리암종, 자궁경관 다른 부분의 제자리암종, 상세불명의 자궁경관 제자리암종, 기타 및 상세불명의 생식기 제자리암종, 자궁내막 제자리암종, 외음부 제자리암종, 질 제자리암종, 자궁내막암 기타 및 상세불명의 여성 생식기의 제자리암종, 음경의 제자리암종, 전립선의 제자리암종, 상세불명의 남성생식기의 제자리암종, 음낭의 제자리암종, 기타 남성생식기의 제자리암종, 방광의 제자리암종, 기타 및 상세불명의 비뇨기관의 제자리암종, 눈의 제자리암종, 갑상선 및 기타 내분비샘의 제자리암종, 구강 및 인두의 양성신생물, 주요 침샘의 양성신생물, 결장, 직장, 항문 및 항문관의 양성신생물, 소화기 계통 및 불분명한 부분의 양성신생물, 식도의 양성신생물, 위의 양성신생물, 십이지장의 양성신생물, 기타 및 상세불명 소장 부분의 양성신생물, 간의 양성신생물, 간외 담관의 양성신생물, 췌장의 양성신생물, 내분비 췌장의 양성신생물, 소화계 내 불분명한 부위의 양성신생물, 중이 및 호흡기계의 양성신생물, 상세불명의 호흡기계의 양성신생물, 기타 및 상세불명의 흉부 내 장기의 양성신생물, 흉선의 양성신생물, 심장의 양성신생물, 종격동의 양성신생물, 기타 특정 흉부 내 장기의 양성신생물, 상세불명의 흉부 내 장기의 양성신생물, 골 및 관절 연골의 양성신생물, 상지 단골의 양성신생물, 하지 장골의 양성신생물, 하지 단골의 양성신생물, 두개골과 얼굴 뼈의 양성신생물, 아래턱 뼈의 양성신생물, 척추의 양성신생물, 늑골, 흉골 및 쇄골의 양성신생물, 골반 뼈, 천골 및 미추의 양성신생물, 상세불명의 뼈 및 관절연골의 양성신생물, 양성 지방종성 신생물, 피부, 머리, 얼굴 및 목의 피하의 벤 지방종성 신생물, 흉부 장기의 양성 지방종성 신생물, 복강 내 장기의 양성 지방종성 신생물, 정삭의 양성 지방종성 신생물, 다른 부위의 양성 지방종성 신생물, 신장의 양성 지방종성 신생물, 기타 비뇨생식기 기관의 양성 지방종성 신생물, 혈관종 및 림프관종, 모든 부위, 혈관종, 상세불명의 혈관종, 피부 및 피하 조직의 혈관종, 두개내 구조의 혈관종, 복부 내 구조의 혈관종, 다른 부위의 혈관종, 림프관종, 모든 부위, 중피 조직의 양성신생물, 후복막 및 복막 연조직의 양성신생물, 결합 및 기타 연조직의 기타 양성신생물, 멜라닌 세포 모반, 입술의 멜라닌 세포 모반, 안각을 포함한 눈꺼풀의 멜라닌 세포 모반, 안각을 포함한 불특정 눈꺼풀의 멜라닌 세포 모반, 귀 및 외이도의 멜라닌 세포 모반, 얼굴의 기타 및 상세불명 부분의 멜라닌 세포 모반, 두피 및 목의 멜라닌 세포 모반, 몸통의 멜라닌 세포 모반, 어깨를 포함한 상지의 멜라닌 세포 모반, 엉덩이를 포함한 하지의 멜라닌 세포 모반, 상세불명의 멜라닌 세포 모반, 안각을 포함한 눈꺼풀 피부의 기타 양성신생물, 피부/귀 및 외이도의 기타 양성신생물, 피부/왼쪽 귀 및 외이도의 기타 양성신생물, 얼굴 기타 및 상세불명 부위 피부의 기타 양성신생물, 얼굴 기타 피부의 기타 양성신생물, 두피 및 목 피부의 기타 양성신생물, 몸통 피부의 기타 양성신생물, 피부/어깨를 포함한 상지 기타 양성신생물, 엉덩이를 포함한 하지 피부의 기타 양성신생물, 상세불명의 피부의 기타 양성신생물, 유방의 양성신생물, 상세불명의 유방의 양성신생물, 자궁의 평활근종, 자궁의 기타 양성신생물, 난소의 양성신생물 기타 및 상세불명의 여성 생식기의 양성신생물, 남성 생식기의 양성신생물, 비뇨기의 양성신생물, 신장의 양성신생물, 신우의 양성신생물, 요관의 양성신생물, 방광의 양성신생물, 요도의 양성신생물, 기타 특정 비뇨기관의 양성신생물, 상세불명의 비뇨기관의 양성신생물, 눈 및 부속기의 양성신생물, 결막의 양성신생물, 각막의 양성신생물, 망막의 양성신생물, 맥락막의 양성신생물, 모양체의 양성신생물, 눈물샘 및 관의 양성신생물, 안와의 상세불명 부위의 양성신생물, 눈의 상세불명 부위의 양성신생물, 뇌막의 양성신생물, 뇌 및 중추신경계의 양성신생물, 갑상선의 양성신생물, 기타 및 상세불명의 내분비선의 양성신생물, 기타 및 상세불명의 부위의 양성신생물, 림프절의 양성신생물, B 말초 신경 및 자율신경계의 양성신생물, 기타 특정 부위의 양성신생물, 양성 신경내분비종양, 기타 신경내분비종양, 구강 및 소화기관의 행동양식 불명의 신생물, 주요 침샘의 행동양식 불명의 신생물, 인두의 행동양식 불명의 신생물, 구강 부위의 행동양식 불명의 신생물, 위의 행동양식 불명의 신생물, 소장의 행동양식 불명의 신생물, 맹장의 행동양식 불명의 신생물, 결장의 행동양식 불명의 신생물, 직장의 행동양식 불명의 신생물, 간, GB 및 담관의 행동양식 불명의 신생물, 다른 소화기관의 행동양식 불명의 신생물, 소화기관의 행동양식 불명의 신생물, 중이 및 흉부 장기의 신생물, 후두의 행동양식 불명의 신생물, 기관, 기관지 및 폐의 행동양식 불명의 신생물, 흉막의 행동양식 불명의 신생물, 종격의 행동양식 불명의 신생물, 흉선의 행동양식 불명의 신생물, 기타 호흡 기관의 행동양식 불명의 신생물, 상세불명의 호흡기의 행동양식 불명의 신생물, 여성 생식기의 행동양식 불명의 신생물, 자궁의 행동양식 불명의 신생물, 난소의 행동양식 불명의 신생물, 상세불명의 난소 행동양식 불명의 신생물, 태반의 행동양식 불명의 신생물, 남성 생식기의 행동양식 불명의 신생물, 비뇨기의 행동양식 불명의 신생물, 신장의 행동양식 불명의 신생물, 상세불명의 신장의 행동양식 불명의 신생물, 신우의 행동양식 불명의 신생물, 요관의 행동양식 불명의 신생물, 방광의 행동양식 불명의 신생물, 기타 비뇨기관의 행동양식 불명의 신생물, 상세불명의 비뇨기관의 행동양식 불명의 신생물, 수막의 행동양식 불명의 신생물, 대뇌 수막의 행동양식 불명의 신생물, 척수 수막의 행동양식 불명의 신생물, 상세불명의 수막의 행동양식 불명의 신생물, 뇌의 행동양식 불명의 신생물, 뇌의 행동양식 불명의 신생물, 천막하, 뇌의 행동양식 불명의 신생물, 상세불명 뇌의 행동양식 불명의 신생물, 뇌신경의 행동양식 불명의 신생물, 척수의 행동양식 불명의 신생물, 중추신경계의 행동양식 불명의 신생물, 내분비

선의 행동양식 불명의 신생물, 갑상선의 행동양식 불명의 신생물, 부신의 행동양식 불명의 신생물, 상세불명의 부신의 행동의 불확실한 신생물, 부갑상선의 행동양식 불명의 신생물, 뇌하수체의 행동양식 불명의 신생물, 두개인두관의 행동양식 불명의 신생물, 송과선의 행동양식 불명의 신생물, 경동맥체의 행동양식 불명의 신생물, 대동맥체 및 기타 부신경절의 행동양식 불명의 신생물, 상세불명의 내분비선의 행동양식 불명의 신생물, 진성다적혈구증, 골수이형성 증후군, 다음과 같이 명시된, 링 철모세포가 없는 불응성 빈혈, 링 철모세포가 있는 불응성 빈혈, 과잉 아세포가 있는 불응성 빈혈[Refractory anemia with excess of blasts, RAEB], 상세불명 골수이형성 증후군, 림프양, 조혈 조직의 행동양식 불명의 기타 신생물, 행동양식 불명의 조직구 및 비만 세포 종양, 만성 골수증식성 질환, 단클론성 감마병증, 본태성 (출혈) 혈소판 증가증, 골수섬유증, 림프양, 조혈 조직의 행동양식 불명의 기타 신생물, 상세불명의 림프양, 조혈 행동양식 불명의 신생물, 기타 및 상세불명의 부위의 행동양식 불명의 신생물, 뼈/관절 연골의 행동양식 불명의 신생물, 결합/연부조직의 행동양식 불명의 신생물, 말초 신경 및 자율신경계의 행동양식 불명의 신생물, 후복막의 행동양식 불명의 신생물, 복막의 행동양식 불명의 신생물, 피부의 행동양식 불명의 신생물, 유방의 행동양식 불명의 신생물, 소화기계 행동양식 미상의 신생물, 호흡기계 행동양식 미상의 신생물, 뼈, 연조직, 피부의 행동양식 미상의 신생물, 유방의 행동양식 미상의 신생물, 방광의 행동양식 미상의 신생물, 기타 비뇨생식기 기관의 행동양식 미상의 신생물, 신장의 행동양식 미상의 신생물, 기타 GU 기관의 행동양식 미상의 신생물, 뇌의 행동양식 미상의 신생물, 내선 및 신경계의 기타 부분의 행동양식 미상의 신생물, 망막 및 맥락막의 행동양식 미상의 신생물, 또는 상세불명 부위의 행동양식 미상의 신생물.

[0188] 본 개시내용의 일부 구현예에서, 암은 전술한 암 중 하나가 아닐 수 있다.

[0189] 본 개시내용의 일부 바람직한 구현예에서, 암은 하기로 이루어진 군에서 선택될 수 있다. 림프종, 편평세포암(예를 들어, 상피편평세포암); 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 폐의 선암종 및 폐의 편평암종을 포함하는 폐암; 복막암; 간세포암; 위암 또는 위장암; 췌장암; 교모세포종; 자궁경부암; 난소암; 간암; 방광암; 간종양; 유방암; 결장암; 직장암; 결장직장암; 자궁내막 또는 자궁암종; 침샘암종; 신장암 또는 신암; 전립선암; 외음부암; 갑상선암; 간암종; 항문암종; 음경암종; 및 두경부암. 본 개시내용의 특정 바람직한 구현예에서 암은 림프종일 수 있다. 본 개시내용의 더 바람직한 구현예에서 암은 B 세포 림프종 또는 T 세포 림프종일 수 있다. 본 개시내용의 일부 특히 바람직한 구현예에서 암은 비호지킨 림프종일 수 있다. 본 개시내용의 일부 특히 바람직한 구현예에서, 암은 버킷 림프종, T-세포 급성 림프모구성 백혈병[T-cell Acute Lymphoblastic Leukaemia, T-ALL], B-세포 급성 림프모구성 백혈병[B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia, B-ALL], 또는 미만성 거대 B-세포 림프종[diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL]일 수 있다. 다른 바람직한 구현예에서, 암은 이식 후 림프증식성 장애일 수 있다. 본 개시내용의 일부 다른 특히 바람직한 구현예에서, 암은 고형 종양 암일 수 있다.

[0190] 본 개시내용의 방법이 암을 갖거나, 갖는 것으로 의심되거나, 진단된 적이 있는 대상에서 수행되는 구현예에서, 이들 방법에 의해 생성된 NKT-유사 세포는 암을 치료할 수 있다. 이러한 맥락에서, '치료하다'는 대상에서 유익한 치료 효과를 발휘하는 것을 의미하며, 이는 본 개시내용의 방법에서 유래한 임의의 전반적인 임상적 이점일 수 있다. 이러한 전반적인 임상적 이점은 예를 들어, 연장된 생존, 부분적 또는 완전한 질환 관하여(예를 들어, % 골수모세포 및/또는 세포주의 정상 성숙에 의해 평가된 바와 같이), 질환 진행의 둔화 또는 부재(예를 들어, 골수모세포 %의 변화로 평가된 바와 같이), 종양 수축(예를 들어, 종양 부피의 5, 10, 20, 30, 40% 이상의 감소), 종양 부담의 감소(예를 들어, 종양 부담의 5, 10, 20, 30, 40% 이상 감소), 종양 확대의 둔화 또는 부재, 종양 부담 증가의 둔화 또는 부재, (예를 들어, 암 요법의 기능적 평가[Functional Assessment of Cancer Therapy, FACT] 설문지와 같은 건강 관련 삶의 질 설문지로 평가된 바와 같이) 삶의 질 개선, 무진행 생존율, 전체 생존율, 혈액학적 개선(예를 들어: 혈액 헤모글로빈, 혈소판 수 및/또는 호중구 수 증가), 골수 반응(예를 들어, 골수모세포가 5% 이하인 골수; 골수모세포에서 30%, 40%, 50% 이상 감소; 아우어 막대가 있는 순환 골수모세포 및 골수모세포의 부재; 골수외 질환의 부재), 혈액학적 회복(예를 들어, ≥11 g/dL 헤모글로빈, ≥100x109/L 혈소판, 및/또는 ≥1x109/L 말초 혈액 호중구), 유전적 표지자에 대한 음성 반응 (예를 들어, CEBPA, NPM1, 또는 FLT3), 또는 임의의 다른 긍정적인 환자 결과 중 하나일 수 있다.

[0191] 전반적인 임상적 이점은 '항종양 효과'일 수 있다. 본원에 사용된 '항종양 효과'는 종양 부피의 감소, 종양 세포 수의 감소, 종양 세포 증식의 감소, 전이 수의 감소, 전체 또는 무진행 생존의 증가, 기대 수명의 증가, 또는 종양과 관련된 다양한 생리학적 증상의 개선으로 나타날 수 있는 생물학적 효과를 지칭한다. 항종양 효과는 또한 종양 발생의 예방, 예를 들어, 백신을 지칭할 수 있다. 예를 들어, 컴퓨터 단층촬영[computed tomography, CT], 또는 자기공명영상[magnetic resonance imaging, MRI] 이미징 기술; X-선 이미징, 예를 들어, 유방촬영술; 초음파 영상; 핵 영상, 예를 들어 양전자 방출 단층촬영[positron emission tomography, PET],

PET/CT 스캔, 뼈 스캔, 갈륨 스캔, 또는 메타요오도벤질구아니딘[metaiodobenzylguanidine, MIBG] 스캔; 생물발광 이미징[bioluminescence imaging, BLI]; 형광 이미징[fluorescence imaging, FLI]; BD ToF(적외선 기반 3D 비행시간 카메라[infrared-based 3D Time-of-Flight camera]) 이미징을 사용하여 종양 부피/부담을 측정하는 적절한 방법은 당업자에게 잘 알려져 있다.

[0192] 따라서, 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 종양 침윤을 통해 암을 치료할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 면역 활성화 사이토카인의 방출을 통해 암을 치료할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 대상에서 암세포를 포식하여 사멸할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 종양 내로의 다른 면역 세포의 침윤을 촉진한다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 CD1d-유도된 세포자멸사를 통해 암세포를 직접 사멸한다.

[0193] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 예를 들어, 표적 세포상의 사멸 수용체와 결합하는 리간드를 발현함으로써 세포자멸사를 유도하여 암세포를 직접 사멸한다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 대상에서 암 세포를 섭취하거나 포식할 수 있다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 암세포를 사멸하는 세포독성 분자를 분비할 수 있다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 TCR 감마/델타 및 불변 TCR[iTCR] 둘 다를 통한 이중특이적 공격을 통해 암을 치료할 수 있다.

[0194] 본원에 사용된 '자가면역질환'은 면역계가 대상 자신의 구성성분을 비정상적으로 공격하는 비정상적인 면역 상태로부터 발생하는 자가면역장애 및 기타 질환을 지칭한다. (건강한 대상에서 면역 체계는 대상 자신의 구성성분에 대한 내성을 확립하여 자가면역 반응 손상을 방지한다). 다양한 자가면역질환의 예가 본원에 기재되어 있고 체강 질환, 당뇨병 1형, 그레이브스병, 염증성 장 질환, 일과성 골다공증, 다발성 경화증, 건선, 류마티스 관절염 및 전신 홍반성 루푸스를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0195] 자가반응성 면역 세포는 마이코박테리아(Mycobacteria), 대장균(*E. coli*) 및 플라스모디움(Plasmodium)과 같은 스트레스를 받은 세포 및 미생물, 특히 (E)-4-히드록시-3-메틸-부트-2-에닐 피로포스페이트(HMB-PP)에 의해 생성되는 포스포 항원과 마찬가지로 디포스페이트-함유 대사산물인, 포스포 항원을 높은 수준으로 발현한다. 인간은 HMB-PP를 생산하지 않지만, *mycobacterium tuberculosis, mycobacterium, bovus, clostidrium difficile, Listeria monocytogenes, malaria parasites* 및 *toxoplasma gondii* 및 *Schistosoma japonicum*을 포함하는 대부분의 그람 음성 세균은 이를 생성한다. 감마 델타 T 세포/수용체는 HMB-PP, 졸레드로네이트 및 이소펜틸 피로포스페이트(isopentyl pyrophosphate, IPP), 미코릴라라비노갈락탄 펩티도글리칸(mycolylarabinogalactan peptidoglycan, mAGP), 및 이소-부틸아민(iso-butylamine, IBA)에 매우 민감하다. BTN2A1, BTN3A1, BTNL3, BTNL8, BTNL1, BTNL6, Skint1, Skint2 와 같은 부티로필린 계열 구성원은 포스포 항원의 감마 델타 T 세포 인식에 중요한 역할을 한다. 말초 혈액 단핵구 세포[peripheral blood mononuclear cell, PBMC]의 아미노비스포스포네이트 자극도 감마 델타 T 세포 수용체를 활성화시킬 수 있다. IL-18은 포스포 항원에 대한 감마 델타 T 세포 수용체의 반응을 향상시킬 수 있다.

[0196] 본 개시내용의 일부 구현예에서 자가면역질환은 다음과 같을 수 있다. 알레르기, 천식, 이식편대 숙주질환[GvHD], 스테로이드 저항성 GvHD, 이완불능증, 애디슨병, 성인형 스틸병, 무감마글로불린혈증, 원형 탈모증, 탈모증, 일과성 골다공증, 아밀로이드증, 강직성 척추염, 항-GBM/항-TBM 신염, 항인지질 증후군, 자가면역 혈관부종, 자가면역 자율신경이상증, 자가면역 뇌척수염, 자가면역 간염, 자가면역 내이 질환[AIED], 자가면역 심근염, 자가면역 난소염, 자가면역 고환염, 자가면역 췌장염, 자가면역 망막증, 자가면역 두드러기, 축삭 및 신경원성 신경병증[AMAN], 발로병, 베체트병, 양성 점막 유사천포창, 수포성 유사천포창, 캐슬만병[CD], 복강병, 샤가스병, 만성 염증성 탈수초성 다발성 신경병증[CIDP], 만성 재발성 다초점성 골수염[CRMO] 처그-스트라우스 증후군[CSS] 또는 호산구성 육아종증 [EGPA], 간질 천포창, 코간 증후군, 한랭응집소병, 선천성 심장차단, 콕사키 심근염, CREST 증후군, 크론병, 포진성 피부염, 피부근염, 데빅병[시신경척수염], 원판형 루푸스, 드레슬러 증후군, 자궁내막증, 호산구성 식도염[EoE], 호산구성근막염, 결절성홍반, 본태성 혼합 한랭글로불린혈증, 에반스 증후군, 섬유근육통, 섬유화성 폐포염, 거대세포동맥염[측두동맥염], 거대세포심근염, 사구체신염, 굿파스처 증후군, 다발혈관염을 동반한 육아종증, 그레이브스병, 길랭-바레 증후군, 하시모토 갑상선염, 용혈성 빈혈, 헤노흐-쉰라인 자반[HSP], 임신 포진 또는 천포창 임신포진[PG], 화농성 한선염[HS(아크네 인버사)], 저감마글로불린혈증, IgA 신병증, IgG4- 관련 경화 질환, 면역성 혈소판 감소증[ITP], 봉입체 근염[IBM], 간질성 방광염[IC], 소아 관절염, 소아 당뇨병[제1형 당뇨병], 소아 근염[JM], 가와사키병, 램버트-이튼 증후군, 백혈구모세포혈관염, 편평태선, 경화태선, 목질결막염, 선형 IgA병[LAD], 루푸스, 만성 라임병, 메니에르병, 현미경 다발혈관염[MPA], 혼합 결합 조직 질환[MCTD], 무렌 궤양, 무하-하버만병, 다초점 운동 신경병증[MMN] 또는 MMNCB, 다발성 경화증, 중증 근무력증, 근염, 기면증, 신생아 루푸스, 시신경 척수염, 호중구 감소

증, 안구 반점성 천포창, 시신경염, 회문형 류머티즘[PR], PANDAS, 신생물성 소뇌변성[PCD], 발작성 야간 혈색소뇨증[PNH], 패리 롬버그 증후군, 파스 평면염(말초 포도막염), 파소니지-터너 증후군, 천포창, 말초신경병증, 주변성 뇌수염, 악성 빈혈[PA], POEMS 증후군, 결절성 다발동맥염, 다선 증후군 유형 I, II, III, 류마티스성 다발성 근육통, 다발성 근염, 심근경색후 증후군, 심낭절개 증후군, 원발성 담즙성 간경변증, 원발성 경화성 담관염, 프로게스테론 피부염, 건선, 건선성 관절염, 순수 적혈구 무형성증 (PRCA), 괴저성 농피증, 레이노 현상, 반응성 관절염, 반사교감신경성 이영양증, 재발성 다발연골염, 하지불안 증후군 (RLS), 복막후 섬유증, 류마티스열, 류마티스 관절염, 사르코이드증, 슈미트 증후군, 공막염, 경피증, 쇼그렌 증후군, 정자 및 고환 자가면역, 강직인 증후군[SPS], 아급성 세균성 심내막염[SBE], 수삭 증후군, 교감성안염[SO], 다카야스 동맥염, 측두 동맥염/거대 세포 동맥염, 혈소판 감소성 자반병[TTP], 톨로사 헌트 증후군[THS], 횡단 척수염, 제1형 당뇨병, 궤양성 대장염[UC], 미분화 결합 조직 질환[UCTD], 포도막염, 혈관염, 백반증, 보그트-고야나기-하라다병, 혈구탐식성 림프조직구증가증, 다발성 골수종, 알레르겐 특이적 면역요법, 상염색체 우성 반수체 기능부전, 전방 골간 신경 증후군, 처그-스트라우스 증후군, 전신 혈관염, 만성 이식편대 숙주 질환, 안구간대경련-근간대경련 증후군, 괴사 자가면역 근병증[NAM], 폐 육종암종, 발덴스트롬 거대글로불린혈증[WM], 불임, 베체트병, 원형 탈모증[AA], 급성-만성 간부전, 흑색종, '조직화 세기관지염 증후군', 또는 뇌염. 일부 구현예에서 자가면역질환은 다음과 같을 수 있다. 류마티스 관절염, 류마티스열, 다발성 경화증, 실험적 자가면역 뇌척수염, 건선, 포도막염, 진성 당뇨병, 전신성 홍반성 루푸스[SLE], 루푸스 신염, 습진, 피부경화증, 다발성 근염/경피증, 다발성근염/피부근염, 궤양성 직장염, 중증 복합면역결핍증[SCID], 디조지 증후군, 모세혈관확장증, 계절성 알레르기, 다년생 알레르기, 음식 알레르기, 아나필락시스, 비만세포증, 알레르기성 비염, 아토피 피부염, 파킨슨병, 알츠하이머병, 비장과다증, 백혈구 부착 결핍증, X-연관 림프증식성 질환, X-연관 무감마글로불린혈증, 선택적 면역글로불린 A 결핍증, 고 IgM 증후군, HIV, 자가면역 림프증식성 증후군, 비스코트-올드리치 증후군, 만성 육아종병, 공통 가변성 면역 결핍증[CVID], 고면역글로불린 E 증후군, 하시모토 갑상선염, 급성 특발성 혈소판 감소성 자반병, 만성 특발성 혈소판감소증 자반증, 피부근염, 시드넘 무도병, 중증 근무력증, 다선 증후군, 수포성 천포창, 헤노흐-쇤라인 자반병, 연쇄상구균성 자반병, 결절성홍반, 다형홍반, gA 신증, 타까야수 동맥염, 에디슨병, 유육종증, 궤양성 대장염, 결절성 다발동맥염, 강직성 척추염, 굿파스처 증후군, 혈전성 혈관염 자반염, 쇼그렌 증후군, 원발성 담즙성 간경변증, 하시모토 갑상선염, 갑상샘항진증, 만성 활동성 간염, 다연골염, 심상성 천포창, 베게너 육아종증, 막성 신장증, 근위축성 측삭 경화증, 척수로, 거대 세포 동맥염,/다발근육통, 충혈성 빈혈, 급속진행사구체신염, 건선, 섬유화 폐포염, 또는 암.

[0197] 본 개시내용의 일부 구현예에서, 자가면역질환은 앞서 언급된 자가면역질환 중 하나가 아닐 수 있다.

[0198] 본 개시내용의 일부 바람직한 구현예에서, 자가면역질환은 다발성 경화증, 전신 경화증, 근위축성 측삭 경화증, 제1형 당뇨병[type 1 diabetes mellitus, T1D], 경피증, 천포창, 및 루푸스로 이루어진 군에서 선택될 수 있다. 본 개시내용의 일부 다른 바람직한 구현예에서 자가면역질환은 이식편대 숙주질환[GvHD], 및 천식과 같은 알레르기 장애로 이루어진 군에서 선택될 수 있다. 본 개시내용의 일부 특히 바람직한 구현예에서 자가면역질환은 제1형 당뇨병[T1D]일 수 있다.

[0199] 본 개시내용의 방법이 자가면역질환을 갖거나, 갖는 것으로 의심되거나, 또는 자가면역질환으로 진단된 대상에 대해 수행되는 구현예에서, 이들 방법에 의해 생성된 NKT-유사 세포는 자가면역질환을 치료할 수 있다.

[0200] 이러한 맥락에서, '치료하다'는 대상에서 유익한 치료 효과를 발휘하는 것을 의미하며, 이는 본 개시내용의 방법에서 유래된 임의의 전반적인 임상적 이점일 수 있다. 이 전반적인 임상적 이점은 예를 들어 다음 중 하나일 수 있다. 피로 감소, 근육통 감소, 부종 및 발적 감소, 미열 감소, 집중력 저하 감소, 손 및 발 및 팔 또는 다리 마비 및 저림 감소, 배뇨 감소, 탈모 감소, 피부 발진 감소, 정상 혈당 회복, C 펩티드 증가, 상처 치유 개선, 설사 감소, 근육 경련 감소, 근육 긴장도 및 조절 개선, 피부 발진 또는 피부의 비늘 판상 또는 변색 감소, 체중 유지 개선, 근육 또는 관절 통증 감소, 소화관의 편안함 개선, 정상 심박수, 불안 감소, 확장 장애 상태 척도[expanded disability status scale , EDSS] 점수 감소, 가돌리늄 강화 MRI로 측정한 뇌의 고유 활성 병변 감소.

[0201] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 KT-유사 세포는 자가반응성 T 및/또는 B 림프구의 직접 사멸, Treg : T 림프구 비율 증가, 자가반응성 T 및/또는 B 림프구의 활성 억제, 염증 감소, 또는 자가반응성 림프구의 트래피킹 감소를 통해 자가면역질환을 치료할 수 있다.

[0202] 본원에 사용된 '감염성 질환'(또는 '미생물 질환')은 바이러스, 세균 또는 진균과 같은 감염원(병원체)에 의한

대상의 신체 감염으로 인한 질환 또는 질병을 지칭한다. 본 개시내용의 일부 구현예에서 감염성 질환은 다음과 같을 수 있다. 아시네토박터 감염[아시네토박터 바우마니(*Acinetobacter baumannii*)], 방선균증[(악티노마이세스 이스라엘이(*Actinomyces israelii*), 악티노마이세스 게렌세리아이(*Actinomyces gerencseriae*) 및 프로피오니박테륨 프로피오니쿠스(*Propionibacterium propionicus*)], 아프리카 수면병 또는 아프리카 트리파노소마증[트리파노소마 브루세이(*Trypanosoma brucei*)], AIDS(후천성 면역결핍 증후군)[인체 면역 결핍 바이러스(Human immunodeficiency virus)], 아메바증[엔타모에바 히스톨리티카(*Entamoeba histolytica*)], 아나플라즈마증[아나플라즈마 종(*Anaplasma* species)], 안지오스트롱질루스증[안지오스트롱질루스(*Angiostrongylus*)], 아니사키스증[아니사키스(*Anisakis*)], 탄저병[바실러스 안트라시스(*Bacillus anthracis*)], 아르카노박테리움 헤몰리티쿰 감염[아르카노박테리움 헤몰리티쿰(*Arcanobacterium haemolyticum*)], 아르헨티나 출혈열[쥬닌 바이러스(Junin virus)], 회충증[아스카리스 럼브리코이드(*Ascaris lumbricoides*)], 아스페르길루스증[아스페르길루스 종(*Aspergillus* species)], 아스트로바이러스 감염[아스트로바이러스 계(Astroviridae family)], 바베시아증[바베시아 종(*Babesia* species)], 바실러스 세레우스 감염[바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*)], 세균성 폐렴(여러 병원체), 세균성 질염(세균성 질염 미생물총 목록), 박테로이데스 감염[박테로이데스 종(*Bacteroides* species)], 발란티다증[발란티디움 콜라이(*Balantidium coli*)], 바르토넬라증[바르토넬라(*Bartonella*)], 바일리자스카리스 감염[바일리자스카리스 종(*Baylisascaris* species)], BK 바이러스 감염(BK 바이러스), 블랙 피에드라[피에드라 오르테(*Piedraia hortae*)], 배반포증[블라스토시스티스 종(*Blastocystis* species)], 모세포증[블라스토마이세스 더마티티디스(*Blastomyces dermatitidis*), 볼리비아 출혈열[마추포(Machupo) 바이러스], 보툴리누스 중독 (및 유아 보툴리누스 중독)[클로스트리디움 보툴리눔(*Clostridium botulinum*); 참고: 보툴리누스 중독은 클로스트리디움 보툴리눔(*Clostridium botulinum*)에 의한 감염이 아니라 보툴리눔 독소의 섭취로 인해 발생한다], 브라질 출혈열[사비아 바이러스(Sabiá virus)], 브루셀라병[브루셀라 종(*Brucella* species)], 럼프절 페스트(장내세균과), 버크홀데리아 감염, 일반적으로 버크홀데리아 세파시아(*Burkholderia cepacia*) 및 다른 버크홀데리아 종(*Burkholderia* species), 부룰리 궤양[마이코박테리움 울세란스(*Mycobacterium ulcerans*)], 칼리시바이러스 감염[노로바이러스(Norovirus) 및 사포바이러스(Sapovirus)][칼리시바이러스과(Caliciviridae family)], 캄필로박터증[캄필로박터 종(*Campylobacter* species)], 칸디다증(모닐리아증; 질염)[일반적으로 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*) 및 다른 칸디다 종(*Candida* species)], 모세선충증[카필라리아 필리피네시스(*Capillaria philippinensis*)에 의한 장 질환, 카필라리아 헤파티카(*Capillaria hepatica*)에 의한 간 질환 및 카필라리아 에어로필라(*Capillaria aerophila*)에 의한 폐 질환], 카리온병[바르토넬라 바실리포르미스(*Bartonella bacilliformis*)], 고양이 긁힘병[바르토넬라 헨셀라에(*Bartonella henselae*), 봉와직염[일반적으로 그룹 A 스트렙토코쿠스(*Streptococcus*) 및 포도상구균(*Staphylococcus*)], 샤가스병(미국 트리파노소마증)[트리파노소마 크루지(*Trypanosoma cruzi*)], 연성하감[헤모필루스 듀크레이(*Haemophilus ducreyi*)], 수두[바리셀라 조스터 바이러스[Varicella zoster virus, VZV]), 치군군야[알파바이러스(Alphavirus)], 클라미디아[클라미디아 트라코마티스(*Chlamydia trachomatis*)], 클라미도필라 뉴모니애 감염(타이완 급성 호흡제 또는 TWAR)[클라미도필라 뉴모니애(*Chlamydophila pneumoniae*)], 콜레라[비브리오 콜레라(*Vibrio cholerae*)], 색소모세포진균증[일반적으로 폰세카에아 페드로소이(*Fonsecaea pedrosoi*)], 백질균증[바트라코키트리움 덴드라바티디스(*Batrachochytrium dendrabatidis*)], 간흡충증[클로노키스 시넨시스(*Clonorchis sinensis*)], 클로스트리듐 디피실리 콜리티스[클로스트리듐 디피실리(*Clostridium difficile*)], 콕시디오이데스 진균증[콕시디오이디즈 이미티스(*Coccidioides immitis*) 및 콕시디오이디즈 포사다시(*Coccidioides posadasii*)], 콜로라도진드기열[Colorado tick fever, CTF](콜로라도진드기열 바이러스[Colorado tick fever virus, CTFV]), 감기(급성 바이러스성 비인두염; 코감기)[일반적으로 리노바이러스(rhinovirus) 및 코로나바이러스(coronavirus)], 코로나바이러스, 크로이츠펠트-야콥병[Creutzfeldt-Jakob disease, CJD](PRNP), 크림-콩고 출혈열[Crimean-Congo hemorrhagic fever, CCHF][크림-콩고 출혈열 바이러스(Crimean-Congo hemorrhagic fever virus)], 효모균증[크립토코쿠스 네오포르만스(*Cryptococcus neoformans*)], 와포자충증[크립토스포리디움 종(*Cryptococcus neoformans*)], 피부 유충 이동[Cutaneous larva migrans, CLM][일반적으로 안실로스토마 브라질리엔세(*Ancylostoma braziliense*); 여러 다른 기생충), 원포자충증[사이클로스포라 카예타넨시스(*Cyclospora cayetanensis*)], 낭포자충증[태니아 솔륨(*Taenia solium*)], 거대 세포 바이러스 감염[거대 세포 바이러스(Cytomegalovirus)], 뎅기열[뎅기 바이러스(Dengue virus)(DEN-1, DEN-2, DEN-3 및 DEN-4) - 플라비바이러스(Flavivirus)], 데스모데무스 감염[녹조류 데스모데무스 아르마투스(*Desmodesmus armatus*)], 디엔타메바증[디엔타메바 프라길리스(*Dientamoeba fragilis*)], 디프테리아[코리네박테리움 디프테리아(*Corynebacterium diphtheriae*)], 디필로보트리아증[디필로보트리움(*Diphyllobothrium*)], 매디나충증[드라쿤쿨루스 메디넨시스(*Dracunculus medinensis*)], 에볼라 출혈열[에볼라바이러스(Ebolavirus, EBOV)), 포충증[에키노코쿠스 종

(*Echinococcus* species)], 엘리히증[에를리히아 종(*Ehrlichia* species)], 요충증[요충 감염][엔테로비우스 버미큘라리스(*Enterobius vermicularis*)], 엔테로코쿠스 감염[엔테로코쿠스 종(*Enterococcus* species)], 엔테로바이러스 감염[엔테로바이러스 종(*Enterovirus* species)], 유행성 티푸스[리케차 프로바체키(*Rickettsia prowazekii*)], 전염성 홍반(5차 질환)[파보바이러스 B19(Parvovirus B19)], 돌발발진(6차 질환)[인간 헤르페스바이러스 6(human herpesvirus, HHV-6) 및 인간 헤르페스바이러스 7(human herpesvirus 7, HHV-7), 근막증[파스시올라 헤파티카(*Fasciola hepatica*) 및 파스시올라 자이칸티카(*Fasciola gigantica*)], 비대흡충증[파스시오롭시스 버스키(*Fasciolopsis buski*)], 치명적 가족성 불면증[Fatal familial insomnia, FFI](PRNP), 사상충증[필라리오이데아 슈퍼패밀리(Filarioidea superfamily)], 클로스트리듐 퍼프린젠스에 의한 식중독[클로스트리듐 퍼프린젠스(*Clostridium perfringens*)], 자유 생활 아메바 감염(여러 아메바), 푸소박테륨 감염[푸소박테륨 종(*Fusobacterium* species)], 가스 괴저(클로스트리듐근육괴사)[일반적으로 클로스트리듐 퍼프린젠스(*Clostridium perfringens*); 다른 클로스트리듐 종(*Clostridium* species)], 지오트리쿰증[지오트리쿰 칸디둠(*Geotrichum candidum*)], 게르스트만-슈트로이슬러-샤인커병[Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome GSS](PRNP), 편모충증[지아디아 람블리아(*Giardia lamblia*)], 마비저[부르크홀데리아 말레이(*Burkholderia mallei*)], 악구충증[가나토스토마 스피니게룸(*Gnathostoma spinigerum*) 및 가나토스토마 히스피덤(*Gnathostoma hispidum*)], 임질[니세리아 고노르호애(*Neisseria gonorrhoeae*)], 서혜부육아종(도너반증)[클렙시엘라 그래뉼로마티스(*Klebsiella granulomatis*)], 그룹 A 연쇄상구균 감염[스트렙토코쿠스 피오게네스(*Streptococcus pyogenes*)], 그룹 B 연쇄상구균 감염[스트렙토코쿠스 아갈락티아에(*Streptococcus agalactiae*)], 헤모필루스 인플루엔자 감염[헤모필루스 인플루엔자(*Haemophilus influenzae*)], 수족구병[Hand, foot and mouth disease, HFMD][엔테로바이러스(Enterovirus), 주로 콕사키 A 바이러스(Coxsackie A virus) 및 엔테로바이러스 71(Enterovirus 71, EV71)], 한타바이러스 폐 증후군[Hantavirus Pulmonary Syndrome, HPS][씬놈브레 바이러스(Sin Nombre virus)], 하트랜드 바이러스 질환[하트랜드 바이러스(Heartland virus)], 헬리코박터 파일로리 감염[헬리코박터 파일로리(*Helicobacter pylori*)], 용혈성 요독 증후군[Hemolytic-uremic syndrome HUS], 대장균 O157:H7, O111 및 O104:H4(*Escherichia coli* O157:H7, O111 and O104:H4), 신증후군 출혈열[Hemorrhagic fever with renal syndrome, HFRS][부니아바이러스과(Bunyaviridae family)], A형 간염[A형 간염 바이러스(Hepatitis A virus)], B형 간염[B형 간염 바이러스(Hepatitis B virus)], C형 간염[C형 간염 바이러스(Hepatitis C virus)], D형 간염[D형 간염 바이러스(Hepatitis D Virus)], E형 간염[E형 간염 바이러스(Hepatitis E virus)], 단순 포진[단순 포진 바이러스 1 및 2(Herpes simplex virus 1 and 2, HSV-1 및 HSV-2)], 히스토플라스마증[히스토플라스마 캡슐라툼(*Histoplasma capsulatum*)], 구충 감염[안실로스토마 듀오데날레(*Ancylostoma duodenale*) 및 네카토르 아메리카누스(*Necator americanus*)], 인간 보카바이러스 감염[인간 보카바이러스(Human bocavirus, HBoV)], 인간 에윙기 에를리히증[에를리키아 에윙기(*Ehrlichia ewingii*)], 인간 과립구 아나플라즈마증[Human granulocytic anaplasmosis, HGA][아나플라즈마 파고사이토필리움(*Anaplasma phagocytophilum*)], 인간 메타뉴모바이러스 감염, 인간 메타뉴모바이러스(Human metapneumovirus, hMPV), 인간 단핵구 에를리히증[에를리키아 샤펜시스(*Ehrlichia chaffeensis*)], 인유두종바이러스 감염[인유두종바이러스(Human papillomavirus, HPV)], 인간 파라인플루엔자 바이러스 감염[인간 파라인플루엔자 바이러스(Human parainfluenza viruses, HPIV)], 왜소조충증 [히메노렙시스 나나(*Hymenolepis nana*) 및 히메노렙시스 디미누타(*Hymenolepis diminuta*)], 엡스타인바 바이러스 감염성 단핵구증(단일)[엡스타인바 바이러스(Epstein-Barr virus, EBV)], 인플루엔자(플루)[오르토믹소바이러스과(Orthomyxoviridae family)], 포자충증[이소포라 벨리(*Isospora belli*)], 가와사키병(알려지지 않음; 증거에 따르면 전염성이 있음), 각막염(여러 병원체), 킹겔라 킹애 감염[킹겔라 킹애(*Kingella kingae*)], 쿠루병(PRNP), 라사열[라사 바이러스(Lassa virus)], 레지오넬라증(레지오넬라병)[레지오넬라 뉴모필라(*Legionella pneumophila*)], 레지오넬라증(폰티악열)[레지오넬라 뉴모필라(*Legionella pneumophila*)], 리슈만 편모충증[리슈마니아 종(*Leishmania* species)], 나병[마이코박테리움 레프레(*Mycobacterium leprae*) 및 마이코박테리움 레프로마토시스(*Mycobacterium lepromatosis*)], 렙토스피라증[렙토스피라 종(*Leptospira* species)], 리스테리아증[리스테리아 모노사이토제네스(*Listeria monocytogenes*)], 라임병(라임 보렐리오증)[보렐리아 부르그도르페리(*Borrelia burgdorferi*), 보렐리아 가리니(*Borrelia garinii*), 및 보렐리아 아프젤리(*Borrelia afzelii*)], 림프사상충증(상피병)[우체레리아 반크로프티(*Wuchereria bancrofti*) 및 브루지아 말레이(*Brugia malayi*)], 림프구성 맥락수막염[(림프구성 맥락수막염바이러스(Lymphocytic choriomeningitis virus, LCMV)], 말라이아[플라스모듐 종(*Plasmodium* species)], 마르부르그 출혈열[Marburg hemorrhagic fever, MHF][마르부르그 바이러스(Marburg virus)], 홍역[홍역 바이러스(Measles virus)], 중동호흡기증후군[Middle East respiratory syndrome, MERS][중동호흡기증후군 코로나바이러스(Middle East respiratory syndrome coronavirus)], 멜리오이드증(휘트모어병)[버크홀데리아 슈도말레이(*Burkholderia pseudomallei*)], 수막염(여

러 병원체), 수막구균병[나이세리아 메닝지티디스(*Neisseria meningitidis*)], 요코가와흡충증[일반적으로 메타고니무스 요카가와이(*Metagonimus yokagawai*)], 미포자충증[미세포자충문(Microsporidia phylum)], 전염성 연속종[Molluscum contagiosum, MC][몰루스쿰 콘타기오숨 바이러스(Molluscum contagiosum virus, MCV)], 원숭이두창[원숭이두창 바이러스(Monkeypox virus)], 볼거리[볼거리 바이러스(Mumps virus)], 발진티푸스(풍토성 티푸스)[리케차 티피(*Rickettsia typhi*)], 마이코플라스마 폐렴[마이코플라스마 뉴모니애(*Mycoplasma pneumoniae*)], 균종(명확화)(여러 종의 세균[방선균종(Actinomycetoma)] 및 진균[진균종(Eumycetoma)]), 승저증[기생 파리 유충(parasitic dipterous fly larvae)], 신생아 결막염(신생아 안염)[가장 일반적으로 클라미디아 트라코마티스(*Chlamydia trachomatis*) 및 나이세리아 고노르호애(*Neisseria gonorrhoeae*)], 노로바이러스(소아 및 유아)[(신규) 변종 크로이츠펠트-야콥병(vCJD, nvCJD), PRNP], 노카르디아증[일반적으로 노카르디아 아스테로이데스(*Nocardia asteroides*) 및 다른 노카르디아 종(*Nocardia species*)], 사상충증(강변 실명증)[온코서카 볼부러스(*Onchocerca volvulus*)], 간흡충증[오피스토르키스 바이베리니(*Opisthorchis viverrini*) 및 오피스토르키스 펠리너스(*Opisthorchis felineus*)], 파라콕시디오이데스진균증(남아메리카 분아균증)[파라콕시디오이디즈 브라질리엔시스(*Paracoccidioides brasiliensis*)], 폐흡충증[일반적으로 파라고니무스 웨스터마니(*Paragonimus westermani*) 및 다른 파라고니무스 종(*Paragonimus* species)], 파스투렐라병[파스투렐라 종(*Paracoccidioides brasiliensis*)], 두슬증(머릿니)[페디큘러스 휴마누스 카피티스(*Pediculus humanus capitis*)], 구슬증(몸이)[페디큘러스 휴마누스 코포리스(*Pediculus humanus corporis*)], 음모슬증(사면발이, 게이)[티루스 푸비스(*Phthirus pubis*)] 골반내 염증 질환[Pelvic inflammatory disease, PID](여러 병원체), 백일해(백일해)[보르데텔라 페르투시스(*Bordetella pertussis*)], 페스트[예르시니아 페스티스(*Yersinia pestis*)], 폐렴구균 감염[스트렙토코쿠스 뉴모니애(*Streptococcus pneumoniae*)], 뉴모시스티스성 폐렴[Pneumocystis pneumonia, PCP][뉴모시스티스 지로베치(*Pneumocystis jirovecii*)], 폐렴(여러 병원체), 소아마비[폴리오바이러스(Poliovirus)], 프레보텔라 감염[프레보텔라 종(*Prevotella* species), 원발성 아메바성 수막뇌염[Primary amoebic meningoencephalitis, PAM][일반적으로 네글레리아 파울러리(*Naegleria fowleri*)], 진행성 다초점 백질뇌병증(JC 바이러스), 앵무병[클라미도필라 피시타시(*Chlamydophila psittaci*)], Q 열[콕시엘라 버네티(Coxiella burnetii)], 광견병[광견병 바이러스(Rabies virus)], 재발성 열[보렐리아 헤르미시(*Borrelia hermsii*), 보렐리아 리커렌티스(*Borrelia recurrentis*), 및 다른 보렐리아 종(*Borrelia* species)], 호흡기 세포융합 바이러스 감염[호흡세포융합 바이러스(Respiratory syncytial virus, RSV)], 리노스포리듐증[리노스포리듐 세베리(*Rhinosporidium seeberi*)], 리노바이러스 감염[리노바이러스(Rhinovirus)], 리케차 감염[리케차 종(*Rickettsia* species)], 리케차두[리케차 아카리(*Rickettsia akari*)], 리프트 밸리 열[Rift Valley fever, RVF][리프트 밸리 발열 바이러스(Rift Valley fever virus)], 로키산반점열[Mountain spotted fever, RMSF][리케차 리케치(*Rickettsia rickettsii*)], 로타바이러스 감염[로타바이러스(Rotavirus)], 풍진[풍진 바이러스(Rubella virus)], 살모넬라증[살모넬라 종(*Salmonella* species)], SARS 중증 급성 호흡기 증후군)[SARS 코로나바이러스(SARS coronavirus)], 옴[사르콥테스 스카비에이(*Sarcoptes scabiei*)], 주혈흡충증[쉬스토소마 종(*Schistosoma* species)], 패혈증(여러 병원체), 시겔라증(세균성 이질)[시겔라 종(*Shigella* species)], 대상포진[수두 대상포진 바이러스(Varicella zoster virus, VZV)], 천연두(대두창 또는 소두창), 스포로트릭스증[스포로트릭스 셴키(*Sporothrix schenckii*)], 포도상구균 식중독[포도상구균 종(*Staphylococcus* species)], 포도상구균 감염[포도상구균 종(*Staphylococcus* species)], 간충증[스트롱길로이드 스테코랄리스(*Strongyloides stercoralis*)], 아급성 경화성 범뇌염[홍역 바이러스(Measles virus)], 매독[트레포네마 팔리듐(*Treponema pallidum*)], 조충증[태니아 종(*Taenia* species)], 파상풍(개구장애)[클로스트리듐 테나니(*Clostridium tetani*)], 백선성모창(이발소양진)[일반적으로 트리코피톤 종(*Trichophyton* species)], 두부백선[일반적으로 트리코피톤 톤수란(*Trichophyton tonsurans*)], 체부백선(몸의 백선)[일반적으로 트리코파이톤 종(*Trichophyton* species)], 고부백선(완선)[일반적으로 에피더모파이톤 플록코섬(*Epidermophyton floccosum*), 트리코파이톤 루브럼(*Trichophyton rubrum*), 및 트리코파이톤 멘타그로파이트(*Trichophyton mentagrophytes*)], 백선(손의 백선)[트리코파이톤 루브럼(*Trichophyton rubrum*)], 흑색백선증[일반적으로 오르테아 베르네키(*Hortaea werneckii*)], 발백선증(무좀)[일반적으로 트리코파이톤 종(*Trichophyton* species)], 손발톱백선증(조갑진균증)[일반적으로 트리코파이톤 종(*Trichophyton species*)], 전풍(어루러기)[말라세지아 종(*Malassezia* species)], 톡소카라증(유충안구이행증[Ocular Larva Migrans, OLM])[톡소카라 캐니스(*Toxocara canis*) 또는 톡소카라 카티(*Toxocara cati*)], 톡소카라증[장기유충이행충[Visceral Larva Migrans, VLM])[톡소카라 캐니스(*Toxocara canis*) 또는 톡소카라 카티(*Toxocara cati*)], 트라코마[클라미디아 트라코마티스(*Chlamydia trachomatis*)], 톡소플라스마증[톡소플라스마 곤디(*Toxoplasma gondii*)], 선모충증[트리키넬라 스피랄리스(*Trichinella spiralis*)], 트리코모나스증[트리코모나스 버지날리스(*Trichomonas vaginalis*)], 편충증(편충 감염)[트리추리스 트리치우라(*Trichuris trichiura*)], 투베르쿨로시스[일반적으로 마이코박테리움 투베르쿨로시스

(*Mycobacterium tuberculosis*)], 야토병[프란시셀라 툴라렌시스(*Francisella tularensis*)], 장티푸스열[살모넬라 엔테리카 아종 엔테리카(*Salmonella enterica* subsp. *enterica*), 혈청형 장티푸스(serovar typhi)], 장티푸스열[리케시아(Rickettsia)], 우레아플라즈마 우레아리티쿰 감염[우레아플라즈마 우레아리티쿰(*Ureaplasma urealyticum*)], 계곡열[콕시디오이디즈 이미티스(*Coccidioides immitis*) 또는 콕시디오이디즈 포사다시(*Coccidioides posadasii*)], 베네수엘라 말뇌염[베네수엘라 말뇌염 바이러스(Venezuelan equine encephalitis virus)], 베네수엘라 출혈열[과나리토 바이러스(Guanarito virus)], 비브리오 불니피쿠스 감염[비브리오 불니피쿠스(*Vibrio vulnificus*)], 비브리오 부용혈성 장염[비브리오 파라헤몰리티쿠스(*Vibrio parahaemolyticus*)], 바이러스성 폐렴(여러 바이러스), 웨스트 나일 열병[웨스트 나일 바이러스(West Nile virus)], 백색사모(백선)[트리코스포론 베이겔리(*Trichosporon beigelii*)], 예르니시아 슈도투베르쿨로시스 감염[예르니시아 슈도투베르쿨로시스(*Yersinia pseudotuberculosis*)], 에르시니아증[에르시니아 엔테로콜리티카(*Yersinia pseudotuberculosis*)], 황열병[황열 바이러스(Yellow fever virus)], 접합균증[뮤코랄목(모균증) 및 곤충곰팡이목(곤충흉부진균증)], 인간면역결핍바이러스[HIV] 질환, 감염 및 기생충 질환을 동반한 HIV 질환, 마이코박테리아 감염을 동반한 HIV 질환, 거대세포바이러스 질환을 동반한 HIV 질환, 기타 바이러스 질환을 동반한 HIV 질환, 칸디다증이 있는 HIV 질환, 다른 진균증을 동반한 HIV 질환, 기포낭종성 폐렴을 동반한 HIV 질환 악성신생물을 동반한 HIV 질환, 카포시 육종을 동반한 HIV 질환, 버킷 림프종을 동반한 HIV 질환, 다른 유형의 비호지킨 림프종을 동반한 HIV 질환, 기타 악성 림프구, 조혈 및 관련 조직 신생물을 동반한 HIV 질환, 다발성 악성신생물을 동반한 HIV 질환, 기타 악성신생물을 동반한 HIV 질환, 상세불명의 악성신생물을 동반한 HIV 질환, 뇌병증을 동반한 HIV 질환, 림프성 간질성 폐렴을 동반한 HIV 질환, 소모성 증후군을 동반한 HIV 질환, 다른 곳에서 분류된 여러 질환을 동반한 HIV 질환, 다른 병태를 동반한 HIV 질환, HIV 질환 급성 HIV 감염 증후군, (지속적인) 전신 림프절병증을 동반한 HIV 질환, 혈액학적 및 면역학적 이상을 동반한 HIV 질환, 기타 특정 병태를 동반한 HIV 질환, 또는 상세불명의 HIV 질환. 본 개시내용의 일부 구현예에서 감염성 질환은 다음 바이러스과 중 하나의 바이러스와 같은 바이러스에 의한 감염일 수 있다. a) 아데노바이러스과(Adenoviridae family), 예컨대, 아데노바이러스 종(*Adenovirus* species); b) 헤르페스바이러스과(Herpesviridae family), 예컨대, 단순 헤르페스 1형(Herpes simplex type 1), 단순 헤르페스 2형(Herpes simplex type 2), 수두 대상포진 바이러스(Varicella Zoster virus), 예컨대, 엡스타인-바 바이러스(Epstein-barr virus), 인간 사이토메갈로바이러스(Human cytomegalovirus), 인간 헤르페스바이러스 8형 종(Human herpesvirus type 8 species); c) 유두종바이러스과(Papillomaviridae family), 예컨대, 인유두종바이러스 종(Human papillomavirus species); d) 폴리오마바이러스과(Polyomaviridae family), 예컨대, BK 바이러스, JC 바이러스 종(JC virus species); e) 폭스바이러스과(Poxviridae), 예컨대, 천연두 종(Smallpox species); f) 헤파드나바이러스과(Hepadnaviridae family), 예컨대, B형 간염 바이러스 종(Hepatitis B virus species); g) 파르보바이러스과(Parvoviridae family), 예컨대, 인간 보카바이러스(Human bocavirus), 파르보바이러스 B19 종(Parvovirus B19 species); h) 아스트로바이러스과(Astroviridae family), 예컨대, 인간 아스트로바이러스 종(Human astrovirus species); i) 칼리시바이러스과(Caliciviridae family), 예컨대, 노워크 바이러스 종(Norwalk virus species); j) 플라비바이러스과(Flaviviridae family), 예컨대, C형 간염 바이러스(Hepatitis C virus, HCV), 황열병 바이러스(yellow fever virus), 뎅기열 바이러스(*dengue virus*), 웨스트 나일 바이러스 종(West Nile virus species); k) 토가비리아과(Togaviridae family), 예컨대, 풍진 바이러스 종(Rubella virus species); l) 헤페바이러스과(Hepeviridae family), 예컨대, E형 간염 바이러스 종(Hepatitis E virus species); m) 레트로바이러스과(Retroviridae family), 예컨대, 인간 면역결핍 바이러스(Human immunodeficiency virus, HIV) 종; n) 오르토믹소비리도과(Orthomyxoviridaw family), 예컨대, 인플루엔자 바이러스 종(Influenza virus species); o) 아레나바이러스과(Arenaviridae family), 예컨대, 구아나리토 바이러스(Guanarito virus), 후닌 바이러스(Junin virus), 라사 바이러스(Lassa virus), 마추포 바이러스(Machupo virus), 및/또는 사비아 바이러스 종(Sabiá virus species); p) 분야바이러스과(Bunyaviridae family), 예컨대, 크림-콩고 출혈열 바이러스 종(Crimean-Congo hemorrhagic fever virus species); q) 필로바이러스과(Filoviridae family), 예컨대, 에볼라 바이러스(Ebola virus) 및/또는 마르부르그 바이러스 종(Marburg virus species); 파라믹소바이러스과(Paramyxoviridae family), 예컨대, 홍역 바이러스(Measles virus), 볼거리 바이러스(Mumps virus), 파라인플루엔자 바이러스(Parainfluenza virus), 호흡기 세포융합 바이러스(Respiratory syncytial virus), 인간 메타뉴모바이러스(Human metapneumovirus), 헨드라 바이러스(Hendra virus) 및/또는 니파 바이러스 종(Nipah virus species); r) 랍도비리과 속(*Rhabdoviridae* genus), 예컨대, 광견병 바이러스 종(Rabies virus species); s) 레오바이러스과(Reoviridae family), 예컨대, 로타바이러스(Rotavirus), 오르비바이러스(Rotavirus), 콜티바이러스(Coltivirus) 및/또는 바나 바이러스 종(Banna virus species).

[0203] 본 개시내용의 일부 구현예에서, 감염성 질환은 앞서 언급된 감염성 질환 중 하나가 아닐 수 있다.

[0204] 일부 구현예에서, 감염성 질환은 인플루엔자 A(Flu A) 바이러스에 의한 감염으로 유발되는 질환일 수 있다. 일부 구현예에서 인플루엔자 바이러스는 조류 또는 돼지 기원 팬데믹 인플루엔자 바이러스, 예를 들어, H5N1, H7N3, H7N7, H7N9 및 H9N2(조류 하위유형) 또는 H1N1, H1N2, H2N1, H3N1, H3N2, 또는 H2N3(돼지 하위유형)일 수 있다.

[0205] 본 개시내용의 일부 바람직한 구현예에서, 감염성 질환은 잔류 HIV 질환, 헤르페스, 간염 또는 인유두종 바이러스와 같은 HIV일 수 있다. 다른 바람직한 구현예에서, 감염성 질환은 코로나바이러스, 예를 들어 COVID-19(코로나바이러스 2019; 중증 급성 호흡기 증후군 코로나바이러스 2, SARS-CoV-2에 의해 유발되는 질환)에 의한 감염으로 인한 질환일 수 있다.

[0206] 본 개시내용의 방법이 감염성 질환을 갖거나, 갖는 것으로 의심되거나, 또는 진단된 대상에 대해 수행되는 구현예에서, 이러한 방법에 의해 생성된 NKT-유사 세포는 감염성 질환을 치료할 수 있다. 이러한 맥락에서, '치료하다'는 대상에서 유익한 치료 효과를 발휘하는 것을 의미하며, 이는 본 개시내용의 방법에서 유래한 임의의 전반적인 임상적 이점일 수 있다. 이 전반적인 임상적 이점은 예를 들어, 다음 중 하나일 수 있다. 발열 감소, 설사 감소, 기침 감소, 근육통 감소, 피로 감소, CRP 감소, 인공호흡기 사용 시간 감소, 추가 산소 필요 감소, 회복 후 장기 손상 감소.

[0207] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 감염성 유기체를 포식하고 사멸하고, 다른 선천성 및 적응성 면역 세포를 활성화하고, 다른 면역 세포를 감염 부위(예를 들어 바이러스에 의해 감염된 기관)로 모집하고, 바이러스에 감염된 면역 세포(예를 들어 COVID-19에 의해 활성화된 단핵구)를 제거함으로써 감염성 질환을 치료할 수 있다.

[0208] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 면역 활성화 사이토카인의 방출을 통해 감염성 질환을 치료할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 항균 또는 항바이러스 효과를 갖는 사이토카인(예를 들어, TNF-알파, IFN-감마)의 방출을 통해 감염성 질환을 치료할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 표적 세포 상의 사멸 수용체와 결합하는 리간드를 발현함으로써 세포자멸사를 유도함으로써 감염성 질환을 치료할 수 있다. 일부 구현예에서, NKT-유사 세포는 감염성 유기체를 사멸하는 세포독성 분자를 분비할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 감염성 유기체를 섭취하거나 삼킬 수 있다.

[0209] 감염성 질환이 코로나바이러스, 예를 들어 COVID-19에 의한 감염으로 인한 질환인 구현예에서, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 코로나바이러스를 포식하고/하거나, 사멸하고/하거나, 다른 선천 및 적응 면역 세포를 활성화함으로써 질환을 치료할 수 있다.

[0210] 따라서, 본 개시내용은 또한 대상에게 코로나바이러스 감염으로 인한 질환을 치료하는 방법을 제공하며, 해당 방법은 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제를 대상에게 덱사메타손 염기의 약 적어도 6 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제는 글루코코르티코이드, 바람직하게는 덱사메타손 또는 베타메타손일 수 있다. 일부 구현예에서, 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제는 덱사메타손 염기의 약 적어도 15 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 투여될 수 있다. 일부 바람직한 구현예에서, 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제는 덱사메타손 염기의 약 18 mg/kg 내지 30 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 투여될 수 있다. 일부 바람직한 구현예에서, 질환은 COVID-19(코로나바이러스 2019; 중증 급성 호흡기 증후군 코로나바이러스 2, SARS-CoV-2에 의해 유발된 질환) 또는 SARS-CoV 또는 MERS이다. 일부 구현예에서, 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제는 본원의 다른 곳에 개시된 바와 같이 NKT-유사 세포 집단을 유도/동원한다.

[0211] 일부 바람직한 구현예에서, 본 개시내용은 대상에서 COVID-19(코로나바이러스 2019; 중증 급성 호흡기 증후군 코로나바이러스 2, SARS-CoV-2에 의해 유발된 질환)을 치료하는 방법을 제공하고, 해당 방법은 덱사메타손 또는 베타메타손을 대상체에게 덱사메타손 염기의 약 15 mg/kg 내지 30 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 투여하는 것을 포함한다.

[0212] 코로나바이러스, 예를 들어 COVID-19에 의한 감염으로 인한 질환인 구현예에서, 글루코코르티코이드 수용체 조절제는 양성자 펌프 억제제(예를 들어 오메프라졸) 및/또는 히드로코르티손과 병용하여 투여될 수 있다. 이러한 맥락에서, '병용하여'는 동시 투여를 의미할 수 있거나 임의의 순서로 개별 및/또는 순차적 투여를 의미할 수 있다.

[0213] 본 개시내용의 방법의 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단을 생산/동원시키는 방법은 대상 또는 대상으로부터 유래한 샘플로부터 본 개시내용의 NKT-유사 세포, 또는 본 개시내용의 NKT-유사 세포 집단을 단리하는 단계를 더 포함할 수 있다. 따라서, 본 개시내용은 단리된 NKT-유사 세포뿐만 아니라 단리된 NKT-유사 세포 집단을 제공한다. 단리된 세포 및 단리된 세포 집단은 앞서 개괄한 바와 같이 이들이 발현하는 표면 단백질의 패턴을 특징으로 할 수 있다.

[0214] 혼합 시료에서 세포 및 세포 집단을 단리하는 적절한 방법은 당업자에게 잘 알려져 있다. 예를 들어, 유동 분류(예컨대, 형광-활성화 세포 분류[fluorescence-activated cell sorting, FACS]) 및 자성 입자 분류(예를 들어 자기-활성화 세포 분류[magnetic-activated cell sorting, MACS]), 미세유체 세포 분류, 밀도 구배 원심분리, 면역밀도 세포 단리, 배지의 성장 인자 및 기타 구성 요소를 기반으로 한 세포 배양의 확장이 있다. 본 개시내용의 일부 바람직한 구현예에서, 단리하는 단계는 형광-활성화 세포 분류[FACS] 또는 자기-활성화 세포 분류[MACS]에 의해 수행된다.

[0215] NKT-유사 세포가 대상으로부터 유래된 샘플로부터 단리된 구현예에서, 샘플은 혈액, 혈장, 종양 생검 또는 외과적으로 제거된 종양, 골 골수, 간, 비장 생검 및 지방 또는 지방 조직으로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.

[0216] 일부 구현예에서, 단리 단계는 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제의 투여 후 적어도 약 1, 3, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 또는 168시간 후에 수행될 수 있다. 일부 구현예에서, 단리 단계는 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제의 투여 후 적어도 약 1, 3, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15시간에 수행될 수 있다. 일부 바람직한 구현예에서, 단리 단계는 상기 투여 후 적어도 약 48시간에 수행된다. 일부 다른 바람직한 구현예에서, 단리 단계는 상기 투여 후 약 1, 3, 또는 48 시간에 수행된다. 일부 구현예에서, 단리 단계는 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제의 투여 후 약 1, 3, 또는 48시간 내지 13일, 약 1, 3, 또는 48시간 내지 168시간, 약 1, 3, 또는 48시간 내지 120시간, 약 1, 3, 또는 48시간 내지 96시간, 또는 약 1, 3, 또는 48시간 내지 72시간에 수행될 수 있다. 일부 바람직한 구현예에서, 단리 단계는 상기 투여 후 약 1, 3, 또는 48시간 내지 72시간에 수행된다. 일부 구현예에서, 단리 단계는 글루코코르티코이드 투여 후 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10시간 이내에 수행될 수 있다. 일부 바람직한 구현예에서, 단리 단계는 글루코코르티코이드 투여 후 3시간 이내에 수행될 수 있다. 일부 특히 바람직한 구현예에서, 단리 단계는 글루코코르티코이드 투여 후 1시간 이내에 수행될 수 있다. 다른 특히 바람직한 구현예에서, 단리 단계는 글루코코르티코이드 투여 후 30분 내지 60분에 수행될 수 있다. 대상이 암, 감염성 질환 또는 자가면역질환을 갖는 일부 바람직한 구현예에서, NKT-유사 세포를 단리하는 단계는 글루코코르티코이드 투여 후 3시간 이내에, 바람직하게는 글루코코르티코이드 투여 후 1시간 이내에, 예를 들어, 글루코코르티코이드 투여 후 30분 내지 60분에 대상의 혈액 샘플에서 수행할 수 있다.

[0217] 단리 단계를 포함하는 방법의 일부 바람직한 구현예에서, 대상은 건강한 성인 인간 대상과 같은 건강한 대상일 수 있다. 이러한 맥락에서 건강한 대상은 질환에 걸리지 않은 대상이다.

[0218] 본 개시내용의 단리된 NKT-유사 세포 및 단리된 NKT-유사 세포 집단은 배양에서 확장될 수 있다. 세포 배양 및 확장에 적합한 방법 및 시약은 당업자에게 잘 알려져 있다. 예를 들어, IL-2, 가용성 항-CD28 항체, 항-CD3 입실론 항체, 항-TCR베타 항체, 및 KRN7000, PBS44, 또는 PBS57과 같은 당지질을 사용한 장기간 배양은 NKT 세포의 강력한 확장을 생성하는 것으로 나타났다(문헌[Watarai et al 2008], 그 전체가 본원에 참조로 포함됨). 따라서, 본 개시내용의 방법의 일부 구현예에서, NKT-유사 세포 집단을 생산하는 방법은 NKT-유사 세포 또는 단리 단계에 의해 단리된 NKT-유사 세포를 증식시키는 단계를 더 포함할 수 있다. 본 개시내용의 방법의 일부 구현예에서, 방법은 NKT 세포 활성화제, T 세포 활성화제, 및/또는 NK 세포 활성화제로 단리된 세포를 (확장 단계 전 또는 후에) 활성화하는 단계를 더 포함할 수 있으며, 이는 자세히 전술되어 있다.

[0219] 일부 구현예에서, 대상로부터 또는 대상에서 유래된 샘플로부터 NKT-유사 세포 또는 NKT-유사 세포 집단을 단리한 후, 본 개시내용의 방법은 단리된 세포 또는 세포들 내로 단백질을 암호화하는 핵산을 도입하는 단계를 더 포함할 수 있다. 핵산을 세포에 도입하기 위한 적절한 방법, 예를 들어, 전기천공법, 초음파천공법, 세포 미세주입, 미세입자 전달, 칼슘-인산염 매개 형질감염, 및 리포솜 기반 형질감염을 비롯한 물리적 또는 화학적 방법; 또는, 바이러스 형질 도입은 당업자에게 잘 알려져 있다. 단백질을 암호화하는 핵산의 도입 후, 세포 또는 세포들은 암호화된 단백질의 발현을 용이하게 하는 조건하에 배양될 수 있다. 세포를 배양하기 위한 적절한 방법, 시약 및 조건은 당업자에게 잘 알려져 있다. 단백질을 암호화하는 핵산이 도입된 세포 또는 세포들은 본원에서 형질감염된 또는 형질전환된 세포로 지칭될 수 있다.

[0220] 본 개시내용의 일부 구현예에서, 단백질을 암호화하는 핵산은 T-세포 수용체[T-cell receptor, TCR], 키메라 항

체 수용체[chimeric antigen receptor, CAR], 분할되고 일반적이며 및 프로그래밍 가능한 CAR[split, and universal and programmable CAR, SUPRA-CAR] 중 하나 이상으로 구성된 군에서 선택된 단백질을 암호화하는 핵산이다.

[0221] 단리 후, 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 특정 표적에 대해 유전적으로 조작될 수 있다. 예를 들어, 세포는 IL-2에 의해 확장되고 GalCer(갈락토실세라미드), 펄스된 자가 조사 PBMC로 활성화된 다음, 형질도입되어 CAR 또는 재조합 TCR[recombinant TCR, rTCR]을 발현할 수 있다. CAR 또는 rTCR은 GD2(디시알로강글리오시드) 및 CD19로부터 선택된 표적에 특이적으로 결합할 수 있다. 예를 들어, CAR는 NCT03294954(GD2에 특이적으로 결합함) 또는 NCT03774654(CD19에 특이적으로 결합함)일 수 있다.

[0222] 더욱이, 단리된 세포는 표적화되어 활성화될 수 있다. 예를 들어 다음 절차를 활용할 수 있다. 수동 및 능동 전달을 위한 나노벡터; NKT-유사 세포의 종양에 대한 표적 활성화를 위한 a-GalCer가 포함된 APC; α-GalCer의 i.v. 투여; 및/또는 (iNKT 세포가 풍부한 집단을 생산한 다음 환자에게 다시 주입하기 위해) 배양된 세포에 α-GalCer의 (2회 내지 3회) 첨가를 통한 대량 PBMC 자극.

[0223] 더욱이, 단리된 세포 종양 표적화 모이어티(종양 세포 또는 TME)에 직접 연결될 수 있다. NKT 세포, T 세포 및 NK 세포에 대한 자극제의 화학적 변형(α-GalCer 유사체에 의한 면역 반응의 양극화)도 사용될 수 있다.

[0224] 본원에 사용된 용어 '키메라 항체 수용체'[CAR]는 강력한 T-세포 활성화인자 도메인에 융합된 항체의 항원 결합 도메인을 함유하는 작제물에 비배타적으로 관련된다. CAR 작제물로 변형된 T 세포는 항원에 결합할 수 있고 결합된 세포를 공격하도록 자극될 수 있다. 인공 T 세포 수용체(키메라 T 세포 수용체, 키메라 면역수용체, 키메라 항체 수용체[CAR]로도 알려짐)는 임의의 특이성을 면역 효과기 세포에 이식하는 조작된 수용체이다. 수용체는 다른 출처의 부분으로 이루어져 있기 때문에 키메라라고 한다. 키메라 항체 수용체 T 세포 또는 세포 면역요법에 의해 발현되는 수용체/리간드 또는 항체는 단일특이적 또는 이중특이적 또는 다중특이적일 수 있다.

[0225] 일부 구현예에서, TCR, CAR, 및/또는 SUPRA-CAR은 다음으로 이루어진 수용체/리간드/표적의 군에서 선택된 항원에 결합하는 항원 결합 도메인을 포함할 수 있다. 원종양유전자 티로신-단백질 키나제 ABL1, 시트룰린화 항원, ErbB2/HER2, CD16, WT-1, KRAS, 글리피칸 3, CD3, CD20, CD226, CD155, CD123, HPV-16 E6, Melan-A/MART-1, DR4 수용체에 결합된 TRAIL, LMP, MTCR, ESO, NY-ESO-1, gp100, 4SCAR-GD2/CD56, 메소텔린(CAK1 항원 또는 Pre 프리 프로 거핵구 강화 인자 또는 MSLN); DNA 합성 억제제; 히스타민 H1 수용체[Histamine H1 Receptor, HRH1] 길항제; 프로스타글란딘 G/H 합성효소 2(시클로옥시게나제 2 또는 COX2 또는 프로스타글란딘 엔도페록시드 합성효소 2 또는 PHS II 또는 프로스타글란딘 H2 합성효소 2 또는 PTGS2 또는 EC 1.14.99.1) 억제제, CD19(B 림프구 표면 항원 B4 또는 분화 항원 CD19 또는 T 세포 표면 항원 Leu 12 또는 CD19), 세포 부착 분자 5(암배아 항원 또는 CEA 또는 태변 항원 100 또는 CD66e 또는 CEACAM5); 인터루킨 2 수용체[Interleukin 2 Receptor, IL2R] 작용제, 표피 성장 인자 수용체(원종양유전자 c ErbB 1 또는 수용체 티로신 단백질 키나제 erbB 1 또는 HER1 또는 ERBB1 또는 EGFR 또는 EC 2.7.10.1); DNA 리가제(EC 6.5.1.) 억제제; DNA 리가제(EC 6.5.1.), DNA 중합효소 알파(POLA 또는 EC 2.7.7.7) 억제제; DNA 프리마제(EC 2.7.7.6) 억제제; 리보뉴클레오시드 디포스페이트 환원효소(리보뉴클레오티드 환원효소 또는 RRM 또는 EC 1.17.4.1) 억제제; RNA 중합효소 II(RNAP II 또는 Pol II 또는 EC 2.7.7.6) 억제제, DNA중합효소(EC 2.7.7.7) 억제제; DNA 토포이소머라제 II(EC 5.99.1.3) 억제제; CD22, 메소, DNA 프리마제(EC 2.7.7.6); 프로그램된 세포 사멸 1 리간드 1(PD L1 또는 B7 상동체 1 또는 CD274) 억제제; RNA 중합효소 II(RNAP II 또는 Pol II 또는 EC 2.7.7.6), 히스톤 리신 N 메틸트랜스퍼라제 EZH2(ENX 1 또는 Zeste 상동체 2의 인핸서 또는 리신 N 메틸트랜스퍼라제 6 또는 EZH2 또는 EC 2.1.1.43) 억제제; 프로그램된 세포 사멸 1 리간드 1(PD L1 또는 B7 상동체 1 또는 CD274), C-X-C 케모카인 수용체 유형 4(FB22 또는 후신 또는 HM89 또는 LCR1 또는 백혈구 유래 7개 막횡단 도메인 수용체 또는 지질다당류 관련 단백질 3 또는 기질 세포 유래 인자 1 수용체 또는 NPYRL 또는 CD184 또는 CXCR4) 길항체; 과립구 콜로니 자극 인자 수용체(CD114 또는 GCSFR 또는 CSF3R) 작용제, 아데노신 데아미나제(아데노신 아미노하이드롤라제 또는 ADA 또는 EC 3.5.4.4) 억제제; 종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리 구성원 17(B 세포 성숙 항원 또는 CD269 또는 TNFRSF17), 비활성 티로신 단백질 키나제 막횡단 수용체 ROR1(신경영양성 티로신 키나제 수용체 관련 1 또는 ROR1 또는 EC 2.7.10.1)을 발현하는 세포에 대한 세포독성; T 세포 표면 당단백질 CD3 입실론 사슬(T 세포 표면 항원 T3/Leu 4 입실론 사슬 또는 CD3E); 디히드로폴레이트 환원효소(DHFR 또는 EC 1.5.1.3) 억제제; 에프린 유형 A 수용체 2(상피 세포 키나제 또는 티로신 단백질 키나제 수용체 ECK 또는 EPHA2 또는 EC 2.7.10.1) 억제제; 글루코코르티코이드 수용체(GR 또는 핵 서브패밀리 3 그룹 C 구성원 1 또는 NR3C1) 작용제; /줄기세포 성장 인자 수용체 Kit(원종양유전자 c Kit 또는 티로신 단백질 키나제 Kit 또는 v Kit 하디 주커만 4 고양이 육종 바이러스성 종양유전자 상동체 또는 파이발트 특성 단백질 또는 p145 c Kit 또는 CD117 또는 KIT 또는 EC 2.7.10.1)

억제제; 혈소판 유래 성장 인자 수용체 베타(베타 유형 혈소판 유래 성장 인자 수용체 또는 CD140 항원 유사 패밀리 구성원 B 또는 혈소판 유래 성장 인자 수용체 1 또는 CD140b 또는 PDGFRB 또는 EC 2.7.10.1) 억제제; 튜불린 억제제; 티로신 단백질 키나제 CSK(C Src 키나제 또는 단백질 티로신 키나제 CYL 또는 CSK 또는 EC 2.7.10.2) 억제제; 티로신 단백질 키나제 Fyn(원종양유전자 Syn 또는 원종양유전자 c Fyn 또는 Src 유사 키나제 또는 p59 Fyn 또는 FYN 또는 EC 2.7.10.2) 억제제; 티로신 단백질 키나제 Lck(백혈구 C 말단 Src 키나제 또는 단백질 YT16 또는 원종양유전자 Lck 또는 T 세포 특이적 단백질 티로신 키나제 또는 림프구 세포 특이적 단백질 티로신 키나제 또는 p56 LCK 또는 LCK 또는 EC 2.7.10.2) 억제제; 티로신 단백질 키나제 Yes(원종양유전자 c Yes 또는 p61 Yes 또는 YES1 또는 EC 2.7.10.2) 억제제, 종양 괴사 인자(카켁틴 또는 TNF 알파 또는 종양 괴사 인자 리간드 슈퍼패밀리 구성원 2 또는 TNF a 또는 TNF) 억제제, 전사 3(급성기 반응 인자 또는 DNA 결합 단백질 APRF 또는 STAT3) 억제제의 신호 변환기 및 활성화제, Bcr-Abl 티로신 키나제(EC 2.7.10.2) 억제제; 디히드로폴레이트 환원효소(DHFR 또는 EC 1.5.1.3); 에프린 유형 A 수용체 2(상피 세포 키나제 또는 티로신 단백질 키나제 수용체 ECK 또는 EPHA2 또는 EC 2.7.10.1); 비만/줄기세포 성장 인자 수용체 Kit(원종양유전자 c Kit 또는 티로신 단백질 키나제 Kit 또는 v Kit 하디 주커만 4 고양이 육종 바이러스성 종양유전자 상동체 또는 파이발트 특성 단백질 또는 p145 c Kit 또는 CD117 또는 KIT 또는 EC 2.7.10.1); 혈소판 유래 성장 인자 수용체 베타(베타 유형 혈소판 유래 성장 인자 수용체 또는 CD140 항원 유사 패밀리 구성원 B 또는 혈소판 유래 성장 인자 수용체 1 또는 CD140b 또는 PDGFRB 또는 EC 2.7.10.1); 튜불린; 티로신 단백질 키나제 CSK(C Src 키나제 또는 단백질 티로신 키나제 CYL 또는 CSK 또는 EC 2.7.10.2) 억제제; 티로신 단백질 키나제 Fyn(원종양유전자 Syn 또는 원종양유전자 c Fyn 또는 Src 유사 키나제 또는 p59 Fyn 또는 FYN 또는 EC 2.7.10.2) 억제제; 티로신 단백질 키나제 Lck(백혈구 C 말단 Src 키나제 또는 단백질 YT16 또는 원종양유전자 Lck 또는 T 세포 특이적 단백질 티로신 키나제 또는 백혈구 세포 특이적 단백질 티로신 키나제 또는 p56 LCK 또는 LCK 또는 EC 2.7.10.2) 억제제; 티로신 단백질 키나제 Yes(원종양유전자 c Yes 또는 p61 Yes 또는 YES1 또는 EC 2.7.10.2) 억제제, 카스파제 9(세포사멸 프로테아제 Mch 6 또는 세포사멸 프로테아제 활성화 인자 3 또는 ICE 유사 세포사멸 프로테아제 6 또는 CASP9 또는 EC 3.4.22.62) 활성화제; 전립선 줄기세포 항원(PSCA), 종양에서 우선적으로 발현되는 흑색종 항원(암/고환 항원 130 또는 Opa 상호작용 단백질 4 또는 OIP4 또는 흑색종 또는 PRAME의 우선적으로 발현된 항원), 전사 3(급성기 반응 인자 또는 DNA 결합 단백질 APRF 또는 STAT3) 억제제의 신호 변환기 및 활성화제, CD44 항원(CDw44 또는 에피칸 또는 세포외 기질 수용체 III 또는 GP90 백혈구 귀소/접착 수용체 또는 HUTCH I 또는 헤파란 설페이트 프로테오글리칸 또는 헤르메스 항원 또는 히알루로네이트 수용체 또는 식세포성 당단백질 1 또는 CD44), AXL(아넥젤렉토) 수용체 티로신 키나제, GAS6, TAM 수용체 티로신 키나제, TYRO-3(Brt, Dtk, Rse, Sky 및 Tif로도 알려짐), AXL(Ark, Tyro7 및 Ufo로도 알려짐), 및 MER(Eyk, Nym 및 Tyro12로도 알려짐), CTLA4, 종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리 구성원 8(CD30L 수용체 또는 Ki 1 항원 또는 백혈구 활성화 항원 CD30 또는 CD30 또는 TNFRSF8), 카스파제 9(세포사멸 프로테아제 Mch 6 또는 세포사멸 프로테아제 활성화 인자 3 또는 ICE 유사 세포사멸 프로테아제 6 또는 CASP9 또는 EC 3.4.22.62) 활성화제; 갱글리오시드 GD2 발현 세포에 대해 세포독성; 프로스타글란딘 G/H 합성효소 1(시클로옥시게나제 1 또는 COX1 또는 프로스타글란딘 엔도페록시드 합성효소 1 또는 프로스타글란딘 H2 합성효소 1 또는 PTGS1 또는 EC 1.14.99.1) 억제제; 사이토카인, 인터루킨, 클라우딘 6(스컬린 또는 CLDN6), NKG2D, MICA, MICB 및 ULBP 1-6, NKp30, B7H6 (NCR3LG1), Bag6, B7 패밀리, CD40 리간드(T 세포 항원 Gp39 또는 TNF 관련 활성화 단백질 또는 종양 괴사 인자 리간드 슈퍼패밀리 구성원 5 또는 CD154 또는 CD40LG) 활성화제; 인터루킨 12(IL12) 활성화제, 인터루킨 3 수용체 서브유닛 알파(IL3RA비만/ 줄기세포 성장 인자 수용체 Kit(원종양유전자 c Kit 또는 티로신 단백질 키나제 Kit 또는 v Kit 하디 주커만 4 고양이 육종 바이러스성 종양유전자 상동체 또는 파이발트 특성 단백질 또는 p145 c Kit 또는 CD117 또는 KIT 또는 EC 2.7.10.1) 길항체; 원종양유전자 티로신 단백질 키나제 수용체 Ret(카데린 패밀리 구성원 12 또는 원종양유전자 c Ret 또는 RET 또는 EC 2.7.10.1) 억제제; 수용체 유형 티로신 단백질 키나제 FLT3(FMS 유사 티로신 키나제 3 또는 FL 사이토카인 수용체 또는 줄기세포 티로신 키나제 1 또는 태아 간 키나제 2 또는 CD135 또는 FLT3 또는 EC 2.7.10.1) 길항체; 혈관 내피 성장 인자 수용체 1(Fms 유사 티로신 키나제 1 또는 티로신 단백질 키나제 수용체 FLT 또는 티로신 단백질 키나제 FRT 또는 혈관 투과성 인자 수용체 또는 VEGFR1 또는 FLT1 또는 EC 2.7.10.1) 길항체; 혈관 내피 성장 인자 수용체 2(태아 간 키나제 1 또는 키나제 삽입 도메인 수용체 또는 단백질 티로신 키나제 수용체 flk 1 또는 VEGFR2 또는 CD309 또는 KDR 또는 EC 2.7.10.1) 길항체; 혈관 내피 성장 인자 수용체 3(Fms 유사 티로신 키나제 4 또는 티로신 단백질 키나제 수용체 FLT4 또는 VEGFR3 또는 FLT4 또는 EC 2.7.10.1) 길항체, 카스파제 9(세포사멸 프로테아제 Mch 6 또는 세포사멸 프로테아제 활성화 인자 3 또는 ICE 유사 세포사멸 프로테아제 6 또는 CASP9 또는 EC 3.4.22.62) 활성화제, 세포독성 T 백혈구 단백질 4(세포독성 T 백혈구 관련 항원 4 또는 CD152 또는 CTLA4) 길항체, 골수 세포 표면 항원 CD33(시알산 결합 Ig 유사 렉틴 3 또는 gp67 또는 CD33), 간세포성장인자 수용체(원종양유전자 c Met 또는

티로신 단백질 키나제 Met 또는 HGF/SF 수용체 또는 산란 인자 수용체 또는 MET 또는 EC 2.7.10.1), 상피 세포 부착 분자(선암 관련 항원 또는 세포 표면 당단백질 Trop 1 또는 상피 세포 표면 항원 또는 상피 당단백질 314 또는 KS 1/4 항원 또는 KSA 또는 종양 관련 칼슘 신호 변환기 1 또는 CD326 또는 EPCAM), 갱글리오시드 GD2, 루이스 Y 항원(CD174), 잠복막 단백질 1(단백질 p63 또는 LMP1), 뮤신 1(유방암 관련 항원 DF3 또는 에피시알린 또는 H23AG 또는 Krebs Von Den Lungen 6 또는 PEMT 또는 땅콩 반응성 요 뮤신 또는 다형성 상피 뮤신 또는 종양 관련 상피막 항원 또는 종양 관련 뮤신 또는 CD227 또는 MUC1), T 세포 수용체 베타 1 사슬 C 영역(TRBC1), 혈관 내피 성장 인자 수용체 2(태아 간 키나제 1 또는 키나제 삽입 도메인 수용체 또는 단백질 티로신 키나제 수용체 flk 1 또는 VEGFR2 또는 CD309 또는 KDR 또는 EC 2.7.10.1), BCMA, PD-1, 인터루킨-6 수용체, NKR2, CX-072, T 백혈구 단백질 4(세포독성 T 백혈구 관련 항원 4 또는 CD152 또는 CTLA4) 길항체; 세린/트레오닌 단백질 키나제 B Raf(p94 또는 원종양유전자 B Raf 또는 v Raf 쥐 육종 바이러스성 종양유전자 상동체 B1 또는 BRAF 또는 EC 2.7.11.1) 억제제, 뮤신 16(난소암 관련 종양 마커 CA125 또는 난소 암종 항원 CA125 또는 MUC16); Bcr-Abl 티로신 키나제(EC 2.7.10.2) 억제제; 티로신 단백질 키나제 CSK(C Src 키나제 또는 단백질 티로신 키나제 CYL 또는 CSK 또는 EC 2.7.10.2) 억제제; 티로신 단백질 키나제 Fyn(원종양유전자 Syn 또는 원종양유전자 c Fyn 또는 Src 유사 키나제 또는 p59 Fyn 또는 FYN 또는 EC 2.7.10.2) 억제제; 티로신 단백질 키나제 Lck(백혈구 C 말단 Src 키나제 또는 단백질 YT16 또는 원종양유전자 Lck 또는 T 세포 특이적 단백질 티로신 키나제 또는 백혈구 세포 특이적 단백질 티로신 키나제 또는 p56 LCK 또는 LCK 또는 EC 2.7.10.2) 억제제; 티로신 단백질 키나제 Yes(원종양유전자 c Yes 또는 p61 Yes 또는 YES1 또는 EC 2.7.10.2) 억제제, 사이클린 의존 키나제 1(p34 단백질 키나제 또는 세포 분열 단백질 키나제 1 또는 세포 분열 제어 단백질 2 상동체 또는 CDK1 또는 EC 2.7.11.22 또는 EC 2.7.11.23) 억제제; 사이클린 의존 키나제 2(p33 단백질 키나제 또는 세포 분열 단백질 키나제 2 또는 CDK2 또는 EC 2.7.11.22) 억제제; 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자 수용체 서브유닛 알파(CDw116 또는 CD116 또는 CSF2RA) 작용제, EGFRVIII, 티로신 단백질 키나제 SYK(비장 티로신 키나제 또는 p72 Syk 또는 SYK 또는 EC 2.7.10.2) 억제제, 알파 태아단백질(알파 1 태아단백질 또는 알파 페토글로불린 또는 AFP), 암/고환 항원 1(자가면역원성 암/고환 항원 또는 암/고환 항원 6.1 또는 L 항원 패밀리 구성원 2 또는 CTAG1A 또는 CTAG1B); HBV 항원, EGFR 패밀리 구성원, 헤린, 티로신 단백질 키나제 BTK(브루톤 티로신 키나제 또는 B 세포 전구 키나제 또는 무감마글로불린혈증 티로신 키나제 또는 BTK 또는 EC 2.7.10.2) 억제제, CD4, 상피 세포 부착 분자(선암 관련 항원 또는 세포 표면 당단백질 Trop 1 또는 상피 세포 표면 항원 또는 상피 당단백질 314 또는 KS 1/4 항원 또는 KSA 또는 종양 관련 칼슘 신호 변환기 1 또는 CD326 또는 EPCAM), 프롤릴 엔도펩티다제 FAP(170 kDa 흑색종 막 결합 젤라티나제 또는 디펩티딜 펩티다제 FAP 또는 통합막 세린 프로테아제 또는 섬유아세포 활성화 단백질 알파 또는 젤라틴 분해 프로테아제 FAP 또는 세프레제 또는 FAP 또는 EC 3.4.21.26 또는 EC 3.4.14.5), 신경 세포 부착 분자 1(단일클론 항체 5.1H11 또는 CD56 또는 NCAM1에 의해 인식되는 항원); 표피 성장 인자 수용체(원종양유전자 c ErbB 1 또는 수용체 티로신 단백질 키나제 erbB 1 또는 HER1 또는 ERBB1 또는 EGFR 또는 EC 2.7.10.1) 길항체, 티로신 단백질 키나제 막관통 수용체 ROR1(신경영양성 티로신 키나제 수용체 연관 1 또는 ROR1 또는 EC 2.7.10.1); 윌름스 종양 단백질(WT33 또는 WT1); 인터루킨 13 수용체 서브유닛 알파 2(인터루킨 13 결합 단백질 또는 CD213a2 또는 IL13RA2), 영양세포 당단백질(M6P1 또는 5T4 종양태아 항원 또는 5T4 종양태아 영양세포 당단백질 또는 Wnt 활성화된 억제성 인자 1 또는 TPBG), SLAM 패밀리 구성원 7(CD319 또는 막 단백질 FOAP 12 또는 CD2 유사 수용체 활성화 세포독성 세포 또는 Novel Ly9 또는 단백질 19A 또는 CD2 서브셋 1 또는 CS1 또는 SLAMF7), B 세포 림프종 2(Bcl 2) 억제제; DNA(시토신 5) 메틸트랜스퍼라제 1(CXXC 유형 징크 핑거 단백질 9 또는 DNA 메틸트랜스퍼라제 HsaI 또는 MCMT 또는 DNMT1 또는 EC 2.1.1.37) 억제제, ROR1, CD19&CD40L, 아비딘(EGFRiiiv), 폴레이트 수용체, CD30, pmel CD*8 T, CD33, NKR2, 상피 종양 항원(ETA), 티로시나제, 흑색종 관련 항원, ras의 이상 산물, p53, 알파태단백질(AFP), CA-125, CA15-3, CA27-29, CA19-9, 칼시토닌, 칼레티닌, CD34, CD99MIC 2, CD117, 크로모그라닌, 사이토케라틴(다양한 유형: TPA, TPS, Cyfra21-1), 데스민, 상피 막 항원(EMA), 인자 VIII, CD31 FL1, 신경교 섬유성 산성 단백질(GFAP), 대낭성 질환 유체 단백질(GCDFP-15), HMB-45, 인간 융모막 성선 자극 호르몬(hCG), 면역글로불린, 인히빈, 케라틴(다양한 유형), 백혈구 마커(다양한 유형), BCR-ABL, Myo D1, 근육 특이적 액틴(MSA), 신경섬유, 뉴런 특이적 에놀라제(NSE), 태반 알칼리 인산분해효소(PLAP), 전립선 특이적 항원(PSA), PTPRC(CD45), S100 단백질, 평활근 액틴(SMA), 시냅토피신, 티미딘 키나제, 티로글로불린(Tg), 갑상선 전사 인자-1(TTF-1), 종양 M2-PK, 비멘틴, SV40, 아데노바이러스 E1b-58kd, IGF2B3, 유비퀴터스(낮은 수준), 칼리크레인 4, KIF20A, 렝신, 멜로에, MUC5AC, 미성숙 라미닌 수용체, TAG-72, HPV E6, HPV E7, BING-4, 칼슘-활성화된 염화물 채널 2, 사이클린-B1, 9D7, Ep-CAM, EphA3, 텔로머라제, SAP-1, BAGE 패밀리, CAGE 패밀리, GAGE 패밀리, MAGE 패밀리, SAGE 패밀리, XAGE 패밀리, LAGE-1, PRAME, SSX-2, pmel17, 티로시나제, TRP-1/-2, P.폴리펩티드, MC1R, β-카테닌, 전립선 특이적 항원, BRCA1, BRCA2, CDK4, CML66, 피브로넥틴, MART-2, Ras, TGF-베타 수용체 II,

T 세포 수용체(TCR), BLOC1S6, CD10/네프릴리신, CD24, CD248, CD5/분화 클러스터 5, CD63/Tspan-30/테트라스파닌 -30, CEACAM5/CD66e, CT45A3, CTAG1A, CXORF61, DSE, GPA33, HPSE, KLK3, LCP1, LRIG3, LRRC15, 거핵구 강화 인자, MOK, MUC4, NDNL2, OCIAD1, PMPCB, PTOV1, RCAS1/EBAG9, RNF43, ROPN1, RPLP1, SARNP, SBEM/MUCL1, TRP1/TYRP1, CA19-9, 비활성 티로신 단백질 키나제 막관통 수용체 ROR1(신경영양성 티로신 키나제 수용체 연관 1 또는 ROR1 또는 EC 2.7.10.1), ALK 티로신 키나제 수용체(역형성 림프종 키나제 또는 CD246 또는 ALK 또는 EC 2.7.10.1), 전립선 줄기세포 항원(PSCA), 종양에서 우선적으로 발현된 흑색종 항원(암/고환 항원 130 또는 Opa 상호작용 단백질 4 또는 OIP4 또는 흑색종 또는 PRAME의 우선적으로 발현된 항원), 전사 3(급성기 반응 인자 또는 DNA 결합 단백질 APRF 또는 STAT3) 억제제의 신호 변환기 및 활성화제, CD44 항원(CDw44 또는 에피칸 또는 세포외 기질 수용체 III 또는 GP90 백혈구 귀소/접착 수용체 또는 HUTCH I 또는 헤파란 설페이트 프로테오글리칸 또는 헤르메스 항원 또는 히알루로네이트 수용체 또는 식세포성 당단백질 1 또는 CD44), CD40 리간드(T 세포 항원 Gp39 또는 TNF 연관 활성화 단백질 또는 종양 괴사 인자 리간드 슈퍼패밀리 구성원 5 또는 CD154 또는 CD40LG) 활성화제; 종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리 구성원 13B(막관통 활성화제 및 CAML 상호작용제 또는 CD267 또는 TACI 또는 TNFRSF13B); 종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리 구성원 17을 발현하는 세포에 세포독성(B 세포 성숙 항원 또는 CD269 또는 TNFRSF17), CD276 항원(B7 상동체 3 또는 4Ig B7 H3 또는 동시자극 분자 또는 CD276), 골수 세포 표면 항원 CD33(시알산 결합 Ig 유사 렉틴 3 또는 gp67 또는 CD33), ADP 리보실 사이클라제/사이클릭 ADP 리보스 가수분해효소 1(사이클릭 ADP 리보스 가수분해효소 1 또는 T10 또는 2' 포스포 ADP 리보실 사이클라제/2' 포스포 사이클릭 ADP 리보스 트랜스퍼라제 또는 ADP 리보실 사이클라제 1 또는 CD38 또는 EC 3.2.2.6 또는 EC 2.4.99.20), C 유형 렉틴 도메인 패밀리 14 구성원 A(표피 성장 인자 수용체 5 또는 EGFR5 또는 CLEC14A), 간세포성장인자 수용체(원종양유전자 c Met 또는 티로신 단백질 키나제 Met 또는 HGF/SF 수용체 또는 산란 인자 수용체 또는 MET 또는 EC 2.7.10.1), 상피 세포 부착 분자(선암 관련 항원 또는 세포 표면 당단백질 Trop 1 또는 상피 세포 표면 항원 또는 상피 당단백질 314 또는 KS 1/4 항원 또는 KSA 또는 종양 관련 칼슘 신호 변환기 1 또는 CD326 또는 EPCAM), 갱글리오시드 GD3, 인터루킨 13 수용체 서브유닛 알파 2(인터루킨 13 결합 단백질 또는 CD213a2 또는 IL13RA2); 카파 골수종 항원(KMA), 람다 골수종 항원 (LMA), 잠복막 단백질 1(단백질 p63 또는 LMP1), 흑색종 관련 항원, T 백혈구 활성화 항원 CD80(활성화 B7-1 항원 또는 CTLA 4 카운터 수용체 B7.1 또는 CD80)을 발현하는 세포에 대한 세포독성; T 백혈구 활성화 항원 CD86(활성화 B7-2 항원 또는 CTLA 4 카운터 수용체 B7.2 또는 CD86)을 발현하는 세포에 대한 세포독성, 비활성 티로신 단백질 키나제 막관통 수용체 ROR1(신경영양성 티로신 키나제 수용체 연관 1 또는 ROR1 또는 EC 2.7.10.1), Fas 세포자멸사 억제성 분자 3(IgM Fc 단편 수용체 또는 Fas 유도 세포자멸사의 조절자 Toso 또는 TOSO 또는 FAIM3 또는 FCMR), T 세포 수용체 베타 1 사슬 C 영역(TRBC1), 혈관 내피 성장 인자 수용체 2(태아 간 키나제 1 또는 키나제 삽입 도메인 수용체 또는 단백질 티로신 키나제 수용체 flk 1 또는 VEGFR2 또는 CD309 또는 KDR 또는 EC 2.7.10.1), 알파 태아단백질(알파 1 태아단백질 또는 알파 아글로불린 또는 AFP), 암/고환 항원 1(자가면역원성 암/고환 항원 NY ESO 1 또는 암/고환 항원 6.1 또는 L 항원 패밀리 구성원 2 또는 CTAG1A 또는 CTAG1B), T 세포 표면 당단백질 CD5(백혈구 항원 T1/Leu 1 또는 CD5), 프롤릴 엔도펩티다제 FAP(170 kDa 흑색종 막 결합 젤라티나제 또는 디펩티딜 펩티다제 FAP 또는 통합막 세린 프로테아제 또는 섬유아세포 활성화 단백질 알파 또는 젤라틴 분해 프로테아제 FAP 또는 세프라제 또는 FAP 또는 EC 3.4.21.26 또는 EC 3.4.14.5), 신경 세포 부착 분자 1(단일클론항체 5.1H11 또는 CD56 또는 NCAM1에 의해 인식되는 항원), C 유형 렉틴 도메인 패밀리 12 구성원 A(골수성 억제성 C 유형 렉틴 유사 수용체 또는 수지상 세포 관련 렉틴 2 또는 C 유형 렉틴 유사 분자 1 또는 CLEC12A), 인테그린 알파 V(비트로넥틴 수용체 서브유닛 알파 또는 CD51 또는 ITGAV); 인테그린 베타 6(ITGB6)을 발현하는 세포에 대해 세포독성, 인터루킨 13 수용체 서브유닛 알파 2(인터루킨 13 결합 단백질 또는 CD213a2 또는 IL13RA2), 영양세포 당단백질(M6P1 또는 5T4 종양태아 항원 또는 5T4 종양태아 영양세포 당단백질 또는 Wnt 활성화된 억제성 인자 1 또는 TPBG), 영양세포 당단백질(M6P1 또는 5T4 종양태아 항원 또는 5T4 종양태아 영양세포 당단백질 또는 Wnt 활성화된 억제성 인자 1 또는 TPBG), C 유형 렉틴 도메인 패밀리 12 구성원 A(골수성 억제성 C 유형 렉틴 유사 수용체 또는 수지상 세포 관련 렉틴 2 또는 C 유형 렉틴 유사 분자 1 또는 CLEC12A), SLAM 패밀리 구성원 7(CD319 또는 막 단백질 FOAP 12 또는 CD2 유사 수용체 활성화 세포독성 세포 또는 Novel Ly9 또는 단백질 19A 또는 CD2 서브셋 1 또는 CS1 또는 SLAMF7), SLAM 패밀리 구성원 7(CD319 또는 막 단백질 FOAP 12 또는 CD2 유사 수용체 활성화 세포독성 세포 또는 Novel Ly9 또는 단백질 19A 또는 CD2 서브셋 1 또는 CS1 또는 SLAMF7), 면역글로불린, 다제 내성-관련 단백질 3(MRP3), 원종양유전자 티로신-단백질 키나제 ABL1, 전립선산 포스파타제, OY-TES-1, ACSM2A, 알파-액티닌-4, 페리리핀-2, 알파-태아단백질, 림프모구 위기 발암유전자(Lbc) 종양단백질, 알데하이드 데히드로게나제 1 패밀리 구성원 A1(ALDH1A1), AML, ANKRD17, NY-BR-1, 아넥신 II, ARHGAP17, ARHGAP30, ARID1B, 소포체 상주 단백질, 5'-아미노이미다졸-4-카르복사미드-1-베타-d-리보뉴클레오티드 트랜스포밀라제/이노시니카제(AICRT/I), ATR, ATXN2, ATXN2L, BAGE1, BCL11A, Bcl-xL,

중단점 클러스터 영역, 서바비빈, 리빈/ML-IAP, HM1.24, BTB 도메인 함유 2(BTBD2), C6ORF89, 탄산탈수효소IX, CLCA2, CRT2, CAMEL, CAN 단백질, 카스파제-5, 카스파제-8, KM-HN-1, CCDC88B, 사이클린 B1, 사이클린 D1, CCNI, CDC2, CDC25A, CDC27, CDK12, 장내 카르복시레스테라제, CEP95, CHAF1A, 코액토신-유사 1, CPSF, CRYBA1, TRAG-3, 대식세포 콜로니 자극 인자, CSNK1A1, 흑색종 관련 콘드로이틴 설페이트 프로테오글리칸(MCSP), 카텝신 H, 기타 큐수 폐암 항원 1, P450 1B1 또는 CYP1B1, DDR1, DEK 종양유전자, DEK-CAN, Dickkopf-1(DKK1), DNAJC8, DSCAML1, EEF2, 신장 인자 Tu GTP 결합 도메인 함유 또는 SNRP116, EIF4EBP1, 인간 메나 단백질, EP300, ETV5, TEL1 또는 ETV6, zeste 상동체 2(EZH2)의 폴리콤브 집단 단백질 인핸서, F2R, F4.2, FAM53C, 섬유아세포, 성장 인자 5 또는 FGF5, 백혈구 1의 포르민 관련 단백질(FMNL1), 피브로모듈린(FMOD), FNDC3B, FKHR, GDP-L-푸코스, GAS7, GFI1, GIGYF2, GPNMB, O, A1, GPSM3, GRK2, GRM5, H3F3A, HAUS3, HERC1, HERV-K-MEL, HIVEP2, HMGN, HMHA1, 헴 옥시게나제-1(HO-1), HNRPL, 헤파라나아제, HMSD-v-인코딩 mHA, HSPA1A, Hsp70, HSPB1, 즉시 초기 반응 유전자 X-1(IEX-1), 인슐린 유사 성장 인자(IGF)-II mRNA 결합 단백질 3(IMP-3), IP6K1, IRS2, ITGB8, JUP, RU2AS, KANSL3, KLF10, KLF2, KLK4, KMT2A, K-ras, 저밀도 지질 수용체(LDLR), LDLR-FUT, Mac-2-결합 단백질, KIAA0205, LPP, LRP1, LRRC41, LSP1, LUZP1, 백혈구 항원 6 복합 유전자좌 K(LY6K), MACF1, MAP1A, MAP3K11, MAP7D1, 마트릴린-2, Mcl-1, MDM2, 말산효소, MEF2D, MEFV, 유지방구막 단백질 BA46(락타데린), 멜라노트랜스페린, GNT-V 또는 N-아세틸글루코사미닌트랜스퍼라제 V, MIIP, MMP14, 매트릭스 메탈로프로테이나제-2, MORC2, 흑색종 항원 p15, MUC2, MUM, MYC, MYL9, 비전통적인 미오신 클래스 I 유전자, N4BP2, NCBP3, NCOA1, NCOR2, NFATC2, NFYC, NIFK, 니네인, NPM, NPM1-ALK1, N-ras, OAS3, P 폴리펩티드, OGT, OS-9, ErbB3-결합 단백질 1, PAGE-4, P21-활성화된 세린 키나제 2(PAK2), 네오-PAP, PARP12, PAX3, PAX3-FKHR, PCBP2, 포스포글리세르산염 키나제 1(PKG1), PLEKHM2, 전골수구백혈병 또는 PML, PML-RARA, POLR2A, 시클로필린 B, PPP1CA, PPP1R3B, 퍼옥시레독신 5, 프로테이나제 3, 부갑상선 호르몬 관련 단백질(PTHrP), 수용체 유사 단백질 티로신 포스파타제 카파, MG50, NY-MEL-1 또는 RAB38, RAGE, RALGAPB, RAR 알파, RBM, RCSD1, 리커버인, RERE, RGS5, RHAMM/CD168, RPA1, 리보솜 단백질 L10a, 리보솜 단백질 S2, RREB1, RSRP1, RTCB, SART, SCAP, 맘마글로빈 A, 세체르닌 1, SDCBP, SETD2, SF3B1, 신장 유비퀴터스 단백질 1, SIK1, SIRT2, SKI, 헤어핀 결합 단백질, SLC35A4, 프로스테인, SLC46A1, SNRPD1, SOGA1, SON, SOX10, SOX11, SOX2, SOX-4, 정자 단백질 17, SPEN, SRRM2, SRSF7, SRSF8, SSX1, SSX2 또는 HOM-MEL-40, SSX4, STAT1, STEAP, STRAP, ART-1, SVIL, HOM-TES-14/SCP1, CD138, SYNM, SYNPO, SYT, SYT15, SYT-SSX1, SYT-SSX2, SZT2, TAPBP, TBC1D10C, TBC1D9B, hTERT, THNSL2, THOC6, TLK1, TNS3, TOP2A, TOP2B, ATP-의존 인터페론-반응성(ADIR), TP53, 트리오스 포스테이트 이성화효소 TPI1, 트로포미오신-4, TPX2, TRG, T-세포 수용체 감마 대체 판독 프레임 단백질(TARP), TRIM68, 전립선-특이적 단백질 일시적 수용체 전위-p8(trp-p8), TSC22D4, TTK 단백질 키나제(TTK), 티미딜레이트 합성효소(TYMS), UBE2A, 유비퀴틴 접합 효소 변이체 Kua, COA-1, USB1, NA88-A, VPS13D, BING4, WHSC1L1, WHSC2, WNK2, WT1, XBP1, XPO1, ZC3H14, ZNF106, ZNF219, 유두종바이러스 결합 인자(PBF), E3 유비퀴틴-단백질 리가제 UBR4.

[0226] 본 개시내용의 일부 구현예에서, TCR, CAR, 및/또는 SUPRA-CAR은 수용체/리간드/표적의 앞서 인용된 군에서 선택된 항원에 결합하는 항원-결합 도메인을 포함하지 않을 수 있다. 일부 바람직한 구현예에서, TCR, CAR, 및/또는 SUPRA-CAR은 CD19, CD20, CD22, GD2, CD133, EGFR, GPC3, CEA, MUC1, 메소텔린, IL-13R, PSMA, ROR1, CAIX, Her2로 이루어진 군에서 선택된 항원에 결합하는 항원-결합 도메인을 포함할 수 있다.

[0227] CAR 및/또는 CAR은 CD19, CD20, CD22, GD2, CD133, EGFR, GPC3, CEA, MUC1, 메소텔린, IL-13R, PSMA, ROR1, CAIX, Her2로 이루어진 군에서 선택된 항원에 결합하는 항원 결합 도메인을 포함한다.

[0228] 단백질을 암호화하는 핵산의 도입 후, NKT-유사 세포 또는 NKT-유사 세포는 배양에서 확장될 수 있다. 세포 배양 및 확장에 적합한 방법 및 시약은 당업자에게 잘 알려져 있다. 확장 후 본 개시내용의 방법은 NKT 세포 활성화제, T 세포 활성화제, 및/또는 NK 세포 활성화제로 세포를 활성화하는 단계를 더 포함할 수 있다. NKT 세포 활성화제, T 세포 활성화제, 및 NK 세포 활성화제는 자세히 전술될 수 있다.

[0229] 일부 구현예에서, 전술된 본 개시내용의 세포 또는 표적화된 세포는 핵산, dsRNA, siRNA, 마이크로 RNA, dsDNA, ssDNA, cDNA, rRNA, mRNA, tRNA, siRNA, dsRNAi, RNAi, 유기 화합물, 세포독성 약물, 항체, 베도틴, 오조가마이신, 엠탄신, 데룩스테칸, 메르탄신, 마포도틴, 튜불린 억제제, 모노메틸 아우리스타틴-E[Monomethyl auristatin-E, MMAE] 및 돌라스타틴-10의 펩티드 유사체인 모노메틸 아우리스타틴-F[monomethyl auristatin-F, MMAF], 메이탄시노이드, 빈카 알칼로이드, 칼리케아미신, 듀오카르마이신, 피롤로벤조디아제핀 이량체, 탈리린, 테시린, 인돌리노벤조디아제핀 유사이량체, 소라브탄신, DM1, DM4, 신경 전달 물질, DNA 삽입제, 항대사물질, 엔도스타틴, 뉴로트로핀, 화학요법, 또는 성장 인자, 또는 항체, 독소, 방사능, 항생제, 항진균제, 항-바이러스

제, 수용체, 바이러스, 사이토카인, 지질, 케모카인, 펩티드 및 단백질, 항-기생충제, 호르몬, 항원, 신경활성제, 수용체 작용제 또는 길항제, 소분자, 또는 임의의 유형의 생물학적 페이로드 또는 생물학적 활성 페이로드와 같은 페이로드를 전달하기 위해 사용된다.

[0230] 본 개시내용의 일부 구현예에서, 본 개시내용의 세포는 상기 인용된 페이로드 중 하나 이상이 아닌 페이로드를 전달하는 데 사용될 수 있다.

[0231] - - -

[0232] 또한 본 개시내용은 대상에서 암, 자가면역질환, 또는 감염성 질환(미생물 질환이라고도 함)을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본원의 다른 곳에서 기술된 바와 같이 치료 방법은 대상에서 NKT-유사 세포의 집단을 생산하는 방법이다. 일부 구현예에서, 본원의 다른 곳에서 기술된 바와 같이 치료 방법은 대상에서 NKT-유사 세포의 집단을 동원하는 방법이다. 이들 구현예에서, NKT-유사 세포는 본원의 다른 곳에 기술된 하나 이상의 기전에 의해 암, 자가면역질환 또는 감염성 질환을 치료할 수 있다. 다른 구현예에서, 치료하는 방법은 대상에게 치료 유효량의 본 개시내용의 단리된 NKT-유사 세포를 투여하는 것을 포함하는 방법이다. 이들은 전술한 확장 및 비확장, 및/또는 활성화 또는 비활성 및/또는 형질감염 또는 비형질감염 세포를 포함하여, 앞서 개괄한 임의의 단리된 NKT-유사 세포 또는 NKT-유사 세포 집단일 수 있다. 이들 구현예에서, 대상, 암, 자가면역질환, 감염성 질환, 및/또는 치료 효능의 기전은 상세히 전술된 바와 같을 수 있다.

[0233] 치료 방법이 본 개시내용의 단리된 NKT-유사 세포의 치료 유효량을 대상에게 투여하는 것을 포함하는 방법인 구현예에서, 단리된 세포가 투여되는 대상은 세포가 단리된 대상과 동일할 수 있다. 이러한 구현예에서, 치료는 자가 세포 치료로 지칭될 수 있다. 용어 '자가'는 개체가 인간이든 다른 동물이든 나중에 다시 도입되는 동일한 개체에서 유래된 모든 물질을 지칭한다. 치료 방법이 본 개시내용의 단리된 NKT-유사 세포의 치료 유효량을 대상에게 투여하는 것을 포함하는 방법인 다른 구현예에서, 단리된 세포가 투여되는 대상은 세포가 단리된 대상과 다를 수 있다. 이러한 구현예에서, 치료는 동종이계 세포 치료로 지칭될 수 있다. 용어 '동종이계'는 개체가 인간이든 다른 동물이든 개체에서 유래된 임의의 물질을 동일한 종의 다른 개체에게 도입하는 것을 지칭한다. 즉, 치료 방법이 본 개시내용의 단리된 NKT-유사 세포의 치료 유효량을 대상에게 투여하는 것을 포함하는 방법인 구현예에서, 세포는 자가 또는 동종이계 공급원일 수 있다. 본 개시내용의 단리된 NKT-유사 세포를 대상에게 투여하는 방법의 치료적 효능은 실시예 16에 기술된다.

[0234] 본 개시내용에 따른 대상에서 암, 자가면역질환, 또는 감염성 질환을 치료하는 방법은 대상에게 NKT 세포 활성화제, T 세포 활성화제, 및/또는 NK 세포 활성화제를 투여하는 단계를 더 포함할 수 있다. 이들은 상세히 전술된 바와 같을 수 있다. 본 개시내용에 따른 대상에서 암, 자가면역질환 또는 감염성 질환을 치료하는 방법은 하나 이상의 추가 작용제[agent], 예를 들어, 앞서 개괄된 바와 같은 NKT 세포 활성화제, T 세포 활성화제, 및/또는 수지상 NK 세포 활성화제, 또는 화학요법제, 예컨대 면역 체크포인트 억제제와 병용하여 대상에게 본 개시의 글루코코르티코이드 또는 세포를 투여하는 것을 포함할 수 있다. 이러한 맥락에서, '병용하여'는 동시 투여를 의미할 수 있거나 임의의 순서로 개별 및/또는 순차적 투여를 의미할 수 있다.

[0235] 본원에 사용된 용어 '투여하는'은 당업자에게 공지된 임의의 다양한 방법 및 전달 시스템을 사용하여 대상에 제제를 물리적으로 도입하는 것을 지칭한다. 본원에 개시된 작용제에 대한 예시적인 투여 경로는 정맥 내, 근육내, 피하, 복강 내, 척수 또는 기타 비경구 투여 경로, 예를 들어, 주사 또는 주입을 포함한다. 본원에 사용된 구절 '비경구 투여'는 경장 및 국소 투여 이외의 투여, 일반적으로 주사에 의한 방식을 의미하되, 제한되지 않고, 정맥내, 근육내, 동맥내, 척수강내, 림프내, 병변내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 복강내, 기관간, 피하, 표피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 경막외 및 흉골내 주사 및 주입, 뿐만 아니라 생체내 전기천공을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 작용제는 예를 들어, 경구[oral]와 같은 경구 경로[parenteral route]가 아닌 경로로 투여할 수 있다. 다른 비경구 경로는 국소, 표피, 또는 점막 투여 경로, 예를 들어, 비강내, 질내, 직장, 설하 또는 국소 투여를 포함한다.

[0236] 본원에 사용된 구절 '전신 주사'는 특히, 정맥내, 복강내, 피하, 비점하층을 통해, 설측, 기관지경술을 통해, 정맥내, 동맥내, 근육내, 안구내, 선조체내, 피하, 피내, 진피 패치에 의해, 피부 패치에 의해, 패치에 의해, 뇌척수액으로, 문맥으로, 뇌로, 림프계로, 흉막내, 안와후, 진피내, 비장내, 림프내로 비배타적으로 관련된다.

[0237] 본원에 사용된 용어 '주사 부위'는 특히, 종양 내, 또는 신장 또는 간 또는 췌장 또는 심장 또는 폐 또는 뇌 또는 비장 또는 눈과 같은 기관내, 근육내, 안구내, 선조체내, 피내, 진피 패치에 의해, 피부 패치에 의해, 패치에 의해, 뇌척수액으로, 뇌로 비배타적으로 관련된다.

[0238] 본 개시내용의 일부 바람직한 구현예에서, 글루코코르티코이드 수용체 조절제는 경구로 투여될 수 있다. 본 개시내용의 치료 방법이 본 개시내용의 단리된 NKT-유사 세포의 치료 유효량을 대상에게 투여하는 것을 포함하는 방법인 구현예에서, 세포는 무엇보다도 특히 콜라겐 기질, 세포외 기질 조성물, 섬유소 패치 또는 기타 세포외 기질 물질로 만들어진 생체고분자 미세실, 세포외 기질 및 생분해성 물질을 함유하는 패치, 섬유소 패치, 알기네이트 아가로스 기반 패치, 세포외 기질 물질 및 덱스트란과 같은 구성성분에 비배타적으로 관련될 수 있는 생분해성 생리 비활성 물질로 구성된 스캐폴드, 기관 특이적 항원 또는 결합 분자로 줄기세포 코팅, 생체외 소화된 장기 공여자 또는 사체 기관의 스캐폴드 또는 탈세포화된 기관으로 알려진 잔여 세포외 매트릭스, 및 콘택트 렌즈를 통해 기관 또는 종양에 직접적으로 적용될 수 있다. 바람직하게는 세포는 정맥 내 주사, 복강 내 주사, 림프 내 주사, 척추강 내 주사, 뇌척수액[cerebrospinal fluid, CSF] 내 주사, 종양 내 직접 주사, 또는 고형 종양 위 또는 근처에 도포한 젤로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.

[0239] 본 개시내용의 일부 구현예에서, 본 명세서에 개시된 작용제 및 세포에 대한 투여 경로는 앞서 인용된 경로 중 하나 이상이 아닐 수 있다.

[0240] - - -

[0241] 본 개시내용은 또한 상세히 전술된 바와 같이, NKT-유사 세포 집단을 생산/동원하는 방법에 사용하기 위한 글루코코르티코이드-수용체[GR] 조절제 및 ICAM3 조절제를 제공한다. 본 개시내용은 또한 대상의 암, 자가면역질환 또는 감염성 질환(미생물 질환으로도 지칭됨)을 치료하는 방법에 사용하기 위한 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제 및 ICAM3 조절제를 제공하되, 치료 방법은 상세히 전술한 바와 같이 대상에서 NKT-유사 세포 집단을 생산/활성화/동원하는 방법이다. 바람직한 구현예는 상세히 전술된 바와 같은 NKT-유사 세포 집단을 생산 및/또는 동원하는 방법에 사용하기 위한 글루코코르티코이드, 및 대상에서 암, 자가면역질환 또는 감염성 질환을 치료하는 방법에 사용하기 위한 글루코코르티코이드를 포함하되, 치료 방법은 상세히 전술한 바와 같이, 대상에서 NKT-유사 세포 집단을 생산 및/또는 동원하는 방법이다. 다른 바람직한 구현예는 상세히 전술한 바와 같이 NKT 세포의 집단을 동원하는 방법에 사용하기 위한 글루코코르티코이드를 포함한다. 특히 바람직한 일부 구현예에서, 글루코코르티코이드는 덱사메타손이다.

[0242] 또한, 본 개시내용은 상세히 전술된 바와 같이, NKT-유사 세포 집단을 생산/동원하는 방법에 사용하기 위한 의약 제조에서의 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제의 용도를 제공한다. 본 개시내용은 또한 대상의 암, 자가면역질환 또는 감염성 질환(미생물 질환으로도 지칭됨)을 치료하는 방법에 사용하기 위한 의약의 제조에 있어서 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제의 용도를 제공하되, 치료 방법은 상세히 전술한 바와 같이 대상에서 NKT-유사 세포 집단을 생산 및/또는 동원하는 방법이다.

[0243] 본 개시내용은 또한 NKT-유사 세포 집단을 유도 및/또는 동원하기 위한 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제의 용도를 제공하되, NKT-유사 세포 집단은 상세히 전술된 바와 같이 대상에서 세포 집단을 생산 및/또는 동원하는 방법에 의해 유도된다.

[0244] - - -

[0245] 본 개시내용은 또한 iPSC(유도만능 줄기세포[induced pluripotent stem cell])를 생산하도록 본 개시의 NKT-유사 세포를 재프로그래밍하는 것을 포함하는, 유도만능 줄기세포[iPSC]를 생산하는 방법을 제공한다. iPSC를 생산하는 방법에 사용되는 본 개시내용의 NKT-유사 세포는 상세히 전술된 방법에 의해 생산되고 단리된 NKT-유사 세포일 수 있다.

[0246] iPSC를 생산하는 개시된 방법의 일부 구현예에서, 재프로그래밍은 Oct3/4, Klf4, Sox2, 및 C-myc를 암호화하는 하나 이상의 발현 카세트를 본 개시내용의 세포에 도입하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 재프로그래밍은 Oct3/4, KLF4, Sox2, 및 c-myc 암호화 mRNA를 세포에 도입하는 것을 포함한다. iPSC를 생산하는 개시된 방법의 일부 구현예에서, 재프로그래밍은 다음 중 하나 이상을 암호화하는 하나 이상의 발현 카세트를 유사 세포내로 도입하는 것을 더 포함할 수 있다. Sox1, Sox3, Sox15, Klf1, Klf2, Klf5, L-myc, N-myc, 나노그(Nanog), 및/또는 LIN28. 다른 구현예에서, 재프로그래밍은 Sox1, Sox3, Sox15, Klf1, Klf2, Klf5, L-myc, N-myc, 나노그(Nanog), 및/또는 LIN28 암호화 mRNA 중 하나 이상을 NKT-유사 세포내로 도입하는 것을 더 포함할 수 있다. 발현 카세트 또는 암호화 mRNA를 세포에 도입하는 적합한 방법은 당업자에게 잘 알려져 있다. 예를 들어, 전기천공법, 세포 미세주입, 또는 리포좀 기반 형질감염 방법. 렌티바이러스(Lentivirus) 및 아데노바이러스(Adenovirus) 시스템을 포함한 레트로바이러스 시스템을 사용하여 iPSC에서 비다능성 세포를 재프로그래밍하는 것이 기술되었다(문헌[Stadtfeld et al, 2008], 그 전체가 본원에 참조로 포함됨). iPSC로의 성체 세포의 재프

로그래밍은 또한 바이러스 형질감염 시스템을 사용하지 않고 플라스미드를 통해 달성될 수 있다(문헌[Okita et al, 2008], 그 전체가 본원에 참조로 포함됨).

[0247] Oct-3/4

[0248] Oct-3/4(Pou5f1; Bioclone, San Diego CA로부터 입수 가능한 cDNA)는 옥타머('Oct') 전사 인자 계열 중 하나이며, 다능성을 유지하는 데 중요한 역할을 한다. 할구 및 배아 줄기세포와 같은 Oct-3/4+ 세포에서 Oct-3/4의 부재는 자발적인 영양세포 분화를 유도하고, 따라서 Oct-3/4의 존재는 배아 줄기세포의 다능성 및 분화 잠재력을 발생시킨다. Oct-3/4의 가까운 친척인, Oct1 및 Oct6을 포함하는 'Oct' 계열의 다양한 다른 유전자는 유도를 이끌지 못하고, 따라서 유도 과정에서 Oct-3/4의 배타성을 입증한다.

[0249] Klf 계열:

[0250] 유전자의 Klf 계열의 Klf4는 마우스 iPS 세포의 생성을 위한 인자이다. Klf2(Bioclone, Inc., San Diego, CA로부터 입수 가능한 cDNA) 및 Klf4(Bioclone, Inc., San Diego, CA로부터 입수 가능한 cDNA)는 iPS 세포를 생성할 수 있는 인자이고, 관련 유전자 Klf1(Bioclone, Inc., San Diego, CA로부터 입수 가능한 cDNA) 및 Klf5(Bioclone, Inc., San Diego, CA로부터 입수 가능한 cDNA)도 효율이 감소하였지만 마찬가지였다.

[0251] Sox 계열

[0252] 유전자의 Sox 계열은 Oct-3/4와 유사한 다능성을 유지하는 것과 관련이 있지만, 만능 줄기세포에서만 발현되는 Oct-3/4와 달리 다능 및 만능 줄기세포와 관련이 있다(문헌[Bowles et al, 2000], 그 전체가 본원에 참조로 포함됨). Sox2(Bioclone, San Diego, CA로부터 입수 가능한 cDNA)가 유도에 사용된 초기 유전자였지만, Sox 계열의 다른 유전자도 유도 과정에서 작동하는 것으로 밝혀졌다. Sox1(Bioclone, Inc., San Diego, CA로부터 입수 가능한 cDNA)은 Sox2와 유사한 효율로 iPS 세포를 생성하고, 유전자 Sox3(Bioclone, Inc., San Diego, CA로부터 입수 가능한 인간 cDNA), Sox15, 및 Sox18 역시 효율이 떨어졌음에도 불구하고 iPS 세포를 생성한다.

[0253] Myc 계열

[0254] 유전자의 Myc 계열은 암과 관련된 원종양 유전자이다. C-myc(Bioclone, Inc., San Diego, CA로부터 입수 가능한 cDNA)는 마우스 iPS 세포의 생성과 관계 있는 인자이다. 그러나, c-myc는 인간 iPS 세포의 생성에 필요하지 않을 수 있다. iPS 세포의 유도에서 'myc' 유전자 계열의 사용은 c-myc-유도된 iPS 세포로 이식된 마우스의 25%가 치명적인 기형종을 발생시켰기 때문에 임상적 요법으로서 iPS 세포의 궁극적인 가능성에 대해 문제가 되고 있다. N-myc(Bioclone, Inc., San Diego, CA로부터 입수 가능한 cDNA) 및 L-myc는 유사한 효율로 c-myc 대신 유도하는 것으로 확인되었다.

[0255] 나노그(Nanog)

[0256] 배아 줄기세포에서, 나노그(Bioclone, Inc., San Diego, CA로부터 입수 가능한 cDNA)는 Oct-3/4 및 Sox2와 함께 다능성을 촉진하는 데 필요하다(문헌[Chambers et al, 2003], 그 전체가 본원에 참조로 포함됨).

[0257] LIN28

[0258] LIN28(Bioclone, Inc., San Diego, CA로부터 입수 가능한 cDNA)은 분화 및 증식과 관련된 배아줄기세포 및 배아암종세포에서 발현되는 mRNA 결합 단백질이다(문헌[Moss & Tang, 2003], 그 전체가 본원에 참조로 포함됨).

[0259] 일부 구현예에서, 개시된 iPSC를 생산하는 방법은 본 개시내용의 iPSC의 분화를 유도하는 단계를 더 포함한다. 일부 바람직한 구현예에서, 개시된 방법은 본 개시내용의 iPSC의 NKT 세포로의 분화를 유도하는 단계를 더 포함할 수 있다. 따라서, 본 개시내용은 또한 NKT 세포의 집단을 생성하는 방법을 제공하고, 방법은 본 개시내용에 따른 방법에 의해 생성된 iPSC를 NKT 계통으로 분화시키는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 개시된 방법은 본 개시내용의 iPSC의 T 세포로의 분화를 유도하는 단계를 더 포함할 수 있다. 따라서, 본 개시내용은 또한 T 세포의 집단을 생산하는 방법을 제공하고, 방법은 본 개시내용에 따른 방법에 의해 생성된 iPSC를 T 세포 계통으로 분화시키는 것을 포함한다. 이러한 분화된 세포는 본 개시내용에 따른 대상에서 암, 자가면역질환, 또는 감염성 질환(미생물 질환이라고도 함)을 치료하는 방법에 사용될 수 있다.

[0260] - - -

[0261] 본 개시내용은 또한 본원의 다른 곳에 개시된 바와 같이 자연 살해 T 세포-유사 세포(NKT-유사 세포)의 집단, 단리된 NKT-유사 세포, 또는 단리된 NKT-유사 세포의 집단을 생산하는 시험관내 방법을 제공한다. 본 개시내용

의 시험관내 방법은 CD3가 높은 CD49b-세포 또는 세포 집단을 얻는 단계 및 CD3가 높은 CD49b-세포 또는 세포들을 하나 이상의 사이토카인과 접촉시키는 단계를 포함하되, 해당 접촉 단계는 세포 또는 세포들이 본 개시내용의 NKT-유사 세포가 되도록 유도한다. 본원의 다른 곳에 기술된 바와 같이, NKT-유사 세포는 이들이 발현하는 표면 단백질의 패턴을 특징으로 할 수 있다. 일부 구현예에서, CD3 높음 CD49b-세포 또는 세포 집단은 인간 대상과 같은 대상에서 얻어질 수 있다. 대상은 본원의 다른 곳에서 정의된 대상일 수 있다. 일부 구현예에서, 접촉 단계는 본원의 다른 곳에 기술된 바와 같이, 세포 또는 세포들을 NKT 세포 활성화제, T 세포 활성화제 및/또는 NK 세포 활성화제와 접촉시키는 것을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 본원의 다른 곳에서 기술된, NKT 세포 활성화제, T 세포 활성화제 및/또는 NK 세포 활성화제로서 하나 이상의 사이토카인을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 본원의 다른 곳에서 기술된 하나 이상의 사이토카인을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 IL-2 및 IFN감마를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 IL-2, IFN감마 및 하나 이상의 사이토카인을 더 포함할 수 있다. 본 개시내용의 시험관내 방법은 본원의 다른 곳에 기술된 바와 같이 단리, 활성화, 확장, 핵산의 도입, 표적에 대한 유전공학, 종양 표적화 모이어티로의 연결 등의 단계를 더 포함할 수 있다. 본 개시내용의 시험관내 방법에 의해 생성된 세포 또는 세포들은 본원의 다른 곳에 기술된 바와 같이 NKT 유사 세포가 대상에게 투여되는 치료 방법뿐만 아니라 유도만능 줄기세포[iPSC]를 생성하는 방법에도 사용될 수 있다.

[0262] - - -

[0263] 또한 본 개시내용은 본원에 개시된 임의의 방법에 의해 생산되거나 동원된 단리된 NKT-유사 세포뿐만 아니라 본원에 개시된 임의의 방법에 의해 생산되거나 동원된 NKT-유사 세포의 단리된 집단을 제공한다. 또한 본원의 다른 곳에서 상세히 기술된 표면 단백질의 패턴을 특징으로 하는 NKT-유사 세포 및 단리된 NKT-유사 세포 집단, 및 본 개시내용의 치료 방법에서 이러한 세포의 용도가 제공된다.

[0264] **실시예**

[0265] 다음의 실시예는 고용량 글루코코르티코이드 수용체 작용제가 (호중구, 혈소판, RBC 및 줄기세포에 영향을 주지 않고) 말초 혈액 림프구의 거의 완전한 림프 제거를 유발하는 것 외에도, 인간 면역 체계 마우스[human immune system, HIS] 및 인간을 포함한 대상에서 신규한 NKT-유사 세포 집단의 생성 및 동원을 유도할 수 있음을 보여준다.

[0266] 이러한 실시예는 또한 NKT 세포의 공지된 특성을 나타내는 것 외에도, 고용량 글루코코르티코이드 수용체 효능제[agonist]에 의해 유도된 NKT-유사 세포 집단이 암세포를 직접 삼킴으로써 고형 암에 대해 향상된 세포 독성 효능을 나타낼 수 있는 표면 단백질 발현의 신규한 패턴을 가지고 있음을 보여준다.

[0267] 따라서 고용량의 글루코코르티코이드 효능제는 암 및 림프구와 같은 면역 세포에 의해 매개되는 질환의 치료에 사용하기 위한 유망한 치료법에 해당한다.

[0268] 약어

[0269] 용어:

[0270] ab 알파 베타(Alpha beta)

[0271] A20 마우스 B 림프종[mouse B lymphoma]

[0272] AVM_NKT CD56+gdTCR+invTCR+ 인간 세포

[0273] BM 골수[bone marrow]

[0274] CanMod 암 모델[Cancer Model]

[0275] CBC 전체 혈액 계수[Complete blood count]

[0276] CD 분화 클러스터[Cluster of differentiation]

[0277] CD19 B 림프구 마커[B lymphocyte marker]

[0278] CD3 T 림프구 마커[T lymphocyte marker]

[0279] CD4 헬퍼 T 림프구 마커[helper T lymphocyte marker]

[0280] CD45 백혈구 마커[white blood cell marker]

[0281] CD49b 마우스 자연 살해 마커[mouse Natural Killer marker]

[0282] CD56 인간 자연 살해 마커[human Natural Killer marker]

[0283] CD8 세포 독성 T 림프구 마커[cytotoxic T lymphocyte marker]

[0284] CNS 중추신경계[Central nervous system]

[0285] CR 완전 관해[complete response]

[0286] Cy/Flu 시클로포스파마이드/플루다라빈[cyclophosphamide/fludarabine]

[0287] DN 이중 음성[double negative]

[0288] DP 덱사메타손 포스페이트(Dexamethasone phosphate)

[0289] DOB 생년월일[Date of birth]

[0290] DOM 제조날짜[Date of manufacture]

[0291] DSP 덱사메타손 인산 소듐[Dexamethasone sodium phosphate]

[0292] FDA 미국 식품의약국[Food and Drug Administration]

[0293] FSC 전방 산란(세포 크기)[forward scatter (cell size)]

[0294] gd 감마 델타(Gamma Delta)

[0295] GMP 우수 제조관리 기준[Good Manufacturing practice]

[0296] GP 조부모[Grandparent]

[0297] hCD45 인간 CD45[human CD45]

[0298] HED 인간 등가 용량[Human equivalent dose]

[0299] Inv 불변[Invariant]

[0300] LyDep 림프구 제거 시험[Lymphodepletion Study]

[0301] mCD45 마우스CD45[mouse CD45]

[0302] MCL 외투세포 림프종[Mantle Cell Lymphoma]

[0303] MFI 평균 형광 강도[Mean fluorescence intensity]

[0304] Neoadj 신보조제[neoadjuvant]

[0305] NHL 비호지킨 림프종[Non-Hodgkin's Lymphoma]

[0306] NK 자연 살해 세포[Natural Killer cell]

[0307] NKT 자연 살해 T 세포[Natural Killer T cell]

[0308] NKT new AVM NKT 세포[AVM NKT cell]

[0309] NOD 비만이지 않은 당뇨병 마우스[nonobese-diabetic mouse]

[0310] PBS 인산염 완충 식염수[Phosphate buffered saline]

[0311] PFA 파라포름알데하이드[Paraformaldehyde]

[0312] PR 부분 관해[partial response]

[0313] R/R 재발성/불응성[relapsed/refractory]

[0314] SBIR 중소기업 혁신 연구[small business innovation research]

[0315] SD 안정적인 질환[stable disease]

[0316] SSC 측면 산란(세포 복잡도)[side scatter(cell complexity)]

[0317] TCRα/β T 세포 수용체 알파 베타[T cell receptor alpha beta]

[0318] TCRg/d T 세포 수용체 감마 델타[T cell receptor gamma delta]

[0319] TCRinv T 세포 수용체 비변이[T cell receptor invariant]

[0320] UC 탯줄[umbilical cord]

[0321] WBC 백혈구[white blood cell]

[0322] 재료 및 방법

[0323] 급성 고용량 덱사메타손은 본원에서 Dex, AugmenStem™, PlenaStem™ 또는 AVM0703으로도 지칭될 수 있다. 급성 고용량 덱사메타손(AVM0703) 투여 후 유도된 NKT-유사 세포의 신규한 집단은 또한 본원에서 NKT 세포 또는 AVM-NKT 세포로 지칭될 수 있다.

[0324] 초기 림프구 제거 시험을 위해, 비이환 C57Bl/6 마우스를 경구 위관 영양법으로 18 mg/kg HED DP로 처치하였다. 수컷 C57BL/6 마우스는 Taconic Bioscience(Germantown, NY)에서 구입하여 최소 1주일 동안 실험실 조건에 적응시켰다. 마우스에게 18 mg/kg 덱사메타손 포스페이트(Dexamethasone Phosphate, DP) 또는 위약을 경구로 1회 투여하고 시점까지 보관하였다. 각 투여 시점 집단은 표 3에 따라 동일한 연령 및 조건의 위약 집단이 수반되었다. 24시간, 48시간, 72시간, 5일, 7일, 11일, 13일의 시점에 GLP 등급 AVM0703 및 위약을 사용하여 투여하였다. 6시간, 21일, 28일, 35일의 시점에 GMP 등급 AVM0703 및 위약을 사용하여 투여하였다. 마우스가 시험 시점에 도달했을 때, 다음과 같이 안락사하였다. 마우스를 이소플루란 가스로 마취시켰다. 마취되면 심장 천자를 통해 혈액을 채취하고, 즉시 헤파린이 들어 있는 마이크로튜브에 넣었다. 복부 대동맥을 통한 역행 관류를 위해 5 U/mL의 헤파린/PBS 10 mL를 천천히 밀어 주입하여 혈관계에서 남아 있는 모든 혈액을 제거하는 데 사용하였다. 그 후, 250 uL의 혈액을 EDTA가 들어 있는 상단에 라벤더(lavender)색인 마이크로튜브로 옮기고 유세포 분석을 통한 분석을 위해 Flow Contract Site Labs의 Lynette Brown(Bothell, WA)에서 운반하였다. 잔여 혈액은 전체 혈액 계수 및 임상 화학 검사를 위해 Phoenix Labs(WA, Mukilteo)로 보냈다.

[0325] 인간에서 유도/동원된 NKT-유사 세포(AVM-NKT) 집단의 특성 분석을 위해 인간 대상으로부터 전혈을 K2 EDTA 진공채혈관(367862, BD Biosciences, NJ)로 채취하여 실온에서 AVM Biotechnology로 배송하였다. 100 μl의 전혈을 다음 항체로 염색하였다. CD45 AF700(2D1), CD16 APC(3G8), iNKT PECy7(6B11), CD8 PE(SK1), CD14 FITC(M5E2), CD56 BV650(5.1H11), γδTCR BV510(B1), CD19 BV421(HIB19), NKp44 APC(P44-8) (모두 Biolegend, San Diego, CA에서 구입) 및 CD3 APCVio770(BW264/56), (Miltenyi Biotec, San Jose, CA). 7-AAD(Biolegend, San Diego CA)는 살아있는 세포와 죽은 세포를 구별하기 위해 포함하였다. 항체 염색은 실온에서 15분 동안 수행하였다. 샘플에 존재하는 적혈구를 BD FACS lyse(BD Biosciences, San Diego CA)를 사용하여 실온에서 10분간 용해한 후 세척하고 300μl 1X DPBS CMF에 재현탁하였다. BloodWorks(Seattle, WA)의 건강한 환자 혈액, 염색되지 않은 형광 마이너스 원[luorescence minus one, FMO] 혈액을 대조군으로 포함하였다. 250 μl 샘플을 MACSQuant 16(일련번호 40150, Miltenyi Biotec, San Jose, CA) 유세포 분석기에서 분석하였다. 다양한 면역 집단에 대해 Kaluza 2.1(Beckman Coulter Lifesciences, Indianapolis, IN) 소프트웨어를 사용하여 데이터를 분석하였다. Kaluza가 분석한 유세포 분석에서 얻은 데이터를 결합하여 살아있는 CD45 림프구에서 게이트된 다양한 세포 집단을 결정하였다. CD3+ T 세포, CD8+ 세포 독성 T 세포, CD3+CD56+(NKT 세포) CD3-CD56+, CD3-CD56밝음(NK 세포) 및 CD3-CD19+(B 세포), CD3+ γδTCR+ 세포, CD3+ γδTCR 밝음 세포, CD3+iTCR+ 세포, 살아있는 WBC CD3-CD16밝음 과립구, 살아있는 WBC CD3-CD14+ 단핵구. 수는 % WBC 및 μl당 세포로 보고하였다.

[0326] 인간화 마우스 실험에서는 활성 약학 성분인 덱사메타손 나트륨 포스페이트를 함유한 AVM0703의 고농도, 대용량 제제를 사용하였다. AVM0703에는 26.23 mg/mL 덱사메타손 나트륨 포스페이트(24 mg/mL 덱사메타손 포스페이트, DP와 동일), 10 mg/mL 나트륨 시트레이트, 0.5 mg/mL 에데테이트 이나트륨 및 0.035 mg/mL 나트륨 술파이트(무수)가 포함된다. 본 시험에 사용된 AVM0703 재료는 GMP 등급이며 호주의 Hospira에서 제조되었다. 본 보고의 모든 AVM0703 투여 정보는 덱사메타손 포스페이트의 측면에서 참조된다. 암컷 huNOG-EXL 마우스(n=6)는 Taconic Biosciences(Germantown, NY)에서 구입하였다. 암컷 huCD34-NCG 마우스(n=8)는 Charles River(Wilmington, MA)에서 구입하였다. 모든 시설의 마우스를 적어도 5일 내지 6일 동안 실험실 조건에 적응시켰다.

[0327] 마우스에게 32 mg/kg 덱사메타손 포스페이트(DP) 또는 위약을 3회 경구 투여하고 시점까지 보관하였다. 첫 번째 투여(2021년 3월 1일) 및 1주 후 두 번째 투여(2021년 3월 8일) 후, 마우스가 사전에 정해진 시점에 도달했을

때 볼 천자를 통해 최대 70 uL의 혈액/마우스를 채혈하였다. 혈액은 유세포 분석을 통해 분석하였다. 앞선 투여 28일 후(2021년 4월 5일)인 세 번째 투여 후, 마우스가 시험 시점에 도달했을 때 여기에 요약된 표준 작업 절차에 따라 마우스를 안락사하였다. 마우스를 이소플루란 가스로 마취시켰다. 마취되면 심장 천자를 통해 혈액을 채취하고, 최소 300 uL의 혈액을 즉시 EDTA가 있는 마이크로튜브에 넣어 유세포 분석을 통해 분석하였으며, 300 내지 400 uL의 혈액을 표준 마이크로원심분리 튜브에 별도로 수집하여 혈청 수집을 위해 응고시켰다.

[0328] 복부 대동맥을 통한 역행 관류를 위해 5 U/mL의 헤파린/PBS 10 mL를 천천히 밀어 주입하여 혈관계에서 남아 있는 모든 혈액을 제거하는 데 사용하였다. 모든 마우스에 대해 비장, 흉선, 대퇴골 및 흉골을 채취하였다. 비장과 흉선을 유세포 분석기를 통한 분석을 위해 단일 세포 현탁액으로 처리하였다. 70% 에탄올에 적신 거즈를 사용하여 뼈에서 근육을 제거하고 골수를 처리하여 유세포 분석기를 통해 분석하였다. 췌장 및 결장 해부는 영상 및 지침 JoVE 파일에 따라 수행하였다. 22게이지 위관관을 사용하여 얼음처럼 차가운 PBS를 결장에 투여하여 대변을 배출하였다. 소장, 맹장, 신장, 폐, 간과 같은 다른 장기도 채취하였다. 모든 장기 중량은 외부에서 과도한 액체를 제거한 후 기록하였다. 연조직을 먼저 4% PFA에 고정한 다음 24시간 후에 70% 에탄올로 옮겨 4° C에 보관하였다. 뼈는 4° C의 70% 에탄올에 직접 보관하였다. 유세포 분석 및 혈청 수집을 위해 혈액을 처리하였다. CBC는 진행하지 않았다.

[0329] 유세포 분석은 내부에서 수행하였다. 혈액, 비장, 흉선 및 골수는 유세포 분석을 위한 표준 염색 프로토콜을 통해 처리하였다. MACSQUANT 16을 유세포 분석에 사용하였다. 항체 패널은 1차, 2차, 3차 투여 간에 경미하게 상이하였다. 첫 번째 투여 분석 후 흐름 패널의 마커에는 살아있는/죽은, hCD45, mCD45, hCD56, hTCRgd, hCD3, hCD8, hCD16, hCD19, hCD14를 포함하였다. 두 번째 투여 후 흐름 패널의 마커는 위의 모든 항목과 함께 hTCRab 및 hiTCR을 포함하였다. 두 번째 투여 후 혈액 분석에는 7AAD, CD14 및 CD19가 덤프 채널(dump channel)에 함께 포함되었다. 나중에 신규한 AVM-NKT가 고유한 CD19 및 CD14 발현 프로파일도 가질 수 있다는 사실이 발견되었다. 세 번째 투여량 패널 설계의 경우 전체 sac[full sac]을 수행할 때, 중복을 피하기 위해 전술한 모든 마커에 고유한 채널을 할당하였지만 TCRab은 개방형 채널 제한으로 인해 최종 패널에 포함되지 않았다.

[0330] 볼 출혈의 경우, EDTA 코팅된 마이크로테이너에 70 ul의 혈액을 채취하여 면역염색을 진행하였다. 패널에 사용된 항체는 마우스 CD45(클론: 30F-11), 인간 CD45(클론: 2D1); 인간 CD3(클론: HIT3a); 인간 CD8(클론: SK1); 인간 CD16(클론: 3G8); 인간 CD14(클론: M5E2); 인간 TCRgd(클론: B1); 인간 CD56(클론: 5.1H11); 인간 CD19(클론: HIB19)였다. 혈액을 실온에서 10분 동안 살아있는 죽은 마커에 대해 염색한 후, 전술한 표면 항체에 대해 실온에서 암실에서 20분 동안 염색하였다. RBC를 BD FACS 용해 완충액으로 용해하고 DPBS로 세척한 후 300 ul DBPS에 재현탁하였다. 250 ul의 샘플에 대해 MACSQuant 16 유세포 분석기에서 분석하였다.

[0331] <u>실시예 1 - 급성 고용량의 글루코코르티코이드 수용체 효능제[agonist]는 말초 혈액 림프구의 거의 완전한 림프 제거를 초래하지만 고유한 NKT 세포 집단을 유도한다</u>

[0332] 국제 특허 출원 PCT/US2019/054395에서 본 저자들은 고용량 글루코코르티코이드 수용체 작용제가 말초 혈액 림프구의 거의 완전한 림프 제거를 유발할 수 있을 뿐만 아니라, 림프 기관의 배중심 수를 감소시키고 흉선 림프구를 제거할 수 있음을 입증하는 일련의 실험을 보여주었다. 이러한 효과는 (조혈 줄기세포[hematopoietic stem cell, HSC] 및 중간엽 줄기세포[mesenchymal stem cell, MSC] 모두) 호중구, 혈소판, RBC 및 줄기세포의 세포 수에 실질적인 영향을 주지 않고 달성된다.

[0333] 비이환[naïve] 마우스를 대상으로 실시한 시험에 따르면, 고용량의 글루코코르티코이드 수용체 작용제를 투여할 경우, 호중구, 혈소판, 적혈구[red blood cell, RBC] 및 줄기세포(HSC 및 MSC 둘 다)의 세포 수에 실질적으로 영향을 주지 않으면서 말초 혈액 림프구가 거의 완전히 제거되는 것으로 나타났다. 흥미롭게도 고용량 글루코코르티코이드 수용체 효능제는 NKT 세포의 상향 조절을 유도하는 것으로 밝혀졌다.

[0334] 도 1에서 나타나듯이, 비이환 마우스에서 고용량 덱사메타손(18 mg/kg HED DP)은 위약과 비교하여 절대 림프구수(ALC - NK 및 NKT 세포)를 크게 감소시켰으며, 이 효과는 투여 후 최대 21일 동안 지속되었다. 투여 후 6시간 및 48시간에 거의 완전한 림프절제가 관찰되었으며, 이는 표준 Cy/Flu 화학요법(13 mg/kg HED 시클로포스파미드 및 0.8 mg/kg HED 플루다라빈)으로 달성된 것과 유사한 효과이다.

[0335] 비이환 마우스에서 고용량 덱사메타손은 T 및 B 림프구(표준 Cy/Flu 화학요법과 동등함, 도 2), 단핵구(Cy/Flu 화학요법보다 우수함, 도 3) 및 목표 임상 용량에서 림프구 제거 호중구를 선택적으로 제거한다(도 4). 호염기구(6시간 시점에만 감소), 호산구(24시간 및 48시간 시점에만 감소), 혈소판(도 5 참조) 및 RBC는 모두 절약되는 반면, HSC(그림 6) 및 MSC는 적게 감소하거나 증가하였다. (* $p < 0.05$; # $p < 0.0001$).

[0336] 놀랍게도, 급성 고용량 덱사메타손은 NKT 상향 조절(도 7) 및 NKT 세포의 신규 집단 생성(AVM-NKT) 역시 유도하는 것으로 나타났다. 유세포 분석으로 검사했을 때, 이 신규한 AVM-NKT 세포는 CD49b+ 및 CD3이 매우 밝았다(CD3높음CD49b+). 전술한 NKT 세포는 AVM-NKT 세포보다 1로그 낮은 MFI로 CD3을 발현한다(CD3보통CD49b+; 도 8). AVM-NKT 세포는 고용량(HED 18.1 mg/kg)의 글루코코르티코이드 수용체 작용제인 덱사메타손과 베타메타손을 투여한 후 48시간 후에 비이환 마우스의 혈액에 나타나지만 표준 Cy/Flu 화학요법으로는 유도되지 않는다.

[0337] 증량 시험에 따르면 6 내지 12 mg/kg HED 덱사메타손 염기의 단회 용량은 AVM-NKT 세포를 유도할 수 있다는 것을 보여준다. 15 mg/kg HED 덱사메타손 염기는 AVM-NKT 세포의 특히 강력한 생산을 유도하며, 0시에 6 mg/kg을 투여하고 24시간 후에 6 mg/kg을 투여하는 6+6 mg/kg HED 투여 일정 역시 마찬가지이다.

[0338] 실시예 2 - AVM-NKT 세포는 생체 내 T 및 B 림프 절제를 담당한다

[0339] 비이환 수컷 C57Bl/6 마우스의 말초 혈액 또는 단일 세포 비장세포의 단핵 세포를 생체내에서 달성되는 급성 고용량 AVM0703의 최고 혈액 농도와 동일한 농도의 AVM0703과 함께 배양하였다. 시험관내 말초혈액 단핵세포 또는 단일 세포 비장 세포에 AVM0703을 첨가한 후 72시간까지 세포사멸이 관찰되지 않았다. 말초혈액 단핵세포 또는 비장세포의 시험관내 세포 사멸이 없다는 것은 생체 내 림프 절제가 주로 AVM-NKT 세포의 유도에 기인함을 나타낸다.

[0340] 실시예 3 - AVM-NKT 세포는 종양 부위에 귀소한다

[0341] 예비 시험에서, 비이환 C57Bl/6 마우스는 고용량 덱사메타손으로 처치되었으며, 말초 혈액은 사전 결정된 시간 간격으로 유세포 분석으로 검사함으로써 다양한 면역 집단을 특성 분석하였다. 고용량 덱사메타손 처치 후, 두 개의 NKT 집단이 확인되었다. CD3보통CD49b+로 정의된 NKT 세포와 CD3높음CD49b+로 정의된 AVM-NKT의 신규한 집단(도 8).

[0342] 덱사메타손(AVM0703) 또는 베타메타손의 초약리학적 용량(HED 18.1 mg/kg)을 투여한 후 48시간 후에 AVM-NKT 세포가 비이환 마우스의 혈액에서 나타나는 것이 확인되었다. 반대로, 이들 세포는 표준 Cy/Flu 화학요법이나 메틸프레드니손에 의해서는 조금이라도 유도되지 않는다.

[0343] 도 9 및 표 2에 나타난 바와 같이, 정상 마우스에서 AVM-NKT 세포는 덱사메타손 투여 후 48시간 이내에 비장에서 유도되고, 덱사메타손 투여 후 48시간부터 말초 혈액에서 명백히 나타나며, 덱사메타손 투여 후 13일까지 혈류에서 명백하게 잔류한다. 위약 처치된 비이환 마우스의 비장에서는 AVM-NKT 세포가 검출되지 않는다. 시클로포스파마이드/플루다라빈 투여는 이 신규한 NKT 집단을 유도하지 않는다.

표 2. AVM0703 처리 여부에서 비이환 및 A20 마우스의 혈액, 비장 및 종양의 AVM-NKT 세포의 존재

AVM-NKT 세포의 존재	3 시간 혈액	3 시간 비장	3 시간 종양	48 시간 혈액	48 시간 비장	48 시간 종양
비이환 위약	ND	ND	NA	음성	음성	NA
비이환 AVM0703	ND	ND	NA	+++	양성	NA
A20 모델 위약	+	+++	+	음성	ND	+
A20 모델 AVM0703	++	----	++++	음성	ND	+++

NA: 해당 없음[not applicable]; ND: 진행하지 않음[not done]

[0344]

[0345] 질환이 없는 정상 마우스에서 관찰된 AVM-NKT 상향 조절의 시간 경과와는 대조적으로, A20 B 세포 림프종 종양을 갖는 마우스에서 AVM-NKT 세포를 정량화한 결과, AVM-NKT 세포가 말초 혈액에 존재하지 않는 것으로 나타났다. 대신, 종양이 있는 마우스에서 AVM-NKT 세포는 종양 부위에 있는 것으로 나타나는데, 덱사메타손 투여 후 48시간에 검사할 경우 이 부위에서 괴사가 증가한 것이 명백하다(도 10a). 추가 시간 경과 시험에 따르면, AVM-NKT 세포는 18 mg/kg HED 덱사메타손 포스페이트 투여 후 3시간 이내에 쥐의 옆구리에 이식된 A20 림프종을 최대로 제거하는 것으로 나타난 반면, 혈액 및 흉선으로의 A20 전이는 투여 후 24시간에 최대로 제거되고, 골수로의 A20 전이는 투여 후 48시간에 최대로 제거된다(도 10b).

[0346] 이에 따라 고용량 덱사메타손은 A20 모델에서 종양 성장을 유의하게 지연시키는 것으로 나타났다(도 11, 실시예

6). 시험관내에서 고용량 덱사메타손 처리 후 72시간 후에 A20 세포가 약 30%의 세포 사멸을 경험하기 때문에 AVM-NKT 세포가 종양 성장을 조절하는 역할을 하는 것으로 여겨진다.

[0347] 채취 시 세포 밀도가 1.8e7 세포/mL인 이백만 개의 A20 B 림프종 세포를 동일한 부피의 Matrigel(각각 100 ul)과 혼합하고 BALB/c 마우스의 왼쪽 옆구리에 피하 주사(총 200 ul 부피)하여 B 세포 림프종의 고형 종양 모델을 생성하였다. 종양이 확립된 후(약 7일 또는 약 100 내지 150 mm^3, 이는 잘 확립된 종양임), 마우스를 아래 투여표에 따라 처치하였다. 종양 부피는 일주일에 3번 캘리퍼스로 측정하였으며, 종양 부피는 방정식 V=L x W2 x 0.5을 사용하여 계산하였다. 또한 적절한 용량을 결정하기 위해 일주일에 3번, 투여일에 체중을 측정하였다. 마우스는 종양 부피가 1500 mm^3에 도달하거나 체중이 20% 이상 감소하면 시험 평가변수에 도달한 것으로 간주되었다. 마우스가 시험 평가변수에 도달했을 때, 다음과 같이 안락사하였다. 마우스를 이소플루란 가스로 마취시켰다. 마취되면 심장 천자를 통해 혈액을 채취한 후 5 U/mL 헤파린/PBS 10 Ml로 관류하였다. 마우스의 오른쪽 뒤쪽을 벗겨내어 오른쪽 옆구리에서 종양을 제거하였다. 피부를 펴서 고정한 후 스카펠로 가볍게 긁어 종양을 피부에서 분리하였다. 종양을 48시간 동안 고정한 후 70% 에탄올로 옮기고 4° C에서 카세트에 보관하였다. 단면화 및 염색을 위해 종양을 Histotox Labs(Bolder, CO)로 배송하였다. 종양의 NKT 세포를 NKp46 염색으로 확인하였다.

[0348] 실시예 4 - 혈액 암은 말초 혈액에서 AVM-NKT 세포의 농도를 증가시킨다

[0349] 로그 성장 단계에서 1 내지 5 M 림프종 세포를 꼬리 정맥에 주사함으로써 마우스에 T 또는 B 세포 림프종을 접종하였다. 6시간 내지 13일 후 마우스로부터 혈액을 채취하고, CD3가 매우 높고(T 림프구보다 최소 0.5 log 더 높은 MFI) CD49b 양성인 세포에 대한 유세포 분석 또는 NKp46에 대한 게이트에 의해 혈액 내 AVM-NKT 수를 측정한다. Matrigel에 싸여 옆구리에 sc 이식된 T 또는 B 림프종 세포와 같은 비이환 또는 고형 종양 마우스와 비교하여, 순환하는 T 또는 B 림프종 세포를 갖는 마우스는 말초 혈액에서 AVM-NKT의 수가 유의하게 증가하였다.

[0350] 실시예 5 - 비이환 Balb/c 마우스에 AVM0703을 약 29 mg/kg 이상(DP로 제공됨) 투여하고 48시간 후에 AVM-NKT가 골수 및 지방 조직에서 유도된다

[0351] Balb/c 마우스는 MHC 일배체형 'd'를 갖는다. H-2K는 *d* ($H\text{-}2K_d$)이다. H-2D는 *d* ($H\text{-}2D_d$)이다. H-2L은 *d* ($H\text{-}2L_d$)이다. Aαβ는 *d, d*이다. Eαβ는 *d, d*이다. Mls1은 *b*이다. Mls 2는 α이다. I-A는 *d* ($I\text{-}A_d$)이다. I-E는 *d* ($I\text{-}E_d$)이다. Qa-1는 *b* ($Qa\text{-}1_b$)이다. Qa-2는 α ($Qa\text{-}2_a$)이다.

[0352] C57Bl/6 마우스는 MHC 일배체형 'b'를 갖는다. H-2K는 *b* ($H\text{-}2K_b$)이다. H-2D는 *b* ($H\text{-}2D_b$)이다. H2-L는 해당하는 것이 없다. Aαβ는 *b, b*이다. Eαβ는 *b, b*이다. Mls1은 *b*이다. Mls 2는 b이다. I-A는 *b* ($I\text{-}A_b$)이다. I-E는 해당하는 것이 없다. Qa-1는 *b* ($Qa\text{-}1_b$)이다. Qa-2는 α ($Qa\text{-}2_a$)이다.

[0353] 비이환 Balb/c 마우스에서 유도된 AVM NKT는 비이환 C57Bl/6 마우스에서 유도된 말초 혈액 AVM-NKT와 유사하게 CD3 MFI가 높으며, 비이환 Balb/c 마우스에서 AVM-NKT는 TCR감마/델타 양성이다. 다수의 세포가 NKp46 음성으로, 활성화되지 않았음을 나타낸다. 본 실시예는 MHC 발현이 목표 기관을 측정할 수 있음을 보여준다.

[0354] MHC는 AVM_NKT 세포의 트래피킹(trafficking)을 조절할 수 있다. AVM_NKT 세포는 AVM0703 처치된 비이환 수컷 C57Bl6 마우스의 혈액에 존재한다. AVM_NKT 세포는 AVM0703 처치된 비이환 수컷 Balb/c 마우스의 지방 및 골수에 존재한다. AVM_NKT 세포는 Balb/c 마우스를 갖는 AVM0703 처치된 수컷 종양의 종양에 존재한다. 비이환 Balb/c 마우스의 신규한 NKT는 또한 tCRgd 양성, B220-, NKp46+/-, Ly6G-, CD4-, CD8-, CD3높음, MFI 10492, 및 CD49b+이다.

[0355] 실시예 6 - 급성 고용량 덱사메타손은 T 세포 및 B 세포 림프종에서 종양 사멸 효과가 있고, 자연적인 당뇨병 NOD 마우스에서 고혈당증을 예방 또는 지연시키며, 초기 발병 및 확립된 당뇨병 NOD 마우스에서 당뇨병을 역전시킨다

[0356] 고용량 덱사메타손은 A20 B 세포 림프종 종양 모델에서 종양 성장을 유의하게 지연시키는 것으로 나타났다(도 11). 후속의 일련의 실험(PCT/US2021/019773에 기술되어 있으며, 그 내용은 전체 내용이 참조로 여기에 포함됨)에서는 A20 B 세포 림프종 종양 모델과 T 세포 림프종의 이종이식 모델에서 급성 고용량 덱사메타손의 종양 사멸 효과를 확인하였으며(CCRF-CEM), 고용량 덱사메타손이 초기 발병 및 당뇨병 발병에서 고혈당증을 예방하고 당뇨병을 역전시키는 능력을 입증하였고, 당뇨병 NOD 마우스를 확립하였다.

표 3. 예시적인 투여 일정

시험	설계	AVM0703 용량(DP) mg/kg HED	투여 1	투여 2	투여 3	투여 4	투여 5	투여 6	투여 7	투여 8	투여 9
A20_1	반복	18	7	10	18	23	24	29	36	43	50
		평가변수 # 이후						1	3	1 저항?	
	1-10 의 완전한 피사는 상기와 같이 투여됨.										
	마우스 1-5 의 완전한 피사는 여기 나타낸 바와 같이 투여됨						X	X	X	X	X
A20-3	DRC	7, 18, 25	10	17	25	32	39	18&26 mg/kg 50-80% 피사			
	DRC 와 관련된 피사 DRC 및 CD3 표지를 역으로 확인함										
A20_4	콤보 CyF1u	18	1 AVM 1 AVM CyF1u	1 AVM 4 CyF1u CyF1u	AVM 67 AVM	7 4 CyF1u					
A20_5	DRC	18.22/25	15	31	38	45					
A20_7	AVM,APP,Mylan	18	9	16	23						
A20 은 B 림프종 마우스임											
CCRF-CEM	이종 인간 T 림프구	18	7	14	21	28	35	42	49	56	63
		종양 성장이 전혀 없음									
	DRC: 용량 반응 곡선[dose response curve]	용량은 종양 이식으로부터 며칠 후에 이루어짐									

[0357]

[0358] 실시예 7 - 급성 고용량의 덱사메타손으로 처치된 인간 대상에서 AVM-NKT 세포의 확인

[0359] 마우스에서 AVM-NKT 세포를 확인한 후, 고용량 덱사메타손으로 처치받은 인간 대상의 파일에 있는 데이터를 재분석하였다.

[0360] 골관절염 환자의 경우 문헌[Physician Practice of Medicine]의 지침에 따라 (Dr. Loniewski, Advanced Orthopaedic Specialists, Brighton, Mi에 의해) 3 내지 6 mg/kg의 일반 덱사메타손을 네 명의 환자에게 투여하였다.

[0361] 마우스에서 AVM_NKT를 최대로 유도하는 데 사용된 용량보다 6배 낮은 용량인 덱사메타손 용량으로 처치한 후 48시간 동안 채취한 환자 네 명의 유세포 분석 데이터를 검토하였다. 네 명의 환자 중 한 명의 CD45/CD56 산점도는 마우스에서 확인된 AVM-NKT 세포에 해당하는 신규한 세포 집단이 처치로부터 약 48시간에 나타났음을 보여준다(도 12).

[0362] 도 13에 나타낸 바와 같이, 네 번째 AVM0703 치료제를 6 mg/kg으로 주입하고 1시간 후 전립선암 환자에서 CD56가 매우 밝은 새로운 세포 집단이 관찰되었다. 전립선암 환자는 다년간의 암 치료 후 선택의 여지가 없는 환자였으며, 최소 28일 간격으로 총 4회의 AVM0703 주입을 받았다.

[0363] 건강한 혈액 공여자와 비교하여, 전립선암 환자는 AVM0703 1시간 후에 더 이상 나타나지 않는, 신규한 CD3 어두

움 집단의 증거가 있었다. 그러나 CD56가 매우 밝은 신규한 세포 집단은 주입 3시간 후 혈액에서 더 이상 관찰되지 않는 것이 분명하였다.

[0364] 건강한 혈액 공여자와 비교하여, 전립선암 환자는 주입 전 CD3 어두움 세포 집단과 NKp46어두움 세포 집단을 가지고 있었고, 6 mg/kg의 AVM0703 주입 1시간 후 환자는 CD45 어두움/음성이었으며, CD4/CD8이 이중 음성인, CD56가 매우 밝고 CD3가 어두운 신규한 집단을 가졌다.

[0365] 실시예 8 - 인간화 마우스에서 인간 AVM-NKT 세포의 생산 및 동원

[0366] 인간 제대혈 CD34+ 줄기세포를, 마우스 B 및 T 림프구와 NK 세포는 결여되어 있지만 기능적 마우스 보체 시스템을 갖는 방사선 조사된 마우스에 이식하여 생성된 Genoway의 Balb/c 배경의 BRGSF 인간화 마우스에 HED 18 내지 45 mg/kg DSP를 경구 투여한다. 24 내지 48시간 후, 비인간 마우스에서 확인된 AVM-NKT 세포에 해당하는 신규한 세포 집단을 관찰할 수 있다. 인간 CD56+ 세포는 약 36시간부터 13일 후까지 혈액에서 관찰할 수 있다.

[0367] *HuCD34-NCG 마우스 모델*

[0368] Charles River의 HuCD34-NCG 마우스는 CD34+ 줄기세포의 적응 전달을 통해 생성된, 인간과 유사한 면역 체계를 갖춘 연구용 마우스 모델이다. HuCD34-NCG 마우스는 인간 면역 체계를 조절하는 화합물의 효과를 평가하기 위한 이상적인 생체내 플랫폼이다. 인간화 마우스는 이식편대 숙주질환[GvHD]이 없거나 늦게 발병하기 때문에 장기간의 연구에 이상적이다.

[0369] NCG 마우스는 골수 절제 처치 후 인간 제대혈 유래 CD34+ 줄기세포를 사용한 적응 전달을 통해 인간화된다. 네 명의 공여자로부터 얻은 NCG 마우스(공여자당 n=2)에게 HED 18 내지 45 mg/kg DSP를 경구 투여한다. 24 내지 48시간 후 비인간 마우스에서 확인된 AVM-NKT 세포에 해당하는 세포를 전체 비장세포의 약 0.2 내지 3%로 유세포 분석으로 관찰할 수 있다. 인간 CD56+ 세포는 약 36시간부터 13일 후까지 혈액에서 관찰할 수 있다.

[0370] *huNOG-EXL 마우스 모델*

[0371] Taconic의 huNOG EXL은 평균 54%의 CD45 세포가 인간 CD45에 양성 반응을 보인다. 세 명의 공여자로부터 얻은 여섯 마리의 huNOG EXL 인간화 면역 시스템 마우스(공여자당 n=2)에게 HED 18 내지 45 mg/kg DSP를 경구 투여한다. 24 내지 48시간 후 비인간 마우스에서 확인된 AVM-NKT 세포에 해당하는 세포를 전체 비장세포의 약 0.2 내지 3%로 유세포 분석에 의해 관찰할 수 있다. 인간 CD56+ 세포는 약 36시간부터 13일 후까지 혈액에서 관찰할 수 있다.

[0372] 실시예 9 - 인간 대상에서 유도/동원된 AVM-NKT(NKT-유사 세포)의 특성 분석.

[0373] 전임상적으로 AVM0703 유도 AVM-NKT 세포는 특성이 규명되었으며, 마우스 흑색종, 마우스 B 림프종, 인간 이종이식 T 림프종 및 당뇨병에 대한 활성이 입증되었다.

[0374] AVM0703을 처치한 인간 암 환자로부터 혈액 샘플을 채취하고, 전술한 인간 전혈 표면 염색 프로토콜에 따라 세포를 특성 분석하였다. AVM0703는 γδ 자연 살해 T-유사 세포(CD56+ γδTCR+)의 생산 및 동원을 유도한다. 흥미롭게도, 동원된 NKT-유사 세포는 iTCR을 발현하는 것으로 밝혀졌다(도 14). 이러한 발견은 AVM0703 유도 세포가 암과 제1형 당뇨병 둘 다에 대해 활성을 갖는 반면, iNKT 및 γδT 세포는 일반적으로 하나의 질병에 대해서는 활성이 있지만 다른 질병에는 활성이 없는 이유를 설명할 수 있다. 동원된 세포는 일반적으로 CD16+ 및 NKp44+이기도 하다(도 14).

[0375] AVM0703 주입 및 투여 후 30분 이내에 CD56+γδTCR+(WBC의 1.64%) 세포가 전혈로 동원되었다. 이러한 세포는 모든 살아있는 백혈구[white blood cell, WBC]로부터 게이트되었다. 대표적인 대상에서 이러한 세포는 iNKT(신규한 세포의 약 96%), NKp44(신규한 세포의 약 97%), CD8 어두움/-(신규한 세포의 약 98%), CD19+(신규한 세포의 85%), CD16+(신규한 세포의 86%), CD14+(신규한 세포의 67%)에 대해서도 양성이었다. 여기에 보고된 수치는 % CD56+ γδTCR+이다. CD56+γδTCR+iTCR+ 세포는 또한 CD3, CD45를 발현하고 어떤 경우에는 CD4를 발현하지 않는 것으로 밝혀졌다. 일부 CD56+γδTCR+iTCR+ 세포도 αβTCR을 발현하는 것으로 밝혀졌다.

[0376] 실시예 10 - AVM-NKT 세포는 단리 및 확장된 후 세포 치료 전에 환자의 전처치에 사용된다.

[0377] 자가 또는 동종이계 AVM-NKT 세포를 세포치료제가 투여되기 6 내지 96시간 전에 환자에게 IV 또는 IP로 투여한다. 세포치료제는 재생 목적, 암 치료, 자가면역질환 치료, 감염 치료 또는 세포 치료가 필요한 기타 의학적 병태 치료를 위한 것일 수 있다.

[0378] 실시예 11 - AVM-NKT는 종양 용해 증후군을 유발한다

[0379] AVM-NKT는 종양을 표적으로 삼고, 사방에서 마치 군대처럼 종양에 침입하는 공격 세포 무리를 형성한다. 종양 용해 증후군이 발생하고, 마우스는 치료할 수 없으며, 사망을 초래할 수 있다. 종양 용해 증후군의 임상적 화학 지표, 예컨대 요산이 상승한다. 종양을 육안검사하면 종양 막에 싸인 슬러지 같은 기름이 보인다.

[0380] 실시예 12 - AVM-NKT 세포는 환자의 암 치료 또는 기타 심각한 의학적 치료를 준비하는 데 사용된다

[0381] 자가 또는 동종이계 AVM-NKT 세포를 화학 요법, 세포 치료, 장기 또는 골수 이식과 같은 의학적 치료를 받을 수 없는 수행 상태의 환자에게 IV 또는 IP로 투여한다. 환자의 수행 상태가 개선되어 의학적 치료를 받을 수 있게 된다.

[0382] 실시예 13 - AVM-NKT 세포는 종양의 유사 진행을 유발한다

[0383] AVM-NKT 세포가 처치된 종양은 계속하여 성장하는 것으로 보이지만, 그 성장은 종양의 유사 진행이며, 이는 AVM-NKT 세포가 사이토카인 및 케모카인의 방출을 통해 또는 다른 면역 세포의 직접적인 참여를 통해 종양으로 끌어들이는 다른 면역세포에 기인한다. 결국 종양은 완전히 무세포화되어 재흡수된다.

[0384] 실시예 14 - AVM-NKT 세포는 모든 유형의 암, 이식편대 숙주질환, 자가면역 또는 면역요법의 면역 관련 이상 사례를 치료하는 데 사용된다

[0385] AVM-NKT 세포는 혈액암과 고형암, 섬유종 종양, 양성 종양, 자가반응성 T 및 B 림프구가 모이는 곳이자 표적이 된다.

[0386] 실시예 15 - AVM-NKT 세포는 급성 고용량 덱사메타손으로 처치된 인간 R/R NHL 대상 및 급성 고용량 덱사메타손으로 처치된 인간화 마우스에서 검출된다

[0387] 요약

[0388] 인간 R/R NHL 임상시험 환자에서 이중특이적 감마 델타 TCR+ 및 불변 TCR+ 세포는 AVM0703을 6mg/kg 내지 18mg/kg으로 투여한 후 30 내지 60분 이내에 혈액으로 동원된다. 이 신규한 유도된 면역 세포는 병원체가 없는 환경에서 건강한 마우스의 혈액에서는 전혀 나타나지 않거나 (병원체가 있는 환경의) 건강한 인간 공여자의 혈액에서는 어느 정도까지 나타나지 않으나, 암 환경에서는 환자들은 기준선에서 CD56(자연 살해 세포 마커) 역시 발현하는 신규한 이중특이적 세포를 낮은 수준으로 발현하였다. 따라서, 해당 세포는 감마 델타 TCR+ 불변 TCR+ 이중특이적 자연 살해 T-유사 세포이다.

[0389] 저자들은 암이 존재하는 환경이 이러한 세포의 유도를 유도할 수 있지만, 이러한 세포들이 AVM0703 투여 이후까지 혈액 내로 최대로 동원되지는 않는다는 가설을 세웠는데, 이는 마우스 A20 림프종 모델에서 나타난 결과와 유사하다(도 11, 실시예 3 및 6). CNS 편평세포암종을 앓고 있는 한 특수적[compassionate] 사용 환자의 경우, 좌측 뇌의 CNS 종양 부위에 국소적인 피부가 붉게 변하는 것을 특징으로 하는 면역 침윤이 18 mg/kg AVM0703 주입을 시작한 후 30분 이내에 관찰되었다(데이터는 나타내지 않음)

[0390] 흥미롭게도 이러한 CD56+ γδTCR+iTCR+ 세포의 존재는 R/R NHL 임상시험 환자의 임상 반응과 관련이 있다. 기준선에서 또는 AVM0703 투여 후 이러한 세포의 증거가 없었던 유일한 환자(108-004)는 AVM0703 이후 객관적이고 임상적인 유익한 반응을 나타내지 않은 유일한 환자였다.

[0391] 마우스에서 AVM0703은 덱사메타손 포스페이트로 계산하여 인간 등가 용량[HED]인 18 mg/kg(덱사메타손 포스페이트로 계산)을 투여할 때, 비장, 골수 및 흉선에서 CD3가 높은 세포의 생성 및 비장에서 혈액으로의 세포 동원을 유도하며, A20 세포가 옆구리, 골수, 비장, 흉선 또는 혈액에 주입된 고형 종양에 있는지 여부에 관계없이 A20 마우스 B 세포 림프종을 향한다. 가장 신속하고 일차적인 동원은 A20을 사멸시키는 최대 효과가 투여 후 약 3시간에 관찰되는 종양에 대한 것이다.

[0392] 비이환 마우스는 검사된 어떤 기관에서도 일반적으로 이러한 세포를 발현하지 않는다. 마우스의 다양한 종은 AVM0703에 반응하여 이러한 세포를 유도하고 동원하는 민감도가 상이하고, 종양 환경 자체가 비장에서 이러한 세포의 생성을 유도할 수 있지만, 세포의 최적화된 동원 및 종양 표적화를 위해서는 AVM0703이 필요하다.

[0393] 인간 림프 구획을 갖는 Charles River와 Taconic에서 구입한 인간화 마우스 역시 AVM0703 투여 후 hCD45+ CD56+ γδTCR+ invTCR+ 세포를 동원한다.

[0394] AVM0703 R/R NHL 임상시험 환자의 인간 데이터 요약

[0395] **101-001** (6 mg/kg): CD56+ γδTCR+는 주입 전 혈액에 낮은 수준으로 존재하며 6 mg/kg AVM0703 주입 1시간 후 모든 CD45+ 세포의 1.6%(76 세포/uL 혈액)에서 3.48%(165 세포/uL 혈액)로 증가한다. 해당 세포는 또한 invTCR+이며, 이 환자의 경우 invTCR 및 αβTCR 발현에 대한 히스토그램으로 게이트될 때 CD56+ γδTCR+ 세포는 αβTCR+이기도 하다. 크기와 복잡도로 인해, 이들은 주로 큰 과립형 림프구 유사 세포이다(FSC vs SSC 플롯에서 빨간색 점으로 표시됨, 도 15).

[0396] CD56+ WBC를 X축에 γδTCR, Y축에 invTCR이 있는 산점도로 게이트하는 다른 게이트 접근 방식을 사용할 경우, CD56+γδTCR+iTCR+ 삼중 양성 세포가 주입 전 0.15%(7 세포/uL), 주입 후 1시간에 0.24%(11.4 세포/uL)로 WBC에 존재한다. 이러한 세포는 주입 후 3일차에는 분명하지 않고, 이는 세포가 종양 부위로 귀소하는 것을 암시하며, 14일차에는 전체 WBC의 1.74%이다(78.7세포/uL). 이 환자는 28일 PET/CT까지 종양 발적 및 안정적 질환[stable disease, SD]의 증거를 보였다. 이들 데이터는 도 16에 나타내었으며, % GP 게이트(GP는 WBC임)과 함께 아래 표 4에 요약하였다.

표 4. 101-001 CD56+γδTCR+invTCR+ 특성

	총 WBC 의 CD56+ γδTCR+ iTCR+ %	CD56+ γδTCR+ iTCR+ 세포/uL	아래는 CD56+γδTCR+iTCR+ 세포의 %임					
			CD19+	TCR αβ	CD8 보통	CD8 높음	CD3	CD45
주입 전	0.15	7	55	99	84		56	99
1 시간	0.24	11.4	54	100	86		39	99
3 일차	0.00							
14 일차	1.74	78.7	22	99	94		99	99.5

[0397]

[0398] **103-002** (6 mg/kg): CD56+ γδTCR+ 세포는 주입 전 높았고(모든 CD45+ 세포의 9.3%, 735 세포/uL 혈액) 주입 후 1시간 동안 혈액에서 감소하였다(모든 CD45+ 세포의 6.54%, 517 세포/uL 혈액). 이 환자는 PET/CT 28일차까지 종양 발적 및 PR의 증거가 있었기 때문에 이는 AVM-NKT가 AVM0703 주입 후 종양을 표적화했음을 시사한다. 이 환자의 세포는 모두 이중특이적이지 않으며, CD56+ γδTCR+ 세포 중 약 10%만이 invTCR을 공동 발현한다. 이 환자는 또한 CD8 MFI가 높은 세포를 포함하여 더 높은 수준의 CD8을 발현하였다.

[0399] CD56+ WBC를 X축에 γδTCR, Y축에 invTCR이 있는 분산형 그래프로 게이트하는 다른 게이트 접근 방식을 사용하여, CD56+γδTCR+iTCR+ 삼중 양성 세포를 측정하고 특성 분석된 마커를 발현하였다. 3일차에는 CD56+γδTCR+iTCR+ 세포의 4%를 제외하고 어떤 세포에서도 CD19가 염색되지 않았지만, 림프구 집단은 FCS 대 SSC에 의해 자명하였고 60%만이 흐름에 의해 CD3 양성이었다. 이러한 데이터는 도 17에 나타내었으며, 아래 표 5에 요약하였다.

표 5. 103-002 CD56+γδTCR+invTCR+ 특성

	총 WBC 의 CD56+ γδTCR+ iTCR+ %	CD56+ γδTCR+ iTCR+ 세포/uL	아래는 CD56+γδTCR+iTCR+ 세포의 %임					
			CD19+	TCR αβ	CD8 중간	CD8 높음	CD3	CD45
주입 전	1.13	89.3	0.91	72	4.6	3.9	5.6	81
1 시간	0.83	65.6	0.78	79	2.9	2.6	4.2	92
3 일차	1.99	366.2	4.2	54	30	2	67	17
14 일차	0.42	27	1.76	78	70	2.4	31.5	98

[0400]

[0401] **103-005** (9 mg/kg): 기준선 CD56+γδTCR+ 세포는 CD45+ 세포의 2.7%였으며 모두 invTCR에 대해 이중특이적이었다(도 18 왼쪽 위). αβTCR은 이 흐름 패널에 포함되지 않았다. 이들은 대부분 CD8 음성이었지만 95%는 CD14 양성이었고 60%는 CD16 양성이었으며 이는 활성화된 상태를 나타낸다. 13%는 CD19 양성이었다.

[0402] 9 mg/kg AVM0703 투여 1시간 후(도 18 오른쪽 위), CD56+γδTCR+ 세포는 CD45+ 세포의 0.21%로 감소했으며, 이 환자는 28일 PET/CT까지 종양 발적 및 PR의 증거를 보였으므로 이는 AVM-NKT 세포가 CD45+ 세포의 종양 부위

를 표적으로 삼았음을 시사한다.

[0403] CD56+ WBC를 X축에 γδTCR, Y축에 invTCR이 있는 분산형 그래프로 게이트하는 다른 게이트 접근 방식을 사용하여, CD56+γδTCR+iTCR+ 삼중 양성 세포를 측정하고 특성 분석된 마커를 발현하였다. 1주 이내에 PI에 의해 임상 반응이 확인되고, 28일차 PET/CT까지 PR이 있었던 이 환자는 9 mg/kg AVM0703 주입으로부터 1시간 후에 혈액 내에서 높은 세포 수준이 급격히 감소하여 종양 귀소를 시사하였다. 이러한 데이터는 도 18에 나타내었으며, 아래 표 7에 요약하였다.

표 7. 103-005 CD56+γδTCR+invTCR+ 특성

	총 WBC 의 CD56+ γδTCR+ iTCR+ %	CD56+ γδTCR+ iTCR+ 세포/uL	아래는 CD56+γδTCR+iTCR+ 세포의 %임						
			CD19+	CD14+	CD8 보통	CD8 높음	CD16	CD3	CD45
주입 전	13.89	347.3	8	76	4	2	67	30	98
1 시간	0.87	21.8	33.9	76	17		66	6	99
3 일차	2.67	82.8	28	8	15		84	10	63
14 일차	0.66	22.4	99	81	16		37	66	84

[0404]

[0405] **103-006** (9 mg/kg): 기준선 CD56+γδTCR+ 세포는 CD45+의 3.84%였다. αβTCR 및 invTCR은 이 흐름 패널에 포함되지 않았다. CD56+γδTCR+ 세포는 또한 CD16, CD34 및 ICAM3에 대해 양성이었고(ICAM3 MFI는 760명의 건강한 대조군 MFI와 비교하여 294였다), 42%는 NKp44에 대해 양성이었다. 이들은 대부분 CD8 음성이었지만 95%는 CD14 양성이었고 20%는 CD16 양성이었으며 이는 활성화된 상태를 나타낸다. 13%는 CD19 양성이었다.

[0406] 9 mg/kg AVM0703 CD56+γδTCR+ 투여로부터 1시간 후 세포는 25%만이 NKp44+인 것을 제외하고는 혈액 내 갯수나 발현이 변화하지 않았다. ICAM3 MFI에는 변화가 없었다. 3일차에 CD56+γδTCR+ 세포는 전체 WBC의 2.2%였고, 92%는 CD16을 발현하였으며, 19%는 NKp44를 발현하였고, ICAM3 MFI는 240이었다. 14일차에 CD56+γδTCR+ 세포는 전체 WBC의 2.2%였고, 92%는 CD16을 발현하였으며, 19%는 NKp44를 발현하였고, ICAM3 MFI는 240이었다. 14일차에 CD56+γδTCR+ 세포는 전체 백혈구의 0.11%에 불과하였다.

[0407] **108-001** (9 mg/kg): AVM0703 주입으로부터 1시간 후, 혈액 내 CD56+γδTCR+iTCR+ 세포는 기준선에서 최대 20배 증가하였고(5.8 내지 112 세포/uL), 3일차에도 상승된 상태를 유지하였다(36 세포/uL). 본 환자는 AVM0703 주입 후 3일차에 시력 회복과 함께 유의한 임상 반응을 보였다. 흥미롭게도 이 환자의 기준선이나 특정 시점에는 CD19+ 림프구가 거의 존재하지 않았다. 첫 번째 주입 후 CD56+γδTCR+iTCR+ 유세포 분석 특성 분석은 도 19에 나타내었으며, 아래 표 8에 요약하였다. αβTCR은 이 흐름 패널에 포함되지 않았다.

표 8. 108-001 1 회차 주입 CD56+γδTCR+invTCR+ 특성

	총 WBC 의 CD56+ γδTCR+ iTCR+ %	CD56+ γδTCR+ iTCR+ 세포/uL	아래는 CD56+γδTCR+iTCR+ 세포의 %임						
			CD19+	CD14+	CD8 보통	CD8 높음	CD16	CD3	CD45
주입 전	0.05	5.8							
1 시간	0.72	112	11.3	35	11	1	90	4	96
3 일차	0.22	36.0	24	50	16	2	80	24	98
14 일차	0.06	3							

[0408]

[0409] 9mg/kg AVM0703을 두 번째 주입하고 1시간 후의 또는 기준선에서의 AVM_NKT CD56+γδTCR+iTCR+ 세포는 3일차에는 열 배 증가하였다. 이 환자는 명확하지 않은 CNS 고형 종양에 대한 지속적인 반응을 보였으며, 두 번째 9 mg/kg 주입 후 CSF 모세포가 40% 감소하였다. 데이터를 아래 표 9에 요약하였다.

표 9. 108-001 2회차 주입 CD56+γδTCR+invTCR+ 특성

	총 WBC 의 CD56+ γδTCR+ iTCR+ %	CD56+ γδTCR+ iTCR+ 세포/uL	아래는 CD56+γδTCR+iTCR+ 세포의 %임						
			CD19+	CD14+	CD8 보통	CD8 높음	CD16	CD3	CD45
주입 전	0.98	31	29	85	6	2	80	17	13
1시간	0.84	26	26	81	4.4	2.2	89	23	13
3일차	0.19	10.2	17	35	55	1	58	49	11
14일차	0.43	20	28	76	20	4	82	22	84

[0410]

[0411] AVM_NKT CD56+γδTCR+iTCR+ 세포는 세 번째 9 mg/kg AVM0703 주입 후 혈액에서 뚜렷하지 않았는데, 이는 세 번째 주입에 대한 환자 반응의 상실과 일치한다.

[0412] **108-003** (12 mg/kg): 환자 108-003의 CD56+γδTCR+iTCR+ 세포에 대한 데이터는 도 20에 나타내고 아래 표 10에 요약하였다.

표 10. 108-003 CD56+γδTCR+invTCR+ 특성

	총 WBC 의 CD56+ γδTCR+ iTCR+ %	CD56+ γδTCR+ iTCR+ 세포/uL	아래는 CD56+γδTCR+iTCR+ 세포의 %임						
			CD19+	CD14+	CD8 보통	CD8 높음	CD16	CD3	CD45
주입 전	0.3	23.9	40	54	21	4	70	20	96
1시간	0.4	31.8	40	43	9	1.7	85	14	95
3일차	0.6	58.4	11.5	68	45	12.6	75	80	67
14일차	0.83	94	12.4	87	84	8	89	90	94

[0413]

[0414] **108-004** (12 mg/kg): 주입 전 CD56+γδTCR+invTCR+ 세포는 전체 세포의 0.09%이다(4.6세포/uL). AVM0703 주입으로부터 1시간, 3일 또는 14일 후에 증가하지 않았다. 흥미롭게도, 환자 108-004는 PET/CT, 임상 화학, CBC 또는 임상 증상으로 측정할 때 객관적인 유익한 반응을 보이지 않은 유일한 환자이다. 도 21에 나타낸 바와 같이, 108-004는 CD56+γδTCR+invTCR+ 세포를 동원하지 않았다.

[0415] **108-002** (18 mg/kg): 모든 WBC의 2.8%(163.2세포/uL)는 기준선에서 CD56+γδTCR+iTCR+였으며, 이는 1시간 시점에 AVM0703 18 mg/kg을 주입한 후 변화하지 않았다. 3일차에 이 새로운 세포는 혈액 내에서 0.04%로 감소했는데, 이는 마우스 모델에서 관찰된 바와 같이 종양의 추적을 시사하며, 14일차에는 혈액 내에서 2.12%로 돌아왔다. 환자 108-002는 PET/CT에 의한 SD로 지속적인 PR이 있었으며, 2021년 8월 30일 투여일 이후 생존하였다. 데이터는 도 22에 나타내었으며, 아래 표 11에 요약하였다.

표 11. 108-002 CD56+γδTCR+invTCR+ 특성

	총 WBC 의 CD56+ γδTCR + iTCR+ %	CD56+ γδTCR + iTCR+ 세포/uL	아래는 CD56+γδTCR+iTCR+ 세포의 %임						
			CD19+	CD14+	CD8 중간	CD8 높음	CD16	CD3	CD45
주입 전	0.71	53.3	97	86	18	82	57	80	100
1 시간	0.66	49.5	98	79	12.3	88	87	83.2	100
3 일차	0.04	2.3							
14 일차	0.25	9.7	80	80	16.5	73	41.2	72	84

[0416]

[0417] 용량 증량 AVM-NKT 및 임상 및 PET/CT 반응과의 연관성 요약

[0418] R/R NHL에 대한 AVM0703의 요약, 용량 증량 단계는 아래 표 12에 나타내었다. 2022년 7월 15일 기준; 12명의 환자에게 투여함; 평균 5.6개의 이전 차수(12건 중 7건이 HSCT 또는 CarT에 실패함). 유세포 분석법을 사용하여 측정했을 때 새로운 AVM-NKT의 증거가 없는 유일한 환자 역시 치료에 반응하지 않았다(108-004). 새로운 AVM-NKT 세포의 증거가 있는 모든 환자는 SD/PR/CR의 임상적 및/또는 PET/CT 반응을 보였다.

[0419] 추가적인 항암 요법

AVM0703 단일요법 (X# 주입)	6 mg/kg			9 mg/kg		12 mg/kg			18 mg/kg		
	101-001 (X1)	103-002 (X1)	103-004 (X1)	108-001 (X3)	103-005 (X1)	103-006 (X1)	108-003 (X2)	108-004 (X1)	103-007 (X1)	108-002 (X1)	103-008 (X1)	103-009 (X1)
진단	B-ALL	PTCL	T-ALL	CNS B-ALL	MCL	DLBCL	AITCL	DLBCL	MCL	PTCL	DLBCL	DLBCL
이전 차수에서 과하게 전처치됨	5 + 2 동종 HSCT+ 6 XRT	4 + 자가 HSCT	5	5 + 1 XRT	9 + CarT	2 + 1 XRT	1 + 자가 HSCT	2 + CarT	1 + Splx + 1 XRT	4	8 + CarT	3 + HSCT + CarT
첫 번째 AVM0703 로부터의 생존율(개월)	4.8	7	2.7	> 11.8 진행 중	8.3	> 12.6 진행 중	> 10.2 진행 중	> 8 진행 중	> 7.6 진행 중	> 10.3 진행 중	> 2.1 진행 중	NE
루가노(Lugano) 증심부 28 일차	SD	PR	PR	ND	PR	ND	PD	PD	ND	PR/SD	ND/NE	
객관적인 임상 반응				A			B		C		D	
CD56+gdTCR+ inv TCR+ 세포의 유도	예	예	예	예	예	NE	예	아니오	NE	예	NE	NE
+ 추가적인 항암 치료법	+2	+3	없음	+2 + CarT	+1 + CarT	CarT+1 CR	+2+CarT SD	+2 SD	+2 CR	없음	없음	없음

[0420]

(차수의 수, 반응 및 치료법의 세부사항)												
	특수적인 사용 프로그램 AVM0703 18 mg/kg	베네토클락스 + 로미델신		HD MTX	IGM 임상시 혈	티사겐렉류셀+ IL-7	ICE				
		시스플라틴 - 젬시타빈		IT AraC			로미뎁신	PBR	R-GEMOX + 아칼라브루티닙		
	빈크리스틴	벨다무스틴		브렉사카브타진 오토류셀	CarT	폴라투주맙 + 모수네투주맙	CarT	론카톡시맙 테시린	리툭시맙		
생존률(개월)	*4.8*	*7*	*2.7*	**> 11.8**	*8.3*	**> 12.6**	**> 10.2**	**> 8**	**> 7.6**	**> 10.3**	**> 2.1**

ND 진행하지 않음[not done] NE 평가 불가능함/평가되지 않음[not evaluable/not evaluated yet] CR 완전 관해[complete remission] PR 부분 관해[partial response] SD 안정적인 질환[stable disease] PD 진행성 질환[progressive disease] XRT 방사선 단독요법[radiation monotherapy] Splx 비장절제[splenectomy]

객관적인 임상 반응: A 3 개월 시력 회복 B 인두염 및 국소적인 루가노 28 일 SD C 림프구 증가 및 헤모글로빈 증가 D MRI 촬영 시 부종/염증 뇌간 종양 증가

CR: 추가 항암치료 후 2/10 평가 가능 PR: 단독요법으로 4/10 평가 가능 SD: 단독요법으로 2/10 평가 가능 오직 임상적 반응: 2/11 평가 가능

CR+PR+SD+임상 반응 = 평가 가능한 환자 11 명 중 10 명

[0421]

[0422] 건강한 인간 대조군 혈액 공여자의 데이터 요약

[0423] 건강한 대조군 혈액 공여자에서: CD56+γδTCR+ 세포는 일반적으로 존재하지 않는다. 존재하는 소수의 세포는 일반적으로 invTCR을 공동발현하며, CD14 및 CD16에 대해서도 양성이다. 전체 CD56+ WBC로부터의 γδTCR+iTCR+ 세포의 산점도는 12명의 건강한 혈액 공여자에 대해 도 23에 나타낸다.

[0424] 혈액에서 어느 정도 낮은 수준을 나타내는 건강한 공여자에 대한 CD56+γδTCR+iTCR+ 마커 발현을 아래 표 13에 나타내었다. 발현된 마커는 R/R NHL 환자의 혈액에서 이들 세포에 의해 발현된 마커와 일치하며, 우리는 이러한 '건강한' 혈액 공여자가 실제로 감염 또는, 병원체가 없는 환경에서 사육된 위약 마우스에서는 전혀 볼 수 없는 세포의 생성을 유도하는 기타 무증상 문제를 가질 수 있다고 가설을 세웠다. 이들 세포 특성이 건강한 혈액 공여자에서 존재할 경우, 이는 AVM0703-001 시험 환자의 세포의 특성과 다르지 않다. 게이트된 % GP는 표에 나열된 %이다(GP는 WBC이다).

표 13. 외관상 건강한 혈액 공여자의 CD56+γδTCR+invTCR+ 세포 특성

건강한 공여자:	총 WBC 의 CD56+ γδTCR+ iTCR+ %	아래는 CD56+γδTCR+iTCR+ 세포의 %임						
		CD19+	TCRαβ	CD8 보통	CD8 높음	CD16	CD3	CD45
103-004 D0	0.77	100	100	82	17		99	100
103-002 D3	0.73	50	46	40	9		54	74
103-005 D0	2.43	29	11	22	0	85	14	57

[0425]

[0426] 인간화 마우스 실험 LYDEP 43 및 45의 데이터 요약

[0427] 갓 태어난 마우스에 방사선을 조사하고 탯줄[umbilical cord, UC] CD34+ 세포를 생착하여 부분적으로 인간 혈액 세포를 가진 마우스에서, 처치된 마우스를 동일한 인간 UC 혈액 CD34+ 공여자로부터 유래된 위약 마우스와 비교할 때, AVM0703으로 치료받은 비이환 마우스와 인간 환자에서 관찰된 세포와 유사한 새로운 인간 면역 세포는 AVM0703 치료 후 혈액에서 증가한다. 1주 후에 마우스에 재투여했을 때, 위약을 투여한 마우스에 비해 더 많은 수의 마우스에서 hCD45+ CD56+ TCRγδ+ 인간 면역 세포가 증가하였다. 이 인간화 마우스에는 쥐와 인간의 골수 세포가 결여되어 있으며, 흥미롭게도, AVM0703 이후에는 인간과 쥐의 골수 세포를 모두 생성하기 시작하였다. 추가적으로, 세 번째 AVM0703 투여 후 인간화 마우스는 hCD45+mCD45+ 이중 양성 세포를 가지게 되었다.

[0428] 암컷 huNOG-EXL 마우스(n=6)는 Taconic Biosciences(Germantown, NY)에서 구입하였다. 암컷 huCD34-NCG 마우스(n=8)는 Charles River(Wilmington, MA)에서 구입하였다. 모든 시설의 마우스를 적어도 5일 내지 6일 동안 실험실 조건에 적응시켰다.

[0429] 마우스에게 32 mg/kg 덱사메타손 포스페이트(DP) 또는 위약을 3회 경구 투여하고 시점까지 보관하였다. 첫 번째 투여(2021년 3월 1일) 및 1주 후 두 번째 투여(2021년 3월 8일) 후, 마우스가 사전에 정해진 시점에 도달했을 때 볼 천자를 통해 최대 70 uL의 혈액/마우스를 채혈하였다. 혈액은 유세포 분석을 통해 분석하였다.

[0430] 앞선 투여 28일 후(2021년 4월 5일)인 세 번째 투여 후, 마우스가 48 또는 60시간의 시험 시점에 도달했을 때 표준 작업 절차에 따라 마우스를 안락사하였다.

[0431] 시험된 암컷 인간화 마우스는 총 여섯 명의 서로 다른 제대혈 공여자와 두 개의 서로 다른 공급업체의 것이었다. AVM0703에 대한 반응은 두 공급업체와 6명의 모든 공여자에서 일관적이었으며, 아래에 요약하였다. AVM0703은 인간 CD56+γδTCR+invTCR+ 면역 세포의 발현 및 동원을 유도하였으며, 골수 구획이 거의 없는 마우스에서 골수 세포 생산 역시 유도하였다.

표 14. 인간화 마우스 공급업체 및 제대혈 공여자

공급업체	공여자	위약 처치	AVM0703 처치
CRL-NCG	1		M1 M2
	2		M3 M4
	3		M5 M6
	4		M7 M8
Taconic-NOG-EXL	1	M12	M10 M11
	2	M90	M88 M89

[0432]

[0433] Taconic에서 구입한 인간화 마우스는 AVM0703의 첫 번째 투여 후 Charles River에서 구입한 마우스보다 더 많은 수의 hCD45+CD56+γδTCR+ 세포를 동원하였다. invTCR에 대한 마커는 두 번째 투여에 대해 수행된 흐름 패널에 포함하였지만 첫 번째 투여에는 포함하지 않았다. 그러나 재투여 시 Charles River의 마우스는 첫 번째 투여 후보다 더 많은 수의 hCD45+CD56+γδTCR+invTCR+ 세포를 동원한 반면, Taconic의 마우스는 재투여 시 위약과 비교하여 동일한 동원을 보였다.

표 15. 인간화 마우스 공급업체, 치료제, AVM_NKT 세포

공급업체	마우스	치료법	hCD45+(CD56+gdTCR+)	hCD45+(CD56+gdTCR+ inTCR+)
CR	1	AVM0703 72 시간	1.1%	2.3%
CR	2	AVM0703 96 시간	4.4%	30.7%
CR	3	AVM0703 72 시간	1.6%	3.5%
CR	4	AVM0703 96 시간	1.4%	47.5%
CR	5	AVM0703 72 시간	4.7%	4.4%
CR	6	AVM0703 96 시간	1.1%	24.1%
CR	7	AVM0703 72 시간	6.3%	1.8%
CR	8	AVM0703 96 시간	0.4%	50%
Tac	10	AVM0703 72 시간	10.5%	0.7%
Tac	11	AVM0703 96 시간	11%	22.6%
Tac	12	위약 72 시간	7.1%	0.8%
Tac	88	AVM0703 72 시간	3.4 %	0.7%
Tac	89	AVM0703 96 시간	0.6 %	41.9 %
Tac	90	위약 96 시간	4.0 %	20 %

[0434]

[0435] 인간 환자와 유사하게, AVM0703은 인간화 마우스에서 CD56+ TCRγδ+ invTCR+ 이중특이적 면역 세포 동원을 유도한다. 도 24에 나타나듯이, AVM0703은 CD16+인 CD56+ TCRγδ+ 세포(hCD45+ 세포의 12%)를 유도하였으며, 이는 활성화된 상태를 시사한다(마우스 10 Taconic NOG-EXL). 도 25 및 26에 나타낸 바와 같이, > 18 mg/kg AVM0703 HED는 hCD45+ 세포의 2 내지 12%에서 이중특이적 면역 세포 동원을 유도한다. 도 27 및 28에 나타낸 바와 같이, AVM0703은 인간화 마우스에서 γδTCR+invTCR+ 이중특이적 활성화 CD56+ 골수 세포를 유도하는데, 이는 인간 환자로부터의 데이터와 관계 있다. 인간 CD45+ CD56+ 세포의 60% 이상이 TCRγδ 및 불변 TCR에 대해 이중특이적이었고, CD16 양성이었으며, 이는 활성화된 상태를 지시한다. AVM0703 32 mg/kg HED의 세 번째 반복 투여 후 48 내지 60시간 후에 골수를 분석하였다.

[0436] 도 29 및 30은 AVM0703의 첫 번째(도 29) 및 두 번째(도 30) 투여 후 인간화 마우스에 대한 FSC 대 SSC를 나타낸다. Charles River와 Taconic은 마우스에 골수성 구획이 없다고 보고하였지만, AVM0703을 투여한 후 마우스는 인간과 마우스의 골수 세포를 모두 만들기 시작하였다. 두 마리의 위약 마우스(도 29 및 30 위 플롯; 위약 마우스 M12 왼쪽 위, 위약 마우스 M90 오른쪽 위) 및 AVM0703 처치 마우스(도 29 및 30 아래 플롯; 마우스 M88)에 대한 산점도를 나타낸다. 마우스 88은 AVM0703 처치된 인간화 마우스 12마리 모두에서 골수 세포가 가장 먼저 증가하였다. 평균적으로, 위약 처치된 마우스는 림프 세포인 전체 마우스 백혈구의 12.7%를 가졌고, AVM0703 처치된 마우스는 림프 세포인 전체 마우스 백혈구의 10.62%를 가졌다(2% 내지 20.4% 범위).

[0437] 마우스가 호중구를 포함하는 골수 세포를 만들기 시작한다는 이러한 관찰은 AVM0703 이후 건강한 활성 호중구를 생성하기 시작한 독일의 특수한 사용 환자의 보고와 일치한다. 이 18세 남성은 AVM0703으로 치료받기 6년 전의 첫 번째 화학요법 주기 이후 호중구를 생성하지 않았다. 마찬가지로, R/R NHL에 대한 AVM0703-001 시험의 인간 환자는 모두 호중구 증가의 일부 증거를 보여준다.

[0438] 도 31 내지 33은 인간화 마우스가 주로 인간 림프 세포를 가지고 있음을 나타낸다. 이러한 도면은 위약 처치된 마우스에서 림프 세포 대 골수 세포의 기원을 관찰하는 또 다른 방법을 나타내며, 소수의 골수 세포는 대부분 마우스 기원인 반면 대다수의 림프 세포는 인간 기원임을 다시금 입증한다. 이러한 유세포 분석 샘플에는 유의한 잔여물이 있었으며, 이는 게이트되지 않은 hCD45 대 mCD45 산점도의 많은 지점이 인간과 마우스 CD45 모두에 대해 음성인 이유이다.

[0439] 도 31은 위약 처치된 마우스에서 림프구가 대부분 인간 CD45+이고(도 31 위) 소수의 골수 세포가 대부분 mCD45+임을 나타낸다(도 31 아래). 도 32 내지 33은 AVM0703 투여가 인간화 마우스에서 골수 세포 생산을 유도한다는 것을 나타낸다. mCD45+ 세포(왼쪽 위) 및 hCD45+ 세포(오른쪽 위)에 게이트된 FSC 대 SSC와 hCD45+ 대 mCD45+ 세포(아래)의 산점도를 나타낸다. 도 32는 위약 마우스 M12의 데이터를 나타내되, 마우스 림프구는 전체 마우스 WBC의 13%이다(도 32 왼쪽 위). 인간 림프구는 전체 인간 백혈구의 60%이다(도 32 오른쪽 위). 전체 림프구는 전체 백혈구의 45%이다. 도 33는 위약 마우스 M90의 데이터를 나타내되, 마우스 림프구는 전체 마우스 WBC의 12.5%이다(도 33 왼쪽 위). 인간 림프구는 전체 인간 백혈구의 31.5%이다(도 33 오른쪽 위). 전체 림프구는 전체 백혈구의 30%이다.

[0440] 도 34 내지 39은 AVM0703 투여가 인간화 마우스에서 골수 세포 생산을 유도한다는 것을 나타낸다. 이는 AVM0703의 첫 번째 투여 후 AVM0703 처치된 마우스에 대한 유세포 분석 산점도를 나타낸다. 산점도에서 림프구는 원으로 표시되는 반면, 골수성 세포는 SSC가 더 높고 림프구 위에 표시된다. 이러한 FSC 대 SSC 산점도는 위약에 비해 마우스 기원의 골수 세포 수가 훨씬 더 많다(왼쪽 위)는 것을 보여주며, 이는 AVM0703 투여가 인간 임상 시험 환자 및 특수적 사용 환자에서 관찰된 바와 같이 골수 생성을 유도한다는 것을 시사한다. 림프 집단은 주로 hCD45+ 기원으로 남아 있다(오른쪽 위). 인간 CD45+ 세포가 mCD45+ 세포 수의 약 두 배인, 위약 처치한 인간화 마우스와 비교하여, AVM0703 처치된 인간화 마우스는 마우스 CD45+ 세포와 인간 CD45+ 세포 수가 거의 동일하다(아래).

[0441] 도 34는 AVM0703 처치한 마우스 M88의 데이터를 나타내되, 마우스 림프구는 전체 마우스 WBC의 오직 5.7%이다(도 34 왼쪽 위). 인간 림프구는 전체 인간 백혈구의 58%이다(도 34 오른쪽 위). 전체 림프구는 전체 백혈구의 32%이다. 도 35는 AVM0703 처치한 마우스 M01의 데이터를 나타내되, 마우스 림프구는 전체 마우스 WBC의 오직 6.7%이다(도 35 왼쪽 위). 인간 림프구는 전체 인간 백혈구의 67%이다(도 35 오른쪽 위). 전체 림프구는 전체 백혈구의 35%이다. 도 36는 AVM0703 처치한 마우스 M03의 데이터를 나타내되, 마우스 림프구는 전체 마우스 WBC의 오직 23.7%이다(도 36 왼쪽 위). 인간 림프구는 전체 인간 백혈구의 47%이다(도 36 오른쪽 위). 전체 림프구는 전체 백혈구의 40%이다. 도 37는 AVM0703 처치한 마우스 M05의 데이터를 나타내되, 마우스 림프구는 전체 마우스 WBC의 오직 2.0%이다(도 37 왼쪽 위). 인간 림프구는 전체 인간 백혈구의 50.1%이다(도 37 오른쪽 위). 전체 림프구는 전체 백혈구의 20.9%이다. 도 38는 AVM0703 처치한 마우스 M07의 데이터를 나타내되, 마우스 림프구는 전체 마우스 WBC의 오직 20.4%이다(도 38 왼쪽 위). 인간 림프구는 전체 인간 백혈구의 58.2%이다(도 38 오른쪽 위). 전체 림프구는 전체 백혈구의 41.9%이다. 도 39는 AVM0703 처치한 마우스 M10의 데이터를 나타내되, 마우스 림프구는 전체 마우스 WBC의 오직 5.2%이다(도 39 왼쪽 위). 인간 림프구는 전체 인간 백혈구의 37.5%이다(도 39 오른쪽 위). 전체 림프구는 전체 백혈구의 28.1%이다.

[0442] 실시예 16 - AVM0703 유도된 후 입양 전달된 면역 세포의 생체내 항암 활성

[0443] 비장, 혈액 및 골수로 전이된 MOPC315 다발성 골수종 세포를 옆구리에 주입한 마우스에 생체내 활성화된 면역 세포를 입양 전달[adoptively transferred, ACT]하였다. AVM0703은 단리된 후 입양 전달된 이중특이적 γδ TCR+ invTCR+ NKT-유사 세포를 유도하는 데 사용하였을 뿐만 아니라, AVM0703이 시클로포스파미드/플루다라빈(cyclophosphamide/fludarabine, Cy/Flu)과 같은 세포 독성 전처치 요법을 대체할 수 있는지 여부를 결정하기 위한 전처치제로도 사용하였다. 예상한 바와 같이, AVM0703 처치된 마우스의 ACT 세포의 통계적으로 유의한 효과를 위해서는 전처치가 필요하였다. AVM0703으로 전처치된 마우스는 받은 ACT 세포 외에도 자신의 새로운 내인성 면역 세포를 동원한다.

[0444] AVM0703 처치된 마우스의 ACT 세포는 AVM0703으로 전처치된 마우스의 종양(도 40 왼쪽 위)과 비장(도 40 오른쪽 위)에서 살아있는 MOPC315 세포의 총 수를 유의하게 감소시켰다. 또한, 감소가 통계적으로 유의하지는 않았지만, AVM0703을 사용한 전처치에 이어 위약 처치된 마우스의 세포에 대한 ACT는 살아있는 MOPC315 세포가 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 MOPC315 접종된 마우스에서 내인성 이중특이적 NKT 유사 세포를 유도/동원시키는 AVM0703 전처치의 능력에 기반하여 예상하였다. 결과는 통계적으로 유의하지 않았지만 AVM0703 전처치 후 ACT는 혈액(도 40 왼쪽 아래) 및 골수(도 40 오른쪽 아래)에서도 혈액에서 살아있는 MOPC315가 감소하는 경향을

나타내었다. 본 MOPC315 시험은 NCI SBIR 보조금 1R43CA246896-01A1의 지원을 받았다.

[0445] 실시예 17 - 덱사메타손과 같은 고용량 글루코코르티코이드는 낮은 친화도 수소 결합을 통해 ICAM3에 결합하며, 이는 본 발명의 신규한 NKT-유사 세포의 유도 및/또는 동원을 매개할 수 있다

[0446] 본 저자들은 또한 고용량 투여 후, 글루코코르티코이드 분자가 예를 들어, WO 2021 247473에 기술된 ICAM3와 같은 세포간 접착 분자에 결합하고 차단할 수 있음을 발견하였다. 덱사메타손과 ICAM3 사이의 상호작용에 대한 분자 모델링은 덱사메타손의 수소 분자와 ICAM3의 SER31 잔기, 덱사메타손의 산소 분자와 ICAM3의 MET49 잔기 사이의 상호작용을 포함하여, 이들 사이의 상호작용은 낮은 친화도의 수소 결합을 통해 이루어진다는 것을 예측한다. ICAM3과 다수의 다른 리간드 사이의 상호작용에 대한 분자 모델링은 다음을 예측한다. 작용성 항체가 소수성 주머니[pocket]에서 ICAM3에 결합하고 잔기 THR38, LEU40, LEU56, VAL59 및 ILE65와 상호작용한다. 항ICAM3 항체 ICR 8.1은 잔기 PHE21, VAL22, GLU32, LYS33, TRP51 및 ALA52와 상호작용하고 인테그린 림프구 기능 관련 항원 1(LFA-1)은 SER25, ASN23, GLU37, PHE54 및 GLN75의 잔기와 상호작용한다.

[0447] 저자들은 본 발명의 신규한 NKT 유사 세포의 유도 및/또는 동원이 글루코코르티코이드 수용체 독립적인 작용 기전에서 ICAM3과 글루코코르티코이드 사이의 이러한 상호작용에 의해 매개될 수 있다고 여긴다.

[0448] 도 41에 나타낸 바와 같이, 외투세포 림프종 환자(환자 103-007)에게 12 mg/kg AVM0703 주입 후, AVM0703 투여로부터 4 내지 7일 후에 증가된 림프구가 정상 림프구 수준으로 감소했는데, 이는 AVM0703 면역 활성화가 암세포를 우선적으로 인식하고 림프구, 단핵구, 혈소판 및 RBC를 포함한 정상 혈액세포를 보존한다는 것을 시사한다(도 42). 적혈구 용적률과 헤모글로빈도 적게 감소되었으며, 실제로 R/R MCL 환자에게 9 mg/kg AVM0703 주입 후 헤모글로빈이 임상적으로 유의하게 증가하였다. AVM0703에 대한 반응으로 림프구 감소증의 부재는 글루코코르티코이드 수용체[glucocorticoid receptor, GCR] 독립적인 작용 기전을 뒷받침한다. 마찬가지로, 혈소판에 대한 효과가 없는 점과 증가한 호중구 역시 GCR 독립적인 작용 기전을 뒷받침한다.

[0449] 농도-반응 곡선은 막관통 GCR에 결합하는 것으로 알려진 농도(10 nM 내지 100 uM)에서 단리된 마우스 비장 세포 및 전혈에 대한 덱사메타손 염기의 예상되는 세포자멸사 효과를 보여 주지만, 농도가 100 uM 이상(이는 도 43에 나타낸 바와 같이, 약 2.8mg/kg 인간 등가 용량[HED]의 생체 내 등가 혈액 농도 최고점이다)으로 증가함에 따라 세포자멸사가 감소하는 이상[biphasic] 곡선이 관찰된다. 이상[Biphasic] 반응 곡선은 케모카인(문헌[Olsen I, J Immunol Methods. 2013 Apr 30;390(1-2):106-12; Florini J R, Am J Physiol. 1986 May;250(5 Pt 1):C771-8]) 및 성장 인자(문헌[Parris, Dose Response. 2015 May 20;13(2): dose-response.14-020; Kanodia J, Cell Commun Signal. 2014 May 15;12:34])에 대해 잘 기술되며 수용체 둔감화/내입 또는 새롭게 낮은 친화도(문헌[Olsen, 2013; Florini, 1986])이지만 매우 조밀한 수용체가 인자를 흡수함에 따라 친화도가 더 높지만 접근하기 어려운 수용체에 결합할 수 없는 결과인 것으로 나타났다(문헌[Kanodia, 2014; Koledova Z, Front Cell Dev Biol. 2019 Dec 12;7:331]).

[0450] 마찬가지로, R/R NHL 환자의 AVM0703-001 용량 증량 단계에서 WBC, 림프구, 혈소판 및 RBC는 6mg/kg 내지 18mg/kg의 용량에서 제거되지 않았다. WBC, 혈소판, 단핵구, 림프구 및 비장 세포는 GCR알파를 발현하는 것으로 알려져 있으며, 이는 1 nM 내지 10 uM의 덱사메타손 염기 농도에서 이들 세포 집단에 나타나는 효과와 일치한다. 이상[bi-phasic] CRC는 친화력은 낮지만 밀도가 매우 높은 비-GCR 수용체가 높은 농도로 흡수하여 GCR의 결합과 활성화를 방지한다는 것을 시사한다(문헌[Kanodia, 2014]). GCR을 발현하지 않는 RBC는 어떤 농도에서도 생체 외 덱사메타손 염기에 반응하지 않았다(데이터는 나타내지 않음). ICAM3은 문헌 및 인간 프로테옴 데이터베이스 검색을 통해 덱사메타손 초약리학적 농도에 대한 잠재적인 저친화성 수용체로 식별하였으며, 두 명의 독립적 컨설턴트가 수행한 분자 도킹 시험을 통해 확인하였다.

[0451] ICAM3은 덱사메타손 결합 후에 떨어져 나오는 것으로 보고되었으며(문헌[Juan M, 1999]), 저자들은 이 결합이 초약리학적 용량에서 공유 결합하여 AVM0703이 GCR에 결합하는 것을 방지하고 AVM0703이 표면적으로 제거되면서 GCR 활성화가 PK 분석의 혈액에서 관찰되지 않는 이유를 설명한다고 가정하였다. 떨어져 나온 ICAM3에 공유 결합된 AVM0703은 혈액의 혈장/혈청 분획에서 발견되고, 결합된 AVM0703은 LC-MS/MS 분석 중에 ICAM3에서 방출되지만, GCR에 결합하고 활성화하는 것을 방지하였다. 대안적으로, AVM0703의 구조는 ICAM3 결합 후에 변형되어 혈액에 유리되더라도 더 이상 GCR에 결합할 수 없다.

[0452] **참고 문헌**

[0453] 본 발명과 본 발명이 속하는 최신 기술을 더욱 완전하게 기술하고 개시하기 위해 다수의 간행물을 앞서 인용하였다. 각 참고 문헌은 전체 내용이 참조 자료로 여기에 포함된다. 이러한 참고 문헌에 대한 전체 인용은 아래와

같다.

[0454] Tarazona, Raquel & Peralbo, E. & Casado, Javier & Pena, Jose & Solana, Rafael. Human NKT cells in health and disease. Inmunologia. 2003; 22Watarai H, Nakagawa R., Omori-Miyake M, Dashtsoodol N, & Taniguchi M. Methods for detection, isolation and culture of mouse and human invariant NKT cells. Nat Protoc. 2008; 3, 70-78.

[0455] Wolf BJ, Choi JE, & Exley MA. Novel Approaches to Exploiting Invariant NKT Cells in Cancer Immunotherapy. Frontiers in immunology. 2018; 9, 384Nair S, & Dhodapkar MV. Natural Killer T Cells in Cancer Immunotherapy. Frontiers in immunology. 2017; 8, 1178

[0456] Lodisch M. B. Clinical review: kinase inhibitors: adverse effects related to the endocrine system. The Journal of clinical endocrinology and metabolism. 2013; 98(4), 1333-1342

[0457] Bhullar, KS, Lagarón NO, McGowan EM. et al. Kinase-targeted cancer therapies: progress, challenges and future directions. Mol Cancer. 2018; 17, 48

[0458] Mato AR, Thompson M, Allan JN, Brander DM, Pagel JM, Ujjani CS, Nabhan C. Real-world outcomes and management strategies for venetoclax-treated chronic lymphocytic leukemia patients in the United States. Haematologica. 2018; 103(9), 1511-1517

[0459] Kadri S, Lee J, Fitzpatrick C, Galanina, N, Sukhanova, M, Venkataraman, G, Wang YL. Clonal evolution underlying leukemia progression and Richter transformation in patients with ibrutinib-relapsed CLL. Blood advances. 2017; 1(12), 715-727

[0460] Mato AR, Nabhan C, Barr PM, Ujjani CS, Hill BT, Lamanna N, Skarbnik AP, Howlett C, Pu JJ, Sehgal AR, Strelec LE, Vandegrift A, Fitzpatrick DM, Zent CS, Feldman T, Goy A, Claxton DF, Bachow SH, Kaur G0, Svoboda J, Nasta SD, Porter D, Landsburg DJ, Schuster SJ, Cheson BD, Kiselev P, Evens AM. Outcomes of CLL patients treated with sequential kinase inhibitor therapy: a real world experience. Blood. 2016; 128(18):2199-2205

[0461] Barrett AJ, & Battiwalla M. Relapse after allogeneic stem cell transplantation. Expert review of hematology. 2010; 3(4), 429-441

[0462] Nie Y, Lu W, Chen D, Tu H, Guo Z, Zhou X, Li M, Tu S, Li Y. Mechanisms underlying CD19-positive ALL relapse after anti-CD19 CAR T cell therapy and associated strategies. Biomark Res. 2020 May 27;8(1). /pmc/articles/PMC725465

[0463] Gill S, Brudno J.CAR T-Cell Therapy in Hematologic Malignancies:Clinical Role, Toxicity, and Unanswered Questions. Am Soc Clin Oncol Educ book Am Soc Clin Oncol Annu Meet. 2021 Jun;41(41):e246-65. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33989023/

[0464] Stadtfeld et al, Science. 2008 Nov 7;322(5903):945-9

[0465] Okita et al, Science. 2008 Nov 7;322(5903):949-53

[0466] Bowles et al, Dev Biol. 2000 Nov 15;227(2):239-55.

[0467] Chambers et al, Cell. 2003 May 30;113(5):643-55.

[0468] Moss & Tang, 2003, Dev Biol. 2003 Jun 15;258(2):432-42.

[0469] Shiina et al, Immunology 2016; 150:127-138

[0470] Nakamura et al 2019 Int. J. Mol. Sci 20:4544

[0471] Kaczmarek et al 2017 Arch. Immunol. Ther. Exp. 65:201-214

[0472] WO 2018/183927

[0473] Zheng et al; Cell Mol Immunol. 2013 Jan;10(1):50-7.

[0474] Gogoi et al; Indian J Med Res. 2013 Nov; 138(5): 755-761.

[0475] Dong et al; Front Immunol. 2018 Dec 4;9:2812.

[0476] Zhao et al, 2018; J Immunol Res. 2018 Jul 10;2018:5

[0477] Pauza et al, 2018; Front Immunol. 2018; 9: 1305.

[0478] Himoudi et al, 2012; J Immunol. 2012 Feb 15;188(4):1708-16

[0479] **개시에 대한 진술**

[0480] 본 개시의 양태를 개괄하는, 다음의 번호가 매겨진 진술은 발명의 상세한 설명의 일부이다.

[0481] *인간 면역 시스템 NKT-유사 세포(AVM-NKT 세포)를 생산하는 방법*

[0482] 101. 자연 살해 T 세포-유사 세포(NKT-유사 세포)의 집단을 생산 및/또는 동원하는 방법으로서, 방법은 대상에게 덱사메타손 염기의 적어도 약 6 mg/kg의 인간 등가 용량[human equivalent dose, HED]과 동등한 용량으로 글루코코르티코이드 수용체[glucocorticoid-receptor, GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제를 투여하는 단계를 포함하되,

[0483] 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제는 대상에서 NKT-유사 세포의 집단을 유도하고/하거나 조절하는, 방법.

[0484] *세포 마커 발현*

[0485] 102. 진술 101에 있어서, 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가

[0486] i) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR 알파/베타, CD34 및/또는 ICAM3을 발현하고/하거나,

[0487] ii) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, 및/또는 TCR 알파/베타를 발현하고/하거나,

[0488] iii) CD4를 발현하지 않는, 방법.

[0489] 103. 진술 102에 있어서, 세포는

[0490] (i) TCR 감마/델타, 및 iTCR;

[0491] (ii) CD56, TCR 감마/델타, 및 iTCR;

[0492] (iii) CD45, TCR 감마/델타, 및 iTCR;

[0493] (iv) CD45, CD56, TCR 감마/델타, 및 iTCR;

[0494] (vi) TCR 감마/델타, iTCR, 및 TCR 알파/베타;

[0495] (vii) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, 및 TCR 알파/베타;

[0496] (viii) CD45, TCR 감마/델타, iTCR, 및 TCR 알파/베타;

[0497] (ix) CD45, CD56, TCR 감마/델타, iTCR, 및 TCR 알파/베타;

[0498] (x) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, 및 CD16;

[0499] (xi) CD45, TCR 감마/델타, iTCR, 및 CD16;

[0500] (xii) CD16 및 NKp44;

[0501] (xiii) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, 및 NKp44;

[0502] (xiv) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, 및 TCR 알파/베타;

[0503] (xv) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, 및 TCR 알파/베타;

[0504] (xvi) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD8, CD14, 및 CD19;

[0505] (xvii) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, 및 CD45; 또는

[0506] (viii) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, 및 TCR 알파/베타를 발현하는, 방법.

[0507] 104. 진술 102 내지 103 중 어느 하나에 있어서, 세포는 CD4를 발현하지 않는, 방법.

[0508] 105. 진술 102 내지 104 중 어느 하나에 있어서, 세포는

[0509] i) CD3+/어두움;

[0510] ii) CD8+/어두움;

[0511] iii) CD3+/어두움 및 CD8+/어두움이되,

[0512] 임의로, 발현 수준은 공통 공급원에서 유래된 참조 세포 집단의 평균 발현 수준에 비례하여 결정되고, 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제와 접촉되지 않은, 방법.

[0513] 106. 진술 102 내지 105 중 어느 하나에 있어서, 발현은 유세포 분석법에 의해 측정되고, 임의로. 유세포 분석은 본원에 기술된 장비, 시약 및/또는 조건을 (단독 또는 조합으로) 사용하여 수행되는, 방법.

[0514] *글루코코르티코이드*

[0515] 107. 진술 101 내지 106 중 어느 하나에 있어서, 글루코코르티코이드 수용체[GR] 조절제 또는 ICAM3 조절제는 글루코코르티코이드이되, 임의로, 글루코코르티코이드는 덱사메타손, 히드로코르티손, 메틸프레드니솔론, 프레드니손, 프레드니솔론, 프레드닐리덴, 코르티손, 부데소니드, 베타메타손, 플루메타손 및 베클로메타손으로 이루어진 군에서 선택되는, 방법.

[0516] 108. 진술 107에 있어서, 글루코코르티코이드는 덱사메타손, 베타메타손, 및 메틸프레드니솔론으로 이루어진 군에서 선택되고, 바람직하게는 글루코코르티코이드는 덱사메타손 또는 베타메타손인, 방법.

[0517] 109. 진술 107 내지 108 중 어느 하나에 있어서, 글루코코르티코이드는 덱사메타손 염기, 덱사메타손 나트륨 포스페이트, 덱사메타손 헤미숙시네이트, 덱사메타손 나트륨 숙시네이트, 덱사메타손 숙시네이트, 덱사메타손 이소니코티네이트, 덱사메타손-21-아세테이트, 덱사메타손 포스페이트, 덱사메타손-21-포스페이트, 덱사메타손 테부테이트, 덱사메타손-17-발레레이트, 덱사메타손 아세테이트 일수화물, 덱사메타손 피발레이트, 덱사메타손 팔미테이트, 덱사메타손-21-팔미테이트, 덱사메타손 디프로피오네이트, 덱사메타손 프로피오네이트, 덱사메타손 아세테이트 무수물, 덱사메타손-21-페닐프로피오네이트, 덱사메타손-21-술포벤조에이트, 덱사메타손 헤모-술페이트, 덱사메타손 술페이트, 덱사메타손 벨록실, 덱사메타손산, 덱사메타손 아세퓨레이트, 덱사메타손 카르복시미드, 덱사메타손 시페실레이트, 덱사메타손 21-포스페이트 이나트륨염, 덱사메타손 메실레이트, 덱사메타손 리놀레이트, 덱사메타손 글루코시드, 덱사메타손 글루쿠로니드, 덱사메타손 요오드아세테이트, 덱사메타손 옥세타논, 카르복시메틸티오-덱사메타손, 덱사메타손비스에톡심, 덱사메타손 에폭시드, 덱사메타손리놀레레이데이트, 덱사메타손 메틸오르쏘발레레이트, 덱사메타손 스페르민, 6-히드록시 덱사메타손, 덱사메타손 트리부틸아세테이트, 덱사메타손 아스파르트산, 덱사메타손 갈락토피라노스, 덱사메타손 염산염, 히드록시 덱사메타손, 카르복시 덱사메타손, 데스옥시 덱사메타손, 덱사메타손 부타존, 덱사메타손 시클로덱스트린, 디히드로 덱사메타손, 옥소 덱사메타손, 프로피오닐옥시 덱사메타손, 덱사메타손 갈락토다이, 덱사메타손 이소니코티네이트, 덱사메타손 인산수소나트륨, 덱사메타손 알데히드, 덱사메타손 피블레이트, 덱사메타손 트리데실레이트, 덱사메타손 크로토네이트, 덱사메타손 메탄술포네이트, 덱사메타손 부틸아세테이트, 데히드로 덱사메타손, 덱사메타손 이소티오시아나토에틸 티오에테르, 덱사메타손 브로모아세테이트, 덱사메타손 헤미글루타레이트, 데옥시 덱사메타손, 덱사메타손 클로람부실레이트, 덱사메타손 멜팔라네이트, 포르밀옥시 덱사메타손, 덱사메타손 부티레이트, 덱사메타손 라우레이트, 덱사메타손 아세테이트, 및 덱사메타손 형태를 함유하는 임의의 조합 치료제로 이루어진 군에서 선택되는, 방법.

[0518] 110. 진술 109에 있어서, 덱사메타손은 덱사메타손 나트륨 포스페이트인, 방법.

[0519] *글루코코르티코이드 투여*

[0520] 111. 진술 101 내지 110 중 어느 하나에 있어서, 글루코코르티코이드는

[0521] i) 덱사메타손 염기의 적어도 약 6 내지 12 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

[0522] ii) 덱사메타손 염기의 적어도 약 6 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

[0523] iii) 덱사메타손 염기의 적어도 약 12 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

[0524] iv) 덱사메타손 염기의 적어도 약 15 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

[0525] v) 덱사메타손 염기의 적어도 약 18 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

[0526] vi) 덱사메타손 염기의 적어도 약 24 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

[0527] vii) 덱사메타손 염기의 약 15 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

[0528] viii) 덱사메타손 염기의 약 24 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

[0529] ix) 덱사메타손 염기의 약 30 mg/kg 인간 등가 용량[HED];

[0530] x) 덱사메타손 염기의 약 45 mg/kg 인간 등가 용량[HED]; 또는

[0531] xi) mg/kg 값 범위에서 mg/kg 단위의 값을 취하는 덱사메타손 염기의 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 투여되되, 해당 범위는 i) 내지 x) 부분에 전술한 mg/kg 값 중 두 개에 의해 제한되는, 방법.

[0532] 112. 진술 101 내지 111 중 어느 하나에 있어서, 글루코코르티코이드는 단일 급성 용량으로 투여되거나, 약 72시간 동안 총 용량으로 투여되는, 방법.

[0533] 113. 진술 101 내지 112 중 어느 하나에 있어서, 방법은 글루코코르티코이드의 하나 이상의 추가 용량을 투여하는 것을 포함하는, 방법.

[0534] 114. 진술 113에 있어서, 하나 이상의 추가 용량은

[0535] i) 선행 글루코코르티코이드 투여로부터 24시간 내지 120시간;

[0536] ii) 선행 글루코코르티코이드 투여로부터 24시간 내지 48시간;

[0537] iii) 선행 글루코코르티코이드 투여로부터 72시간 내지 120시간;

[0538] iv) 첫 번째 글루코코르티코이드 투여로부터 매 24, 48, 72, 96, 120, 144 또는 168시간마다;

[0539] v) 첫 번째 글루코코르티코이드 투여로부터 매 2주에 1회;

[0540] vi) 첫 번째 글루코코르티코이드 투여로부터 매월 1회; 또는

[0541] vii) 첫 번째 글루코코르티코이드 투여로부터 매주 2회 투여되는, 방법.

[0542] *세포 활성*

[0543] 115. 진술 101 내지 114 중 어느 하나에 있어서, 방법은 NKT 세포 활성제, T 세포 활성제 및/또는 NK 세포 활성제를 상기 대상에게 투여하는 단계를 더 포함하는, 방법.

[0544] 116. 진술 115에 있어서, NKT 세포 활성화제는 알파 GalCer, 설파티드 또는 NKT 활성화 항체로 이루어진 군에서 선택되는, 방법.

[0545] 117. 진술 116에 있어서, NKT 세포 활성화제는 알파 GalCer 담지된 수지상 세포 또는 단핵구인, 방법.

[0546] 118. 진술 115에 있어서, T 세포 활성화제는 졸레드로네이트, 메바스타틴 또는 T 세포 활성화 항체로 이루어진 군에서 선택되는, 방법.

[0547] 119. 진술 115에 있어서, NK 세포 활성화제는 IL-2, IL-12, IL-15, IL-18, IL-21, 또는 NK 세포 활성화 항체로 이루어진 군에서 선택되는, 방법

[0548] 120. 진술 115 내지 119 중 어느 하나에 있어서, NKT 세포 활성제, T 세포 활성제 및/또는 NK 세포 활성제는 글루코코르티코이드를 투여하고 48시간 이내 또는 약 48시간 이후에 투여되는, 방법.

[0549] *대상*

[0550] 121. 진술 101 내지 120 중 어느 하나에 있어서, 대상은 인간이거나 인간화 면역 체계를 가진 포유동물, 예컨대, 인간 면역 체계[human immune system, HIS] 마우스인, 방법.

[0551] 122. 진술 101 내지 121 중 어느 하나에 있어서, 대상은 암, 자가면역질환 또는 감염성 질환으로 이루어진 군에서 선택된 질환을 갖거나, 갖고 있는 것으로 의심되거나, 진단된 적이 있는, 방법.

[0552] 123. 진술 122에 있어서, 암은 고형 종양 암인, 방법.

[0553] 124. 진술 122에 있어서, 암은 편평세포암(예를 들어 상피편평세포암); 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 폐의 선암종 및 폐의 편평암종을 포함하는 폐암; 복막암; 간세포암; 위암 또는 위장암; 췌장암; 교모세포종; 자궁경부암; 난소암; 간암; 방광암; 간종양; 유방암; 결장암; 직장암; 결장직장암; 자궁내막암 또는 자궁암종; 침샘암종; 신장암 또는 신암; 전립선암; 외음부암; 갑상선암; 간암종; 항문암종; 음경암종; 및 두경부암으로 이루어진 군에서 선택되는, 방법.

[0554] 125. 진술 122에 있어서, 암은 림프종, 바람직하게는 B 세포 림프종, T 세포 림프종, 또는 비호지킨 림프종인, 방법.

[0555] 126. 진술 122 내지 125 중 어느 하나에 있어서, 유도된/동원된 세포는 종양 침윤을 통해 암을 치료하는, 방법.

[0556] 127. 진술 126에 있어서, 유도된/동원된 세포는 면역 활성화 사이토카인의 방출을 통해 암을 치료하는, 방법.

[0557] 128. 진술 126 또는 127에 있어서, 유도된/동원된 세포는 암세포를 포식하고 사멸하는, 방법.

[0558] 129. 진술 126 내지 128 중 어느 하나에 있어서, 유도/동원된 세포는 다른 면역 세포가 종양으로 침윤하는 것을 촉진하는, 방법.

[0559] 130. 진술 126 내지 129 중 어느 하나에 있어서, 유사/동원된 세포는 CD1d-유도 세포자멸사를 통해 암세포를 직접 사멸하는, 방법.

[0560] 131. 진술 126 내지 130 중 어느 하나에 있어서, 유도된/동원된 세포는 종양 괴사를 유발하는, 방법.

[0561] 132. 진술 122에 있어서, 자가면역질환은 다발성 경화증, 전신 경화증, 근위축성 축삭 경화증, 제1형 당뇨병[type 1 diabetes mellitus, T1D], 피부경화증, 천포창 및 루푸스로 이루어지는 군에서 선택되는, 방법.

[0562] 133. 진술 122에 있어서, 자가면역질환은 제1형 당뇨병[T1D]인, 방법.

[0563] 134. 진술 122에 있어서, 감염성 질환은 HIV 및 헤르페스, 간염, 인유두종 바이러스 또는 코로나바이러스, 예컨대 COVID-19의 감염으로부터 유발되는 질환인, 방법.

[0564] 135. 진술 122에 있어서, 감염성 질환은

[0565] i) HIV 또는

[0566] ii) COVID-19인, 방법.

[0567] *단리/확장 단계*

[0568] 136. 진술 101 내지 135 중 어느 하나에 있어서, 대상에서 유래한/동원된 샘플 또는 대상에서 유래한 세포의 집단을 단리하는 단계를 더 포함하되,

[0569] 임의로, 단리하는 단계는

[0570] i) 글루코코르티코이드 투여로부터 30분 내지 60분 후에 수행되거나,

[0571] ii) 적어도 48시간 후에 수행되거나,

[0572] iii) 48시간 내지 13일에 수행되거나, 또는

[0573] iv) 6시간 내지 48시간 후에 수행되는, 방법.

[0574] 137. 진술 136에 있어서, 샘플은 혈액, 혈장, 종양 생검 또는 외과적으로 제거된 종양, 골수, 간, 지방 또는 지방 조직으로 이루어진 군에서 선택되는, 방법.

[0575] 138. 진술 136 또는 137에 있어서, 단리된 세포를 확장하는 단계를 더 포함하는, 방법.

[0576] 139. 진술 136 내지 138 중 어느 하나에 있어서, 단리된 세포를 NKT 세포 활성제, T 세포 활성제 및/또는 NK 세포 활성제로 활성화시키는 단계를 더 포함하되,

[0577] 임의로, NKT 세포 활성제는 알파 GalCer(알파-갈락토실세라미드; α-GalCer) 및 설파티드(3-O-술포갈락토실세라

미드; SM4; 황산화 갈락토세레브로사이드)로 이루어진 군에서 선택되고,

[0578] 임의로, T 세포 활성제는 졸레드로네이트 및 메바스타틴으로 이루어진 군에서 선택되며, 및

[0579] 임의로, NK 세포 활성제는 IL-2, IL-12, IL-15, IL-18, IL-21로 이루어진 군에서 선택되는, 방법.

[0580] *단리된 세포의 형질감염*

[0581] 140. 진술 136 내지 139 중 어느 하나에 있어서, 단리된 유사 세포에 단백질을 암호화하는 핵산을 도입하는 단계 및 해당 단백질의 발현이 촉진되는 조건에서 세포를 배양하는 단계를 더 포함하는, 방법.

[0582] 141. 진술 140에 있어서, 단백질은 T 세포 수용체[T-cell receptor, TCR], 키메라 항원 수용체[chimeric antigen receptor, CAR], 분열되고 일반적이며 프로그램 가능한 CAR[split, universal programmable CAR, SUPRA-CAR] 중 하나 이상으로 이루어진 군에서 선택되는, 방법.

[0583] 142. 진술 141에 있어서, CAR 및/또는 TCR은 CD19, CD20, CD22, GD2, CD133, EGFR, GPC3, CEA, MUC1, 메소텔린, IL-13R, PSMA, ROR1, CAIX, Her2로 이루어진 군에서 선택되는 항원에 결합하는 항원 결합 도메인을 포함하는, 방법.

[0584] 143. 진술 140 내지 142 중 어느 하나에 있어서, 세포를 확장하는 단계를 더 포함하는, 방법.

[0585] 144. 진술 140 내지 143 중 어느 하나에 있어서, 세포를 NKT 세포 활성제, T 세포 활성제 및/또는 NK 세포 활성제로 활성화시키는 단계를 더 포함하는, 방법.

[0586] *단리된 세포의 투여*

[0587] 145. 대상에서 암, 자가면역질환, 또는 감염성 질환을 치료하는 방법으로서, 진술 136 내지 144 중 어느 하나에 따른 단리된 세포의 치료 유효량을 투여하는 방법을 포함하거나, 진술 201 내지 211 중 어느 하나의 단리된 세포 또는 세포의 집단의 치료 유효량을 대상에게 투여하는 방법을 포함하는, 방법.

[0588] 146. 진술 145에 있어서, 단리된 세포가 투여되는 대상은 단리된 세포가 온 대상과 동일한, 방법.

[0589] 147. 진술 145에 있어서, 단리된 세포가 투여되는 대상은 단리된 세포가 온 대상과 상이한, 방법.

[0590] 148. 진술 145 또는 147 중 어느 하나에 있어서, 단리된 세포는 정맥내 주사, 복강내 주사, 림프내 주사, 척추강내 주사, 뇌척수액[cerebrospinal fluid, CSF]내 주사, 종양내 직접 주사, 및 고형 종양 위 또는 근처에 도포한 젤로 이루어진 군에서 선택되는 방법에 의해 대상에게 투여되는, 방법.

[0591] *의학적 사용*

[0592] 149. 진술 101 내지 148 중 어느 하나에 따른 방법으로 사용되는 글루코코르티코이드.

[0593] 150. 진술 101 내지 148 중 어느 하나에 따른 방법으로 사용되는 의약의 제조를 위한 글루코코르티코이드의 용도.

[0594] 151. NKT-유사 세포의 집단을 유도 및/또는 동원하되, 세포의 집단은 진술 101 내지 148 중 어느 하나에 따른 방법으로 유도 및/또는 동원되는, 덱사메타손의 용도.

[0595] *AVM-NKT 유래 iPSC*

[0596] 152. 유도만능 줄기세포[pluripotent stem cell, iPSC]를 생산하는 방법으로서, 방법은 iPSC를 생산하기 위해 진술 136 내지 138 중 어느 하나에 따른 방법으로 단리되는 재프로그래밍된 세포를 포함하는, 방법.

[0597] 153. 진술 152에 있어서, 재프로그래밍은 세포에 도입되는 Oct3/4, Klf4, Sox2, 및 C-myc를 암호화하는 하나 이상의 발현 카세트를 유도하는 단계를 포함하는, 방법.

[0598] 154. 진술 152에 있어서, 재프로그래밍은 Oct3/4, KLF4, Sox2, 및 c-myc 암호화 mRNA를 세포에 도입하는 것을 포함하는, 방법.

[0599] 155. 진술 153 또는 154에 있어서, 재프로그래밍은 하나 이상의 Sox1, Sox3, Sox15, Klf1, Klf2, Klf5, L-myc, N-myc, 나노그(Nanog), 및/또는 LIN28를 암호화하는 하나 이상의 발현 카세트를 유도하는 방법을 더 포함하는, 방법.

[0600] 156. 진술 153 또는 154에 있어서, 재프로그래밍은 하나 이상의 Sox1, Sox3, Sox15, Klf1, Klf2, Klf5, L-myc,

N-myc, 나노그(Nanog), 및/또는 LIN28 암호화 mRNA를 유도하는 방법을 더 포함하는, 방법.

[0601] 157. 진술 152 내지 156 중 어느 하나에 있어서, iPSC의 분화를 유도하는 단계를 더 포함하는, 방법.

[0602] 158. 진술 157에 있어서, iPSC는 NKT 세포로 분화되는, 방법.

[0603] 159. NKT-유사 세포의 집단을 생산하는 방법으로서, 진술 152 내지 156 중 어느 하나에 따른 방법에 의해 생산된 iPSC를 NKT 세포 계통으로 분화시키는 단계를 포함하는, 방법.

[0604] - - -

[0605] *단리된 인간 면역 시스템 NKT-유사 세포*

[0606] 201. 단리된 자연 살해 T 세포-유사 세포(NKT-유사 세포) 또는 NKT-유사 세포의 집단은 진술 101 내지 159 중 어느 하나에 따른 방법에 의해 생산되는, 세포 또는 집단.

[0607] 202. 단리된 NKT-유사 세포로서, 세포는 CD56, TCR 감마/델타, 및 iTCR을 발현하는 세포.

[0608] 203. 진술 202에 있어서, 단리된 세포는

[0609] i) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR 알파/베타, CD34 및/또는 ICAM3을 발현하고/하거나,

[0610] ii) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, 및 TCR 알파/베타를 발현하고/하거나,

[0611] iii) CD4를 발현하지 않고/하거나,

[0612] iv) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, 및 NKp44를 발현하고/하거나,

[0613] v) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, 및 TCR 알파/베타를 발현하고/하거나,

[0614] vi) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, 및 TCR 알파/베타를 발현하고/하거나,

[0615] vii) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD8, CD14, 및 CD19를 발현하고/하거나,

[0616] viii) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, 및 CD45를 발현하고/하거나,

[0617] ix) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, 및 TCR 알파/베타를 발현하고/하거나,

[0618] x) 진술 103에 정의된 마커 조합을 발현하는 것을 특징으로 하는, 세포.

[0619] 204. NKT-유사 세포의 단리된 집단으로서, 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타 및 iTCR을 발현하는 것을 특징으로 하는, NKT-유사 세포의 단리된 집단.

[0620] 205. 진술 204에 있어서, 세포의 단리된 집단은

[0621] i) 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR 알파/베타, CD34 및/또는 ICAM3을 발현하고/하거나,

[0622] ii) 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, 및/또는 TCR 알파/베타를 발현하며/하거나,

[0623] iii) 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99%가 CD4를 발현하지 않고,

[0624] iv) 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, 및 NKp44를 발현하며/하거나,

[0625] v) 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, 및 TCR 알파/베타를 발현하고/하거나,

[0626] vi) 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, 및 TCR 알파/베타를 발현하며/하거나,

[0627] vii) 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44,

CD8, CD14, 및 CD19를 발현하고/하거나,

[0628] viii) 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, 및 CD45를 발현하며/하거나,

[0629] ix) 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99%가 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, 및 TCR 알파/베타를 발현하며/하거나,

[0630] x) 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98, 또는 99%가 진술 103에 정의된 마커 조합을 발현하는, 세포의 단리된 집단.

[0631] 206. 진술 202 내지 205 중 어느 하나에 있어서, 세포 또는 세포들은 진술 101 내지 159 중 어느 하나에 따른 방법으로 생산되는, 단리된 세포 또는 단리된 세포의 집단.

[0632] 207. 진술 202 내지 205 중 어느 하나에 있어서, 세포 또는 세포들은 자연적으로 발생하는 세포인, 단리된 세포 또는 단리된 세포의 집단.

[0633] 208. 진술 202 내지 205 및 207 중 어느 하나에 있어서, 세포 또는 세포들은 TCR 감마/델타를 발현하도록 형질감염되거나, 형질도입되거나, 또는 달리 변형된 적이 없는, 단리된 세포 또는 단리된 세포의 집단.

[0634] 209. 진술 202 내지 205 및 207 내지 208 중 어느 하나에 있어서, 세포 또는 세포들은 iTCR을 발현하도록 형질감염, 형질도입, 또는 달리 변형된 적이 없는, 단리된 세포 또는 단리된 세포의 집단.

[0635] 210. 진술 202 내지 205 및 207 내지 209 중 어느 하나에 있어서, 세포 또는 세포들은 TCR 알파/베타를 발현하도록 형질감염, 형질도입, 또는 달리 변형된 적이 없는, 단리된 세포 또는 단리된 세포의 집단.

[0636] 211. 진술 202 내지 205 및 207 내지 210 중 어느 하나에 있어서, 세포 또는 세포들은 CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR 알파/베타, CD34 및/또는 ICAM3를 발현하도록 형질감염, 형질도입 또는 달리 변형된 적이 없는, 단리된 세포 또는 단리된 세포의 집단.

[0637] - - -

[0638] *치료 방법*

[0639] 301. 대상에서 암, 자가면역질환, 또는 감염성 질환을 치료하는 방법으로 사용되는 글루코코르티코이드로서, 방법은 덱사메타손 염기의 약 6 내지 45 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 글루코코르티코이드를 대상에게 투여하는 방법을 포함하되,

[0640] NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가

[0641] i) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR 알파/베타, CD34 및/또는 ICAM3을 발현하고/하거나,

[0642] ii) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, 및/또는 TCR 알파/베타를 발현하고/하거나,

[0643] iii) CD4를 발현하지 않는, 방법.

[0644] 302. 대상에서 암, 자가면역질환, 또는 감염성 질환을 치료하는 방법으로 사용되는 글루코코르티코이드로서, 방법은 덱사메타손 염기의 약 6 내지 45 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 글루코코르티코이드를 대상에게 투여하는 방법을 포함하되,

[0645] 글루코코르티코이드는 진술 101 내지 159 중 어느 하나에 정의된 NKT-유사 세포의 집단을 유도하는, 방법.

[0646] 303. 대상에서 암, 자가면역질환, 또는 감염성 질환을 치료하는 방법으로서, 방법은 덱사메타손 염기의 약 6 내지 45 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 글루코코르티코이드를 대상에게 투여하는 방법을 포함하되,

[0647] NKT-유사 세포 집단은 세포의 적어도 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 또는 99%가

[0648] i) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, TCR 알파/베타, CD34 및/또는 ICAM3을 발현하고/하거나,

[0649] ii) CD56, TCR 감마/델타, iTCR, CD16, NKp44, CD3, CD8, CD14, CD19, CD45, 및/또는 TCR 알파/베타를 발현하

고/하거나,

[0650] iii) CD4를 발현하지 않는, 방법.

[0651] 304. 대상에서 암, 자가면역질환, 또는 감염성 질환을 치료하는 방법으로서, 방법은 덱사메타손 염기의 약 6 내지 45 mg/kg 인간 등가 용량[HED]과 동등한 용량으로 글루코코르티코이드를 대상에게 투여하는 방법을 포함하되,

[0652] 글루코코르티코이드는 진술 101 내지 159 중 어느 하나에 정의된 NKT-유사 세포의 집단을 유도하는, 방법.

[0653] 305. 대상에서 암, 자가면역질환, 또는 감염성 질환을 치료하는 방법에 사용되는 단리된 NKT-유사 세포 또는 NKT-유사 세포의 집단으로서, 방법은 이를 필요로 하는 대상에게

[0654] i) 진술 136 내지 144 중 어느 하나에 따른 단리된 세포;

[0655] ii) 진술 201 내지 211 중 어느 하나에 따른 세포의 치료 유효량을 투여하는 방법을 포함하는, 단리된 NKT-유사 세포 또는 NKT-유사 세포의 집단.

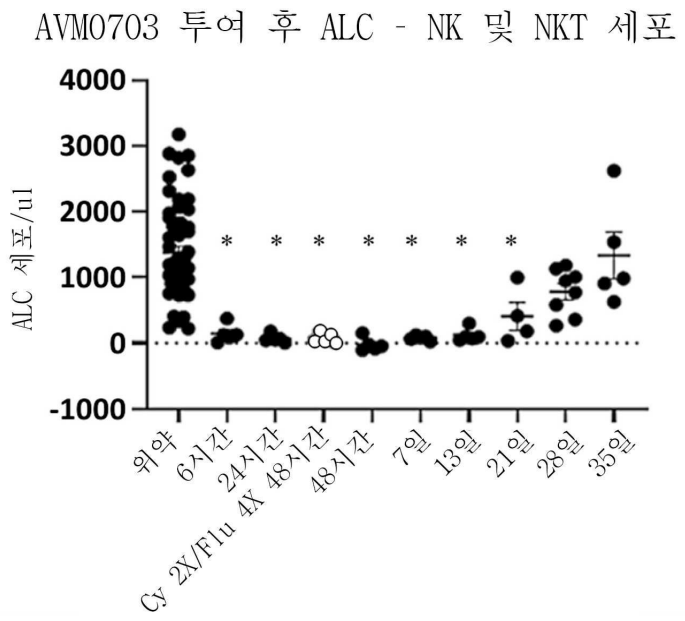
[0656] 306. 대상에서 암, 자가면역질환, 또는 감염성 질환을 치료하는 방법으로서, 방법은 이를 필요로 하는 대상에게

[0657] i) 진술 136 내지 144 중 어느 하나에 따른 단리된 세포;

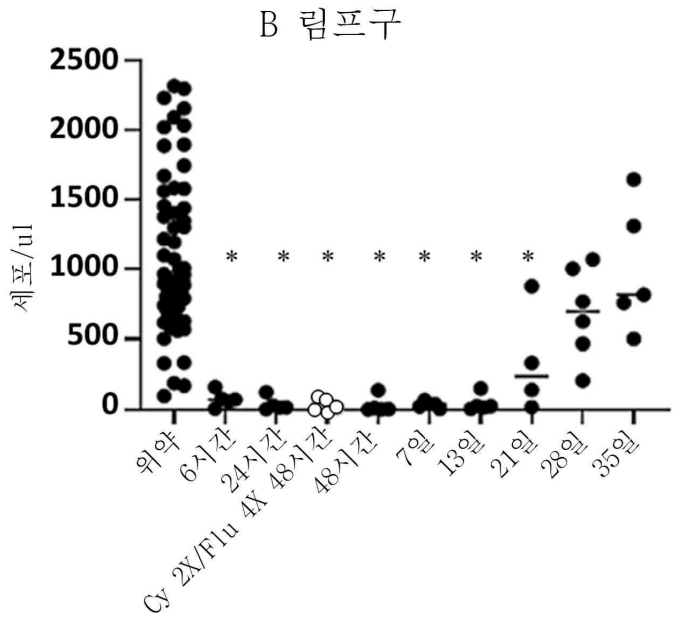
[0658] ii) 진술 201 내지 211 중 어느 하나에 따른 세포의 치료 유효량을 투여하는 방법을 포함하는, 방법.

도면

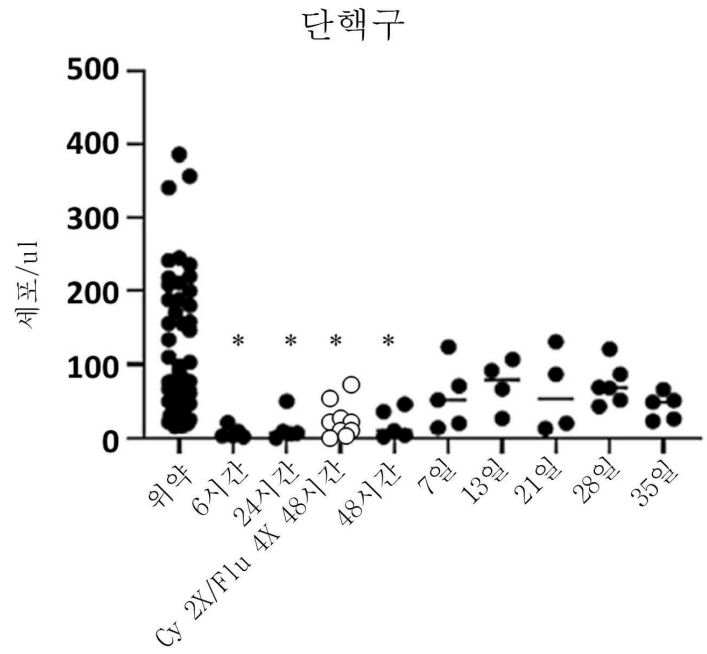
도면1



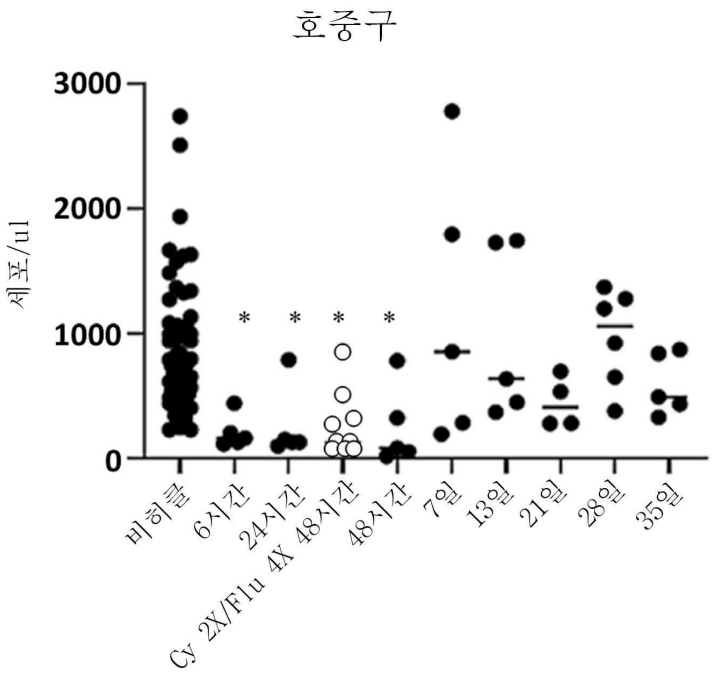
도면2


B 림프구
2500
2000
1500
1000
500
0
세포/ul
*
위약
6시간
24시간
Cy 2X/Flu 4X 48시간
48시간
7일
13일
21일
28일
35일

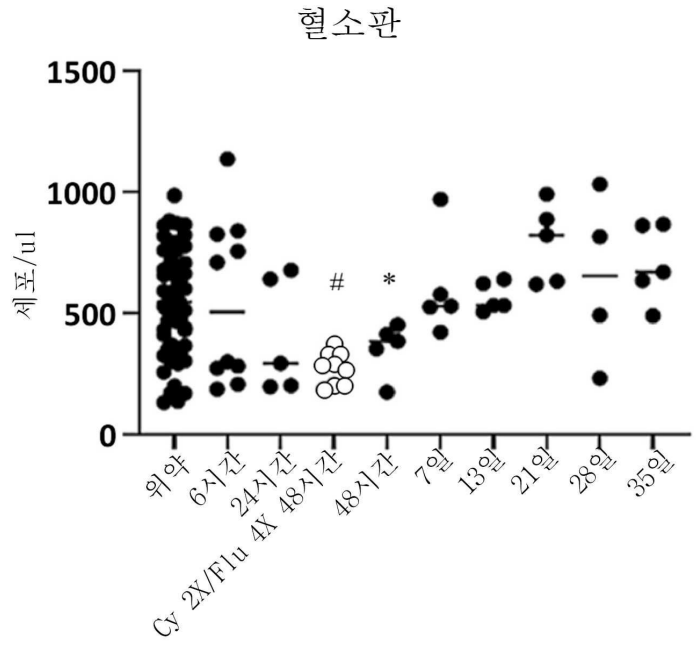
도면3


단핵구
500
400
300
200
100
0
세포/ul
*
위약
6시간
24시간
Cy 2X/Flu 4X 48시간
48시간
7일
13일
21일
28일
35일

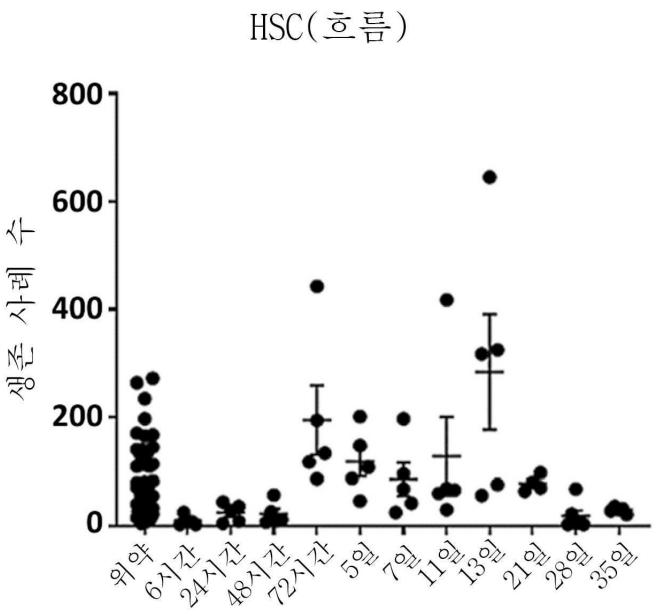
도면4


호중구
3000
2000
1000
0
세포/ul
*
*
*
*
비히클
6시간
24시간
48시간
48시간
7일
13일
21일
28일
35일
Cy 2X/F1u 4X

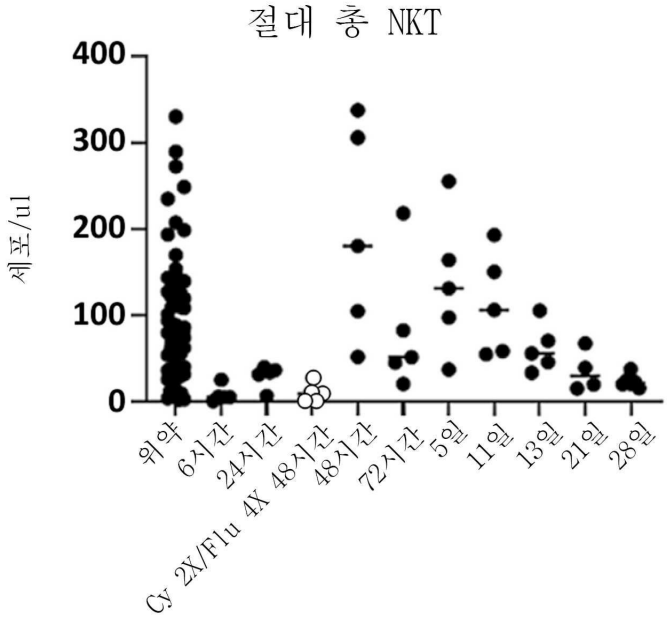
도면5


혈소판
1500
1000
500
0
세포/ul
#
*
위약
6시간
24시간
48시간
48시간
7일
13일
21일
28일
35일
Cy 2X/F1u 4X

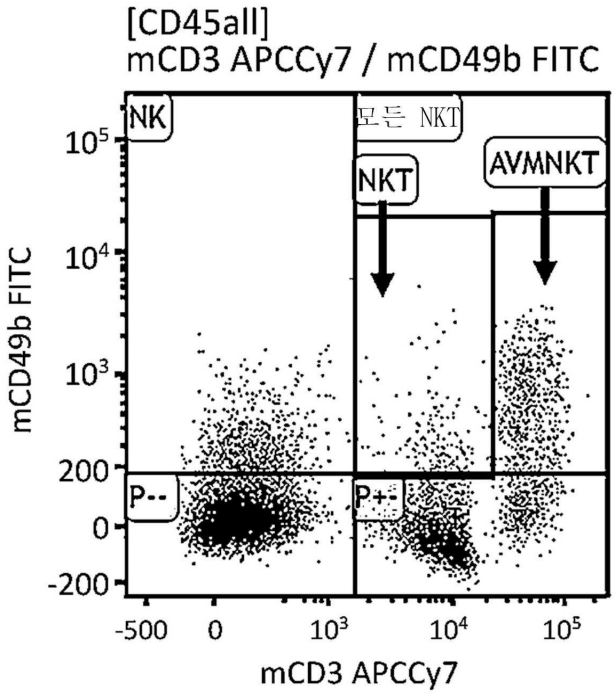
도면6


HSC(흐름)
생존 사례 수
800
600
400
200
0
위약
6시간
24시간
48시간
72시간
5일
7일
11일
13일
21일
28일
35일

도면7

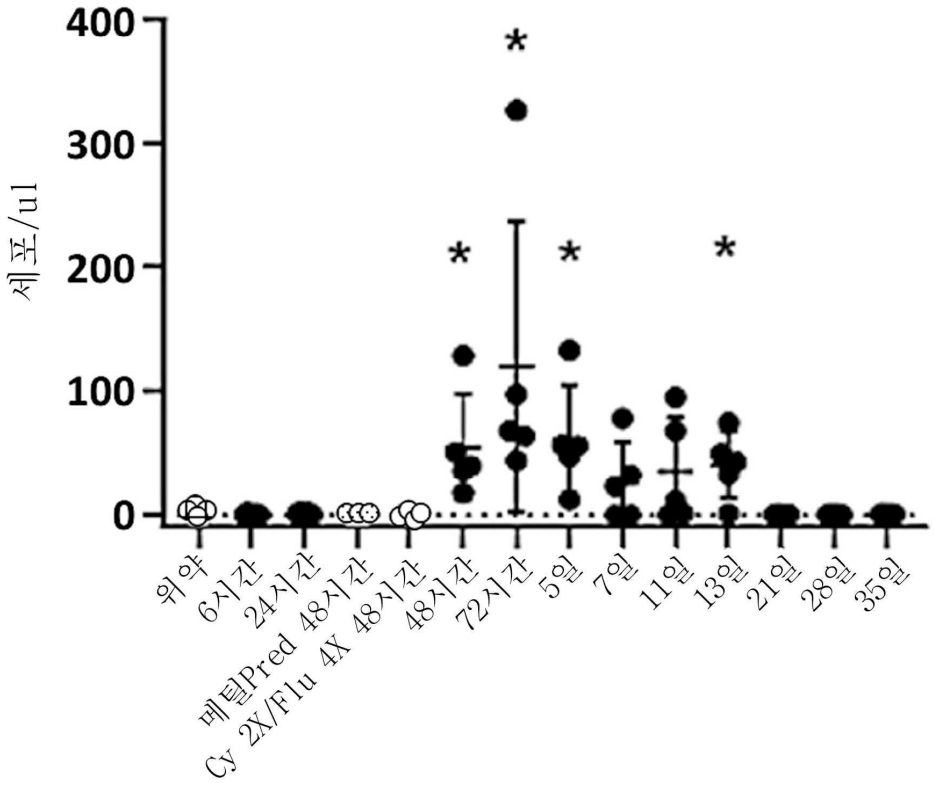

절대 총 NKT
세포/ul
400
300
200
100
0
위약
6시간
24시간
Cy 2X/Flu 4X 48시간
48시간
72시간
5일
11일
13일
21일
28일

도면8

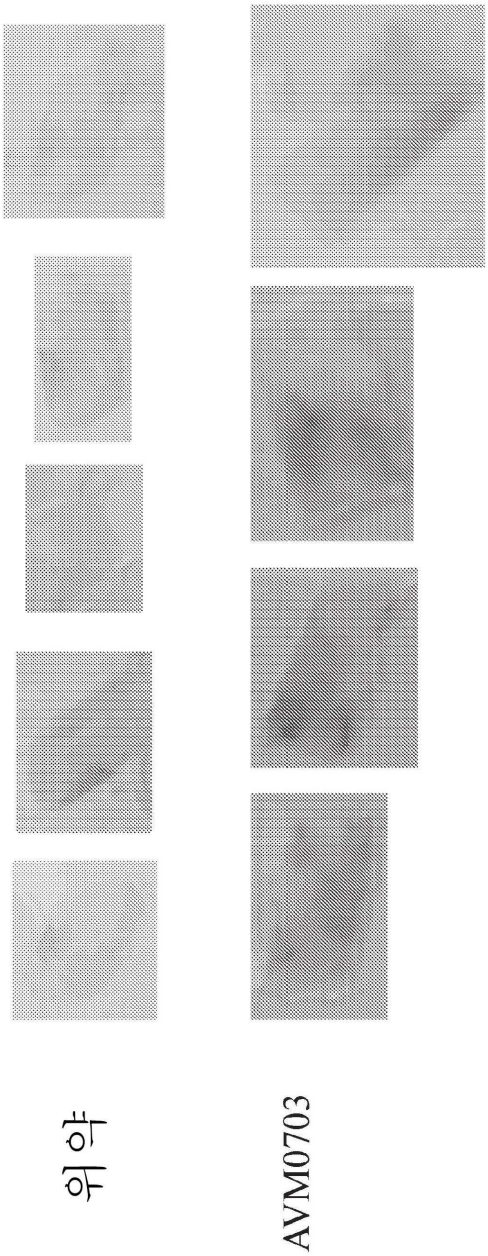

[CD45all]
mCD3 APCCy7 / mCD49b FITC
NK
모든 NKT
NKT
AVMNKT
P--
P+-
mCD49b FITC
mCD3 APCCy7
10^5
10^4
10^3
200
0
-200
-500
0
10^3
10^4
10^5

도면9

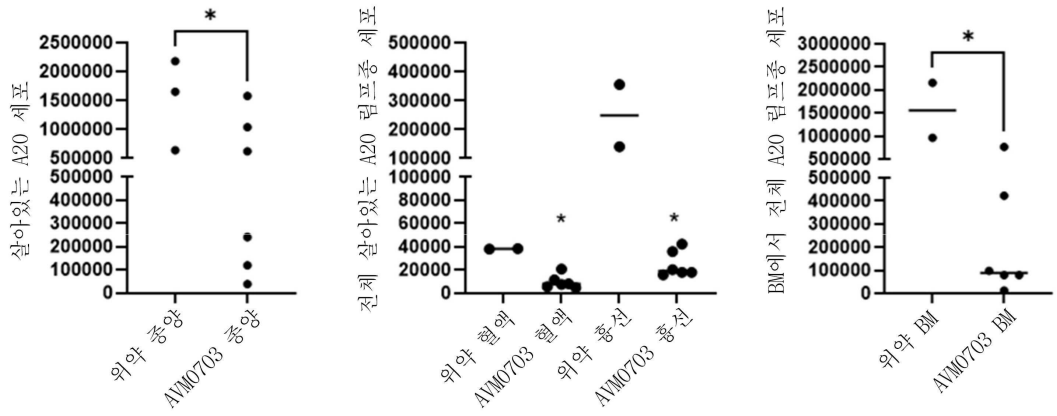
CD3가 매우 높은
신규한 자연 살해 T 세포



도면10a

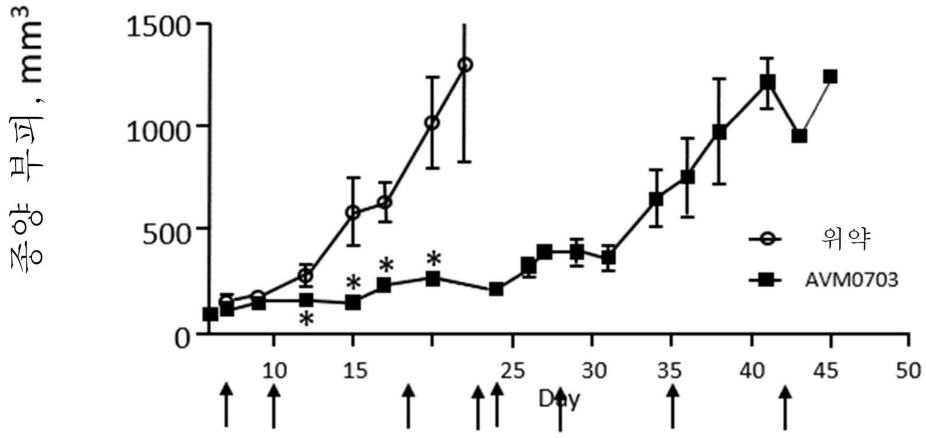


도면10b



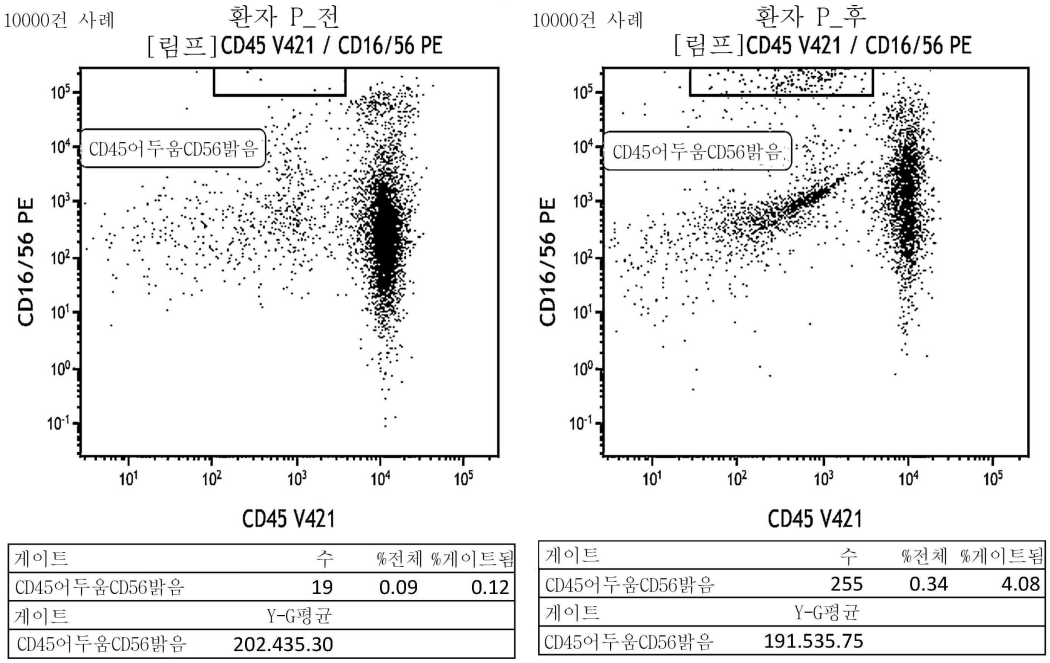
도면11

반복적인 AVM0703 (18.06 mg/kg HED DP)
유의하게 지연된 마우스 A20 림프종 성장



화살표는 위약 또는 AVM0703 경구 투여의 일수를 나타냄

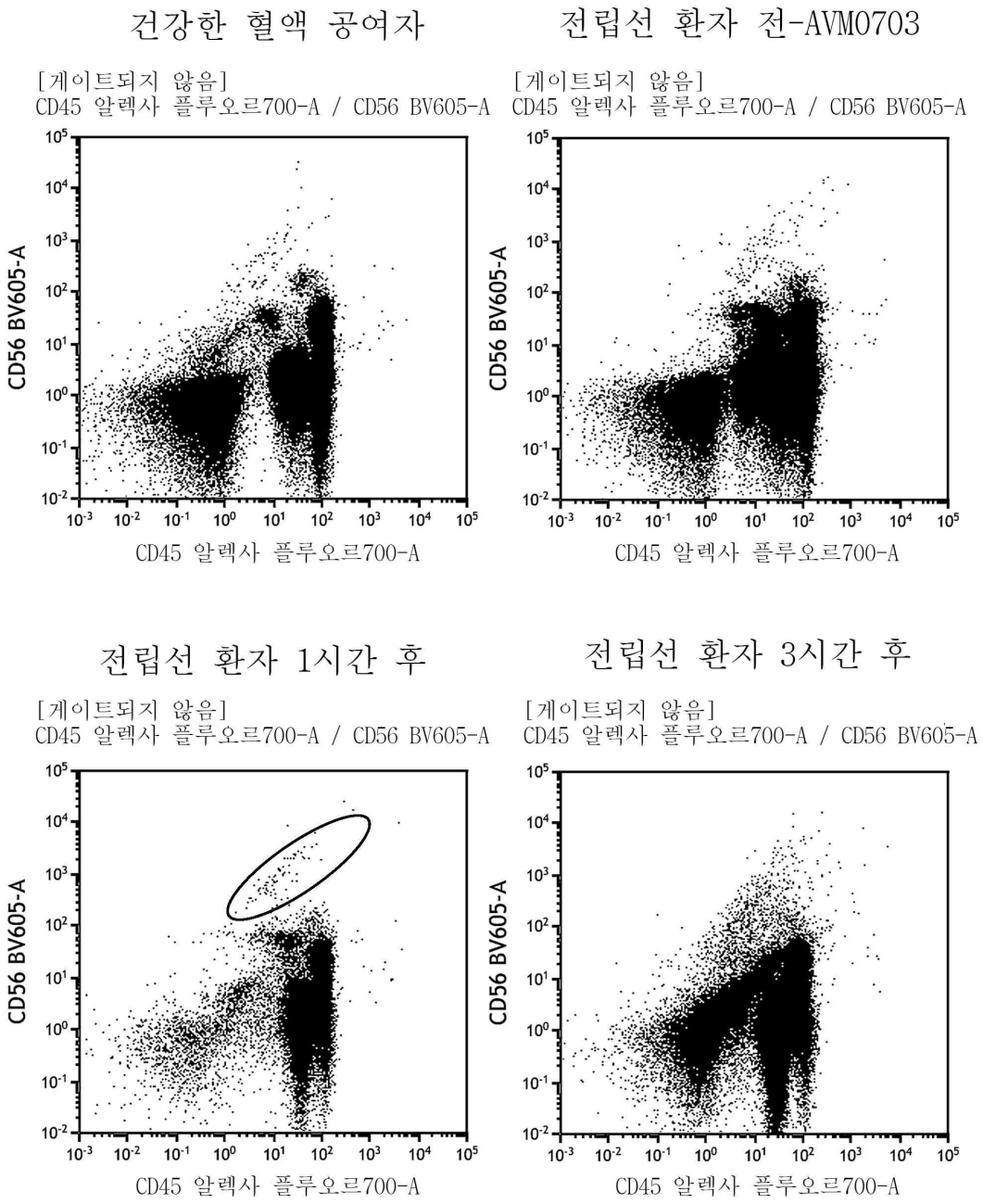
도면12



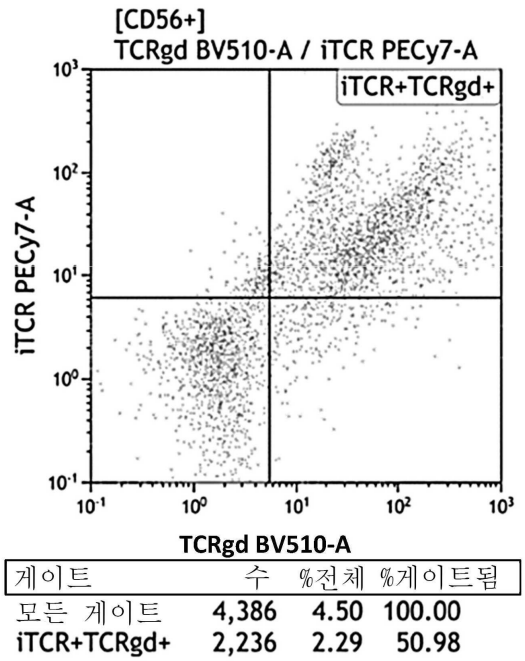
게이트	수	%전체	%게이트됨
CD45어두움CD56밝음	19	0.09	0.12
게이트	Y-G평균		
CD45어두움CD56밝음	202.435.30		

게이트	수	%전체	%게이트됨
CD45어두움CD56밝음	255	0.34	4.08
게이트	Y-G평균		
CD45어두움CD56밝음	191.535.75		

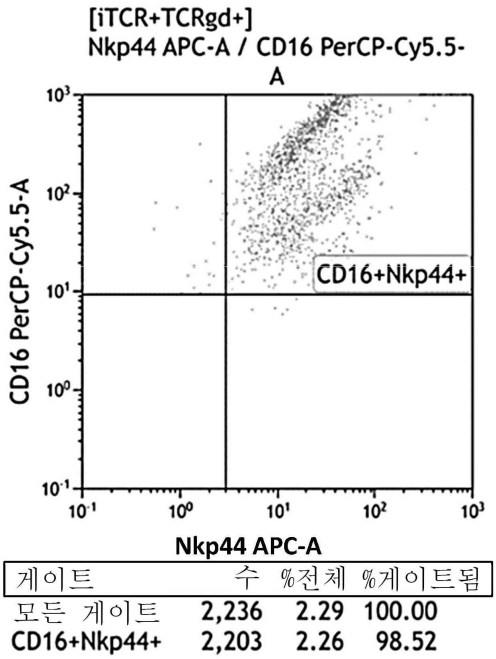
도면13


건강한 혈액 공여자
[게이트되지 않음]
CD45 알렉사 플루오르700-A / CD56 BV605-A
CD56 BV605-A
CD45 알렉사 플루오르700-A
전립선 환자 전-AVM0703
[게이트되지 않음]
CD45 알렉사 플루오르700-A / CD56 BV605-A
CD56 BV605-A
CD45 알렉사 플루오르700-A
전립선 환자 1시간 후
[게이트되지 않음]
CD45 알렉사 플루오르700-A / CD56 BV605-A
CD56 BV605-A
CD45 알렉사 플루오르700-A
전립선 환자 3시간 후
[게이트되지 않음]
CD45 알렉사 플루오르700-A / CD56 BV605-A
CD56 BV605-A
CD45 알렉사 플루오르700-A

도면14

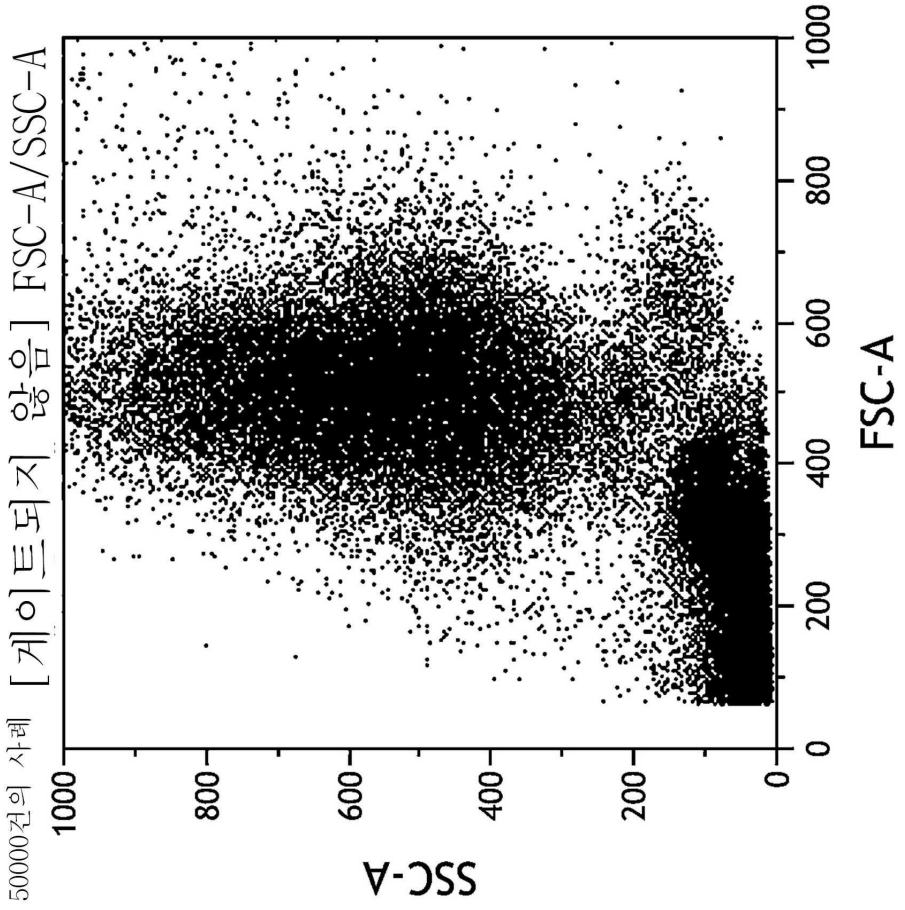


게이트	수	%전체	%게이트됨
모든 게이트	4,386	4.50	100.00
iTCR+TCRgd+	2,236	2.29	50.98

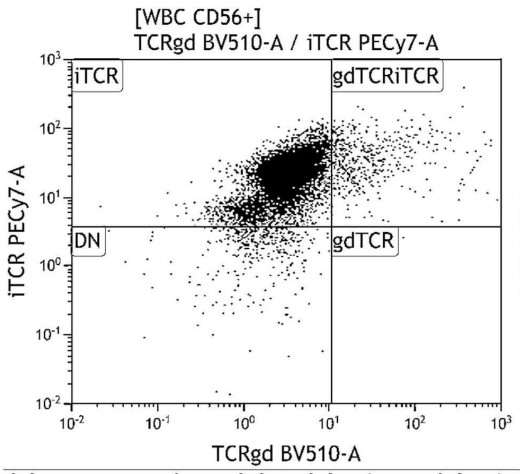


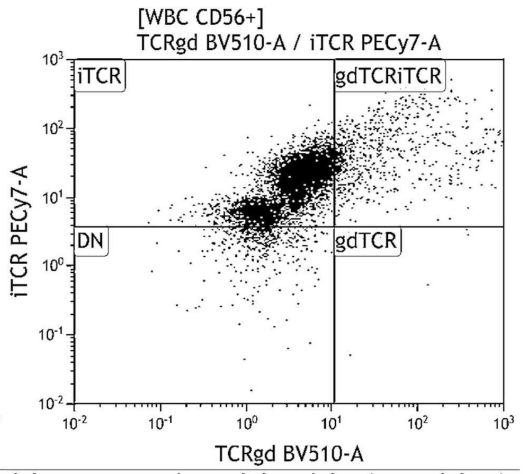
게이트	수	%전체	%게이트됨
모든 게이트	2,236	2.29	100.00
CD16+Nkp44+	2,203	2.26	98.52

도면15



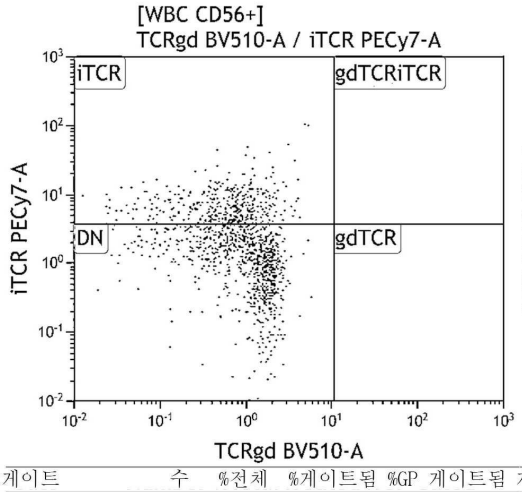
도면16

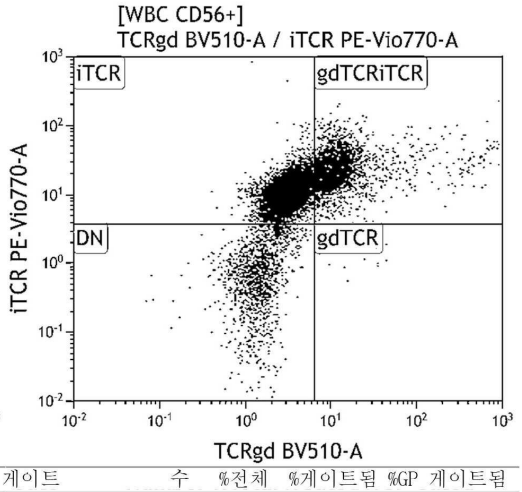




게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP	게이트됨
모든 게이트	10,782	1.84	100.00	N/A	
DN	577	0.10	5.35	0.16	
gdTCR	2	0.00	0.02	0.00	
gdTCRiTCR	547	0.09	5.07	0.15	
iTCR	9,656	1.65	89.56	2.67	

게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP	게이트됨
모든 게이트	7,324	1.13	100.00	N/A	
DN	620	0.10	8.47	0.17	
gdTCR	17	0.00	0.23	0.00	
gdTCRiTCR	860	0.13	11.74	0.24	
iTCR	5,827	0.90	79.56	1.61	

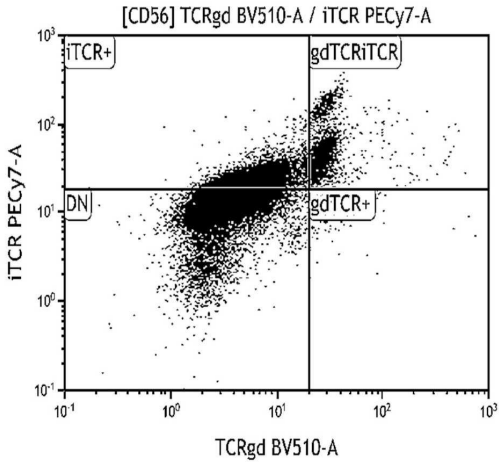




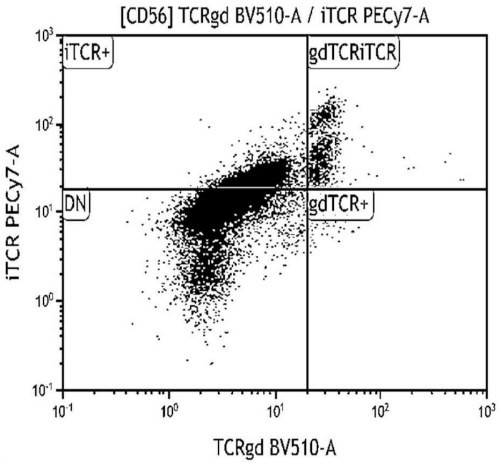
게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP	게이트됨
모든 게이트	4,978	2.58	100.00	N/A	
DN	2,578	1.34	51.79	1.54	
gdTCR	216	0.11	4.34	0.13	
gdTCRiTCR	5	0.00	0.10	0.00	
iTCR	2,179	1.13	43.77	1.30	

게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP	게이트됨
모든 게이트	14,017	6.81	100.00	N/A	
DN	2,469	1.20	17.61	1.41	
gdTCR	161	0.08	1.15	0.09	
gdTCRiTCR	3,064	1.49	21.86	1.74	
iTCR	8,323	4.04	59.38	4.74	

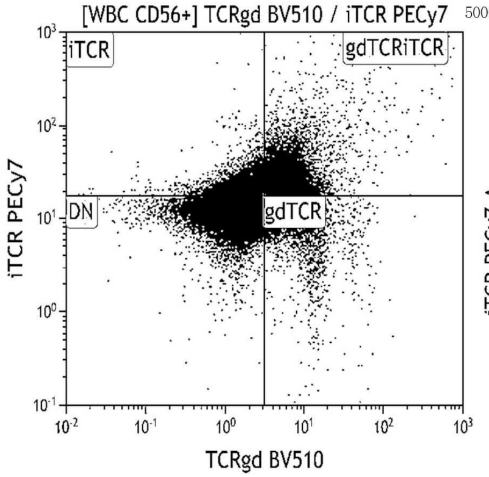
도면17



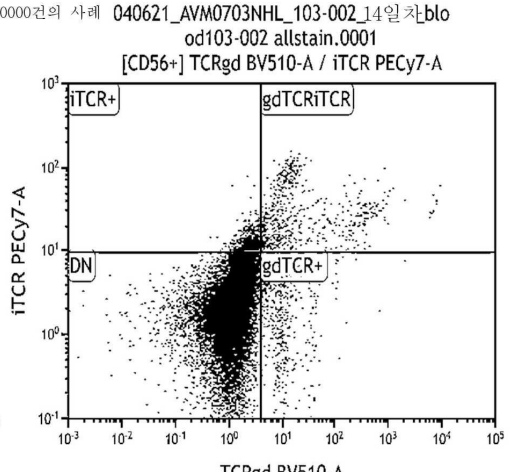
게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP 게이트됨
모든 게이트	37,116	15.26	100.00	N/A
DN	19,353	7.96	52.14	10.02
gdTCR+	205	0.08	0.55	0.11
gdTCRiTCR	2,179	0.90	5.87	1.13
iTCR+	15,379	6.32	41.43	7.97



게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP 게이트됨
모든 게이트	23,826	14.76	100.00	N/A
DN	13,872	8.60	58.22	10.95
gdTCR+	115	0.07	0.48	0.09
gdTCRiTCR	1,053	0.65	4.42	0.83
iTCR+	8,786	5.44	36.88	6.93

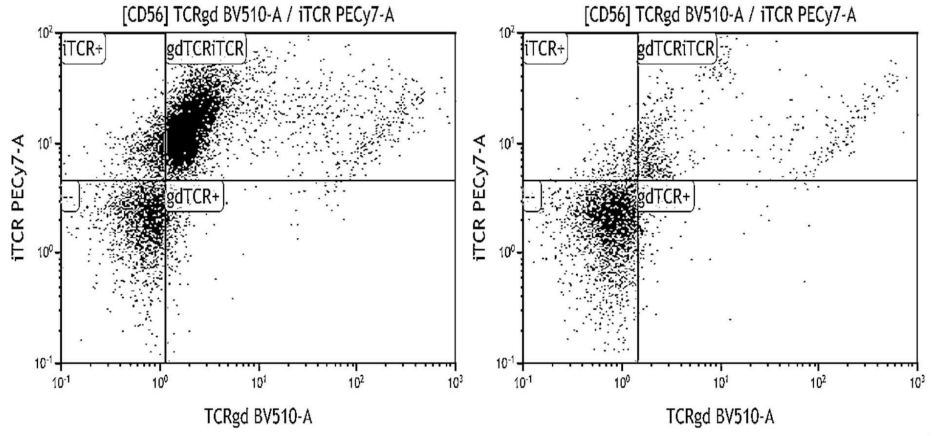


게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP 게이트됨
모든 게이트	73,065	10.48	100.00	N/A
DN	41,509	5.95	56.81	6.90
gdTCR	10,863	1.56	14.87	1.81
gdTCRiTCR	11,954	1.71	16.36	1.99
iTCR	8,739	1.25	11.96	1.45



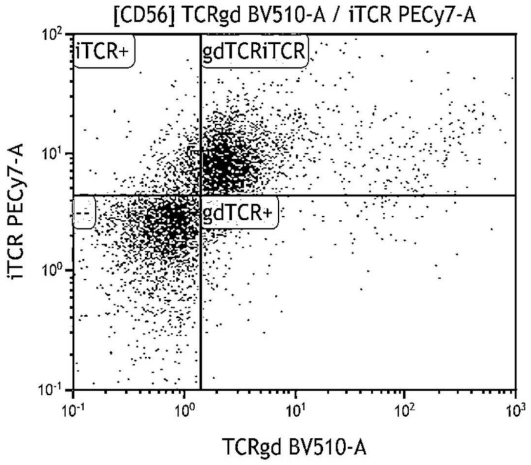
게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP 게이트됨
모든 게이트	22,656	9.97	100.00	N/A
DN	19,595	8.63	86.49	12.36
gdTCR+	1,707	0.75	7.53	1.08
gdTCRiTCR	671	0.30	2.96	0.42
iTCR+	683	0.30	3.01	0.43

도면18



게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP 게이트됨
모든 게이트	9,952	9.92	100.00	N/A
--	2,010	2.00	20.20	4.20
gdTCR+	468	0.47	4.70	0.98
gdTCRiTCR	6,645	6.62	66.77	13.89
iTCR+	829	0.83	8.33	1.73

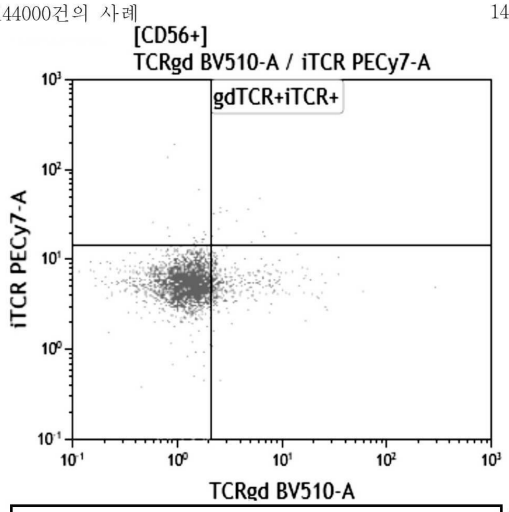
게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP 게이트됨
모든 게이트	4,228	3.37	100.00	N/A
--	2,961	2.36	70.03	3.62
gdTCR+	335	0.27	7.92	0.41
gdTCRiTCR	710	0.57	16.79	0.87
iTCR+	222	0.18	5.25	0.27



게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP 게이트됨
모든 게이트	7,021	4.72	100.00	N/A
--	2,897	1.95	41.26	2.66
gdTCR+	598	0.40	8.52	0.55
gdTCRiTCR	2,908	1.95	41.42	2.67
iTCR+	618	0.42	8.80	0.57

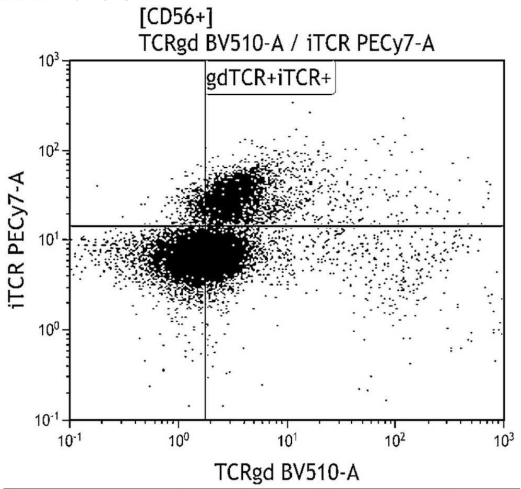
도면19

144000건의 사례



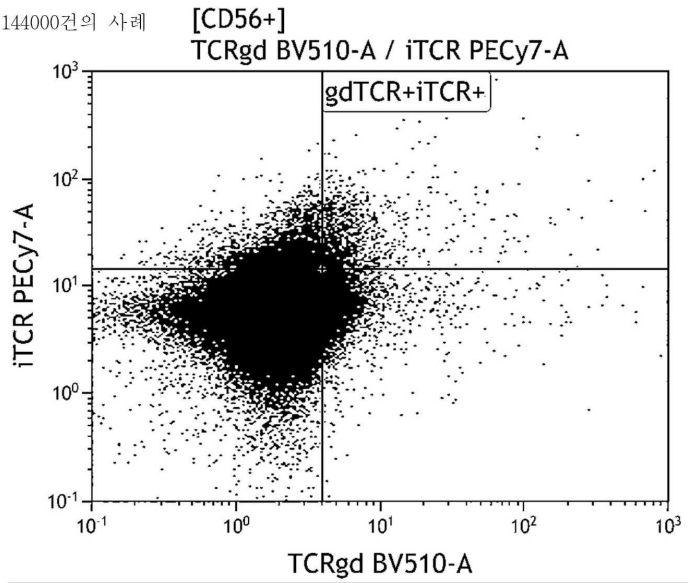
게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP게이트됨
모든 게이트	2,563	0.41	100.00	N/A
gdTCR+iTCR+	14	0.00	.055	0.05

144000건의 사례



게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP게이트됨
모든 게이트	17,608	2.70	100.00	N/A
gdTCR+iTCR+	4,603	0.71	26.14	0.72

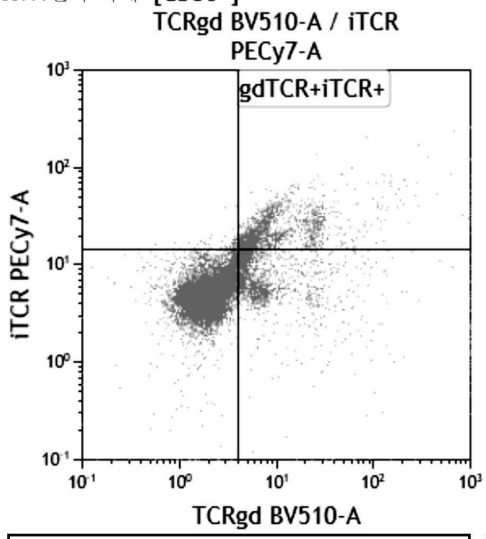
144000건의 사례



게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP게이트됨
모든 게이트	216,238	21.57	100.00	N/A
gdTCR+iTCR+	2,165	0.22	1.00	0.22

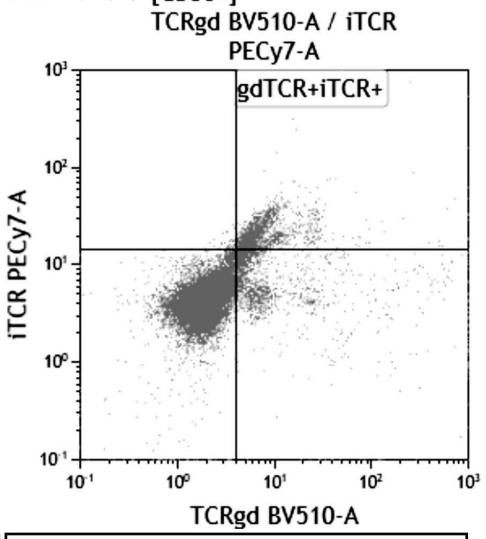
도면20

144000건의 사례 [CD56+]



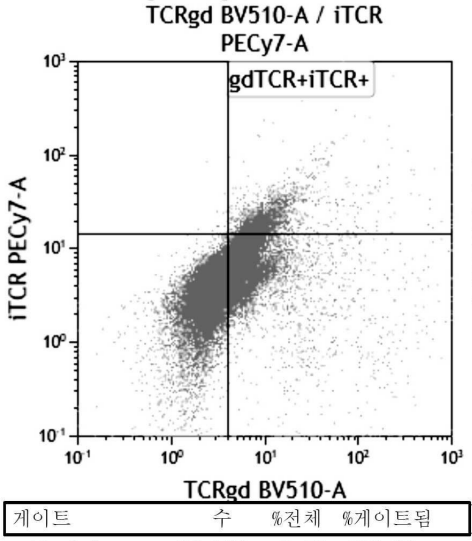
게이트	수	%전체	%게이트됨
모든 게이트	13,938	3.99	100.00
gdTCR+iTCR+	1,690	0.48	12.13

144000건의 사례 [CD56+]



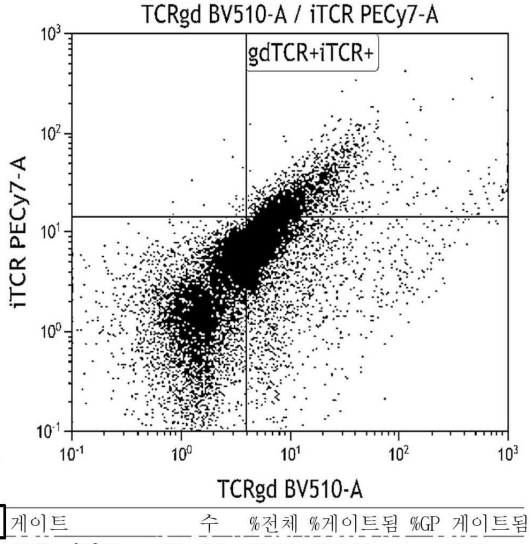
게이트	수	%전체	%게이트됨
모든 게이트	15,666	4.29	100.00
gdTCR+iTCR+	1,621	0.44	10.35

144000건의 사례 [CD56+]



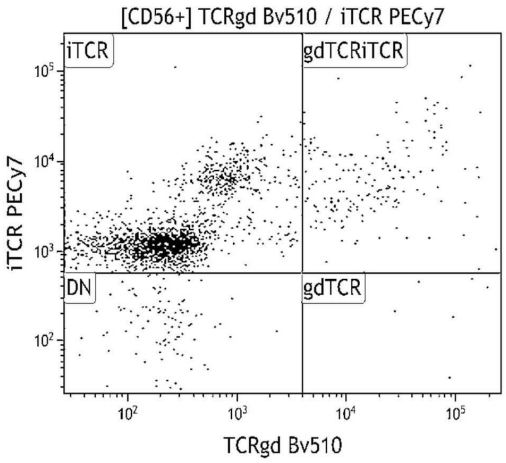
게이트	수	%전체	%게이트됨
모든 게이트	31,166	8.15	100.00
gdTCR+iTCR+	2,274	0.59	7.30

144000건의 사례 [CD56+]

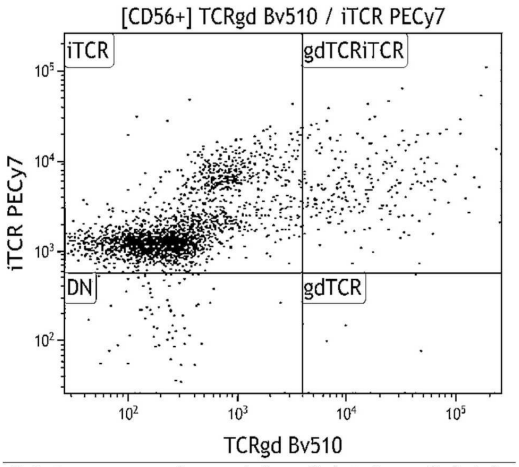


게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP 게이트됨
모든 게이트	25,485	7.55	100.00	N/A
gdTCR+iTCR+	2,745	0.81	10.77	0.83

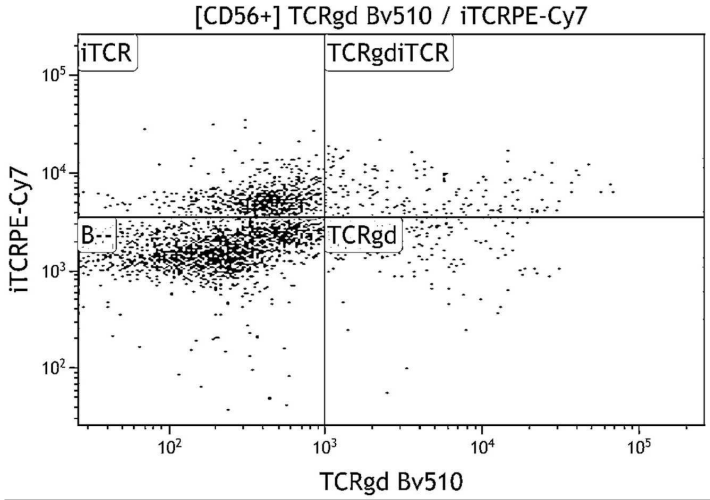
도면21



게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP게이트됨
모든 게이트	2,868	1.24	100.00	N/A
DN	203	0.09	7.08	0.09
gdTCR	83	0.04	2.89	0.04
gdTCRiTCR	201	0.09	7.01	0.09
iTCR	2,381	1.03	83.02	1.06

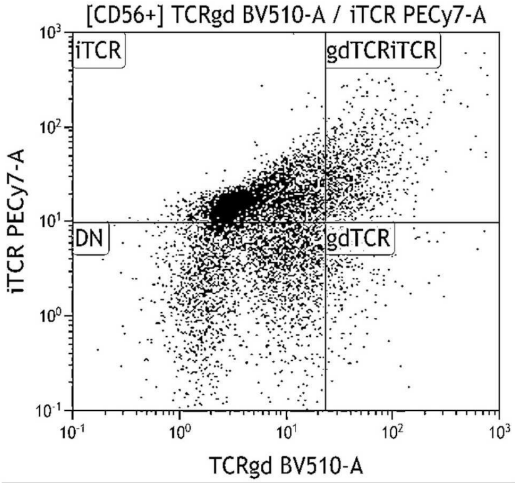


게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP게이트됨
모든 게이트	3,449	1.07	100.00	N/A
DN	108	0.03	3.13	0.03
gdTCR	71	0.02	2.06	0.02
gdTCRiTCR	242	0.08	7.02	0.08
iTCR	3,028	0.94	87.79	0.96

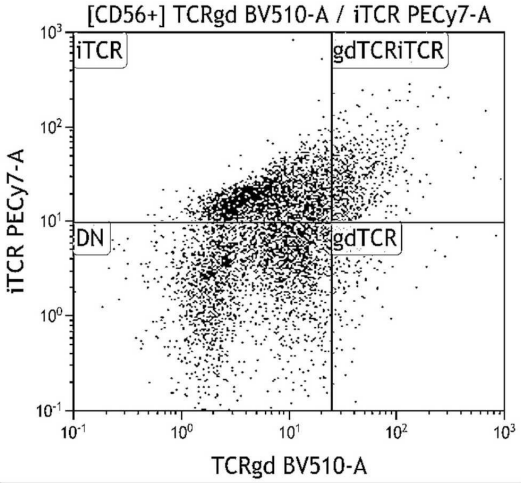


게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP게이트됨
모든 게이트	3,712	1.40	100.00	N/A
B--	2,526	0.95	68.05	0.97
iTCR	781	0.29	21.04	0.30
TCRgd	216	0.08	5.82	0.08
TCRgdiTCR	189	0.07	5.09	0.07

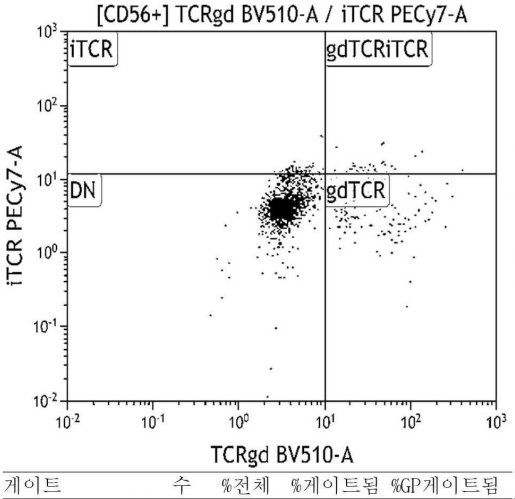
도면22



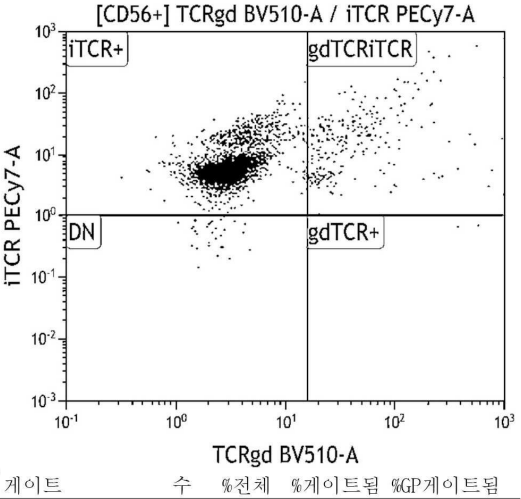
게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP게이트됨
모든 게이트	10,524	7.49	100.00	N/A
DN	4,974	3.54	47.26	3.76
gdTCR	508	0.36	4.83	0.38
gdTCRiTCR	933	0.66	8.87	0.71
iTCR	4,109	2.92	39.04	3.11



게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP게이트됨
모든 게이트	8,115	7.49	100.00	N/A
DN	4,412	4.07	54.37	4.27
gdTCR	335	0.31	4.13	0.32
gdTCRiTCR	685	0.63	8.44	0.66
iTCR	2,683	2.48	33.06	2.60

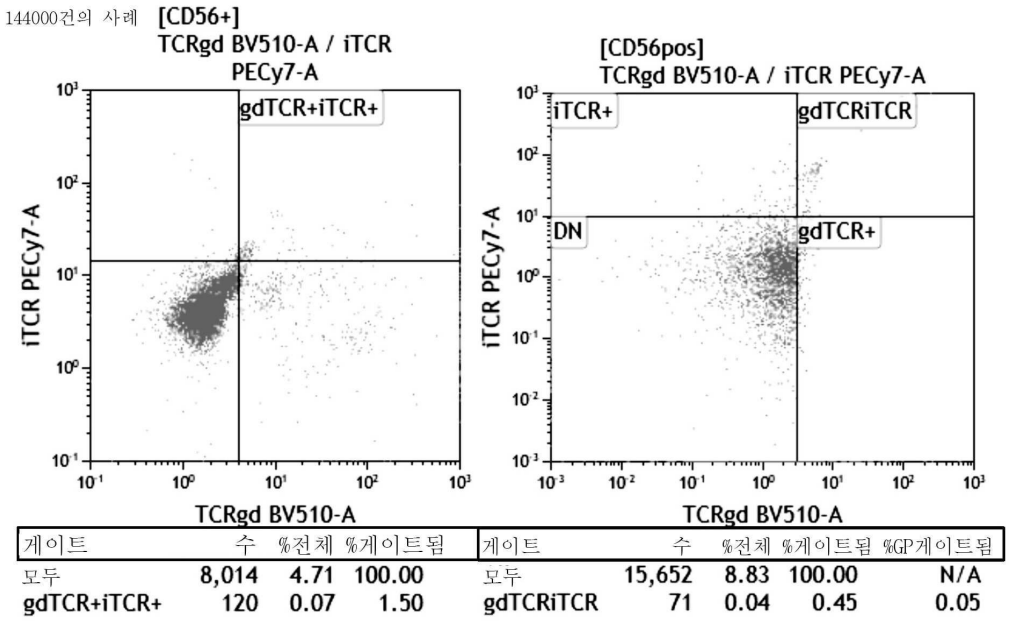


게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP게이트됨
모든 게이트	1,899	2.01	100.00	N/A
DN	1,594	1.69	83.94	1.71
gdTCR	196	0.21	10.32	0.21
gdTCRiTCR	39	0.04	2.05	0.04
iTCR	70	0.07	3.69	0.08



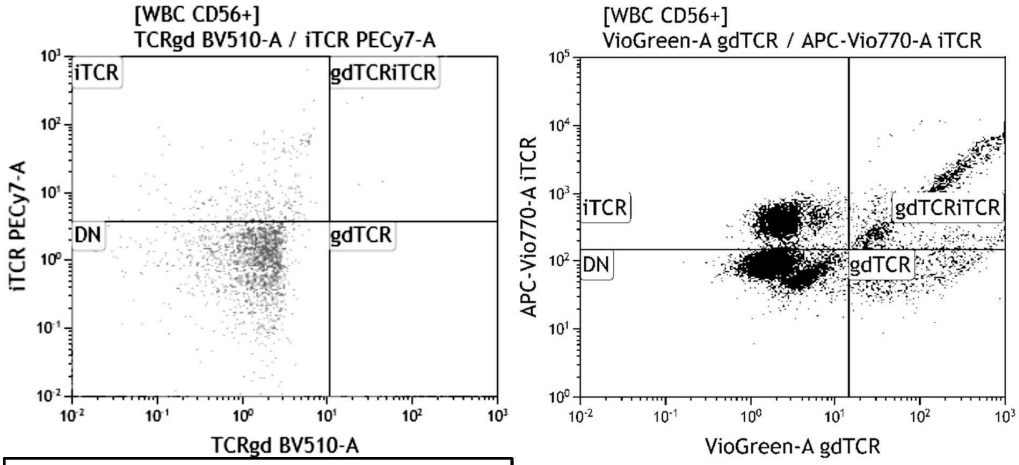
게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP게이트됨
모든 게이트	3,942	3.38	100.00	N/A
DN	46	0.04	1.17	0.04
gdTCR+	4	0.00	0.10	0.00
gdTCRiTCR	279	0.24	7.08	0.25
iTCR+	3,613	3.10	91.65	3.19

도면23a



게이트	수	%전체	%게이트됨
모두	8,014	4.71	100.00
gdTCR+iTCR+	120	0.07	1.50

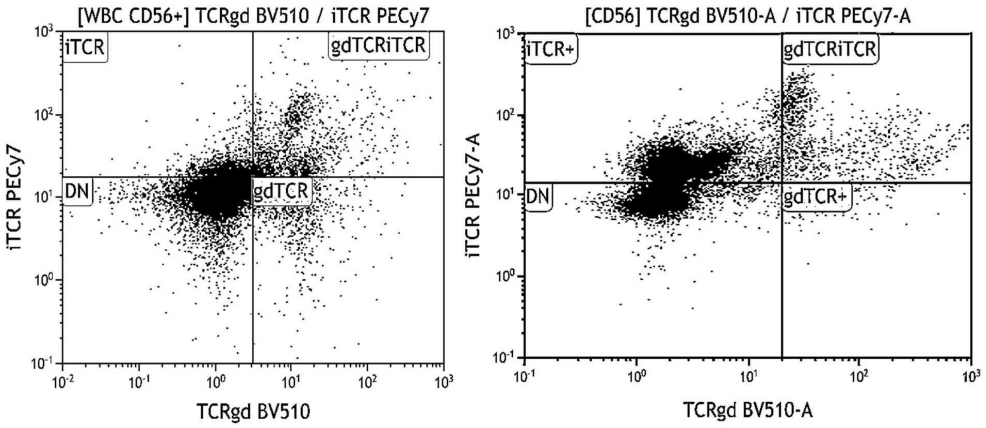
게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP게이트됨
모두	15,652	8.83	100.00	N/A
gdTCRiTCR	71	0.04	0.45	0.05



게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP게이트됨
모두	16,818	9.49	100.00	N/A
DN	6,833	3.85	40.63	4.47
gdTCR	77	0.04	0.46	0.05
gdTCRiTCR	10	0.01	0.06	0.01
iTCR	9,898	5.58	58.85	6.48

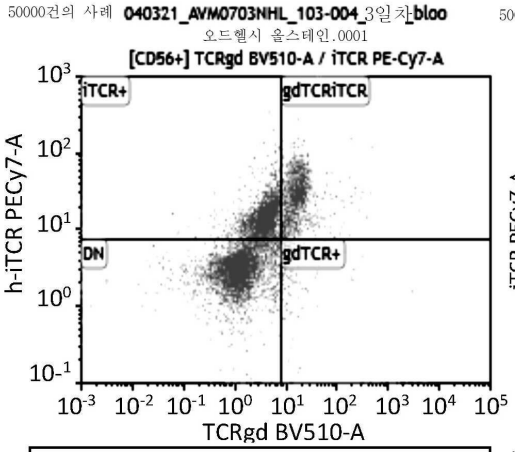
게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP게이트됨
모두	11,814	5.50	100.00	N/A
DN	5,961	2.77	50.46	3.13
gdTCR	652	0.30	5.52	0.34
gdTCRiTCR	1,470	0.68	12.44	0.77
iTCR	3,731	1.74	31.58	1.96

도면23b

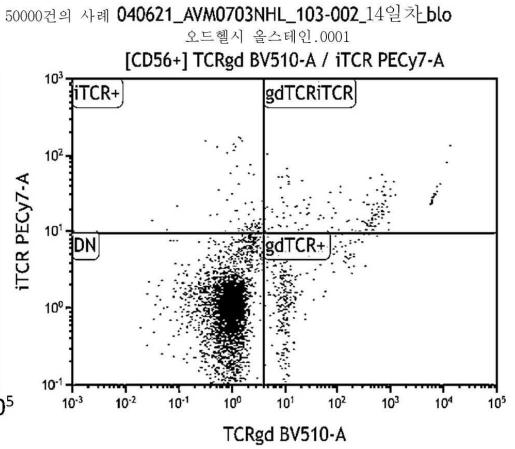


게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP게이트됨
모두	17,365	5.77	100.00	N/A
DN	11,853	3.94	68.26	4.53
gdTCR	1,873	0.62	10.79	0.72
gdTCRiTCR	1,899	0.63	10.94	0.73
iTCR	1,740	0.58	10.02	0.66

게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP게이트됨
모두	14,059	6.54	100.00	N/A
DN	6,001	2.79	42.68	3.46
gdTCR+	219	0.10	1.56	0.13
gdTCRiTCR	1,091	0.51	7.76	0.63
iTCR+	6,748	3.14	48.00	3.89

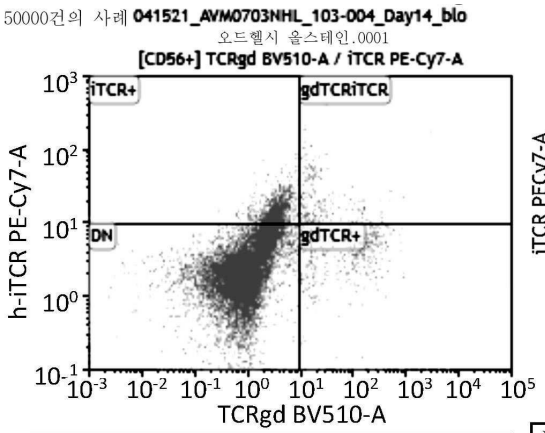


게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP게이트됨
모두	8,595	4.29	100.00	N/A
DN	3,966	1.98	46.14	4.42
gdTCR+	520	0.26	6.05	0.58
gdTCRiTCR	1,262	0.63	14.68	1.41
iTCR+	2,847	1.42	33.12	3.17

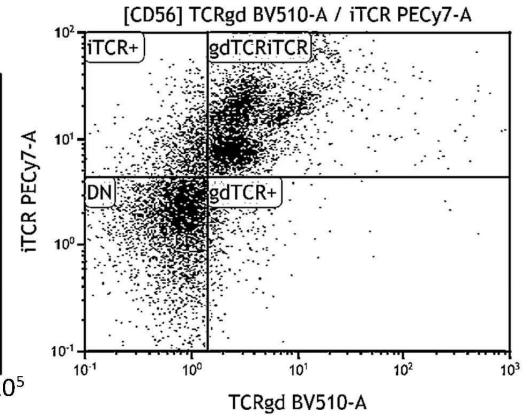


게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP게이트됨
모두	5,807	4.63	100.00	N/A
DN	4,854	3.87	83.59	6.86
gdTCR+	715	0.57	12.31	1.01
gdTCRiTCR	158	0.13	2.72	0.22
iTCR+	80	0.06	1.38	0.11

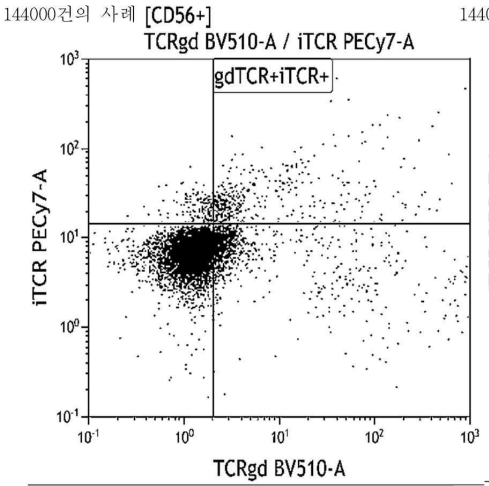
도면23c



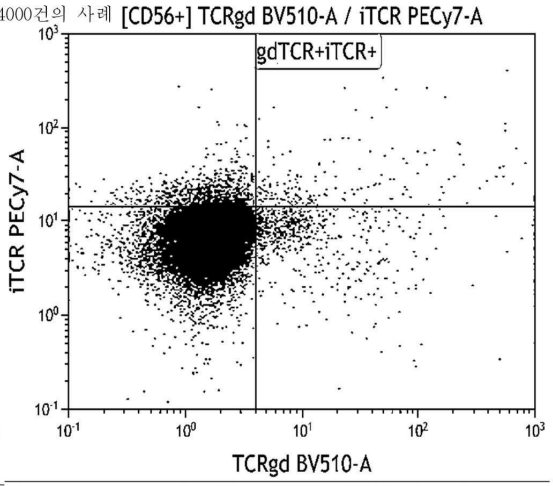
게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP게이트
모두	18,708	7.82	100.00	N/A
DN	16,454	6.88	87.95	15.85
gdTCR+	517	0.22	2.76	0.50
gdTCRiTCR	204	0.09	1.09	0.20
iTCR+	1,533	0.64	8.19	1.48



게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP게이트
모두	11,419	4.23	100.00	N/A
--	4,648	1.72	40.70	2.30
gdTCR+	851	0.32	7.45	0.42
gdTCRiTCR	4,902	1.82	42.93	2.43
iTCR+	1,018	0.38	8.91	0.50

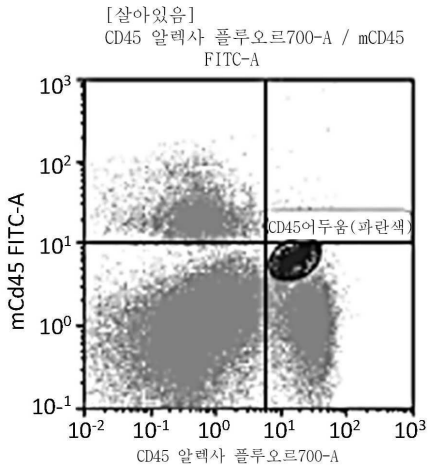


게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP게이트됨
모두	7,545	2.66	100.00	N/A
gdTCR+iTCR+	506	0.18	6.71	0.19

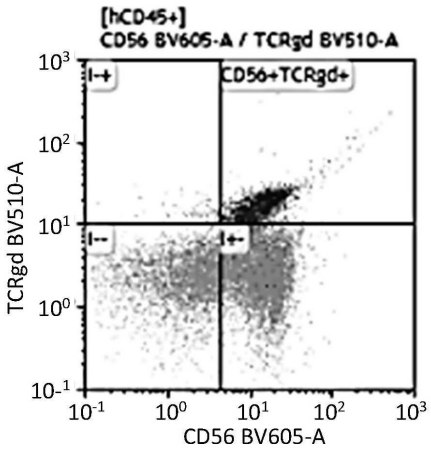


게이트	수	%전체	%게이트됨	%GP게이트됨
모두	77,735	30.91	100.00	N/A
gdTCR+iTCR+	224	0.09	0.29	0.10

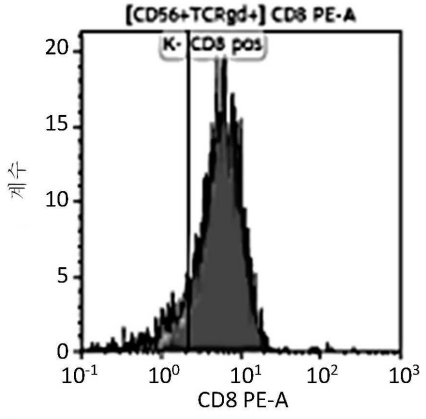
도면24



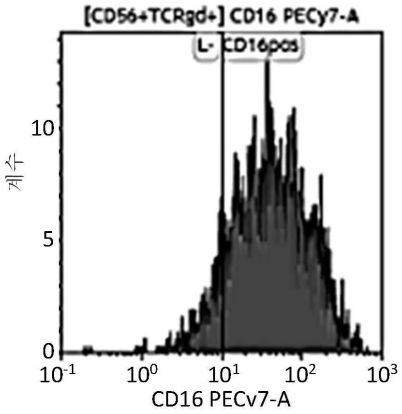
게이트	수	%전체	%게이트됨
hCD45+	22,211	4.88	18.59
hCD45+mCD45+	465	0.10	0.39
hCD45어두움 파란색	2,791	0.61	2.34
mCD45-hCD45-	84,689	18.62	70.83
hCD45+ 붉은색	12,113	2.66	10.14



게이트	수	%게이트됨
모든 게이트	22,211	100.00
CD56+TCRgd+	2,672	12.03
I--	8,675	39.06
I-+	144	0.65
I+-	10,720	48.26

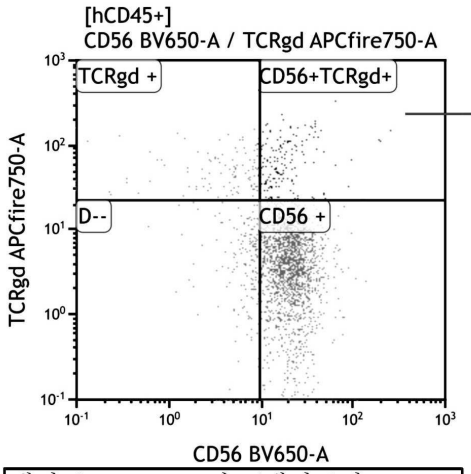


게이트됨	수	%게이트됨
모든 게이트	2,672	100.00
CD8 pos	2,275	85,14
K-	397	14.86

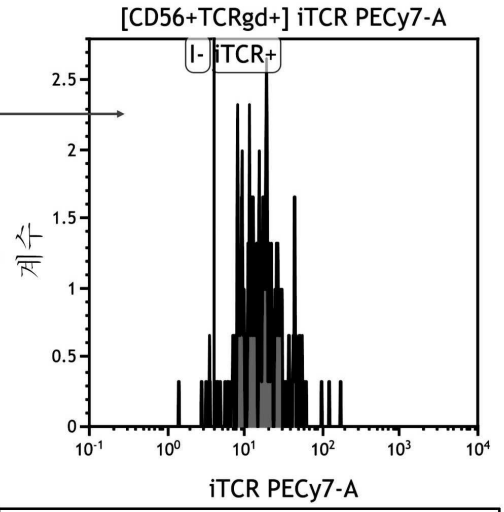


게이트됨	수	%게이트됨
모든 게이트	2,672	100.00
CD16pos	2,349	87.91
L-	323	12.09

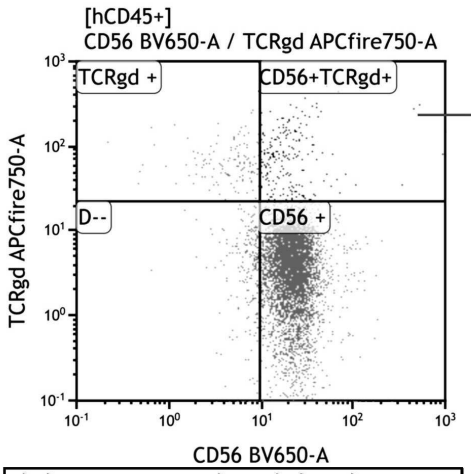
도면25



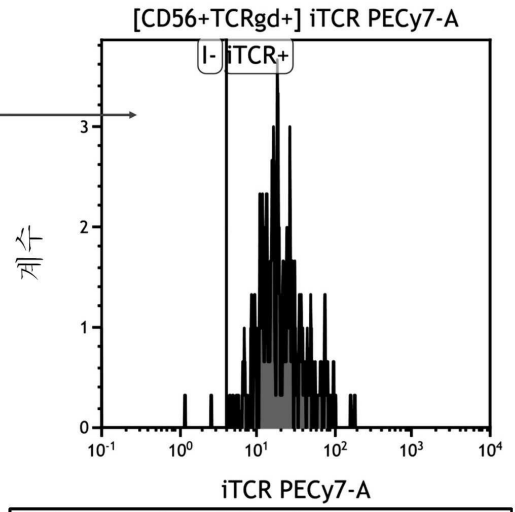
게이트	수	%게이트됨
모든 게이트	3,246	100.00
CD56 +	2,736	84.29
CD56+TCRgd+	167	5.14
D--	224	6.90
TCRgd +	119	3.67



게이트	수	%게이트됨
모든 게이트	167	100.00
I-	5	2.99
iTCR+	162	97.01

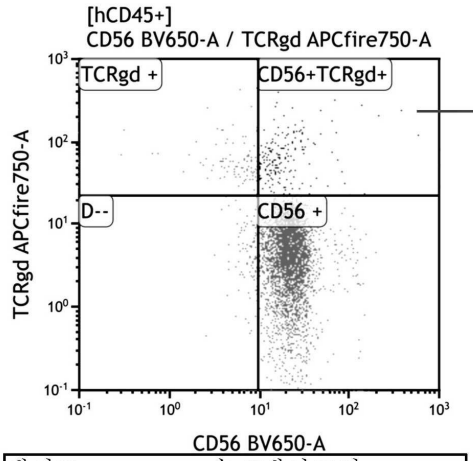


게이트	수	%게이트됨
모든 게이트	9,284	100.00
CD56 +	8,663	93.31
CD56+TCRgd+	220	2.37
D--	260	2.80
TCRgd +	141	1.52

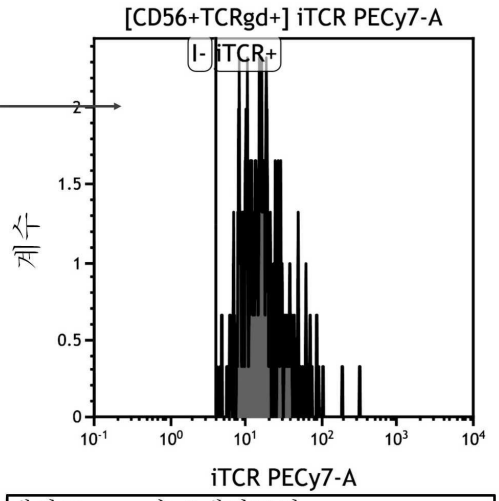


게이트	수	%게이트됨
모든 게이트	220	100.00
I-	3	1.36
iTCR+	217	98.64

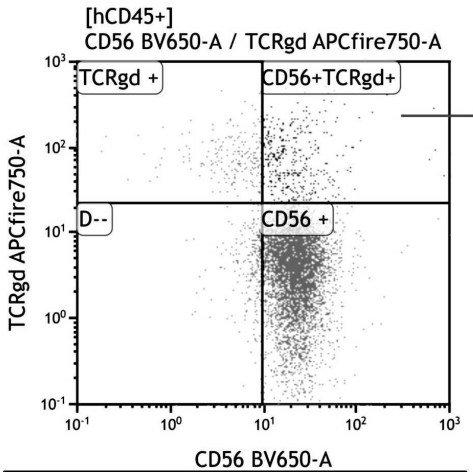
도면26



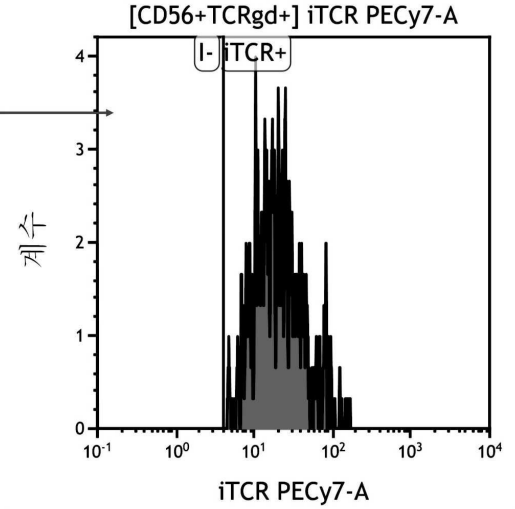
게이트	수	%게이트됨
모든 게이트	5,889	100.00
CD56 +	5,450	92.55
CD56+TCRgd+	197	3.35
D--	123	2.09
TCRgd +	119	2.02



게이트	수	%게이트됨
모든 게이트	197	100.00
I-	2	1.02
iTCR+	195	98.98

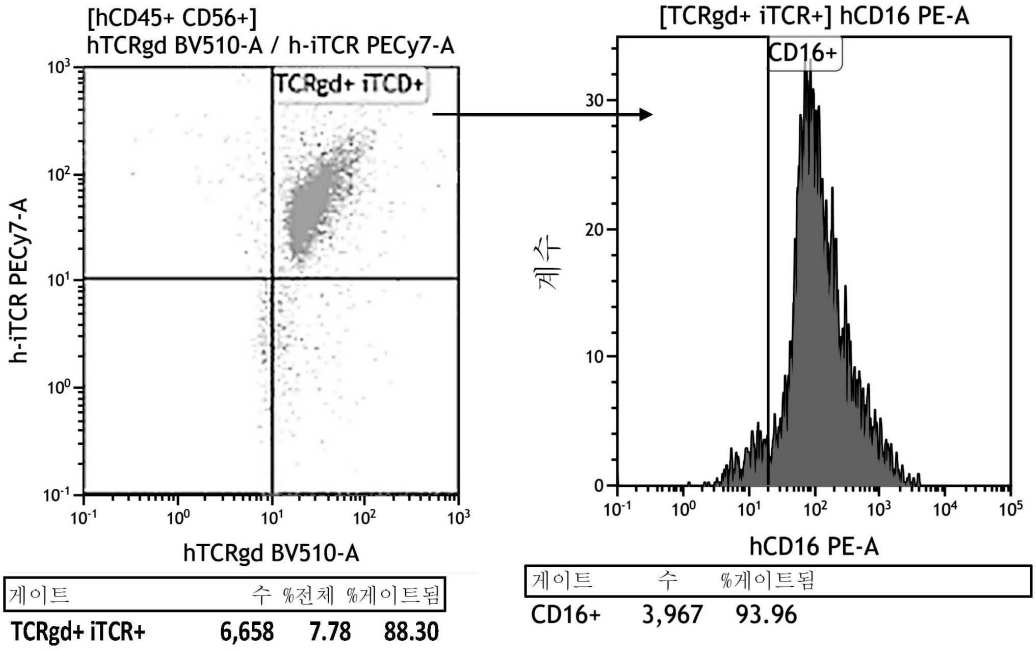


게이트	수	%게이트됨
모든 게이트	9,054	100.00
CD56 +	8,123	89.72
CD56+TCRgd+	374	4.13
D--	315	3.48
TCRgd +	242	2.67



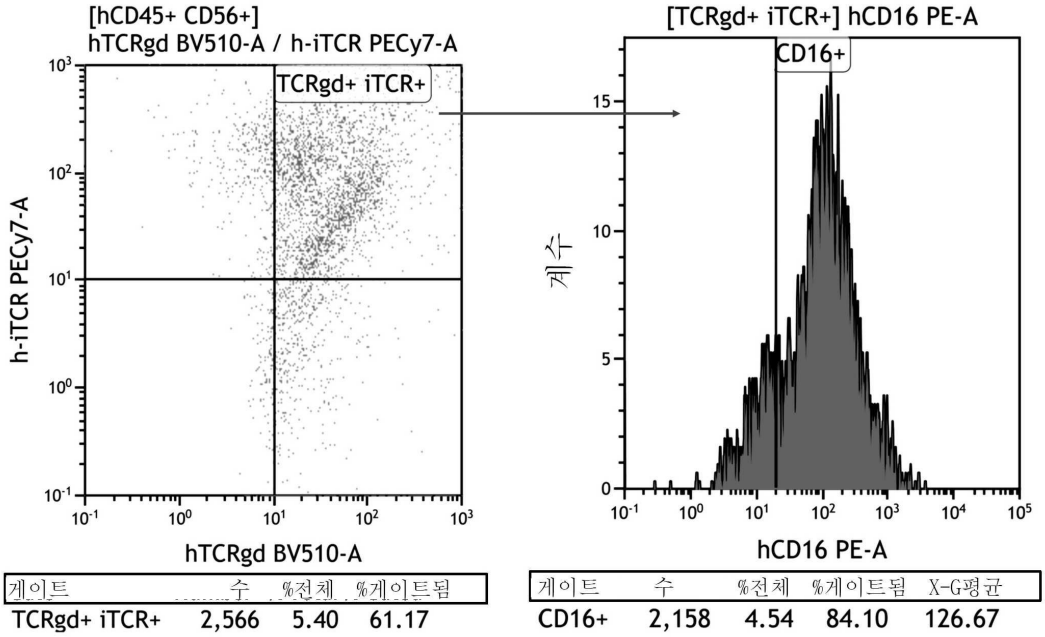
게이트	수	%게이트됨
모든 게이트	374	100.00
I-	2	0.53
iTCR+	372	99.47

도면27



게이트	수	%전체	%게이트됨
TCRgd+ iTCR+	6,658	7.78	88.30

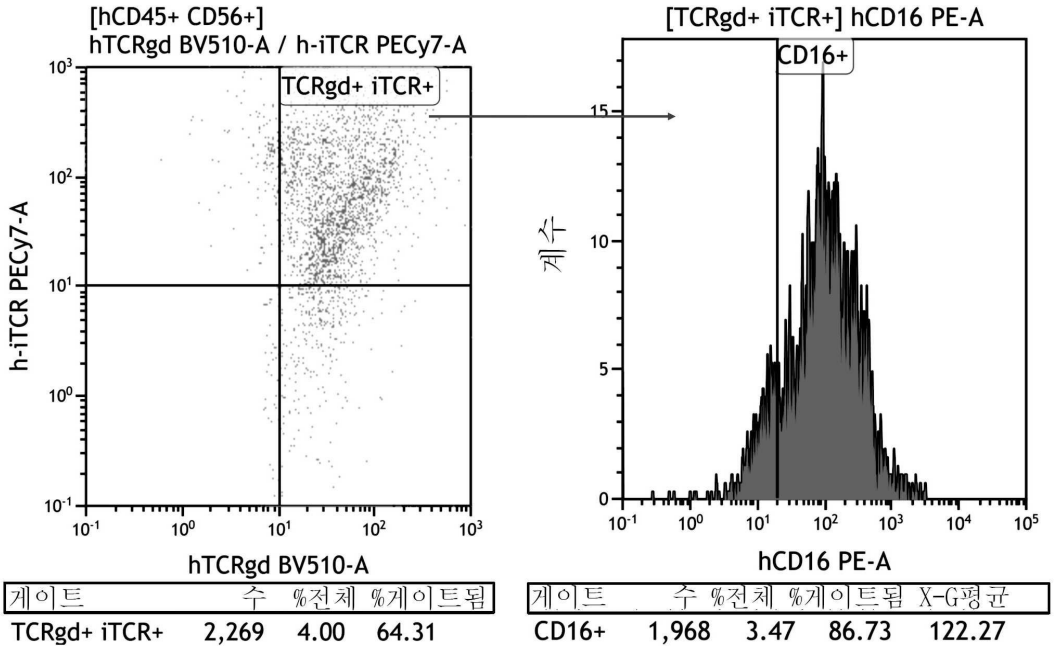
게이트	수	%게이트됨
CD16+	3,967	93.96



게이트	수	%전체	%게이트됨
TCRgd+ iTCR+	2,566	5.40	61.17

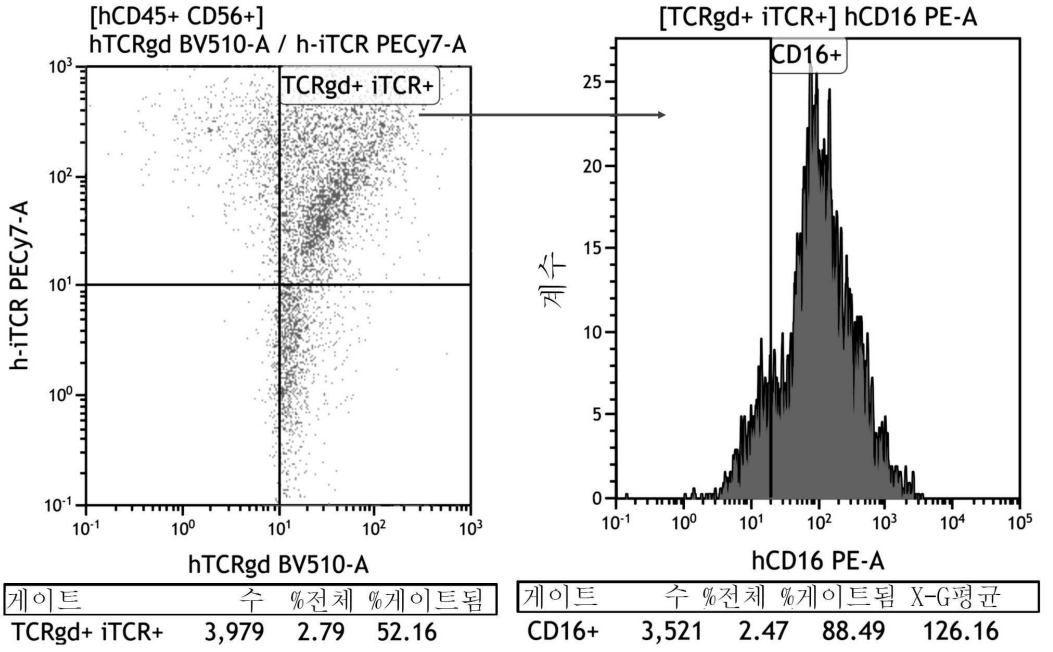
게이트	수	%전체	%게이트됨	X-G평균
CD16+	2,158	4.54	84.10	126.67

도면28



게이트	수	%전체	%게이트됨
TCRgd+ iTCR+	2,269	4.00	64.31

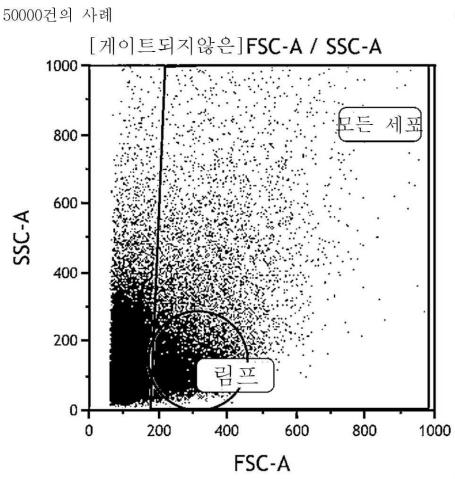
게이트	수	%전체	%게이트됨	X-G평균
CD16+	1,968	3.47	86.73	122.27



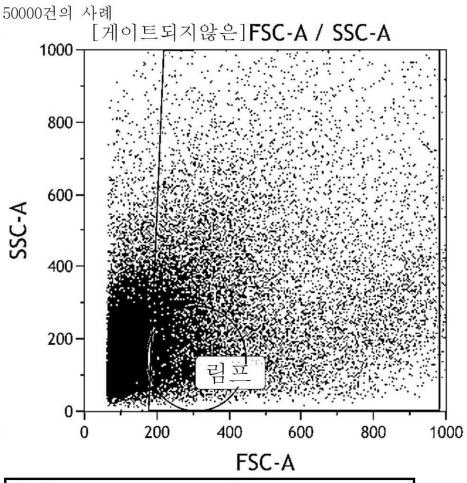
게이트	수	%전체	%게이트됨
TCRgd+ iTCR+	3,979	2.79	52.16

게이트	수	%전체	%게이트됨	X-G평균
CD16+	3,521	2.47	88.49	126.16

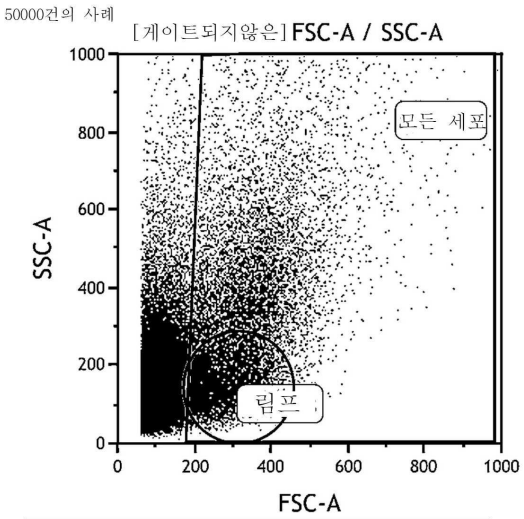
도면29



게이트	수
모든 게이트	255,680
모든 세포	76,100
림프	52,478

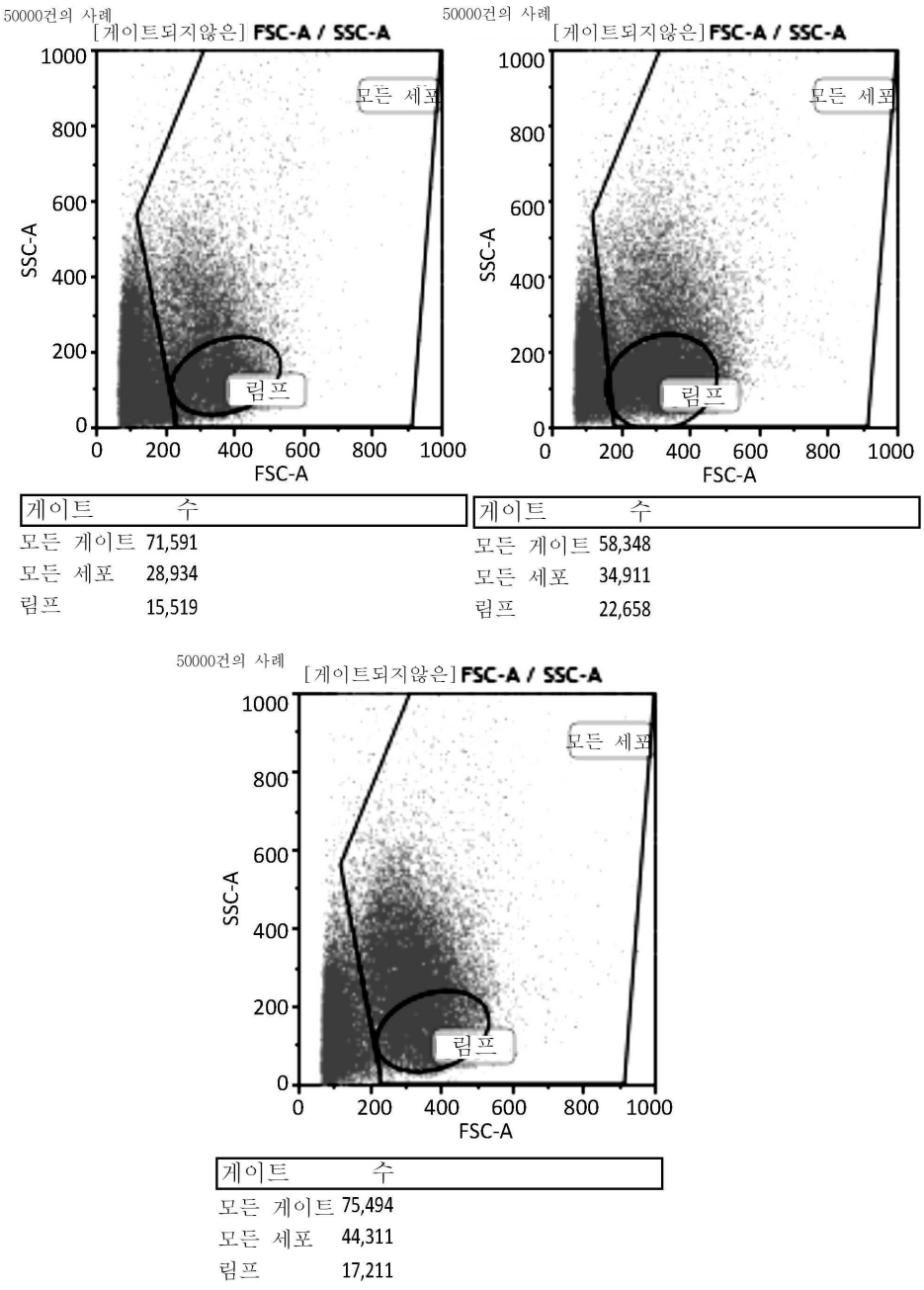


게이트	수
모든 게이트	430,232
모든 세포	153,829
림프	59,073



게이트	수
모든 게이트	207,601
모든 세포	63,986
림프	32,230

도면30

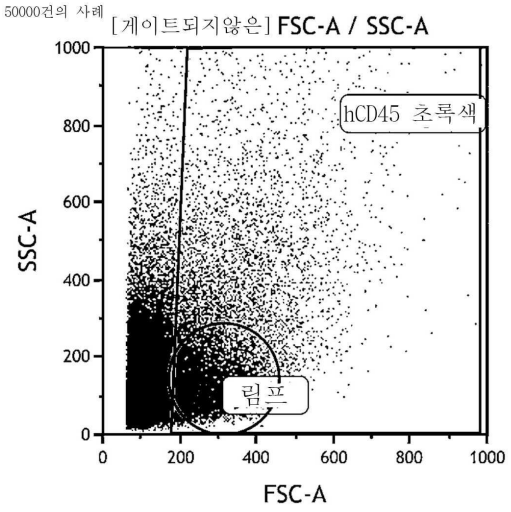


게이트	수
모든 게이트	71,591
모든 세포	28,934
림프	15,519

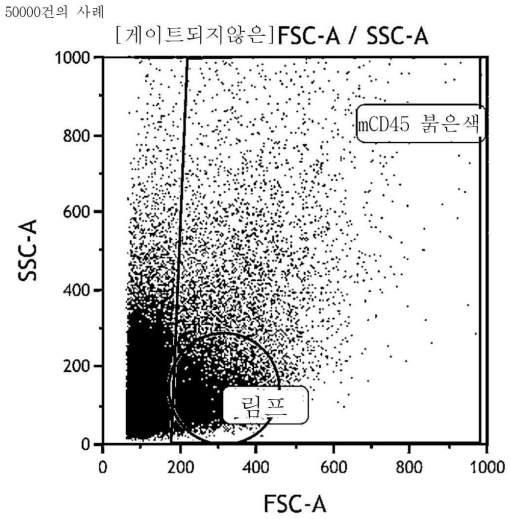
게이트	수
모든 게이트	58,348
모든 세포	34,911
림프	22,658

게이트	수
모든 게이트	75,494
모든 세포	44,311
림프	17,211

도면31



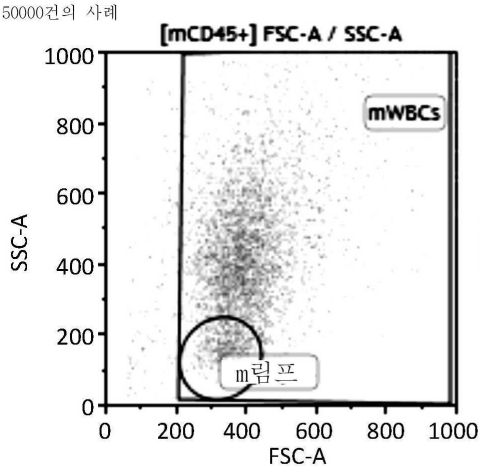
게이트	수
모든 게이트	255,680
hCD45-초록색	76,100
림프	52,478



게이트	수
모든 게이트	255,680
림프구	52,478
mCD45 붉은색	76,100

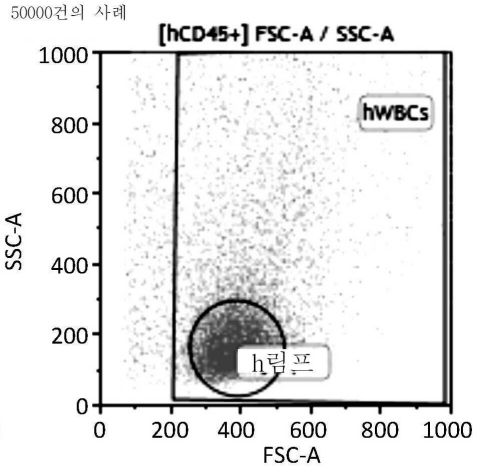
도면32

50000건의 사례



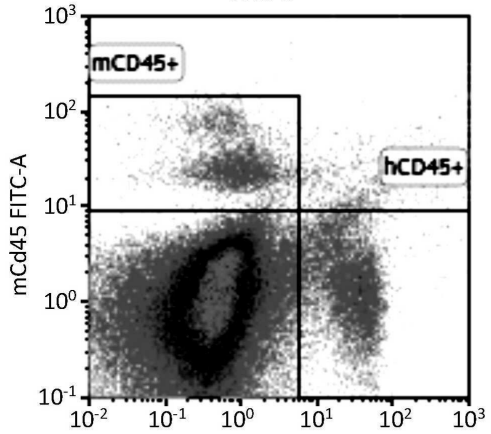
게이트	수
모든 게이트	4,750
m림프	620
mWBC	4,541

50000건의 사례



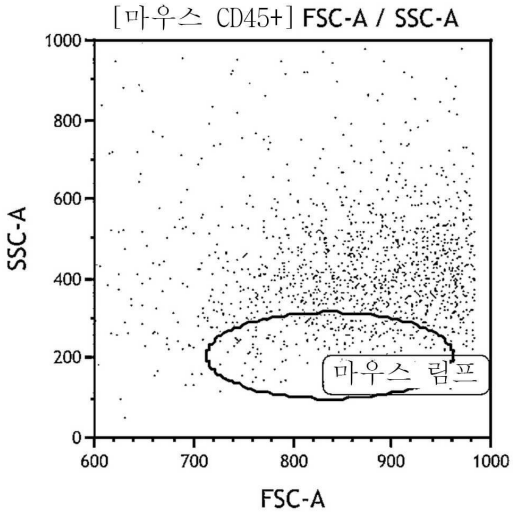
게이트	수
모든 게이트	11,428
h림프	6,021
hWBC	10,179

[게이트되지 않은]
CD45 알렉사 플루오르700-A / mCd45 FITC-A

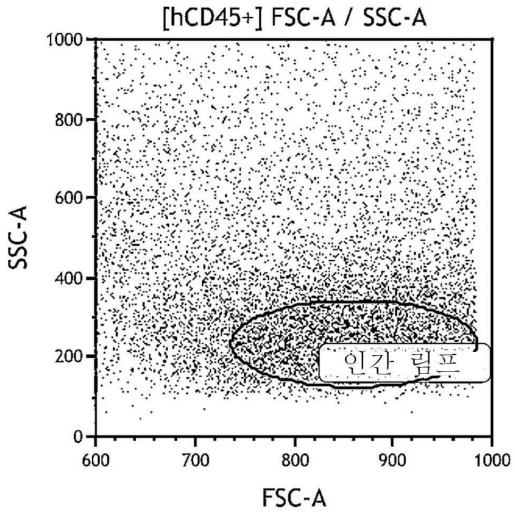


게이트	수	%전체	%게이트됨
hCD45+	11,428	4.47	4.47
mCD45+	4,750	1.86	1.86

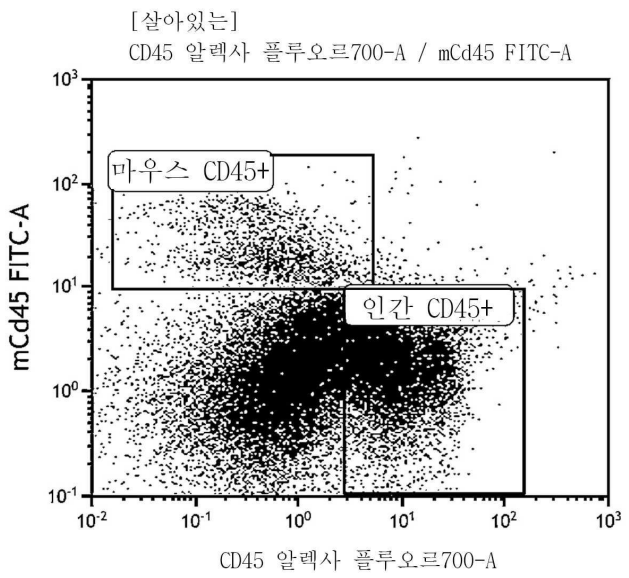
도면33



게이트	수	%게이트됨
모든 게이트	1,680	100.00
마우스 림프	210	12.50

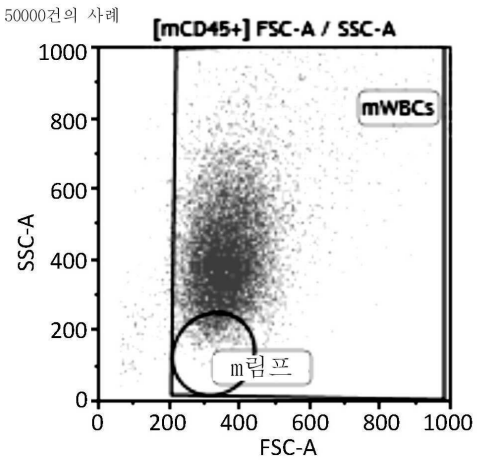


게이트	수	%게이트됨
모든 게이트	10,256	100.00
마우스 림프	3,232	31.51

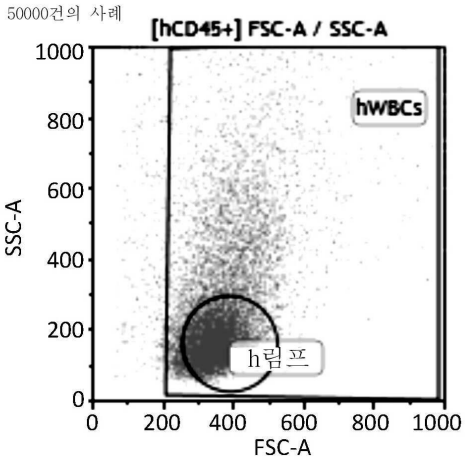


게이트	수	%전체	%게이트됨
모든 게이트	34,689	8.06	100.00
인간 CD45+	10,101	2.35	29.12
마우스 CD45+	1,680	0.39	4.84

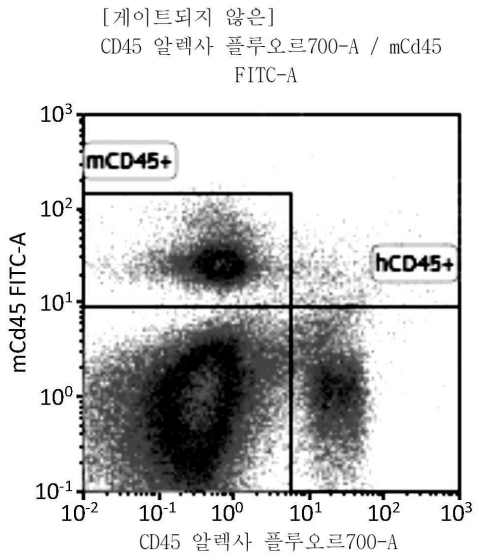
도면34



게이트	수
모든 게이트	13,470
m림프	749
mWBC	13,112

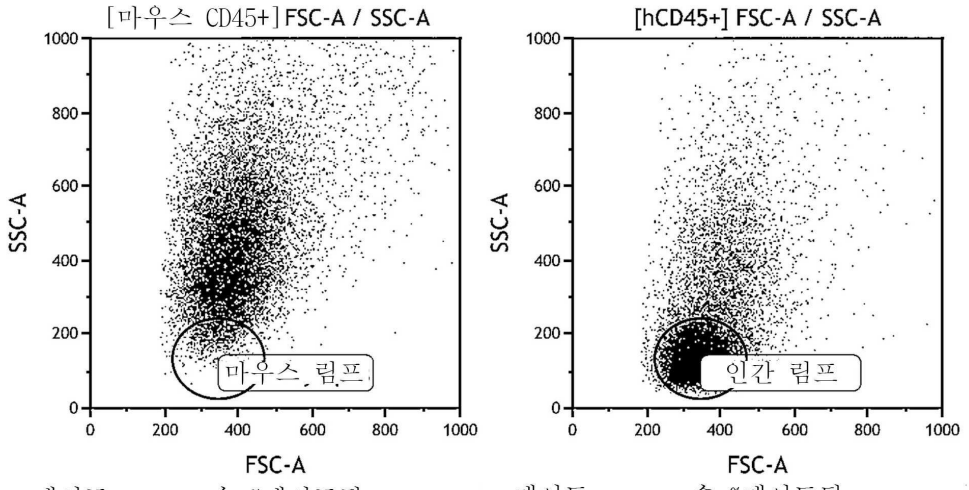


게이트	수
모든 게이트	14,794
h림프	7,854
hWBC	13,612



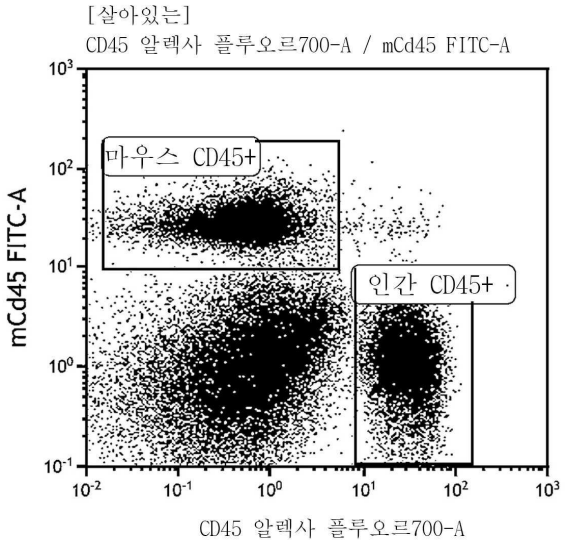
게이트	수	%전체	%게이트됨
hCD45+	14,794	7.13	7.13
mCD45+	13,470	6.49	6.49

도면35



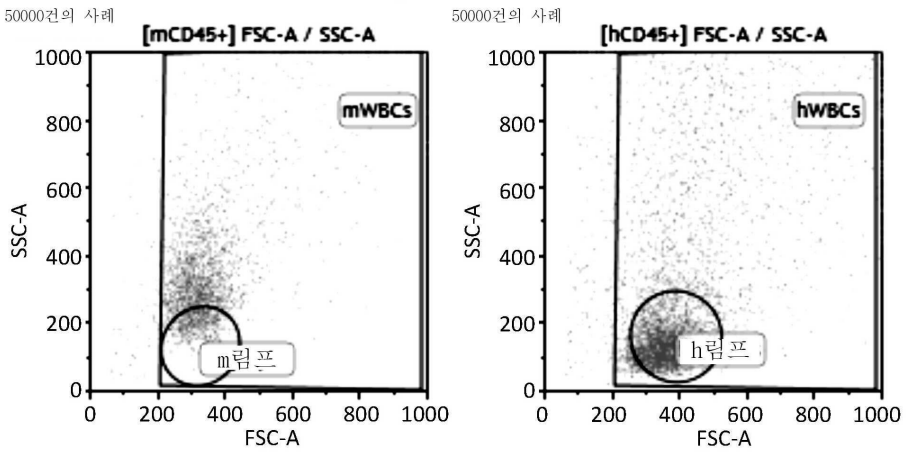
게이트	수	%게이트됨
모든 게이트	11,687	100.00
마우스 림프	788	6.74

게이트	수	%게이트됨
모든 게이트	10,390	100.00
인간 림프	6,970	67.08



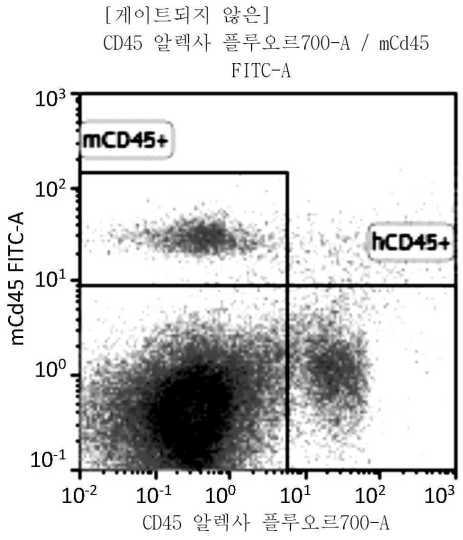
게이트	수	%전체	%게이트됨
모든 게이트	61,221	32.34	100.00
인간 CD45+	9,688	5.12	15.82
마우스 CD45+	11,687	6.17	19.09

도면36



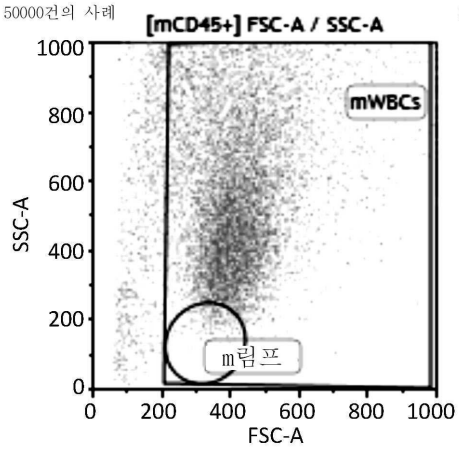
게이트	수
모든 게이트	2,839
m림프	638
mWBC	2,687

게이트	수
모든 게이트	8,013
h림프	3,029
hWBC	6,401

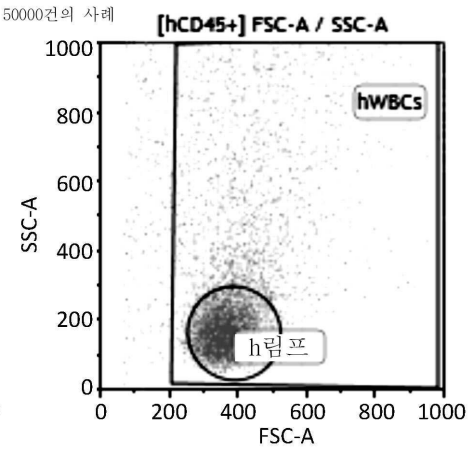


게이트	수	%전체	%게이트됨
hCD45+	8,013	5.57	5.57
mCD45+	2,839	1.97	1.97

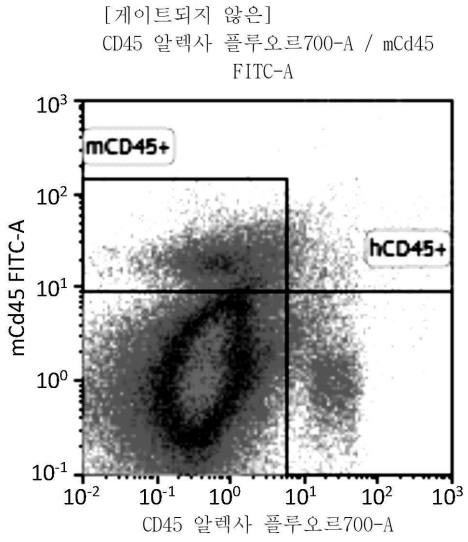
도면37



게이트	수
모든 게이트	16,394
m림프	256
mWBC	12,600

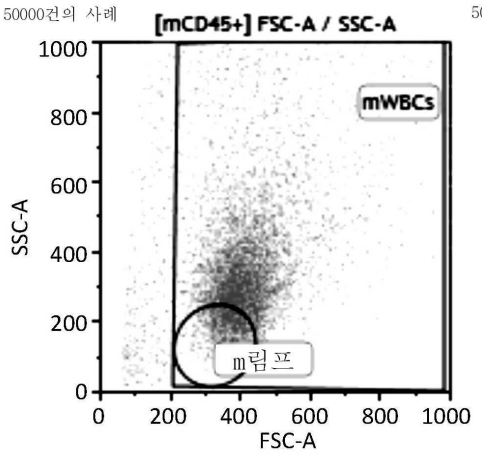


게이트	수
모든 게이트	10,413
h림프	4,073
hWBC	8,134

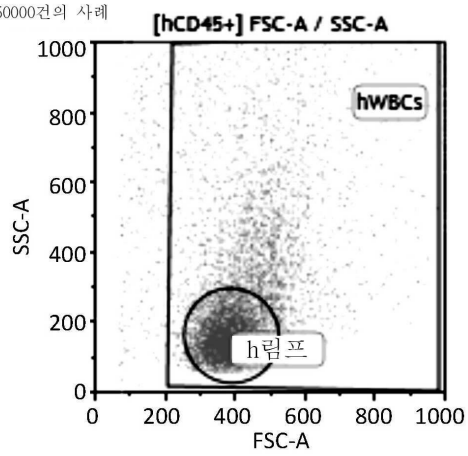


게이트	수	%전체	%게이트됨
hCD45+	10,413	3.67	3.67
mCD45+	16,394	5.78	5.78

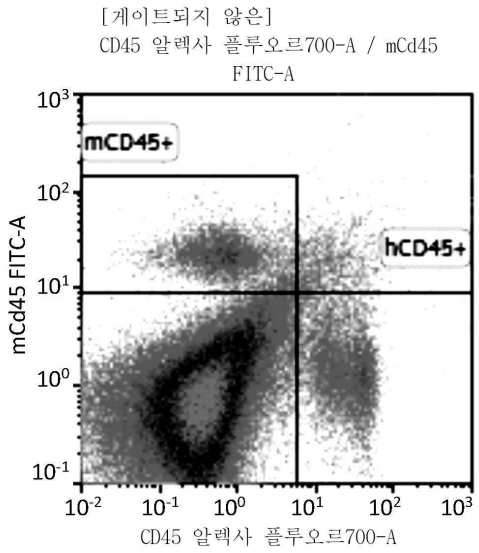
도면38



게이트	수
모든 게이트	8,042
m림프	1,494
mWBC	7,341

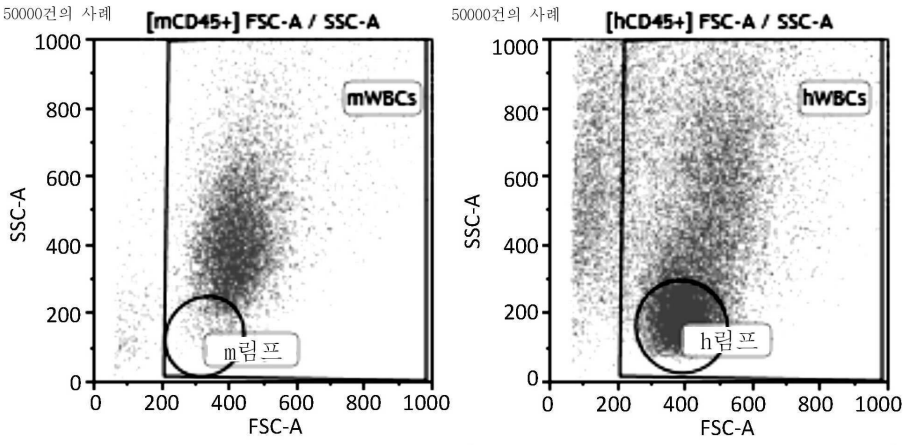


게이트	수
모든 게이트	10,698
h림프	5,618
hWBC	9,645



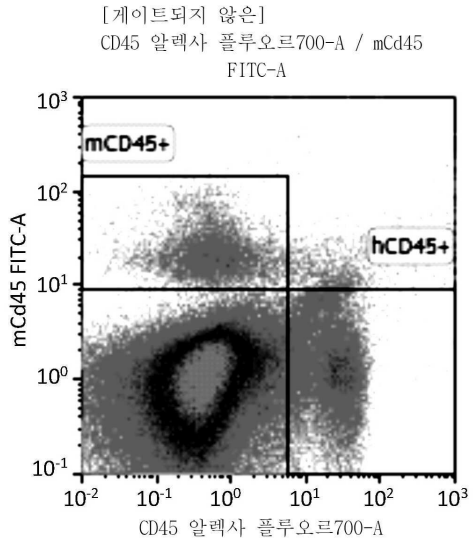
게이트	수	%전체	%게이트됨
hCD45+	10,698	4.25	4.25
mCD45+	8,042	3.20	3.20

도면39



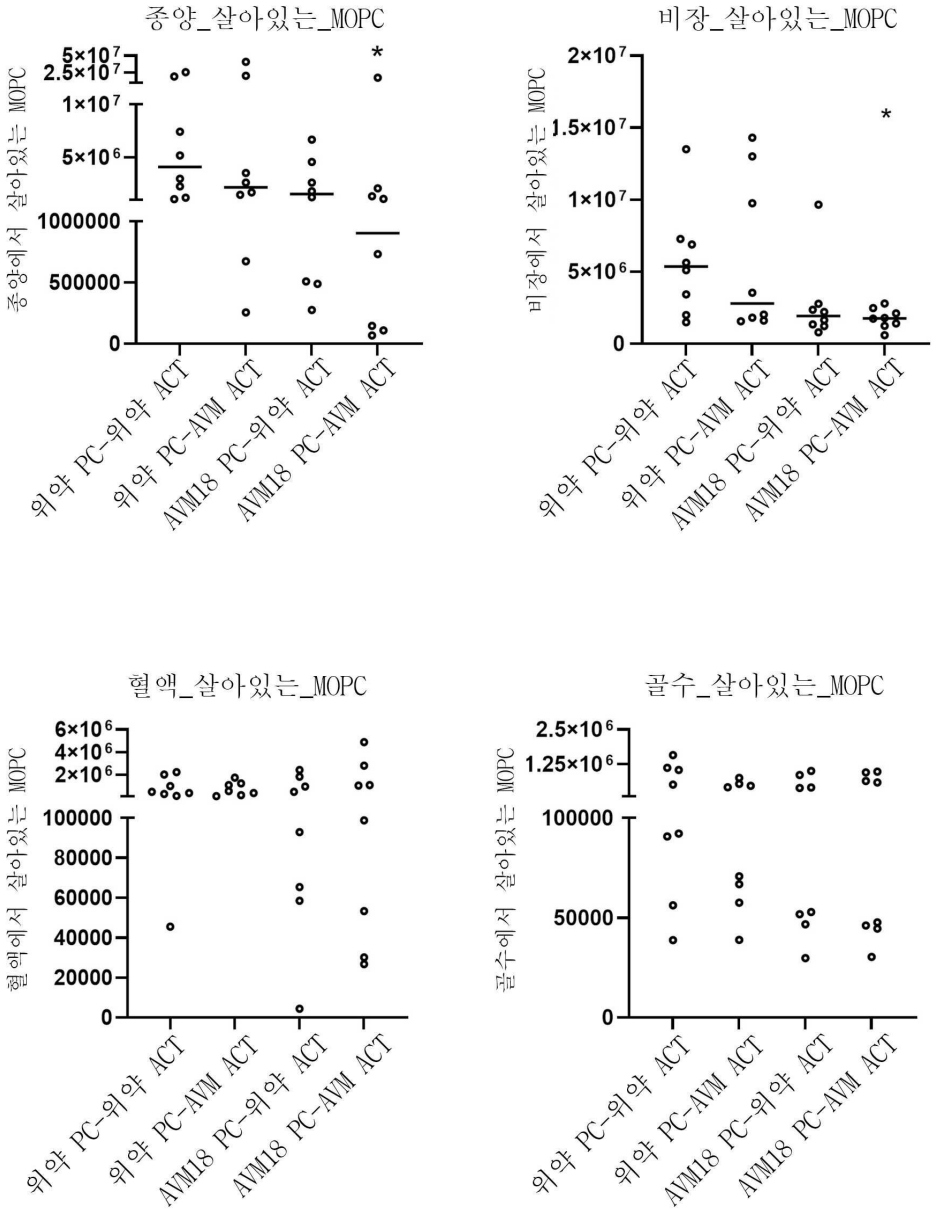
게이트	수
모든 게이트	10,937
m림프	547
mWBC	10,562

게이트	수
모든 게이트	32,487
h림프	9,696
hWBC	25,888

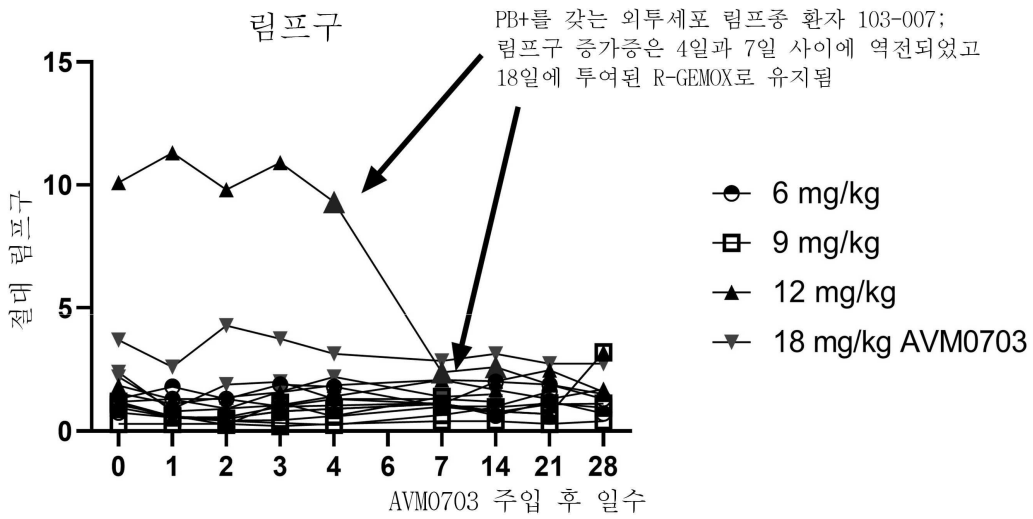


게이트	수	%전체	%게이트됨
hCD45+	32,487	7.14	7.14
mCD45+	10,937	2.41	2.41

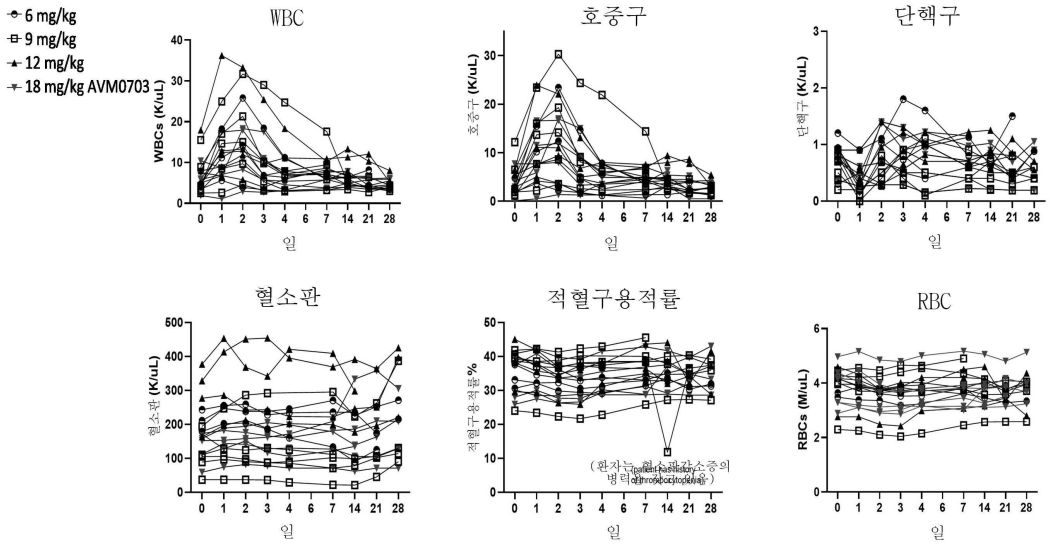
도면40


종양_살아있는_MOPC
종양에서 살아있는 MOPC
5×10^7
2.5×10^7
1×10^7
5×10^6
1000000
500000
0
*
위약 PC-위약 ACT
위약 PC-AVM ACT
AVM18 PC-위약 ACT
AVM18 PC-AVM ACT
비장_살아있는_MOPC
비장에서 살아있는 MOPC
2×10^7
1.5×10^7
1×10^7
5×10^6
0
*
위약 PC-위약 ACT
위약 PC-AVM ACT
AVM18 PC-위약 ACT
AVM18 PC-AVM ACT
혈액_살아있는_MOPC
혈액에서 살아있는 MOPC
6×10^6
4×10^6
2×10^6
100000
80000
60000
40000
20000
0
위약 PC-위약 ACT
위약 PC-AVM ACT
AVM18 PC-위약 ACT
AVM18 PC-AVM ACT
골수_살아있는_MOPC
골수에서 살아있는 MOPC
2.5×10^6
1.25×10^6
100000
50000
0
위약 PC-위약 ACT
위약 PC-AVM ACT
AVM18 PC-위약 ACT
AVM18 PC-AVM ACT

도면41



도면42



도면43