



(19) 대한민국특허청(KR)
 (12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년08월16일
 (11) 등록번호 10-2011609
 (24) 등록일자 2019년08월09일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 35/12 (2015.01) *A61K 35/39* (2015.01)
A61K 45/06 (2006.01) *A61K 9/00* (2006.01)
C12N 5/071 (2010.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 35/12 (2013.01)
A61K 35/39 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2018-7004814(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2009년11월19일
 심사청구일자 2018년03월20일
- (85) 번역문제출일자 2018년02월19일
- (65) 공개번호 10-2018-0021230
- (43) 공개일자 2018년02월28일
- (62) 원출원 특허 10-2011-7012519
 원출원일자(국제) 2009년11월19일
 심사청구일자 2014년11월06일
- (86) 국제출원번호 PCT/AU2009/001511
- (87) 국제공개번호 WO 2010/057260
 국제공개일자 2010년05월27일
- (30) 우선권주장
 61/199,796 2008년11월20일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
 WO2007127408 A2*
 Methods Bol Biol., Vol. 449, pp. 45-57
 (2008)*
- *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

전체 청구항 수 : 총 20 항

심사관 : 김경미

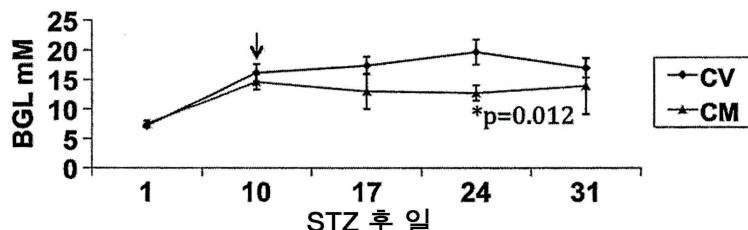
(54) 발명의 명칭 **췌장 기능장애를 치료 또는 예방하는 방법****(57) 요약**

본 발명은 췌장 기능을 개선시킬 필요가 있는 대상체에게 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 유래한 가용성 인자를 투여함을 포함하여, 상기 대상체에서 췌장 기능을 개선시키는 방법을 제공한다. 본 발명의 방법은 예를 들면, 췌장의 비정상적인 내분비 또는 외분비 기능으로부터 초래되는 췌장 기능장애로부터 생

(뒷면에 계속)

대 표 도 - 도1

CV 대 CM



성되거나 이와 관련된 질환의 발병 또는 진행을 치료하고/하거나 예방하고/하거나 자연시키는데 유용하다.

(52) CPC특허분류

A61K 45/06 (2013.01)

A61K 9/0019 (2013.01)

C12N 5/0676 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

STRO-1⁺ 세포를 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 췌장의 내분비, 외분비, 또는 이 둘 모두의 기능과 관련된 췌장 기능장애를 개선하기 위한 약제학적 조성물로서,

상기 췌장 기능장애의 개선은 (i) 대상체에서 혈당 수준의 감소, 혈액 또는 혈청 인슐린 수준의 증가, 또는 이 둘 모두를 유도하거나,

(ii) 대상체의 췌장내에서 동맥생성(arteriogenesis) 또는 혈관형성을 유도 또는 촉진하거나, 또는

(iii) (i) 및 (ii)의 조합인, 약제학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, STRO-1⁺ 세포가 췌장 베타 세포, 췌장 섬, 또는 이 둘 모두의 재생을 촉진하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 3

삭제

청구항 4

제1항에 있어서, STRO-1⁺ 세포가 대상체에서 췌장 베타 세포의 수의 증가, 췌장 알파 세포에 대한 췌장 베타 세포의 수의 증가, 췌장 알파 세포의 수의 감소, 췌장 섬의 수의 증가, 또는 이들의 조합을 유도하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, STRO-1⁺ 세포가 대상체의 췌장내에서 췌장 및 십이지장 호메오박스 인자-1 (pancreatic and duodenal homeobox factor-1, PDX-1) 발현의 증가, PDX-1 발현 세포의 수의 증가, 또는 이 둘 모두를 유도하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 6

삭제

청구항 7

제1항에 있어서, 췌장 기능장애가 인슐린, 글루카곤, 소마토스타틴, 췌장 폴리펩타이드, 트립시노겐, 키모트립시노겐, 엘라스타제, 카복시펩티다제, 췌장 리파제, 아밀라제, 또는 이들의 조합의 비정상적인 수준과 관련되거나 이를 유발하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 글루카곤의 비정상적인 수준이 글루카곤 분비 종양에 의해 유발되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서, 췌장 기능장애가 영양소의 흡수장애와 관련되거나 이를 유발하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서, 췌장 기능장애가 췌장염, 췌장 기능부전, 후천성 자가면역 결핍증, 암, 낭성섬유증, 콜링거 앤

리손 증후군(Zollinger Ellison syndrome), 또는 이들의 조합과 관련된 것인, 약제학적 조성물.

청구항 11

제1항에 있어서, 췌장 기능장애가 저혈당증 또는 고혈당증, 감소된 혈청 아미노산 수준, 단백뇨, 괴사용해이동 홍반(necrolytic migratory erythema), 또는 이들의 조합을 초래하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 12

제1항에 있어서, 췌장 기능장애가 탄수화물 대사 장애와 관련되거나 이를 유발하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 탄수화물 대사 장애가 췌장에 의한 인슐린 생산의 감소 또는 췌장에 의한 아밀라제 생산의 감소에 의해 유발되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 14

제12항에 있어서, 탄수화물 대사 장애가 특발성 제I형 당뇨병(idiopathic Type 1 diabetes), 조기-발병 제II형 당뇨병, 청년기-발병 비정형 당뇨병, 청년기의 성인발병당뇨병, 영양실조-관련 당뇨병, 위임신성 당뇨병, 손상된 내당뇨의 상태, 손상된 공복 혈당의 상태, 대사산증, 케톤증, 고혈당증, 저혈당증, 인슐린 내성, 알파 만노시드증, 베타 만노시드증, 프로토즈 불내증, 푸코시드축적증, 갈락토즈혈증, 라이병(Leigh disease), 점액지질증, 및 무코다당질축적증(mucopolysaccharidoses)으로 이루어진 군에서 선택되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 15

제1항에 있어서, STRO-1⁺ 세포가 대상체의 혈류 내로 직접 투여되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 16

제15항에 있어서, STRO-1⁺ 세포가 동맥 내로 투여되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 17

제1항에 있어서, 대상체에게 투여된 STRO-1⁺ 세포가 STRO-1^{br*i*}이거나 조직 비-특이적인 알칼리성 포스파타제(TNAP)를 발현하는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 18

제1항에 있어서, STRO-1⁺ 세포가 장애의 진단 후에 투여되는, 췌장 기능장애를 치료하거나 이의 진행을 지연시키기 위한 것인, 약제학적 조성물.

청구항 19

제1항에 있어서, 조성물이 췌장 기능장애의 발병 또는 진행, 혈당 수준, 혈액 또는 혈청 인슐린 수준, 베타 세포의 수, 알파 세포의 수, 췌장 섬의 수, PDX-1 발현 세포의 수, PDX-1 발현량, 혈관의 수, 또는 이들의 조합을 모니터링하거나 검출한 후에 투여되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 20

제1항에 있어서, STRO-1⁺ 세포가 상기 STRO-1⁺ 세포; 및 담체, 부형체 또는 이 둘 모두를 포함하는 조성물의 형태로 투여되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 21

제20항에 있어서, 조성물이 혈관 세포내로 후대 세포의 분화를 유도하거나 향상시키는 인자를 추가로 포함하거나 조성물이 조직 특이적인 위임 세포(tissue specific committed cell, TSCC)를 포함하고, 상기 인자가 혈관 내피 성장 인자(VEGF), 혈소판 기원한 성장 인자(PDGF) 또는 섬유모세포 성장 인자(FGF)이고, 상기 TSCC가 췌장

세포인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 22

제1항에 있어서, STRO-1⁺ 세포가 조성물 내로 제형화되기 전에 배양 증폭되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 췌장 기능의 개선을 필요로 하는 대상체에서 췌장 기능을 개선시키는 방법에 관한 것이다. 본 방법은 췌장 기능장애로부터 초래되거나 이와 관련되는, 예를 들면, 췌장의 비정상적인 내분비 또는 외분비 기능으로부터 초래되는 질환의 발병 또는 진행을 치료하고/하거나 예방하고/하거나 지연시키는데 사용될 수 있다.

배경 기술

[0003]

췌장(pancreas)은 척추동물의 소화계 및 내분비계에 있는 다기능성 샘 기관(multifunctional gland organ)이다. 그것은 내분비샘(인슐린, 글루카곤, 및 소마토스타틴을 포함하는 수개의 호르몬을 생산함), 및 외분비샘(소장을 통과하는 소화 효소를 함유하는 췌장액을 분비함) 둘 다이다. 췌장액내 효소는 미즙(chyme)에서 탄수화물, 단백질, 및 지방의 추가의 파괴를 돋는다.

[0004]

내분비 기능을 가진 췌장의 일부는 랑게르ハン스섬(islets of Langerhans)이라고 불리우는 다수의 세포 군집으로 이루어져 있다. 상기 섬에는 이들의 분비에 의해 분류되는 4개의 주요 세포 유형이 존재한다: α 세포는 글루카곤을 분비하고, β 세포는 인슐린을 분비하며, δ 세포는 소마토스타틴을 분비하고, PP 세포는 췌장 폴리펩티드를 분비한다. 이를 섬은 군집 및 다발(cord)로 배열된 내분비 세포의 촘촘한 집합체이며 또한 모세관의 네트워크(network)를 함유한다. 상기 섬의 모세관은 혈관과 직접 접촉하고 있는 내분비 세포의 층에 의해 내장(lining)되며, 대부분의 내분비 세포는 세포질 과정 또는 직접적인 부착(apposition)에 의해 혈관과 직접 접촉하고 있다.

[0005]

호르몬을 혈액내로 분비하는 내분비 췌장과는 대조적으로, 외분비 췌장은 소화 효소(예를 들면, 트립시노겐, 키모트립시노겐, 엘라스티제, 카복시펩티다제, 췌장 리파제, 및 아밀라제) 및 알칼리성 유체를 생산하여, 이들을 소장 호르몬 세크레틴 및 콜레시스토카닌에 대해 반응하여 외분비 관의 시스템을 통해 소장내로 분비한다. 소화 효소는 외분비 췌장의 샘파리 세포에 의해 생산되어 분비된다. 샘파리중심 세포라고 불리우는 췌장 관을 내장하는 특수 세포는 중탄산염 및 염이 풍부한 용액을 소장내로 분비한다.

[0006]

췌장 기능장애는 췌장에 의해 생산된 호르몬 및/또는 효소의 과다생산 또는 생산저하를 초래할 수 있다. 췌장 기능장애와 관련되거나 이에 의해 유발된 상태는 진성 당뇨병, 급성 또는 만성 췌장염, 췌장 효소 결핍증 또는 췌장 종양을 포함한다.

[0007]

진성 당뇨병(DM)은 모든 연령 그룹 및 집단에서 가장 일반적인 만성 내분비 질환들 중의 하나이며, 췌장 기능장애에 의해 유발된다. DM은 전세계적으로 1억명을 초과하는 사람이 걸려있다. 미국에서만, 1200만명의 환자들이 DM으로 진단되며 매년 진단된 600,000명의 새로운 경우들이 존재한다.

[0008]

DM은 혈당을 상승시키는 비정상적인 탄수화물[예를 들면, 당(glucose)] 항상성 또는 대사를 특징으로 하는 질환의 그룹에 대한 진단 용어이다. 이를 질환은 수개의 상호 관련된 대사성, 혈관성 및 신경병증성 성분을 포함하다. DM의 각종 성분들은 췌장의 내분비 및/또는 외분비 기능에 의해 유발된다. 예를 들면, 고혈당증으로 일반적으로 특징화되는 대사 성분은 호르몬, 특히 인슐린(즉, 내분비 기능)의 부재하거나 현저히 감소된 분비 및/또

는 비효과적인 인슐린 작용에 의해 유발된 탄수화물, 지방 및 단백질 대사에서의 변형을 포함한다. 외분비 수준에서, 췌장은 음식의 소화에 관여하는 각종 효소를 생산한다. 예를 들면, 췌장은 아밀라제를 생산하며 DM은 불충분한 수준의 당해 효소를 분비하여 탄수화물을 분해함으로써 외분비 췌장 기능부전, 영양실조 및 체중 감소를 야기한다. 따라서, 췌장의 내분비 및 외분비 기능 둘 다는 DM의 대사 성분에 기여한다. DM의 혈관 성분은 심혈관, 망막 및 신장 합병증을 야기하는 혈관내 비정상을 포함한다. 말초 및 자율신경계가 또한 DM의 성분이다.

[0009] DM은 인슐린에 대한 대상체내 세포의 반응성에 있어서 감소 및/또는 인슐린의 양 또는 순환에 있어서의 감소에 의해 일반적으로 유발된다. 인슐린은 탄수화물, 지방, 및 단백질의 대사에 필수적이다. 인슐린은, 당이 근육 세포 및 지방 세포로 도입되도록 하고 당이 탄수화물 저장물로서의 글리코겐으로 전환(글리코겐 합성)하는 것을 자극함으로써 혈당 수준을 감소시킨다. 인슐린은 또한 간 글리코겐(글리코겐 합성)으로부터 저장된 당의 방출을 억제하고 지방이 트리글리세라이드, 유리 지방산 및 케톤으로 분해되는 것을 지연시킨다. 또한, 인슐린은 당 생산(글루코겐합성)을 위한 단백질의 분해를 지연시킨다. 인슐린은 췌장의 랑게르ハン스섬내 β 세포에서 생산되어 분비된다.

[0010] 제 I 형(또한 인슐린-의존성 진성 당뇨병 또는 IDDM으로 언급됨) 및 제 II 형(또한 비-인슐린-의존성 진성 당뇨병 또는 NIDDM으로 언급됨), 임신성 당뇨병 및 전-당뇨병(또는 당 대사부전)을 포함하는, 여러 유형의 당뇨병이 존재한다. 이들 중에서, 당뇨병의 2개의 가장 일반적인 형태는 제 I 형 및 제 II 형 당뇨병이다. 제 I 형 당뇨병(또는 인슐린-의존성 진성 당뇨병; IDDM)은 췌장 β -세포의 부재, 파괴 또는 손실에 의해 유발되어 인슐린의 절대적인 결핍증을 초래한다. 제 II 형 당뇨병(비-인슐린 의존성 당뇨병; NIDDM)은 인슐린 내성을 특징으로 하는 이질성 질환이다.

[0012] 제 I 형 당뇨병

[0013] 제 I 형 당뇨병의 전체적인 발병률은 미국에서만 100,000명의 개인당 대략 15명의 경우이다. 모든 경우의 당뇨병 중 5 내지 15%가 미국에서 제 I 형 당뇨병 경우이며, 의사들은 매년 약 10,000명의 새로운 사례들을 진단하고 있다. 국제적으로 제 I 형 당뇨병의 발병률은 중국에서 100,000명의 개인당 약 0.61명으로 사르디니아에서 100,000명당 약 34.5명으로, 및 핀란드에서 100,000명당 40명 이상으로 다양하다. 많은 국가들이 또한, 제 I 형 당뇨병의 발병률이 최근 20년에 걸쳐 2배가 된 것으로 보고하고 있다.

[0014] 제 I 형 당뇨병의 급성의 임상적 발병은 수일 또는 수주 후 케토산증이 뒤따르는, 고혈당증, 다뇨증, 다음증(polydipsia), 체중감소, 또는 흐린 시력의 단독 또는 조합과 같은 증상을 특징으로 한다. 일반적으로, 상기 질병의 급성 발병은, 인슐린을 분비하는 β -세포가 대상체의 면역계에 의해 점진적으로 파괴되는 동안인, 장기간의 무증상인 전임상 기간이 선행되는 것으로 고려되고 있다.

[0015] 건강한 개인에서, 췌장은 정상적으로 100만 내지 150 만개의 섬을 함유하며; 대략 80 퍼센트의 섬 세포가 인슐린을 생산하는 β -세포이다. 임상 당뇨병의 증상은, 이를 β -세포의 10%보다 훨씬 적은 세포가 남아있는 경우 나타난다.

[0016] 췌장 β -세포의 손실에 의해 유발된 인슐린 공급과 요구 사이의 미스매치는 비정상적인 당, 지질 및 단백질 대사를 초래한다. 인슐린 결핍증은 고혈당증 및 고혈당 탈수증, 상승된 수준의 유리 지방산, 상승된 혈청 케톤 수준, 증가된 수준의 트리글리세라이드, 증가된 수준의 초 저밀도 지질단백질(VLDL), 증가된 수준의 분지 사슬 아미노산, 단백질 합성에서의 감소, 및 케토산증을 초래한다. 제 I 형 당뇨병이 있는 대상체는 특정의 하나 이상의 각종 혈관 및 신경학적 합병증으로 고생하는 경향이 있다. 예를 들어, 제 I 형 당뇨병 환자는 비-당뇨병 환자보다 심장 발작을 가지는 경향성이 2배 더 높으며; 이들은 피저로 고생할 가능성이 5배 더 높고; 완전한 신부전을 가질 경향성이 17배 더 높으며, 시력을 상실할 가능성이 25배 더 높다.

[0018] 제 I 형 당뇨병의 치료/예방

[0019] 현재, 제 I 형 당뇨병은 외인성 인슐린의 투여, 운동 및 식이 관리에 의해 치료된다. 이들 형태의 치료요법은 췌장에 대한 손상을 교정(즉, 파괴된 β -섬 세포의 교체)하지 않으며, 오히려 β -섬 세포에 의해 생산된 성장 인자를 교체하거나 이를 인자들에 대한 요구도를 피하려는 시도를 한다.

[0020] 제 I 형 당뇨병으로 고생하는 대부분의 대상체는 일부 형태의 인슐린 치료요법을 필요로 한다. 이때, 이러한 치료요법은 일반적으로, 대상체가 혈당 및/또는 인슐린 수준을 모니터링하고 요구되는 경우 재조합체 또는 정제된 인슐린을 주사하는 것을 필요로 한다. 새로운 형태의 인슐린이 또한 개발되어 비강 또는 경구 투여가 가능하다. 그러나, 이러한 형태의 치료요법은 대상체에 의한 지속적인 모니터링 및 대상체의 일생동안 적어도

1일에 1회 이상의 인슐린 투여를 필요로 한다. 대상체가 인슐린을 투여하는 것을 무시하거나 너무나 많은 인슐린을 투여하는 경우, 예를 들면, 고혈당증, 저혈당증 또는 케토산증이 발전될 위험이 있다.

[0021] 제I형 당뇨병의 치료를 위해 현재 사용된 추가의 화합물은 예를 들면, 설포닐우레아, 비구아니드, α -글루코시다제 억제제 또는 티아졸리딘디온을 포함한다. 그러나, 이들 화합물 각각은 또한 상당한 단점을 가지고 있다. 예를 들면, 설포닐우레아는 저혈당증 및 고인슐린혈증을 유발하고; 비구아니드는 젖산 산증을 유발하며; α -글루코시다제 억제제는 위장 부작용을 유발하고; 티아졸리딘디온은 긴-작용개시를 가지며, 체중 증가와 관련되고 빈번한 간 기능 시험을 필요로 한다.

[0022] 글루카곤-유사 펩타이드-1(GLP-1)은 또한 당뇨병을 위한 가능한 치료제로서 확인되어 왔다. 당해 펩타이드는 췌장의 발현 및 십이지장 호메오박스(homeobox) 인자-1(PDX-1), 췌장 발달에서 상당한 역할을 담당하는 전사 인자, 베타 세포 분화 및 베타-세포 기능의 유지를 유도한다(참조: Babu et al., Mol Endocrinol. 20:3 133-3 145, 2006). PDX-1은 GLUT2, 글루코키나제 및 인슐린과 같은 당 센싱(sensing) 및 대사의 발현을 유도하는데 관여한다. GLP-1은 인슐린 발현을 자극시키는 것 외에, 대상체내에서 췌장 베타 세포 확장을 유도할 수 있기 때문에 강력한 치료제로 제안되어 왔다(참조: Buteau, Diabetes and Metabolism, 34: S73-S77, 2008). 그러나, 경구적으로 활성인 디펩티딜 펩티다제-4(DPPIV) 억제제 또는 주사가능한 GLP-1 유사체와 같은, GLP-1의 세포내 이용성을 증가시키는 입상적으로 이용가능한 제제의 사용은 온화한 형태의 제II형 당뇨병의 치료로 한정되어 왔다. 이들 제제의 비교적 짧은 반감기, 빈번한 투여를 위한 이들의 요구도, 및 심각한 베타 세포 손실의 경우에 효능에서의 이들의 상대적인 부족은 제 I 형 당뇨병 또는 기타 인슐린-의존성 환자용의 인슐린-여분제(insulin-sparing agent)로서의 이들의 사용을 불가능하게 하여 왔다. 심지어 경구 이용가능한 GLP-1 유사체는 짧은 반감기를 가지며 고-투여량의 1일 투여를 필요로 한다.

[0023] 다른 치료학적 선택은 인슐린 의존성을 감소시키는 것으로 밝혀진 췌장 랑게르ハン스섬 이식을 포함한다(참조: Shapiro et al., New Eng. J. Med., 343: 230-238, 2000). 그러나, 상기 치료의 적용은 박동하는 심장이 이식 동안 세포 생존을 보증해야만 하는, 공여자로부터 원시 사람 섬의 극도로 제한된 이용가능성에 의해 제한된다(참조: Burnset al., J. Endocrinology, 103: 437-443, 2004).

[0024] 줄기 세포, 예를 들면, 배아 줄기(ES) 세포가 또한 치료학적으로 관련된 양의 인슐린을 생산하는 세포를 생산하기 위한 적합한 공급원으로서 제안되어 왔다. 그러나, 인슐린을 분비하는 β -세포는 줄기 세포로부터 생산되지 않았으며, 단지 요구되는 수준에 머물렀고, 이식당 2 내지 4×10^9 개의 β -세포로 추정되었다. 이러한 세포-기반 치료요법은, 또한 교체 세포의 증식 능력이 엄격하게 조절되어서 이들이 고인슐린혈증 또는 저혈당증을 유발하는 시점까지 확장되지 않도록 보증하여야 하고, 이식된 세포가 수용체의 면역계에 의한 파괴를 피해야만 하는 것과 같은 곤란성들을 극복하여야 한다. 더욱이, ES 세포-기반 치료요법의 경우, 어떠한 남아있는 ES 세포도 제거하여 기형종 형성의 위험성을 피해야만 한다.

제II형 당뇨병

[0027] 제II형 당뇨병은 당뇨병 경우의 대략 90 내지 95%를 차지하며 미국에서만 매년 약 193,000명의 사람이 사망한다. 제II형 당뇨병은 모든 사망의 7번째 선두 요인이다. 서방 사회에서, 제II형 당뇨병은 현재 매년 6% 까지 성장하는 것으로 예측된 전 세계적인 빈도로 성인 집단 중 6%에 영향을 미친다. 특정한 개인이 제II형 당뇨병으로 진행될 수 있는 특정의 유전적 특성이 있음에도 불구하고, 질병의 발생에 있어서 현재의 증가의 주요 원인은 개발도상국들에서 현재 우세한 증가된 좌업 생활방식(sedentary life-style), 식이 및 비만이다. 제II형 당뇨병은 현재 사람 건강에 대한 주요 위협인자들 중의 하나로 국제적으로 인식되고 있다.

[0028] 근육, 지방 및 간 세포가 인슐린에 정상적으로 반응하지 않는 경우 제II형 당뇨병이 진행된다. 반응에 대한 이러한 실패(인슐린 내성이라고 칭함)는 이들 세포에서 인슐린 수용체의 감소된 수, 또는 세포내 신호 경로의 기능장애, 또는 이들 둘다에 기인할 수 있다. β -세포는 초기에 이들의 인슐린 배출을 증가시킴으로써 이러한 인슐린 내성을 보상한다. 시간이 지남에 따라서, 이들 세포는 제II형 당뇨병으로의 진행을 나타내는, 정상 당 수준을 유지하기에 충분한 인슐린을 생산할 수 없게 된다(참조: Kahn et al., Am. J. Med. 108: 2S-8S., 2000).

제II형 당뇨병의 치료

[0031] 제II형 당뇨병에 대한 통상적 치료는 매우 한정되어 있으며 혈당 수준을 조절하여 합병증을 최소화시키거나 지연시키기 위해 시도하는 것에 초점이 맞추어져 있다. 현재의 치료는 인슐린 내성[메트포르민, 티아졸리딘디온("TZDs")], 또는 β -세포로부터의 인슐린 방출(설포닐우레아, 액사나티드)에 표적을 두고 있다. 베타 세포를 탈분극화시킴으로써 작용하는 설포닐우레아 및 다른 화합물은 순환하는 당 수준과는 별도로 인슐린 분비를 유발

하기 때문에, 저혈당증의 부작용을 갖는다. 현재의 치료요법의 다른 부작용은 체중 증가, 시간에 걸친 치료요법에 대한 반응의 손실, 위장 문제 및 부종을 포함한다.

[0032] 한가지 현재 입증된 약물인, 자누비아(시타글립틴)은 인슐린 분비를 증가시킬 수 있고, 글루카곤 분비를 감소시킬 수 있으며, 다른 잘 특성화된 효과가 거의 없는 인크레틴 호르몬의 혈액 수준을 증가시킨다. 그러나, 자누비아 및 다른 디펩티딜 웨პ티다제 IV 억제제는 또한 다른 호르몬 및 웨パタ이드의 조작 수준에 영향을 미칠 수 있으며, 이러한 광범위한 효과의 장기간 결과는 충분히 연구되어 있지 않다. 더욱이, 이 화합물은 인슐린 내성과 관련된 문제를 해결하지 못한다.

[0033] 제I형 당뇨병에서와 같이, GLP-1은 인슐린 분비를 유도하고, 베타 세포 확장을 유도하며 내당능 베타 세포에서 내당능을 회복시키는 이의 능력의 결과로서 제II형 당뇨병에 대한 강력한 치료제로서 제안되어 왔다. 그러나, 위에서 논의한 바와 같이, GLP-1 및 이의 유사체는 이들의 매우 짧은 반감기의 결과로서 이들의 치료학적 효능에 있어 매우 제한되어 있다.

[0034] 전술한 기술내용으로부터 당해 분야에는 췌장 기능과 관련된 질환의 발병 또는 진행을 치료하거나 예방하기 위한 방법 및/또는 췌장 기능을 증가시키는 방법에 대한 요구가 있음이 명확하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0036] 발명의 요약

[0037] 본 발명에 이르는 연구에서, 본 발명자들은 췌장 기능장애의 발달 및/또는 진행에 있어 중간엽 전구체 세포(MPC)의 특이적인 아부류(subset)의 효과를 측정하는 것을 찾아내었다. 본 발명자들은, 스트렙토조토신(STZ)을 마우스에게 투여함으로써 췌장 기능장애를 유도시킨 인지된 모델을 사용하였다. 당해 화합물은 췌장 섬의 염증 및 면역 세포 침윤을 유도하여 궁극적으로 세포 사멸 및 췌장 기능장애를 초래하였다. STZ는 췌장의 내분비 기능에 있어서의 기능장애(예를 들면, 인슐린 생산의 감소) 및 췌장의 외분비 기능에 있어서의 기능장애(예를 들면, 아밀라제 생산의 감소) 둘다를 유발한다. 당해 모델은 또한 당 대사 질환, 예를 들면, 제I형 당뇨병 또는 제II형 당뇨병의 허용된 모델이다.

[0038] 본원에 예시된 바와 같이, 본 발명자들은, STZ 처리된 마우스에 대한 STRO-1⁺ 세포의 투여는 혈청 인슐린 수준을 증가시키고 STRO-1⁺ 세포를 제공받지 않은 STZ 처리된 마우스와 비교하여 혈당 수준을 감소시킴을 입증하였다. 본 발명자들은 또한, STRO-1⁺ 세포가 췌장내에서 PDX-1를 발현하는 세포를 유도하거나 이의 수를 증가시키고/시키거나 대상체에서 췌장 베타 세포 및/또는 섬의 수를 증가(예를 들면, 췌장 베타 세포 재생을 촉진)시킴을 입증하였다. 본 발명자들은 또한, STRO-1⁺ 세포가 베타 세포 수를 증가시키고/시키거나 알파 세포 수를 감소시킴으로써 췌장 알파 세포에 대한 췌장 베타 세포의 비를 회복시킴을 발견하였다. 본 발명자들은 또한, STRO-1⁺ 세포를 사용한 치료가 대상체의 췌장내에서 혈관 혈성을 유도함을 발견하였다. 이들 데이터와 함께 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 분비된 인자들은 췌장 재생을 유도하거나 촉진하고/하거나 췌장 기능을 개선시킴을 나타낸다. 따라서, STRO-1⁺ 세포 또는 이의 후대 세포 또는 이로부터 기원한 인자는 췌장의 STZ의 독성 효과를 치료하고/하거나 예방하고/하거나 감소시킬 수 있다. 이어서 이를 데이터는, STRO-1⁺ 세포 또는 이의 후대 세포 또는 이로부터 기원한 하나 이상의 인자들이 췌장 기능장애의 발병을 치료하거나 예방하거나 지연시키거나 췌장 기능장애의 중증도를 감소시키고/시키거나 췌장 기능을 개선시키고/시키거나 췌장 또는 이의 세포의 재생을 유도하고/하거나 당 대사를 개선(예를 들면, 순환하는 인슐린 수준을 증가시킴으로써)시킬 수 있음을 나타낸다.

[0039] 본 발명자들의 발견은 당뇨병과 같은 췌장 기능장애의 발병을 치료하고/하거나 예방하고/하거나 지연시키고/시키거나 이의 진행을 지연시키는 방법의 기초를 제공한다.

[0040] 따라서, 본 발명은 대상체에게 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자를 투여함을 포함하여, 췌장 기능을 개선시키는 것이 필요한 대상체에서 췌장 기능을 개선시키는 방법을 제공한다.

[0041] 본 발명은 부가적으로 또는 이와는 달리 대상체(예를 들면, 췌장 기능장애로 고생하는 대상체)에게 STRO-1⁺ 세

포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자를 투여함을 포함하여, 상기 대상체에서 췌장 재생을 촉진하거나 유도하는 방법을 제공한다. 예를 들면, 당해 방법은 췌장에서 새로운 베타 세포 및/또는 미세혈관의 생산을 유도하거나 촉진한다.

[0042] 본 발명은 부가적으로 또는 이와는 달리 대상체에게 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자를 투여함을 포함하여, 췌장 베타 세포 및/또는 췌장 섬의 재생을 유도하거나 촉진하는 방법을 제공한다.

[0043] 본 발명은 또한 대상체에게 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자를 투여함을 포함하여, 상기 대상체에서 혈당 수준을 감소시키고/시키거나 혈액/혈청 인슐린 수준을 증가시키는 방법을 제공한다.

[0044] 본 발명은 부가적으로 또는 이와는 달리 대상체에게 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자를 투여함을 포함하여, 상기 대상체에서 췌장 베타 세포의 수를 증가시키고/시키거나 췌장 알파 세포에 대한 췌장 베타 세포의 수를 증가시키고/시키거나 췌장 알파 세포의 수를 감소시키고/시키거나 췌장 섬의 수를 증가시키는 방법을 제공한다.

[0045] 본 발명은 부가적으로 또는 이와는 달리 대상체에게 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자를 투여함을 포함하여, 대상체의 췌장 및 십이지장 호메오박스 인자(duodenal homeobox factor)-1(PDX-1) 발현을 증가시키고/시키거나 PDX-1 발현 세포의 수를 증가시키는 방법을 제공한다.

[0046] 본 발명은 부가적으로 또는 이와는 달리 대상체에게 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자를 투여함을 포함하여, 상기 대상체의 췌장에서 동맥생성(arteriogenesis) 또는 혈관형성을 유도하거나 촉진하는 방법을 제공한다.

[0047] 본 발명은 부가적으로 또는 이와는 달리 대상체에게 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자를 투여함을 포함하여, 상기 대상체에서 췌장 베타 세포 전구체의 수를 증가시키거나 췌장 베타 세포 전구체의 증식을 유도하거나 촉진하는 방법을 제공한다.

[0048] 하나의 예로서, 대상체는 췌장 기능장애를 겪고 있다.

[0049] 하나의 예로서, 췌장 기능장애는 췌장의 내분비 기능 및/또는 췌장의 외분비 기능의 기능장애와 관련되거나 이로부터 초래된다. 바람직하게는, 췌장 기능장애는 감소된 췌장 기능, 예를 들면, 감소된 췌장 내분비 기능 또는 감소된 췌장 외분비 기능에서 초래되거나 이와 관련된다.

[0050] 본 발명의 하나의 예에서, 췌장 기능장애는 탄수화물 대사 질환과 관련되거나 이를 유발한다. 이러한 탄수화물 대사 질환은 췌장 내분비 및/또는 외분비 기능장애에 의해 유발될 수 있다. 하나의 예로서, 탄수화물 대사 질환은 췌장에 의한 감소된 인슐린 생산에 의해 유발된다. 다른 예에서, 탄수화물 대사 질환은 증가된 글루카곤 수준(예를 들면, 증가된 수의 알파 세포 및/또는 증가된 글루카곤 발현 및/또는 생산 및/또는 분비)에 의해 유발된다. 또 다른 예에서, 탄수화물 대사 질환은 췌장에 의한 감소된 아밀라제 생산에 의해 유발된다. 당해 분야의 숙련가는 본원의 기술을 바탕으로 하여, 탄수화물 대사 질환(또는 췌장 기능장애)이 췌장 기능에 의해서만 특성화될 필요가 없음을 인지할 것이다. 예를 들면, 탄수화물 대사 질환은 또한 인슐린 내성에 의해 및/또는 혈관 성분에 의해 및/또는 신경병 성분에 의해 특성화될 수 있다. 본 발명의 하나의 예에서, 췌장 기능장애는 진성 당뇨병, 예를 들면, 제I형 진성 당뇨병 또는 제II형 진성 당뇨병이다.

[0051] 바람직하게는, 본 발명의 방법은 치료학적으로 또는 예방학적으로 유효한 양의 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자를 투여함을 포함한다. 하나의 예에서, 상기 방법은 대상체에서 인슐린 생산을 유도하기에, 바람직하게는 인슐린 생산을 적어도 약 1주 또는 2주 또는 3주 또는 4주 동안 유도하기에 충분한 양의 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자를 투여함을 포함한다.

[0052] 하나의 예로서, STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자는 대상체의 혈류내로 직접 투여되지만, 다른 투여 부위가 배제되지는 않는다. 바람직하게는, STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세

포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자는 전신적으로 투여된다. 예를 들면, STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자는 정맥내, 동맥내, 대동맥내, 심장의 심방내 또는 심실내 또는 췌장에 연결된 혈관, 예를 들면, 복부대동맥, 위창자간막동맥, 이자샘창자 동맥 또는 비장 동맥내로 투여된다. 바람직한 예에서, STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자는 동맥내로, 예를 들면, 대퇴 동맥내 또는 복강 동맥내로, 예를 들면, 카테터(catheter)를 사용하여 투여된다.

[0053] 이와는 달리 또는 추가적으로 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자는 대상체의 췌장 또는 이의 부분에 투여된다.

[0054] 하나의 예로서, 대상체에게 투여된 STRO-1⁺ 세포는 STRO-1^{bri}이고/하거나 조직 비-특이적인 알칼리성 포스파타제(TNAP)를 발현한다. 특이적인 세포 표면 마커 또는 이의 조합으로 특징화된 STRO-1⁺ 세포의 추가의 집단이 본원에 기술되어 있다. 본 실시예에 따라서, 후대 세포 및/또는 가용성 인자는 또한 STRO-1 또는 STRO-1^{bri}를 발현하고/하거나 TNAP를 발현하는 세포로부터 기원할 수 있다. 이러한 후대 세포는 또한 STRO-1을 발현하거나 STRO-1^{bri}일 수 있고/있거나 TNAP를 발현할 수 있다.

[0055] 췌장 기능장애의 진행을 치료하거나 지연시키는 것에 관한 본 발명의 실시예에 따라서, STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자를 예를 들면, 당해 분야에 공지된 표준 방법을 사용하여 질환의 진단 이후 투여하는 것이 바람직하다. 췌장 기능장애의 발병을 예방하거나 지연하는 것에 관한 예들의 경우, STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자를 질환의 임상적 진단 전, 예를 들면, 대상체가 손상된 내당능 및/또는 손상된 공복 당혈증(fasting glycemia)으로 고생하는 경우 및/또는 T 세포 및/또는 B 세포 집단의 확장에 의해 및/또는 자가항체의 생산(예를 들면, 제 I 형 당뇨병의 발병 또는 진행시 췌장 β-섬 세포에 대한 세포독성 T 세포 및/또는 하나 이상의 췌장 β-섬 세포 마커에 대한 자가항체의 확장)에 의해 나타나는 것과 같은 자가면역 반응 전 또는 이와 함께 제 I 형 당뇨병의 경우에 투여하는 것이 바람직하다.

[0056] 바람직하게는, 특정 실시예에 따른 본원에 기술된 방법은 췌장 기능장애의 발병 및/또는 진행 및/또는 혈당 수준 및/또는 혈액/혈청 인슐린 수준 및/또는 베타 세포의 수 및/또는 알파 세포의 수 및/또는 췌장 섬의 수 및/또는 PDX-1를 발현하는 세포 및/또는 PDX-1 발현의 양 및/또는 혈관의 수를 모니터링하거나 검출함을 추가로 포함한다. 예를 들면, 상기 방법은 내당능 시험 및/또는 절식 당혈증 시험에 의해 및/또는 췌장에 의해 생산된 호르몬 또는 효소의 수준을 측정함에 의해 및/또는 췌장의 시료를 수득함으로써 베타 세포의 수 및/또는 알파 세포의 수 및/또는 췌장 섬의 수 및/또는 PDX-1 발현 세포의 수 및/또는 PDX-1 발현의 양 및/또는 혈관의 수를 측정함을 추가로 포함한다. 이러한 모니터링은, STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자의 후속적인 투여가 요구되거나 바람직함을 나타낼 수 있다.

[0057] 앞서의 단락으로부터 당해 분야의 숙련가에게 명백하게 되는 바와 같이, 특정 실시예에 따라 본원에 기술된 방법은 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자를 단일 투여하는 것에 한정되는 것으로 고려되지 않아야 한다. 본 발명은 명확하게, 동일하거나 상이한 부위로 또는 동일하거나 상이한 경로를 통한 다중 투여를 포함한다. 본 발명은 또한 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자의 단일 투여를 포함한다.

[0058] 하나의 예에서, STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자는 조성물 형태, 예를 들면, 상기 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자 및 담체 및/또는 부형제를 포함하는 조성물의 형태로 투여된다. 적합한 담체 및/또는 부형제는 당해 분야의 숙련가에게 명백하고/하거나 본원에 기술될 것이다.

[0059] 상기 조성물은 탄수화물 대사 질환을 치료하거나 예방하는데 유용한 추가의 인자들, 예를 들면, 정상 췌장 기능과 관련된 인슐린 또는 아밀라제 및/또는 웨بت아이드 또는 폴리웨بت아이드, 예를 들면, 콜리시스토키닌 옥타웨بت아이드 또는 소마토스타틴 또는 글루카곤 또는 트립시노겐 또는 키모트립시노겐 또는 엘라스타제 또는 카복시웨بت아이드 또는 췌장 리파제를 포함할 수 있다. 이와는 달리 또는 추가적으로, STRO-1⁺ 세포 또는 이의 후대 세포는

유전적으로 변형되어 이러한 추가 인자, 예를 들면, 정상 췌장 기능과 관련된 인슐린 또는 아밀라제 및/또는 펩타이드 또는 폴리펩타이드, 예를 들면, 콜리시스토키닌 옥타펩타이드 또는 소마토스타틴 또는 글루카곤 또는 트립시노겐 또는 키모트립시노겐 또는 엘라스타제 또는 카복시펩티다제 또는 췌장 리파제를 발현하고, 바람직하게는 분비하도록 유전적으로 변형시킬 수 있다.

[0060] 본 발명은 또한:

[0061] (i) 췌장 기능장애를 치료하고/하거나;

[0062] (ii) 췌장 기능을 개선시키고/시키거나;

[0063] (iii) 췌장 베타 세포 및/또는 췌장 섬의 재생을 유도 또는 촉진하고/하거나;

[0064] (iv) 혈당 수준을 감소시키고/시키거나 혈액/혈청 인슐린 수준을 증가시키고/시키거나;

[0065] (v) 췌장 베타 세포의 수를 증가시키고/시키거나 췌장 알파 세포에 대한 췌장 베타 세포의 수를 증가시키고/시키거나 췌장 알파 세포의 수를 감소시키고/시키거나 췌장 섬의 수를 증가시키고/시키거나;

[0066] (vi) 췌장 및 십이지장 호메오박스 인자-1(PDX-1) 발현을 증가시키고/시키거나 췌장에서 PDX-1 발현 세포를 증가시키고/시키거나;

[0067] (vii) 췌장에서 동맥생성 또는 혈관생성을 유도하거나 촉진하기 위한, STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자 또는 이들을 포함하는 조성물의 용도를 제공한다

[0068] 본 발명은 또한:

[0069] (i) 췌장 기능장애를 치료하고/하거나;

[0070] (ii) 췌장 기능을 개선시키고/시키거나;

[0071] (iii) 췌장 베타 세포 및/또는 췌장 섬의 재생을 유도 또는 촉진하고/하거나;

[0072] (iv) 혈당 수준을 감소시키고/시키거나 혈액/혈청 인슐린 수준을 증가시키고/시키거나;

[0073] (v) 췌장 베타 세포의 수를 증가시키고/시키거나 췌장 알파 세포에 대한 췌장 베타 세포의 수를 증가시키고/시키거나 췌장 알파 세포의 수를 감소시키고/시키거나 췌장 섬의 수를 증가시키고/시키거나;

[0074] (vi) 췌장 및 십이지장 호메오박스 인자-1(PDX-1) 발현을 증가시키고/시키거나 췌장에서 PDX-1 발현 세포를 증가시키고/시키거나;

[0075] (vii) 췌장에서 동맥생성 또는 혈관생성을 유도하거나 촉진하기 위한 의약의 제조시, STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자의 용도를 제공한다.

[0076] 본 발명은 광범위한 동물에게 적용될 수 있다. 예를 들면, 대상체는 사람, 개, 고양이, 말, 소, 또는 양과 같은 포유동물이고, 바람직하게는, 대상체는 사람이다. 하나의 예에서 대상체는 사람이다. 또 다른 예에서, 대상체는 비-사람 포유동물이다.

과제의 해결 수단

[0078] 바람직한 양태의 상세한 설명

[0079] 일반적인 기술 및 선택된 정의

[0080] 본 명세서 전체에서, 달리 구체적으로 기술되지 않거나 내용이 달리 요구되지 않는 한, 단일 단계, 물질의 조성물, 단계의 그룹 또는 물질의 조성물의 그룹은 이를 단계, 물질의 조성물, 단계의 그룹 또는 물질의 조성물의 그룹 중 하나 및 다수(즉, 하나 이상)을 포함하는 것으로 고려될 수 있다.

[0081] 본원에 기술된 각각의 실시 양태 또는 실시에는 달리 구체적으로 기술하지 않는 한 각각의 및 매 다른 실시 양태에 준용하여 적용되어야 한다. 예를 들면, 대상체에서 췌장 기능장애의 치료 및/또는 예방 및/또는 이의 발병의 지연 및/또는 진행의 지연에 관한 본원에 기술된 각각의 양태 또는 실시에는, 이를 양태들이 본원에 명확하게 인용된 바와 같이, 췌장 기능을 개선시키고/시키거나 췌장 재생을 유도하거나 촉진하기 위한 방법에 준용하여 적용시켜야 한다는 것이다.

- [0082] 췌장 기능장애의 치료와 관련하여 본원에 기술된 각각의 실시 양태는, 이를 양태가 본원에 명쾌하게 인용되는 경우에서와 같이 탄수화물 대사 질환의 치료에 준용하여 적용하도록 할 수 있다.
- [0083] 췌장 기능장애의 치료와 관련하여 본원에 기술된 각각의 양태는, 이를 양태가 본원에 명확하게 인용되어 있는 바와 같이, 진성 당뇨병, 예를 들면, 제I형 진성 당뇨병 또는 제II형 진성 당뇨병의 치료에 준용하여 적용하도록 할 수 있다.
- [0084] 당해 분야의 숙련가는, 본원에 기술된 발명이 구체적으로 기술된 것들 외에 다른 변화 및 변형에 민감함을 인지 할 것이다. 본 발명이 이러한 변화 및 변형 모두를 포함한다는 것을 이해하여야 한다. 본 발명은 또한 본 명세서에 언급되거나 나타낸 단계들, 특징들, 조성물들 및 화합물들의 모두를 개별적으로 또는 총체적으로, 및 상기 단계들 또는 특징들 중 특정의 및 모든 조합 또는 특정의 2개 이상을 포함한다.
- [0085] 본 발명은 예시의 목적으로만 의도된, 본원에 기술된 특수 양태로 영역을 한정하여서는 안된다. 기능적으로 균등한 생성물, 조성물 및 방법이 본원에 기술된 바와 같이, 명확하게 본 발명의 영역내에 있다.
- [0086] 본 발명은 달리 나타내지 않는 한, 분자 생물학, 미생물학, 바이러스학, 재조합체 DNA 기술, 용액내 웹타이드 합성, 고체상 웹타이드 합성, 및 면역학의 통상의 기술을 사용하여 과도한 실험없이 수행된다. 이러한 공정은 예를 들면, 문헌[참조: Sambrook, Fritsch & Maniatis, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratories, New York, Second Edition (1989), whole of Vols I, II, and DI; DNA Cloning: A Practical Approach, Vols. I and II (D. N. Glover, ed., 1985), IRL Press, Oxford, whole of text; Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach (M. J. Gait, ed., 1984) IRL Press, Oxford, whole of text, and particularly the papers therein by Gait, pp1-22; Atkinson et al, pp35-81; Sproat et al, pp 83-115; and Wu et al, pp 135-151; 4. Nucleic Acid Hybridization: A Practical Approach (B. D. Hames & S. J. Higgins, eds., 1985) IRL Press, Oxford, whole of text; Immobilized Cells and Enzymes: A Practical Approach (1986) IRL Press, Oxford, whole of text; Perbal, B., A Practical Guide to Molecular Cloning (1984); Methods In Enzymology (S. Colowick and N. Kaplan, eds., Academic Press, Inc.), whole of series; J.F. Ramalho Ortigao, "The Chemistry of Peptide Synthesis" In: Knowledge database of Access to Virtual Laboratory website (Interactiva, Germany); Sakakibara, D., Teichman, J., Lien, E. Land Fenichel, R.L. (1976). Biochem. Biophys. Res. Commun. 73 336-342; Merrifield, R.B. (1963). J. Am. Chem. Soc. 85, 2149-2154; Barany, G. and Merrifield, R.B. (1979) in The Peptides (Gross, E. and Meienhofer, J. eds.), vol. 2, pp. 1-284, Academic Press, New York. 12. Wunsch, E., ed. (1974) Synthese von Peptiden in Houben-Weyls Methoden der Organischen Chemie (Muler, E., ed.), vol. 15, 4th edn., Parts 1 and 2, Thieme, Stuttgart; Bodanszky, M. (1984) Principles of Peptide Synthesis, Springer-Verlag, Heidelberg; Bodanszky, M. & Bodanszky, A. (1984) The Practice of Peptide Synthesis, Springer-Verlag, Heidelberg; Bodanszky, M. (1985) Int. J. Peptide Protein Res. 25, 449-474; Handbook of Experimental Immunology, Vols. I-IV (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds., 1986, Blackwell Scientific Publications); and Animal Cell Culture: Practical Approach, Third Edition (John R. W. Masters, ed., 2000), ISBN 0199637970, 이의 전문]에 기술되어 있다.
- [0087] 본 명세서 전체에서, 내용이 달리 요구되지 않는 한, 단어 "포함하다", 또는 "포함하다" 또는 "포함하는"과 같은 변형된 표현은 기술된 단계 또는 성분 또는 정수, 또는 단계들 또는 성분들 또는 정수들의 그룹을 포함하는 것을 내포할 뿐 아니라, 특정의 다른 단계 또는 성분 또는, 성분들 또는 정수들의 그룹을 배제하지 않음을 내포하는 것으로 이해될 것이다.
- [0088] 본원에 사용된 것으로서, 용어 "로부터 유래한"은, 명시된 정수가 비록 특수 공급원으로부터 수득될 수 있다고 해도 필수적으로 이러한 공급원으로부터 직접 수득되지 않음을 나타내기 위해 사용될 수 있다. STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포로부터 유래한 가용성 인자와 관련하여, 당해 용어는 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포의 시험관내 배양 동안 생산된 하나 이상의 인자, 예를 들면, 단백질, 웹타이드, 탄수화물 등을 의미하기 위해 사용될 수 있다.
- [0089] 본원에 사용된 것으로서, 용어 "췌장 기능을 개선하는"은, 대상체에서 췌장의 하나 이상의 기능이 본 발명에 따라 치료하지 않은 대상체(바람직하게는 치료 전 대상체)내에서 동일한 기능과 비교하여 향상됨을 의미하는 것으로 사용될 수 있다. 이러한 용어는 예를 들면, 당 대사 질환으로 고생하거나 고생하지 않을 수 있는 대상체에서 인슐린 분비의 수준을 증가시키거나 인슐린 분비의 조절을 개선시킴을 포함한다. 당해 용어는 또한 이러한

호르몬의 수준이 증가된(예를 들면, 글루카곤 분비 종양의 결과로서) 대상체 및/또는 저혈당증으로 고생하는 대상체에서, 예를 들면, 글루카곤의 분비를 감소시킴을 포함한다.

[0090] 본원에 사용된 것으로서, 용어 "췌장 기능장애"는, 대상체에서 췌장의 기능들 중 하나 이상이 정상인 및/또는 건강한 개인에서 동일한 기능과 상이한 특정 상태를 의미하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들면, 용어 "췌장 기능장애"는, 대상체에서 췌장의 내분비 기능 및/또는 외분비 기능이 정상인 및/또는 건강한 개인과 비교하여 향상되거나 감소된 상태를 포함한다. 예를 들면, "췌장 기능장애"는 비정상(즉, 증가된 또는 감소된) 수준의 인슐린, 글루카곤, 소마토스타틴, 췌장 폴리펩티드, 트립시노겐, 키모트립시노겐, 엘라스타제, 카르복시펩티다제, 췌장 리파제 또는 아밀라제에 의해 나타나거나, 이와 관련되거나 이에 의해 유발될 수 있다. 당해 분야의 숙련가에게는 상기로부터, 용어 "췌장 기능장애를 치료하는"이 췌장의 기능을 정상화함(예를 들면, 비정상인 췌장의 하나 이상의 기능을 감소시키거나 향상시켜 이들이 정상인 및/또는 건강한 개인에서의 동일한 기능과 보다 유사하도록 대상체를 치료함)을 포함한다. 예를 들면, 이러한 치료는 비정상적으로 감소된 수준의 인슐린 및/또는 베타 세포 및/또는 섬(islet)을 가진 대상체에서 증가된 인슐린 수준 및/또는 증가된 수의 췌장 베타 세포 및/또는 췌장 섬을 생성할 수 있다. 이러한 치료는 예를 들면, 췌장의 글루카곤 분비 종양의 경우에, 예를 들면, 글루카곤 분비 알파 세포의 수를 감소시키고/시키거나 글루카곤 발현, 생산 및/또는 분비를 감소시킴으로써 비정상적으로 증가된 글루카곤 수준을 동등하게 감소시킬 수 있다. 용어 "췌장 기능장애를 예방하거나 지연하는"의 의미는 앞선 기재내용을 바탕으로 당해 분야의 숙련가에게 명백할 것이다.

[0091] 췌장 기능장애는 예를 들면, 췌장에 의해 생산된 소화 효소, 예를 들면, 리파제 또는 아밀라제의 감소된 수준 및/또는 췌장액의 감소된 생산의 결과로서, 영양소, 예를 들면, 탄수화물, 지질 또는 단백질의 흡수장애와 관련될 수 있거나 이를 초래하는 상태를 유발할 수 있다. 이러한 상태는 췌장염, 췌장 기능부전, 후천성 자가면역 결핍증, 암, 낭성섬유증 또는 콜링거 엘리슨 증후군(Zollinger Ellison syndrome)을 포함한다. 바람직한 예에서, 상기 상태는 췌장에 의해 생산된 아밀라제 또는 리파제의 감소에 의해 유발되거나 이와 관련된다.

[0092] 췌장 기능장애는 또한 대상체에 의해 영양소의 이상 사용 또는 대사와 관련된 상태, 예를 들면, 고혈당증 또는 저혈당증, 감소된 혈청 아미노산 수준, 단백뇨, 괴사용해이동홍반(necrolytic migratory erythema)과 관련되거나 이의 원인일 수 있다. 이러한 상태는 탄수화물 대사 질환, 예를 들면, 진성 당뇨병을 포함한다. 다른 조건은 예를 들면, 종양(예를 들면, 고혈당증을 유발할 수 있는, 글루카곤 분비 종양)을 포함한다. 예시적인 종양은 글루카곤종을 포함한다.

[0093] 본원에 사용된 것으로서, 용어 "탄수화물 대사 질환"은, 대상체가 탄수화물의 하나 이상의 형태를 파괴하거나 대사하거나 섭취하거나 사용하기 위한, 일반적으로 대상체의 혈류속에서 상기 탄수화물(들)의 수준을 증가시키는 능력을 수행할 수 없거나 이러한 능력이 감소된 특정 질환을 의미하기 위해 사용된다. 바람직하게는, 탄수화물 대사 질환은 탄수화물을 파괴시키는데 관여된 호르몬의 췌장에 의한 감소된 생산, 예를 들면, 아밀라제의 생산과 관련되거나 이에 의해 유발된다. 보다 바람직하게는, 탄수화물 대사 질환은 탄수화물의 흡수에 관여하는 호르몬의 췌장에 의한 감소된 생산, 예를 들면, 인슐린의 생산과 관련되거나 이에 의해 유발된다. 예시적인 탄수화물 대사 질환은 제 I 형 진성 당뇨병, 제Ⅱ형 진성 당뇨병, 특발성 제 I 형 당뇨병(제Ib 형), 조기-발병 제Ⅱ형 당뇨병(EOD), 청년기-발병 비정형 당뇨병(YOAD), 청년기의 성인발병당뇨병(MODY), 영양실조-관련 당뇨병, 위임신성 당뇨병, 손상된 내당뇨(IGT)의 상태, 손상된 공복 혈장당, 대사산증, 케톤증, 증후군 X, 고혈당증, 저혈당증, 인슐린 내성, 알파 만노시드증, 베타 만노시드증, 프럭토оз 불내성, 푸코시드축적증, 갈락토즈혈증, 라이병(Leigh disease), 점액지질증, 무코다당질축적증(mucopolysaccharidoses) 또는 특정의 하나 이상의 앞서의 질환의 합병증을 포함한다. 바람직하게는, 탄수화물 대사 질환은 당뇨병, 예를 들면, 제 I 형 당뇨병 또는 제Ⅱ형 당뇨병이다.

[0094] 바람직하게는, 당뇨병으로 고생하는 대상체는

[0095] 7 nmol/L 또는 126 mg/dl과 같거나 이보다 큰 공복 혈장당;

[0096] 당뇨병 증상들과 함께 11.1 nmol/L 또는 200 mg/dl과 같거나 이보다 높은 수시 혈장당(하루중 임의 시점에서 측정시);

[0097] 2 또는 3-시간 간격에서 측정된 11.1 nmol/L 또는 200 mg/dl과 같거나 이보다 높은 경우 내당능 시험(OGTT) 값(여기서, OGTT는 2 또는 3시간 간격에 걸쳐 제공된다)과 같은, 당뇨병의 임상적으로 허용되는 마커를 갖는다.

[0098] 본원에 사용된 것으로서, 용어 "유효량"은 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용

성 인자가 투여된 대상체에서 췌장 기능이, 투여되기 전 췌장 기능 및/또는 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자가 투여되지 않은 대상체와 비교하여 개선되도록 하기에 충분한 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자의 양을 의미하기 위해 사용된다. 예를 들면, STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자의 유효량은 기본 또는 공복 당수준(혈당증)을 감소시키고/시키거나 내당능을 개선시키고/시키거나 혈중 인슐린 수준을 증가시키고/증가시키거나 혈청내 또는 췌장내 또는 소화계내 글루카곤, 소마토스타틴, 췌장 폴리펩티드, 트립시노겐, 키모트립시노겐, 엘라스타제, 카복시펩티다제, 췌장 리파제 또는 아밀라제의 수준을 증가시킬 수 있다. STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자의 유효량은 또한 췌장 또는 이의 영역으로 예를 들면, 췌장 주변 또는 췌장내 혈관구조를 증가시킴으로써 혈액 공급을 증가시킬 수 있다. 당해 분야의 숙련가는, 이러한 양이, 예를 들면, STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 유래한 가용성 인자 및/또는 특수 대상체 및/또는 췌장 기능장애의 유형 및 중증도에 따라 변할 것임을 인지할 것이다. 따라서, 당해 용어는 본 발명은 특수 양, 예를 들면, 세포 또는 가용성 인자의 중량 또는 수로 한정되는 것이 아니라, 본 발명이 대상체에서 췌장 기능을 개선시키기에 충분한 특정 양의 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자를 포함하는 것으로 고려되어야 한다. 췌장 기능을 검출하는 방법 및/또는 췌장 기능을 개선시키기에 충분한 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자의 양을 측정하는 방법은 당해 분야의 숙련가에게 익숙할 것이고/것이거나 본원에 기술되어 있다. 요구되는 유효량은 췌장 기능장애를 필수적으로 치료하거나 예방할 필요는 없다.

[0099]

본원에 사용된 것으로서, 용어 "치료학적 유효량"은, 췌장 기능장애와 관련되거나 이에 의해 유발된 임상 상태 중 하나 이상의 증상을 이러한 상태의 임상적인 진단으로 판측되고 허용된 값 이하인 수준으로 감소시키거나 억제하는데 충분한 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 유래한 가용성 인자의 양을 의미하기 위해 사용된다. 예를 들면, 치료학적 유효량의 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자는 당뇨병 대상체에서 판측된 수준으로부터 예비증상관련(presymptomatic) 대상체(예를 들면, 손상된 내당능 또는 손상된 공복 당혈증으로 고생하는) 또는 정상인 또는 건강한 대상체에서 내당능을 감소시킬 수 있다.

[0100]

본원에 사용된 것으로서, 용어 "예방학적 유효량"은 췌장 기능장애와 관련되거나 이에 의해 유발된 임상 상태의 하나 이상의 검출가능한 증상의 발병을 예방하거나 억제하기에 충분한 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자의 양을 의미하기 위해 사용된다. 예를 들면, 예방학적 유효량의 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자는, 대상체가 당뇨병을 가진 것으로 임상적으로 진단되는 이러한 정도까지 손상되는 대상체에서 내당능을 예방할 수 있다.

[0101]

본원에 사용된 것으로서, 용어 "치료하다" 또는 "치료" 또는 "치료하는"은 치료학적 유효량의 가용성 인자 및/또는 세포를 투여하고 췌장 기능장애와 관련되거나 유발된 임상 상태의 적어도 하나의 증상을 감소시키거나 억제함을 의미하는 것으로 이해될 수 있다.

[0102]

본원에 사용된 것으로서, 용어 "예방하다" 또는 "예방하는" 또는 "예방"은 예방학적 유효량의 가용성 인자 및/또는 세포를 투여하여 췌장 기능장애와 관련되거나 이에 의해 유발된 임상 상태의 적어도 하나의 증상의 발전을 중지하거나 방해하는 것을 의미하기 위해 사용될 수 있다.

[0103]

"췌장 기능장애의 진행을 지연하는"은, 치료가 대상체에서 췌장 기능장애의 중증도를 감소시킴을 의미한다. 중증도에 있어서 이러한 감소는 예를 들면, 영양소 흡수장애, 저혈당증, 고혈당증, 케토산증, 망막병증, 백내장, 고혈압, 신부전, 관상동맥병, 말초혈관병, 신경병증(예를 들면, 말초 신경병증 또는 자율신경병증) 또는 감염의 증가된 위험과 같은, 췌장 기능장애의 하나 이상의 합병증의 예방일 수 있다. 이와는 달리 또는 부가적으로 췌장 기능장애의 중증도에 있어서의 감소는 본 발명의 방법을 사용한 치료를 제공받지 않은 대상체와 비교하여 대상체의 치료학적 치료의 요건(예를 들면, 인슐린 투여) 또는 치료학적 치료의 정규성에 있어서 감소로 특징화된다. 달리는, 또는 또한, "췌장 기능장애 진행을 감소시키는"은 췌장 기능장애 진행을 감소시키는 화합물을 사용한 치료를 제공받지 않은 당뇨병 대상체와 비교하여 췌장 기능장애의 하나 이상의 검출가능한 증상의 발병에 있어서의 지연이다.

- [0104] 본원에 사용된 것으로서, 용어 "가용성 인자"는 임의의 문자, 예를 들면, 수용성인 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대에 의해 생산된, 단백질, 웹티드, 당단백질, 당펩티드, 지질단백질, 지질펩티드, 탄수화물 등을 의미하기 위해 사용된다. 이러한 가용성 인자는 세포에 의해 세포내에 존재하고/하거나 세포에 의해 분비될 수 있다. 이러한 가용성 인자는 복합체 혼합물(예를 들면, 상층액) 및/또는 이의 단편일 수 있고/있거나 정제된 인자일 수 있다. 본 발명의 하나의 예에서 가용성 인자는 상층액 속에 있거나 상층액 속에 함유된다. 따라서, 하나 이상의 가용성 인자의 투여와 관련된 본원의 특정 실시예는 상층액의 투여에 준용하여 적용할 수 있다.
- [0105] 본원에 사용된 것으로서, 용어 "상층액"은 적합한 배지, 바람직하게는 액체 배지 속에서 중간엽 전구체 세포, 및/또는 이의 후대 세포의 시험관내 배양 이후에 생산된 비-세포 물질을 나타낸다. 전형적으로, 상층액은 세포를 배지 속에서 적합한 조건 및 시간하에 배양한 후, 원심분리와 같은 방법으로 세포 물질을 제거함으로써 생산한다. 상층액은 투여 전에 추가의 정제 단계에 적용시키거나 적용시키지 않을 수 있다. 바람직한 예에서, 상층액은 10⁵ 미만, 보다 바람직하게는 10⁴ 미만, 보다 바람직하게는 10³ 미만의 살아있는 세포를 포함하고 심지어 보다 바람직하게는 살아있는 세포를 포함하지 않는다.
- [0106] 본원에 사용된 것으로서, 용어 "정상인 또는 건강한 개체"은 당해 분야에 공지되고/되거나 본원에 기술된 특정 방법으로 평가한 것으로서 체장 기능장애로 고생하지 않는 대상체를 의미한다.
- [0108] STRO-1⁺ 세포 또는 후대 세포, 및 상층액 또는 이로부터 유래한 하나 이상의 가용성 인자
- [0109] STRO-1⁺ 세포는 골수, 혈액, 치아속질 세포, 지방 조직, 피부, 비장, 체장, 뇌, 신장, 간, 심장, 망막, 뇌, 모낭, 장, 폐, 림프절, 전립샘, 뼈, 인대, 힘줄, 콜격근, 진피, 및 골막에서 발견된 세포이며; 중배엽 및/또는 내배엽 및/또는 외배역과 같은 배아주내로 분화될 수 있다.
- [0110] 하나의 양태에서, STRO-1⁺ 세포는 지방피막, 골조직, 연골, 탄성, 근육 및 섬유 연결 조직을 포함하나, 이에 한정되지 않는 다수의 세포 유형으로 분화될 수 있는 다능성 세포이다. 상기 세포들이 도입되는 특수 계통-커밋먼트(lineage-commitment) 및 분화 경로는 성장 인자, 사이토kin 및/또는, 숙주 조직에 의해 확립된 국소 미세환경 조건과 같은 내인성 생활성 인자 및/또는, 기계적 영향으로부터의 각종 영향에 의존한다. 따라서, STRO-1⁺ 다능성 세포는 적시에 비가역적으로 분화하여 표현형 세포를 생성할 줄기 세포이거나 전구 세포인 딸 세포를 생산하기 위해 분할하는 비-조혈 후대세포이다.
- [0111] 바람직한 예에서, STRO-1⁺ 세포는 대상체, 예를 들면, 치료될 대상체 또는 관련된 대상체 또는 관련되지 않은 대상체(동일한 종 또는 상이한 종에 상관없이)로부터 수득한 시료로부터 풍부하게 존재한다. 용어 '풍부한', '풍부' 또는 이의 변형은 본원에서 하나의 특수 세포형의 비율 또는 특수 세포형의 수의 비율이 처리되지 않은 집단과 비교하여 증가된 세포의 집단을 기술하기 위해 사용된다.
- [0112] 바람직한 예에서, 본 발명에 사용된 세포는 TNAP⁺, VCAM-1⁺, THY-1⁺, STRO-2⁺, CD45⁺, CD146⁺, 3G5⁺ 또는 이의 특정 조합으로 이루어진 그룹 중에서 개별적으로 또는 총체적으로 선택된 하나 이상의 마커를 발현한다.
- [0113] "개별적으로"는, 본 발명이 인용된 마커 또는 마커의 그룹을 별도로 포함하거나, 개개 마커 또는 마커의 그룹이 본원에 별도로 존재하지 않을 수 있음에도 불구하고 첨부된 특허청구범위가 이러한 마커 또는 마커의 그룹을 서로 독립적으로 및 분할하여 정의될 수 있음을 의미한다.
- [0114] "총체적으로"는, 본 발명이 인용된 마커 또는 웹티드의 그룹의 특정 수 또는 조합을 포함하며, 마커 또는 마커의 그룹의 이러한 수 또는 조합이 본원에 상세하게 설명되어 있지 않을 수 있음에도 불구하고, 첨부된 특허청구범위가 이러한 조합 또는 소-조합을 마커 또는 마커의 그룹의 어떠한 다른 조합으로부터 별도로 및 분할하여 이러한 조합 또는 소-조합을 정의할 수 있음을 의미한다.
- [0115] 바람직하게는, STRO-1⁺ 세포는 STRO-1^{bright}(동의어: STRO-1^{bri})이다. 바람직하게는, STRO-1^{bright} 세포는 부가적으로 하나 이상의 TNAP⁺, VCAM-1⁺, THY-1⁺, STRO-2⁺ 및/또는 CD146⁺이다.
- [0116] 하나의 예에서, 중간엽 전구체 세포는 국제특허공보 제WO 2004/85630호에 정의된 바와 같은 혈관주위 중간엽 전구체 세포이다.
- [0117] 제공된 마커에 대해 "양성"인 것으로 언급된 세포는, 마커가 세포 표면에 존재하는 정도에 따라 마커의 낮은(*lo*

또는 dim) 또는 높은(bright, bri) 수준을 표현할 수 있으며, 여기서, 상기 용어들은 세포의 분류 방법에 사용된 다른 마커 또는 형광성의 강도에 관한 것이다. lo(또는 dim 또는 dull) 및 bri의 구별은 분류되는 특수 세포집단에 사용된 마커의 내용에서 이해될 것이다. 제공된 마커에 대해 "음성"으로 언급된 세포는 필수적으로 이러한 세포로부터 완전하게 부재하지 않는다. 당해 용어는, 마커가 이러한 세포에 의해 비교적 매우 낮은 수준에서 발현되며 검출가능하게 표지되거나 또는 배경 수준을 초과하여 검출불가능하게 표지되는 경우 매우 낮은 신호를 생성함을 의미한다.

[0118] 용어 "bright"는, 본원에서 사용되는 경우, 검출가능하게 표지된 경우 비교적 높은 신호를 생성하는 세포 표면상의 마커를 나타낸다. 이론에 한정되는 것을 원하지는 않지만, "bright" 세포는 시료에서 다른 세포보다 더 많은 표적 마커 단백질(예를 들면, STRO-1에 의해 인지된 항원)을 발현하는 것으로 제안된다. 예를 들어, STRO-1^{bri} 세포는 형광 활성화된 유세포 분석기 분석에 의해 측정된 것으로서 FITC-접합된 STRO-1 항체로 표지된 경우 비-bright 세포(STRO-1^{dull/dim})보다 더 큰 형광성 신호를 생산한다. 바람직하게는, "bright" 세포는 출발시료 속에 함유된 가장 환하게 표지된 골수 단핵 세포종 적어도 약 0.1%를 차지한다. 다른 예에서, "bright" 세포는 출발 시료속에 함유된 가장 환하게 표지된 골수 단핵 세포를 적어도 약 0.1%, 적어도 약 0.5%, 적어도 약 1%, 적어도 약 1.5%, 또는 적어도 약 2%를 차지한다. 바람직한 예에서, STRO-1^{bright} 세포는 "배경", 즉 STRO-1⁻인 세포에 비해 STRO-1 표면 발현의 2 log 크기의 보다 높은 발현을 갖는다. 비교시, STRO-1^{dim} 및/또는 STRO-1^{intermediate} 세포는 STRO-1 표면 발현의 2 log 크기 미만의 보다 높은 발현, 통상적으로 "배경"보다 약 1 log 또는 미만을 갖는다.

[0119] 본원에 사용된 것으로서, 용어 "TNAP"는 조직 비-특이적인 알칼리성 포스파타제의 모든 이소형(isoform)을 포함하는 것으로 의도된다. 예를 들면, 당해 용어는 간 이소형(LAP), 골 이소형(BAP) 및 신장 이소형(KAP)을 포함한다. 바람직한 예에서, TNAP는 BAP이다. 특히 바람직한 예에서, 본원에 사용된 것으로서 TNAP는 기탁에 관한 부다페스트 조약하에 2005년 12월 19일자로 ATCC에 수탁 번호 제PTA-7282호로 기탁된 하이브리도마 세포주에 의해 생산된 STRO-3 항체에 결합할 수 있는 문자를 말한다.

[0120] 또한, 바람직한 예에서, STRO-1⁺ 세포는 클론원성 CFU-F를 생성할 수 있다.

[0121] 현저한 비율의 STRO-1⁺ 다능성 세포를 적어도 2개의 상이한 배아주로 분화시킬 수 있는 것이 바람직하다. 다능성 세포가 기여할 수 있는 계통의 비-제한적 예는 골 전구체 세포; 담즙관 상피 세포 및 간세포에 대해 다능성인, 간세포 후대세포; 희소돌기아교세포 및 별아교세포로 진행되는 신경아교 세포 전구체를 생성할 수 있는 신경 제한된 세포; 신경으로 진행하는 신경 전구체; 심장 근육 및 심근세포, 당-반응성 인슐린 분비 체장 베타 세포주에 대한 전구체를 포함한다. 다른 계통은 상아질모세포, 상아질-생산 세포 및 연골세포, 및 망막 색소 내피 세포, 섬유모세포, 각질세포와 같은 피부 세포, 수지상 세포, 모낭 세포, 신관 내피 세포, 평활근 및 골격근 세포, 고환 전구 세포, 혈관 내피 세포, 힘줄, 인대, 연골, 지방세포, 섬유모세포, 골수버팀질, 심근, 평활근, 골격근, 혈관주위세포, 혈관, 내피, 아교세포, 신경, 별아교세포 및 희소돌기아교세포의 전구체 세포를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0122] 다른 예에서, STRO-1⁺ 세포는 배양시 조혈 세포를 생성할 수 없다.

[0123] 하나의 예에서, 세포는 치료될 대상체로부터 취하여, 시험관내에서 표준 기술을 사용하여 배양하고 대상체에게 자가 또는 동종이형 조성물로서 투여하기 위한 상충액 또는 가용성 인자 또는 확장된 세포를 수득하기 위해 사용된다. 대안적인 실시예에서, 하나 이상의 확립된 사람 세포주의 세포가 사용된다. 본 발명의 또 다른 유용한 실시예에서, 비-사람 동물(또는 환자가 사람이 아닌 경우, 다른 종으로부터)의 세포가 사용된다.

[0124] 본 발명은 또한 시험관내 배양으로부터 생산된 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포(이는 확장된 세포로 언급되고 있다)로부터 수득되거나 이로부터 기원한 가용성 인자 또는 상충액의 사용을 고려한다. 본 발명의 확장된 세포는 배양 조건(배양 배지에서의 자극성 인자의 수 및/또는 유형을 포함), 계대배양의 횟수 등에 따라 광범위한 표현형을 가질 수 있다. 특정 실시예에서, 후대 세포는 모체 집단으로부터 약 2, 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 또는 약 10회의 계대배양 후 수득된다. 그러나, 후대 세포는 모체 집단으로부터 특정 수의 계대배양 후 수득될 수 있다.

[0125] 후대 세포는 어떠한 적합한 배지 속에서도 배양하여 수득할 수 있다. 세포 배양에 대한 참조로 사용된 것으로

서, 용어 "배지"는 세포 주변의 환경의 성분을 포함한다. 배지는 고체, 액체, 가스, 또는 상 및 물질의 혼합물일 수 있다. 배지는 세포 성장을 지속하지 않는 액체 배지 뿐만 아니라 액체 성장 배지도 포함한다. 배지는 또한 아가, 아가로즈, 젤라틴 및 콜라겐 매트릭스와 같은 젤라틴성 배지를 포함한다. 예시적인 가스성 배지는 페트리 접시 또는 다른 고체 또는 반고체 지지체상에서 성장하는 세포가 노출되는 가스 상을 포함한다. 용어 "배지"는 또한, 여전히 세포와 접촉되어 있지 않는 경우에서 조차 세포 배양시 사용하기 위해 의도된 물질을 말한다. 다시 말해서, 세균 배양을 위해 제조된 영양소가 풍부한 액체가 배지이다. 물 또는 기타 액체와 혼합하는 경우 세포 배양에 적합해지는 분말 혼합물은 "분말화된 배지"로 언급할 수 있다.

[0126] 하나의 예에서, 본 발명의 방법에 유용한 후대 세포는 STRO-3 항체로 표지한 자기 비드를 사용하여 골수로부터 TNAP⁺ STRO-1⁺ 세포를 분리한 후, 분리된 세포를 배양 확장함으로써 수득된다(참조: 적합한 배양 조건의 예에 관한 Gronthos 등. Blood 85: 929-940, 1995).

[0127] 하나의 예에서, 이러한 확장된 세포(후대)(바람직하게는, 적어도 5회 계대배양 후)는 TNAP⁻, CC9⁺, HLA class I⁺, HLA class II⁻, CD14⁻, CD19⁻, CD3⁻, CD11a⁻c⁻, CD31⁻, CD86⁻, CD34⁻ 및/또는 CD80⁻일 수 있다. 그러나, 본원에 기술된 것에 대해 상이한 배양 조건하에서, 상이한 마커의 표현이 변할 수 있다는 것이 가능하다. 또한, 이들 표현형의 세포가 확장된 세포 집단에서 우세할 수 있다고 해도, 소수의 세포 집단이 당해 표현형(들)이 가질 수 없음을 의미하지는 않는다(예를 들면, 확장된 세포중 소 비율은 CC9⁻일 수 있다). 하나의 바람직한 예에서, 확장된 세포는 여전히 상이한 세포 유형으로 분화되는 능력을 가진다.

[0128] 하나의 예에서, 상충액 또는 가용성 인자, 또는 세포 그 자체를 수득하기 위해 사용된 확장된 세포 집단은, 세포 중 적어도 25%, 보다 바람직하게는 적어도 50%가 CC9+인 세포를 포함한다.

[0129] 다른 예에서, 상충액 또는 가용성 인자, 또는 세포 그 자체를 수득하기 위해 사용된 확장된 세포 집단은, 세포 중 적어도 40%, 보다 바람직하게는 적어도 45%가 STRO-1⁺인 세포를 포함한다.

[0130] 추가의 예에서, 확장된 세포는 LFA-3, THY-1, VCAM-1, ICAM-1, PECAM-1, P-셀렉틴, L-셀렉틴, 3G5, CD49a/CD49b/CD29, CD49c/CD29, CD49d/CD29, CD 90, CD29, CD18, CD61, 인테그린 베타 6-19, 트롬보모듈린, CD10, CD13, SCF, PDGF-R, EGF-R, IGF1-R, NGF-R, FGF-R, 렙틴-R(STRO-2 = 렙틴-R), RANKL, STRO-1^{bright} 및 CD146로 이루어진 그룹 중에서 개별적으로 또는 총체적으로 선택된 하나 이상의 마커 또는 이들 마커의 특정 조합을 발현할 수 있다.

[0131] 하나의 예에서, 후대 세포는 국제특허공보 제WO 2006/032092호에 정의되고/되거나 기술된 다능성 확장된 STRO-1⁺ 다능성 세포 후대(MEMP)이다. 후대 세포가 기원할 수 있는 STRO-1⁺ 다능성 세포가 풍부한 집단을 제조하는 방법은 국제특허공보 제WO 01/04268호 및 국제특허공보 제WO 2004/085630호에 기술되어 있다. 시험관내 내용물에서 STRO-1⁺ 다능성 세포는 절대적으로 순수한 제제로서 거의 존재하지 않을 것이며 일반적으로 조직 특이적인 위임 세포(TSCC)인 다른 세포와 함께 존재할 것이다. 국제특허공보 제WO 01/04268호는 골수로부터 이러한 세포를 약 0.1% 내지 90%의 순도 수준으로 수거하는 것을 언급한다. 후대가 기원한 MPC를 포함하는 집단은 조직 공급원으로부터 직접 수거할 수 있거나, 이와는 달린 이미 생체외에서 확장된 집단일 수 있다.

[0132] 예를 들면, 후대는 STRO-1⁺ 다능성 세포가, 존재하는 집단의 총 세포중 적어도 약 0.1, 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 또는 95%를 포함하는, 실질적으로 정제된 STRO-1⁺ 다능성 세포의 수거된, 확장되지 않은 집단으로부터 수득될 수 있다. 당해 수준은, 예를 들면, TNAP, STRO-1^{bright}, 3G5⁺, VCAM-1, THY-1, CD146 및 STRO-2로 이루어진 그룹으로부터 개별적으로 또는 총체적으로 선택된 적어도 하나의 마커에 대해 양성인 세포에 대해 선택함으로써 달성할 수 있다.

[0133] MEMPS는, 이들이 마커 알칼리성 포스파타제(ALP)에 대해 음성이고 마커 STRO-1^{bright}에 대해 양성이라는 점에서 새로이 수거된 STRO-1⁺ 다능성 세포와는 구별될 수 있다. 대조적으로, 새로이 분리된 STRO-1⁺ 다능성 세포는 STRO-1^{bright} 및 ALP 둘다에 대해 양성이다. 본 발명의 바람직한 예에서, 투여된 세포중 적어도 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95%가 표현형 STRO-1^{bright}, ALP⁻을 가진다. 추가의 바람직한 예에서, MEMPS는 하나 이상의 마커 Ki67, CD44 및/또는 CD49c/CD29, VLA-3, α3β1에 대해 양성이다. 여전히 바람직한 예에서,

MEMP는 TERT 활성을 나타내지 않고/않거나 마커 CD18에 대해 음성이다.

[0134] STRO-1⁺ 세포 출발 집단은 국제특허공보 제WO 01/04268호 또는 국제특허공보 제WO 2004/085630호에 기재된 특정의 하나 이상의 조직 유형, 즉, 골수, 치아속질 세포, 지방피막 조직 및 피부로부터, 또는 아마도 보다 더 광범위하게는 지방피막 조직, 치아, 치아속질, 피부, 간, 신장, 심장, 망막, 뇌, 모낭, 장, 폐, 비장, 림프절, 전립샘, 췌장, 뼈, 인대, 골수, 힘줄 및 골격근으로부터 기원할 수 있다.

[0135] 본 발명을 수행하는데 있어서, 특정의 주어진 세포 표면 마커를 수반하는 세포의 분리는 다수의 상이한 방법으로 수행할 수 있으나, 바람직한 방법은 높은 수준 결합 또는, 낮은 수준 결합 또는 비결합인, 결합을 나타내는 것들의 분리가 뒤따르는 관련된 마커에 대한 결합제(예를 들면, 항체 또는 이의 항원 결합 단편)의 결합에 의존함을 이해할 것이다. 가장 편리한 결합제는 바람직하게는 단일클론 항체이거나, 상기 후자의 제제의 특이성으로 인하여 단일클론 항체를 기초로 하는 항체 또는 항체계 분자이다. 항체는 단계 둘다에 대해 사용될 수 있으나, 다른 제제도 사용할 수 있으므로, 이를 마커에 대한 리간드를 사용하여 이들을 수반하거나, 이들을 결여하는 세포를 풍부하게 할 수도 있다.

[0136] 항체 또는 리간드는 조 분리(crude separation)를 위해 고체 지지체에 부착시킬 수 있다. 분리 기술은 바람직하게는 수집될 분획의 생존력의 보유를 최대화한다. 효능이 상이한 각종 기술을 사용하여 상대적인 조 분리를 수득할 수 있다. 사용된 특수 기술은 분리 효능, 관련된 세포독성, 수행의 용이성 및 속도, 및 정교한 장비 및/또는 기교에 대한 필요성에 의존할 것이다. 분리 과정은 항체-피복된 자기 비드, 친화성 크로마토그래피 및 고체 매트릭스에 부착된 항체와의 "페닝(panning)"을 포함할 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 정밀한 분리를 제공하는 기술은 FACS를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. FACS를 수행하기 위한 방법은 당해 분야의 숙련가에게 익숙할 것이다.

[0137] 본원에 기술된 각각의 마커에 대한 항체는 상업적으로 시판되거나[예를 들면, STRO-1에 대한 단일클론 항체는 미국의 알 앤드 디 시스템스(R&D Systems, USA)로부터 시판된다], ATCC 또는 다른 기탁 기관으로부터 이용가능하고/하거나 당해 분야에 인지된 기술을 사용하여 생산할 수 있다.

[0138] 예를 들면, STRO-1⁺ 세포를 분리하는 방법은, 자기 활성화된 STRO-1의 고 수준 발현을 인지하는 자기 활성화된 세포 분류(MACS)를 이용하는 고체 상 분류 단계인 제 1 단계를 포함하는 것이 바람직하다. 이후에, 제2 분류 단계를 수행하여 국제특허공보 제WO 01/14268호에 기술된 바와 같은 보다 높은 수준의 전구체 세포 확장을 수득할 수 있다. 당해 제2 분류 단계는 2개 이상의 마커의 사용을 포함할 수 있다.

[0139] STRO-1⁺ 세포를 수득하는 방법은 또한 공지된 기술을 사용하는 제1의 농축 단계(enrichment step) 전에 세포의 공급원을 수거함을 포함할 수 있다. 따라서, 조직은 외과적으로 제거될 것이다. 이후에, 공급원 조직을 포함하는 세포를 소위 단일 세포 혼탁액으로 분리할 것이다. 당해 분리는 물리적 및/또는 효소적 수단으로 달성할 수 있다.

[0140] 일단 적합한 STRO-1⁺ 세포 집단이 수득되면, 이를 어떠한 적합한 수단으로 배양하거나 확장시켜 MEMP를 수득할 수 있다.

[0141] 하나의 예에서, 세포를 치료할 대상체로부터 입수하여, 시험관내에서 표준 기술을 사용하여 배양하고 이를 사용하여 대상체에게 자가 또는 동종이계 조성물로서 투여하기 위한 상충액 또는 가용성 인자 또는 확장된 인자를 수득한다. 대안적인 예에서, 하나 이상의 확립된 사람 세포주의 세포를 사용하여 상충액 또는 가용성 인자를 수득한다. 본 발명의 또 다른 유용한 예에서, 비-사람 동물(또는 환자가 사람이 아닌 경우, 또 다른 종으로부터)의 세포를 사용하여 상충액 또는 가용성 인자를 수득한다.

[0142] 본 발명은 비-사람 영장류 세포, 유제류, 개과, 고양이과, 토끼목, 설치류, 조류, 및 어류 세포를 포함하지만, 이에 제한되지 않는 임의의 비-사람 동물 종으로부터의 세포를 사용하여 실시할 수 있다. 본 발명이 수행할 수 있는 영장류 세포는 침팬지, 개코원숭이, 시노몰구스(cynomolgus) 원숭이, 및 임의의 다른 신세계 또는 구세계 원숭이를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 본 발명이 수행될 수 있는 유제류 세포는 소, 돼지, 양, 염소, 말, 베펄로(buffalo) 및 들소의 세포를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 본 발명이 수행할 수 있는 설치류 세포는 마우스, 랙트, 기니아 피그, 햄스터 및 저빌(gerbil) 세포를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 본 발명이 수행할 수 있는 토끼목 종의 예는 집토끼, 산토끼, 토끼, 솜꼬리토끼, 스노우우주 토끼(snowshoe rabbit), 및 새양토끼(pika)를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 닭[갈루스 갈루스(Gallus gallus)]은 본 발명을 수행할 수 있는

조류 종의 예이다.

[0143] 본 발명의 방법에 유용한 세포는 사용 전에, 또는 상층액 또는 가용성 인자를 수득하기 전에 저장할 수 있다. 진핵 세포, 및 특히 포유동물 세포를 보존하고 저장하는 방법 및 프로토콜은 당해 분야에 공지되어 있다[참조: 예를 들면, Pollard, J. W. and Walker, J. M. (1997) Basic Cell CultureProtocols, Second Edition, HumanaPress, Totowa, N.J.; Freshney, R. I. (2000) Cultureof Animal Cells, Fourth Edition, Wiley-Liss, Hoboken, N.J.]. 중간엽 줄기/전구 세포, 또는 이의 후대 세포와 같은 분리된 줄기 세포의 생물학적 활성을 유지하는 어떠한 방법도 본 발명과 함께 사용할 수 있다. 하나의 바람직한 예에서, 세포는 동결-보존(cryo-preservation)을 사용함으로써 유지하고 보존한다.

유전적으로 변형된 세포

[0146] 하나의 예에서, STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포는 예를 들면, 목적 단백질, 예를 들면, 치료학적 및/또는 예방학적 이점을 제공하는 단백질, 예를 들면, 인슐린, 글루카곤, 소마토스타틴, 트립시노겐, 키모트립시노겐, 엘라스타제, 카르복시펩티다제, 췌장 리파제 또는 아밀라제 또는, 향상된 혈관형성과 관련되거나 이를 유발하는 폴리펩티드 또는 췌장 세포 또는 혈관 세포내로 세포의 분화와 관련된 폴리펩티드를 발현하고/하거나 분비하도록 유전적으로 변형된다.

[0147] 세포를 유전적으로 변형시키는 방법은 당해 분야의 숙련가에게 명백할 것이다. 예를 들면, 세포내에서 발현될 핵산은 세포내에서 확장을 유도하기 위해 프로모터에 작동적으로-연결되어 있다. 예를 들면, 핵산은 대상체의 각종 세포에서 작동 가능한 프로모터, 예를 들면, 바이러스 프로모터, 예를 들면, CMV 프로모터(예를 들면, CMV-1E 프로모터) 또는 SV-40 프로모터에 연결된다. 추가의 적합한 프로모터는 당해 분야에 공지되어 있고 본 발명의 본 실시예에 필요한 부분만 약간 수정하여 적용하기 위해 사용될 수 있다.

[0148] 바람직하게는, 핵산은 발현 작제물의 형태로 제공된다. 본원에 사용된 것으로서, 용어 "발현 작제물"은, 세포내에서, 이것이 작동적으로 연결된 핵산에서 발현을 부여하는 능력을 가진 핵산(예를 들면, 리포터 유전자 및/또는 역-선택 가능한 리포터 유전자)를 말한다. 본 발명의 내용에서, 발현 작제물은 플라스미드, 박테리오파지, 파지미드, 코스미드, 바이러스 소-게놈성(sub-genomic) 또는 게놈성 단편, 또는 발현 가능한 포맷으로 이종 DNA를 유지하고/하거나 복제할 수 있는 다른 핵산을 포함할 수 있거나, 이들일 수 있음이 이해되어야 한다.

[0149] 본 발명을 수행하기에 적합한 발현 작제물을 작제하는 방법은 숙련가에게 명백할 것이며, 예를 들면, 문헌[참조: Ausubelet al (In: CurrentProtocols in Molecular Biology. Wiley Interscience, ISBN 047 150338, 1987)] 또는 문헌[참조: Sambrook et al (In: Molecular Cloning: Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratories, New York, Third Edition 2001)]에 기술되어 있다. 예를 들면, 발현 작제물의 각각의 성분들은 예를 들면, PCR을 사용하여 적합한 주형 핵산(template nucleicacid)으로부터 증폭시키고, 후속적으로 예를 들면, 플라스미드 또는 파지미드와 같은 적합한 발현 작제물내로 클로닝한다.

[0150] 이러한 발현 작제물에 적합한 벡터는 당해 분야에 공지되어 있고/있거나 본원에 기술되어 있다. 예를 들면, 포유동물 세포에서 본 발명의 방법에 적합한 발현 벡터는 예를 들면, 인비트로겐(Invitrogen)에 의해 공급된 pcDNA 벡터 세트(suite)의 벡터, pCI 벡터 세트[제조원: 프로메가(Promega)]의 벡터, pCMV 벡터 세트의 벡터 [제조원: 클론테크(Clontech)], pM 벡터(제조원: 클론테크), pSI 벡터(제조원: 프로메가), VP 16 벡터(제조원: 클론테크) 또는 pcDNA 벡터 세트이 벡터(제조원: 인비트로겐)이다.

[0151] 당해 분야의 숙련가들은 추가의 벡터 및 예를 들면, 인비트로겐 코포레이션(Invitrogen Corporation), 클론테크 또는 프로메가와 같은 이러한 벡터의 공급원을 잘 알 것이다.

[0152] 분리된 핵산 분자 또는 이를 포함하는 유전자 작제물을 발현을 위해 세포내로 도입하는 방법은 당해 분야의 숙련가에게 공지되어 있다. 제공된 유기체에 사용된 기술은 공지된 성공적인 기술에 의존한다. 재조합체 DNA를 세포내로 도입하는 수단은 미세주사, DEAE-덱스트란에 의해 매개된 형질감염, 리포펙타민[제조원: 기브코(Gibco), 미국 메릴랜드 소재] 및/또는 셀펙틴(cellfectin)(제조원: 기브코, 미국 메릴랜드 소재)을 사용함에 의한 것과 같은 리포좀에 의해 매개된 형질감염, PEG-매개된 DNA 흡수, 전기영동 및, 다른 것들 중에서 DNA-피복된 텅스텐 또는 금 입자[제조원: 아그라세투스 인코포레이티드((Agracetus Inc.), 미국 위스콘신 소재)]를 사용하는 것과 같은 미세입자 충격을 포함한다.

[0153] 이와는 달리, 본 발명의 발현 작제물은 바이러스 벡터이다. 적합한 바이러스 벡터는 당해 분야에 공지되어 있으며 시판된다. 핵산의 전달 및 이러한 핵산의 숙주 세포 게놈내로의 통합을 위한 통상의 바이러스-계 시스템

은 예를 들면, 레트로바이러스 벡터, 렌티바이러스 벡터 또는 아데노-관련 바이러스 벡터를 포함한다. 달리는, 아데노바이러스 벡터는 에피솜에 남아있는 핵산을 숙주 세포내로 도입시키는데 유용하다. 바이러스 벡터는 표적 세포 및 조직내 유전자 전달의 효율적이고 다목적인 방법이다. 또한, 고 형질도입 효능이 많은 상이한 세포 유형 및 표적 조직에서 관측되어져 왔다.

[0154] 예를 들어, 레트로바이러스 벡터는 일반적으로 외부 서열의 6 내지 10kb까지에 대해 포장 능력을 지닌 시스-작용성의 긴 말단 반복단위(LTR)를 포함한다. 최소 시스-작용성 LTR은 발현 작제물을 표적 세포내로 통합하여 장기간 발현을 제공하는데 사용되는 벡터의 복제 및 포장에 충분하다. 광범위하게 사용된 레트로바이러스 벡터는 쥐 백혈병 바이러스(MuLV), 긴팔원숭이 유인원 백혈병 바이러스(GaLV), 유인원 면역결핍성 바이러스(SrV), 사람 면역결핍성 바이러스(HIV), 및 이의 조합을 기초로 한 것들을 포함한다[참조: 예를 들면, Buchscheret et al., J Virol. 56:2731-2739 (1992); Johann et al., J. Virol. 65:1635-1640 (1992); Sommerfelt et al., Virol. 76:58-59 (1990); Wilson et al., J. Virol. 63:274-2318 (1989); Miller et al., J. Virol. 65:2220-2224 (1991); PCT/US94/05700; Miller and Rosman Biotechnology 7:980-990, 1989; Miller, A. D. HumanGene Therapy 7:5-14, 1990; Scarpa et al Virology 75:849-852, 1991; Burnset al. Proc. Natl. Acad. Sci USA 90:8033-8037, 1993].

[0155] 각종 아데노-관련 바이러스(AAV) 벡터 시스템이 또한 핵산 전달용으로 개발되어 왔다. AAV 벡터는 당해 분야에 공지된 기술을 사용하여 용이하게 작제할 수 있다[참조: 예를 들면, 미국 특허 제5,173,414호 및 제5,139,941호; 국제 공보 제WO 92/01070호 및 제WO 93/03769호; Lebkowski et al. Molec. Cell. Biol. 5:3988-3996, 1988; Vincent et al. (1990) Vaccines 90 (Cold Spring Harbor Laboratory Press); Carter CurrentOpinion in Biotechnology 5:533-539, 1992; Muzyczka Current Topics in Microbiol. and Immunol. 158:97-129, 1992; Kotin, HumanGene Therapy 5:793-801, 1994; Shelling and Smith Gene Therapy 7:165-169, 1994; 및 Zhou et al. J Exp. Med. 179:1867-1875, 1994].

[0156] 본 발명의 발현 작제물을 전달하는데 유용한 추가의 바이러스 벡터는, 예를 들면, 박시니아 바이러스 및 아비안 폭스바이러스 또는 알파바이러스 또는 접합 바이러스 벡터와 같은, 폭스(pox) 바이러스 계열로부터 기원한 것 [예를 들면, 문헌(참조: Fisher-Hoch et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA 56:317-321, 1989)에 기술된 것]을 포함한다.

세포 및 가용성 인자의 치료학적/예방학적 잠재능의 검정

[0159] 췌장 기능장애의 발병 또는 진행을 예방하거나 자연시키기 위한 세포 또는 가용성 인자의 능력을 측정하는 방법은 당해 분야의 숙련가에게 명백할 것이다.

[0160] 예를 들면, 세포 또는 가용성 인자[예를 들면, 인자들 또는 단일 인자 또는 인자들의 분획(예를 들면, 친화성 정제 또는 크로마토그래피에 의해 유도됨)의 혼합물]은 시험 피검자, 예를 들면, 시험 동물에게 치료학적/예방학적 이점 및 평가된 휴식 또는 기본 또는 공복 당 수준 및/또는 수행된 내당능 시험(glucose tolerance test)을 제공하기에 충분한 시간 동안 및 조건하에 투여한다. 이러한 시험은 시판되는 키트 및/또는 장치를 사용하여 수행한다. 기본 또는 공복 당 수준은 예를 들면, 약 8 내지 약 14시간 금식 후에 평가한다. 내당능 시험의 경우에는, 피검자를 약 8 내지 약 14시간 금식시킨 후 당(예를 들면, 당 약 1.75g/체중 kg)를 마시고 약 2 내지 3시간 후 혈당 수준을 평가한다. 국제 보건 기구에 따르면, 공복 혈장 당은 6.1 mmol/l(100 mg/dl) 이하이어야 한다. 6.1 내지 7.0 mmol/l(100 및 126 mg/dl)의 공복 수준은 경계선("손상된 공복 당혈증")이며, 7.0 mmol/l(126 mg/dl)에서 또는 초과에서 공복 수준은 당뇨병으로 진단된다. 2시간째의 당 수준은 7.8 mmol/l(140 mg/dl) 이하이어야 한다. 7.8 mmol/l(140 mg/dl) 내지 11.1 mmol/l(200 mg/dl)의 수준은 손상된 내당능을 나타낸다. 2시간 째에 11.1 mmol/l(200 mg/dl)를 초과하는 당 수준은 당뇨병 진단으로 확정된다.

[0161] 바람직하게는, 시험 피검자는 췌장 기능장애로 고생하고 있다. 예를 들면, 시험 피검자는 비만이 아닌 당뇨병 (NOD) 마우스(제 I형 당뇨병의 모델) 또는 스트렙토조토신이 투여된 마우스 또는 랫트[제 I형 및/또는 제II형 당뇨병의 모델; 참조: Lukicet al., Developmental Immunol. 6: 119-128, 1998 and Arulmozhi et al., Indian J. Pharmacol., 36: 217-221, 2004), Goto Kakizaki (GK) rat (model of Type II diabetes], 뉴질랜드 비만 (New Zealand Obese)(NZO) 마우스(제II형 당뇨병 모델)이다. 제 I형 및/또는 제II형 당뇨병의 다른 모델은 예를 들면, 문헌(참조: Rees and Alcolado, Diabet. Med. 22:359-70, 2005)에 기술되어 있다.

[0162] 처리되지 않은 동물 또는 처리 전 시험 동물과 비교하여 이러한 췌장 기능장애의 모델에서 기본 당 수준을 감소시키고/시키거나 내당능을 개선시키는 세포 및/또는 가용성 인자는 유사하게 췌장 기능장애의 발병 또는 진행을

치료하거나 예방하거나 지연시키는 것으로 고려한다.

- [0163] 이와는 달리 또는 추가적으로, 인슐린 수준은 예를 들면, 효소-결합되거나 형광성-결합된 면역흡착 검정을 사용하여 시험 피검자의 순환에서 평가한다. 시험 피검자의 순환내에 인슐린 수준을 증가시키는 세포 및/또는 가용성 인자는 췌장 기능장애의 발병 또는 진행을 치료하거나 예방하거나 지연시키는 것으로 유사하게 고려된다.
- [0164] 혈청 글루카곤 또는 소마토스타틴 수준을 측정하기 위한 키트 및 검정은 당해 분야에 공지되어 있고/있거나 예를 들면, 제조업자[임뮤노-바이올로지컬 래보러토리즈, 임크(Immuno-Biological Laboratories, Inc) 또는 밀리포어 코포레이션(Millipore Corporation)]로부터 상업적으로 이용가능하다.
- [0165] 이와는 달리 또는 추가적으로, 아밀라제의 혈청 수준은 예를 들면, 문헌(참조: Caraway, Am. J. Clin. Pathol., 32: 97-99, 1959)에 기술된 바와 같은 비색 검정 또는 예를 들면, 문헌(참조: Rinderknecht 및 Marbach, Clin. Chem. Acta., 29: 107-110, 1972)에 기술된 바와 같은 형광성 검정을 사용하여 측정한다. 혈청 아밀라제 수준을 정상 수준(예를 들면, 21 내지 101 U/L)으로 유지하는 인자 또는 세포는 췌장 기능장애의 발병 또는 진행을 치료하거나 예방하거나 지연시키기 위해 유사하게 고려된다.
- [0166] 아밀라제 수준은 또한 예를 들면, 경구 십이지장 삽관에 의해 수득된 췌장 단면 또는 췌장액 속에서 측정할 수 있다. 이들 시료는 또한 트립시노겐, 키모트립시노겐, 엘라스타제, 카복시펩티다제, 췌장 리파제의 수준을 측정하기 위한 시료를 제공한다. 예를 들면, 문헌(참조: Connon et al., Digestive Diseases and Sciences, 23: 472-475, 1978)은 췌장액 속에서 췌장 리파제 수준을 측정하기 위한 검정을 기술하고 있다.
- [0167] 앞서의 단락에서 기술된 검정은 특정한 실시예에 따라, 본원에 기술된 바와 같은 치료를 제공받는 대상체를 지속적으로 모니터링하는데 적합하다.
- [0168] 전술한 내용으로부터 당해 분야의 숙련가에게는, 본 발명이 또한:
- [0169] (i) 췌장 기능장애로 고생하는 피검자에게 세포 또는 가용성 인자를 투여하고 피검자의 췌장 기능을 평가하는 단계; 및
- [0170] (ii) 단계 (i)의 피검자의 췌장 기능을 세포 또는 가용성 인자가 투여되지 않은 췌장 기능장애로 고생하는 대조군 대상체의 췌장 기능에 대해 비교하는 단계를 포함하며, 여기서, 대조군 피검자와 비교하여 피검자내 개선된 췌장 기능은, 세포 또는 가용성 인자가 췌장 기능장애를 치료함을 나타내는, 췌장 기능장애를 치료하기 위한 세포 또는 가용성 인자를 확인하거나 분리하는 방법을 제공하는 것이 분명해질 것이다.
- [0171] 본 발명은:
- [0172] (i) 세포 또는 가용성 인자를 피검자에게 투여한 후 피검자에서 췌장 기능장애를 유도하는 단계; 및
- [0173] (ii) 단계 (i)의 피검자의 췌장 기능을 세포 또는 가용성 인자가 투여되지 않은, 췌장 기능장애로 고생하는 대조군 피검자의 췌장 기능과 비교하는 단계를 포함하며, 여기서, 대조군 피검자와 비교하여 피검자에서 개선된 췌장 기능이, 세포 또는 가용성 인자가 췌장 기능장애의 발병을 예방하거나 지연시킴을 나타내는, 췌장 기능장애를 예방하거나 지연하기 위한 세포 또는 가용성 인자를 확인하거나 분리하는 방법을 제공한다.
- [0174] 세포는 특정한 실시예에 따라 본원에 기술된 특정 세포일 수 있다.
- [0176] 세포 조성물
- [0177] 본 발명의 하나의 실시예에서, STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포는 조성물의 형태로 투여된다. 바람직하게는, 이러한 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 포함한다.
- [0178] 용어 "담체" 및 "부형제"는 활성 화합물의 저장, 투여, 및/또는 생물학적 활성을 촉진시키기 위해 당해 분야에서 통상적으로 사용된 물질의 조성물을 말한다[참조: 예를 들면, Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th Ed., Mac Publishing Company (1980)]. 담체는 또한 활성 화합물의 어떠한 바람직하지 않은 부작용도 감소시킬 수 있다. 적합한 담체는 예를 들면, 안정하며, 예를 들면, 담체중 다른 성분들과 반응할 수 없다. 하나의 예에서, 담체는 치료를 위해 사용된 용량 및 농도에서 수용체내 상당한 국소적 또는 전신적 부작용을 생산하지 않는다.
- [0179] 본 발명에 적합한 담체는 통상적으로 사용된 것들을 포함하며, 예를 들면, 물, 염수, 수성 텍스트로즈, 락토즈, 링거액(Ringer's solution), 완충 용액, 하이알루로난을 및 글리콜이 특히(등장성인 경우) 용액의 경우 바람직한 액체 담체이다. 적합한 약제학적 담체 및 부형제는 전분, 셀룰로즈, 당, 락토즈, 슈크로즈, 젤라틴, 맥아,

쌀, 밀가루, 석회, 실리카 젤, 스테아르산마그네슘, 스테아르산나트륨, 글리세롤 모노스테아레이트, 염화나트륨, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 물, 에탄올 등을 포함한다.

[0180] 또 다른 예에서, 담체는 예를 들면, 세포가 성장하거나 혼탁된 매질 조성물이다. 바람직하게는, 이러한 매질 조성물은, 이것이 투여되는 대상체에서 어떠한 부작용도 유발하지 않는다.

[0181] 바람직한 담체 및 부형제는 췌장 기능장애를 감소시키거나, 예방하거나 지연시키는 세포의 능력 및/또는 세포의 생존력에 역으로 영향을 미치지 않는다.

[0182] 하나의 예에서, 담체 또는 부형제는 세포 및/또는 가용성 인자를 적합한 pH에서 유지시킴으로써 생물학적 활성을 발휘하기 위한 완충 활성을 제공하며, 예를 들면, 담체 또는 부형제는 인산염 완충된 염수(PBS)이다. PBS는 세포 및 인자들과 최소한으로 상호작용하며 세포 및 인자의 신속한 방출을 허용하기 때문에 매력적인 담체 또는 부형제이며, 이러한 경우, 본 발명의 조성물은 혈류로 또는 조직내로 또는, 조직 주변 또는 근접한 영역 내로, 예를 들면, 주사에 의해 직접 적용시키기 위한 액체로서 생산될 수 있다.

[0183] STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포는 또한 수용체-혼용성이이고 수용체에 해롭지 않은 생성물로 분해되는 스캐폴드(scaffold)내에 혼입되거나 봉매될 수 있다. 상기 스캐폴드는 수용체 대상체내로 이식될 세포에 대한 지지 및 보호를 제공한다. 천연 및/또는 합성의 생분해가능한 스캐폴드는 이러한 스캐폴드의 예이다.

[0184] 각종의 상이한 스캐폴드를 본 발명의 실시에서 성공적으로 사용할 수 있다. 바람직한 스캐폴드는 생물학적인, 분해가능한 스캐폴드를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 천연의 생분해가능한 스캐폴드는 콜라겐, 피브로넥틴, 및 라미닌 스캐폴드를 포함한다. 세포 이식 스캐폴드용으로 적합한 합성 물질은 집중적인 세포 성장 및 세포 기능을 지지할 수 있어야 한다. 이러한 스캐폴드는 또한 재흡수될 수 있다. 적합한 스캐폴드는 예를 들면, 문헌(참조: Vacanti, et al. J. Ped. Surg. 23:3-9 1988; Cima, et al. Biotechnol. Bioeng. 38:145 1991; Vacanti, et al. Plast. Reconstr. Surg. 88:753-9 1991)에 기술된 바와 같은 폴리글리콜산 스캐폴드; 또는 다가무수물, 폴리오르토에스테르 및 폴리락트산과 같은 합성 중합체를 포함한다.

[0185] 또 다른 예에서, 세포는 젤 스캐폴드[업존 캄파니(Upjohn Company)로부터의 젤 발포체와 같은 스캐폴드]로 투여될 수 있다.

[0186] 본 발명에 유용한 세포 조성물은 단독으로 또는 다른 세포와의 혼합물로서 투여될 수 있다. 본 발명의 조성물과 함께 투여될 수 있는 세포는 다른 다능성(multipotent 또는 pluripotent) 세포 또는 줄기 세포, 또는 골수 세포를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 상이한 유형의 세포는 투여 즉시 또는 투여 직전에 본 발명의 조성물과 함께 혼합하거나, 또는 투여 전 시기 동안 함께 공-배양할 수 있다.

[0187] 바람직하게는, 조성물은 유효량 또는 치료학적으로 또는 예방학적으로 유효한 양의 세포를 포함한다. 예를 들면, 조성물은 약 1×10^5 STRO-1⁺ 세포/kg 내지 약 1×10^7 STRO-1⁺ 세포/kg 또는 약 1×10^6 STRO-1⁺ 세포/kg 내지 약 5×10^6 STRO-1⁺ 세포/kg을 포함한다. 투여될 세포의 정확한 양은 환자의 연령, 체중, 및 성별, 및 췌장 기능 장애의 정도 및 중증도를 포함하는 각종 인자에 의존한다.

[0188] 일부 예에서, 세포는 대상체의 순환내로 배출되지 않도록 하지만, 인자가 순환으로 도입하기 위해 세포에 의해 분비되도록 하는 챔버내에 함유된다. 이러한 방식으로 가용성 인자들은 세포가 대상체의 순환내로 인자들을 분비하도록 함으로써 대상체에 투여될 수 있다. 이러한 챔버는 대상체내 부위에 동등하게 이식되어 예를 들면, 췌장 내에 또는 근처에 이식된 가용성 인자의 국소 수준을 증가시킬 수 있다.

[0189] 본 발명의 일부 예에서, 세포 조성물을 사용한 치료요법의 개시 전에 환자를 면역억제하는 것이 필수적이지 않거나 바람직하지 않을 수 있다. 따라서, 동종이계, 또는 심지어 이종발생성인, STRO-1⁺ 세포 또는 이의 후대를 사용한 이식은 일부 예에서 견딜 수 있다.

[0190] 그러나, 다른 예에서, 세포 치료요법을 개시하기 전에 환자를 약리학적으로 면역억제하는 것이 바람직하거나 적절할 수 있다. 이는 전신 또는 국부 면역억제제의 사용을 통해 달성하거나, 세포를 봉입된 장치내에 전달시켜 달성할 수 있다. 세포는, 세포가 여전히 불투과성이어서 체액성 인자 및 세포를 면역화하는 치료 인자 및 세포에 의해 요구되는 영양소 및 산소에 대해 투과성인 캡슐 속에 봉입시킬 수 있다. 바람직하게는, 페막형성제(encapsulant)는 저알레르기성이며, 표적 조직내에서 용이하고 안정하게 위치하고, 이식된 구조에 부가된 보호를 제공한다. 이식된 세포에 대한 면역 반응을 감소시키거나 제거하기 위한 이들 및 다른 수단은 당해 분야에

공지되어 있다. 대안적으로, 세포는 유전적으로 변형되어 이들의 면역원성을 감소시킬 수 있다.

[0192] 가용성 인자의 조성물

[0193] 본 발명의 하나의 예에서, STRO-1⁺ 세포-기원하고/하거나 후대 세포-기원한 상층액 또는 가용성 인자는 예를 들면, 적합한 담체 및/또는 부형제를 포함하는 조성물의 형태로 투여된다. 바람직하게는, 담체 또는 부형제는 가용성 인자 또는 상층액의 생물학적 효과에 역효과를 미치지 않는다.

[0194] 하나의 예에서, 조성물은 가용성 인자 또는 상층액의 성분, 예를 들면, 프로테아제 억제제를 안정화시키기 위한 물질의 조성물을 포함한다. 바람직하게는, 프로테아제 억제제는 대상체에서 역효과를 갖기에 충분한 양으로 포함되지 않는다.

[0195] STRO-1⁺ 세포-기원하고/하거나 후대 세포-기원한 상층액 또는 가용성 인자를 포함하는 조성물은 예를 들면, 배양 배지 속에 또는 안정한 담체 또는 완충액 용액 예를 들면, 인산염 완충된 염수 속에 적절한 액체 혼탁액으로서 제조될 수 있다. 적합한 담체는 위에서 기술한 바와 같다. 또 다른 예에서, STRO-1⁺ 세포-기원하고/하거나 후대 세포-기원한 상층액 또는 가용성 인자를 포함하는 혼탁액은 주사용 유성 혼탁액이다. 적합한 친지성 용매 또는 비히클은 참깨 오일과 같은 지방 오일; 또는 에틸 올레이트 또는 트리글리세라이드와 같은 합성 지방산에 스테르; 또는 리포좀을 포함한다. 주사용으로 사용될 혼탁액은 또한 나트륨 카르복시메틸 셀룰로오스, 소르비톨 또는 텍스트란과 같은 혼탁액의 점도를 증가시키는 물질을 함유할 수 있다. 임의로, 혼탁액은 또한 화합물의 가용성을 증가시켜 고 농축 용액을 제조하도록 하는 적합한 안정화제 또는 제제를 함유할 수 있다.

[0196] 멸균 주사가능한 용액은 상층액 또는 가용성 인자를 필요량으로 적절한 용매 속에, 경우에 따라, 위에서 기술한 성분들 중 하나 또는 이의 조합물을 혼입한 후, 여과된 멸균함으로써 제조할 수 있다.

[0197] 일반적으로, 분산액은 상층액 또는 가용성 인자를 기본 분산 배지 및 위에 열거한 것들로부터의 요구된 다른 성분들을 함유하는 멸균 비히클내로 혼입시켜 제조한다. 멸균 주사가능한 용액을 제조하기 위한 멸균 분말의 경우에, 바람직한 제조 방법은 이의 미리 멸균-여과시킨 용액으로부터 특정의 추가의 바람직한 성분과 활성 성분의 분말을 수득하는 진공 건조 및 동결-건조이다. 본 발명의 대안적 측면에 따라서, 상층액 또는 가용성 인자는 이의 가용성을 향상시키는 하나 이상의 추가의 화합물과 함께 제형화될 수 있다.

[0198] 다른 예시적인 담체 또는 부형제는 예를 들면, 문헌[참조: Hardman, et al. (2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New York, N. Y.; Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, N. Y.; Avis, et al. (eds.) (1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY; Lieberman, et al. (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel Dekker, NY; Lieberman, et al. (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY; Weiner and Kotkoskie (2000) Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., New York, N. Y]에 기술되어 있다.

[0199] 치료학적 조성물은 전형적으로 제조 및 저장 조건하에서 멸균되어야 하고 안정하여야 한다. 조성물은 액제, 미세유체, 리포좀 또는 다른 주문된 구조로 제형화될 수 있다. 담체는 예를 들면, 물, 에탄올, 폴리올(예를 들면, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 및 이의 적합한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 적절한 유동성은 예를 들면, 레시틴과 같은 피복물을 사용하고, 분산제의 경우에 요구되는 입자 크기를 유지하고 표면활성제를 사용함으로써 유지시킬 수 있다. 많은 경우에, 등장성 제제, 예를 들면, 슈가, 만니톨, 또는 소르비톨과 같은 다가알코올, 또는 염화나트륨을 조성물 속에 포함시키는 것이 바람직할 것이다. 주사가능한 조성물의 연장된 흡수는 조성물 속에 흡수를 지연시키는 제제, 예를 들면, 모노스테아레이트 염 및 젤라틴을 포함시킴으로써 달성할 수 있다. 또한, 가용성 인자를 적시 방출 제형으로, 예를 들면, 서방성 중합체를 포함하는 조성물로 투여할 수 있다. 활성 화합물은 이식물 및 미세피막된 전달 시스템을 포함하는 서방성 제형과 같은 신속한 방출에 대해 화합물을 보호할 담체와 함께 제조할 수 있다. 에틸렌 비닐 아세테이트, 다가무수물, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르, 폴리아세트산 및 폴리락트산, 폴리글리콜 성 공중합체(PLG)와 같은, 생분해성, 생흔화성 중합체를 사용할 수 있다. 이러한 제형을 제조하기 위한 많은 방법들이 특허되어 있거나 당해 분야의 숙련가에게 일반적으로 공지되어 있다.

[0200] 상층액 또는 가용성 인자는 예를 들면, 가용성 인자의 서방성을 제공하기에 적절한 매트릭스와 함께 투여할 수 있다.

[0202]

조성물의 추가의 성분

[0203]

STRO-1⁺ 세포-기원한 상층액 또는 가용성 인자, STRO-1⁺ 세포 또는 이의 후대는 다른 유리한 약물 또는 생물학적 분자(성장 인자, 영양 인자)와 함께 투여될 수 있다. 다른 제제와 함께 투여되는 경우, 이들은 단일의 약제학적 조성물로서 함께, 또는 별개의 약제학적 조성물로서, 동시에 또는 다른 제제와 연속적으로(다른 제제의 투여 전 또는 후에) 투여될 수 있다. 공-투여될 수 있는 생활성 인자는 항-세포사멸 제제[예를 들면, EPO, EPO 미메티보디(mimetibody), TPO, IGF-I 및 IGF-II, HGF, 카스파제 억제제]; 소염제(예를 들면, p38 MAPK 억제제, TGF-베타 억제제, 스타틴, IL-6 및 IL-1 억제제, PEMIROLAST, TRANILAST, REMICADE, SIROLIMUS, 및 NSAID(비-스테로이드성 소염 약물; 예를 들면, TEPOXALIN, TOLMETIN, SUPROFEN); 면역억제제/면역조절제(예를 들면, 사이클로스포린, 타크롤리무스와 같은 칼시뉴린 억제제; mTOR 억제제(예를 들면, 시롤리무스, 에버롤리무스); 항-증식제(예를 들면, 아자티오프린, 마이코페놀레이트 모페틸); 코르티코스테로이드(예를 들면, 프레드니솔론, 하이드로코르티손); 단일클론 항-IL-2R알파 수용체 항체(예를 들면, 바실릭시마브, 테클리주마브), 디클론 항-T 세포 항체 (예를 들면, 항-전립샘 글로불린 (ATG); 항-램프구 글로불린(ALG); 단일클론 항-T 세포 항체 OKT3)]와 같은 항체; 항-혈전형성제(예를 들면, 혜파린, 혜파린 유도체, 우로키나제, PPack(넥스트로페닐알라닌 프롤린 아르기닌 클로로메틸케톤), 항트롬빈 화합물, 혈소판 수용체 길항제, 항-트롬빈 항체, 항-혈소판 수용체 항체, 아스피린, 디피리다몰, 프로타민, 히루딘, 프로스타글란дин 억제제, 및 혈소판 억제제); 및 항-산화제(예를 들면, 프로부콜, 비타민 A, 아스코르브산, 토코페롤, 조효소 Q-10, 글루타티온, L-시스테인, N-아세틸시스테인) 및 또한 국소 마취제를 포함한다.

[0204]

하나의 예에서, 특정 실시예에 따른 본원에 기술된 조성물은 체장 기능장애의 치료 또는 예방을 위한 추가의 인자를 포함한다. 예를 들면, 조성물은 비구아니드, 티아졸리딘디온, 살포닐우레아, 벤조산 유도체, 알파-글루코시다제 억제제, SGLT2 억제제, 및 INGAP 웨პ타이드, 디펩티딜 웨პ티다제-IV 억제제, 인슐린 민감제(예를 들면, PPAR 효능제 또는 비구아니드), 인슐린, 인슐린 모사체, 글루카곤 수용체 길항제, GLP-I, GLP-I 모사체, GLP-I 수용체 효능제; GIP, GIP 모사체, GIP 수용체 효능제, PACAP, PACAP 모사체, PACAP 수용체 3 효능제; 콜레스테롤 저하제[예를 들면, HMG-CoA 리덕타제 억제제, 격리제(sequestrant), 니코트밀 알코올, 니코틴산], PPAR α / γ 이중 효능제 또는 항-비만 화합물을 포함한다.

[0205]

다른 예에서, 특정한 실시예에 따라 본원에 기술된 조성물은 체장 세포내로 후대 세포의 분화를 유도하거나 향상시키는 인자를 추가로 포함한다. 예시적인 인자는 Wnt, 상피 성장 인자, 섬유모세포 성장 인자 또는 TGF β를 포함한다.

[0206]

또 다른 예에서, 특정한 실시예에 따라 본원에 기술된 조성물은 혈관 세포내로 후대 세포의 분화를 유도하거나 향상시키는 인자를 추가로 포함한다. 예시적인 인자는 혈관 내피 성장 인자(VEGF), 혈소판 기원한 성장 인자(PDGF; 예를 들면, PDGF-BB), 및 FGF를 포함한다.

[0207]

또 다른 예에서, 특정한 실시예에 따라 본원에 기술된 조성물은 조직 특이적인 위임세포(TSCC)를 추가로 포함한다. 이와 관련하여, 국제특허공보 제PCT/AU2005/001445호는 TSCC 및 STRO-1⁺ 세포의 투여가 TSCC의 향상된 증식을 초래할 수 있음을 입증한다. 하나의 예에서, TSCC는 체장 세포, 예를 들면, β 세포 또는 체장 세포, 예를 들면, 랑게르ハン스 섬의 혼합물이다. 이러한 조성물을 대상체에게 투여하면, 예를 들면, 랑게르ハン스 섬의 β 세포 생산을 증가시킬 수 있다. 또 다른 예에서, TSCC는 혈관 세포이다. 이러한 조성물을 대상체에게 투여하면, 예를 들면, 체장에서 혈관구조의 생성을 증가시킬 수 있으며, 예를 들면, 체장으로 전달되는 영양소의 증가를 초래할 수 있다.

[0209]

의학 장치

[0210]

본 발명은 또한 특정한 실시예에 따라 본원에 기술된 바와 같은 방법에서 사용하기 위한 또는 사용되는 경우의 의학 장치를 제공한다. 예를 들면, 본 발명은 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터의 가용성 인자 및/또는 본 발명의 조성물을 포함하는 주사기 또는 카테터 또는 다른 적합한 전달 장치를 제공한다. 임의로, 주사기 또는 카테터는 특정한 실시예에 따라 본원에 기술된 방법에 사용하기 위한 장치와 함께 포장된다.

[0211]

또 다른 예에서, 본 발명은 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터의 가용성 인자 및/또는 본 발명의 조성물을 포함하는 이식물(implant)을 제공한다. 임의로, 이식물은 특정한 실시예에 따라 본원에 기술된 바와 같은 방법에 사용하기 위한 지침과 함께 포장된다. 적합한 이식물은, 예를 들면, 상기의 본원에 기술

된 바와 같은 스캐폴드 및 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터의 가용성 인자와 함께 형성 된다.

[0213] 투여 방법

STRO-1⁺ 세포-유래한 상층액 또는 가용성 인자, STRO-1⁺ 세포 또는 이의 후대 세포는 외과적으로 이식되거나, 주사되거나, 전달되거나(예를 들면, 카테터 또는 주사기를 사용하여), 또는 이와는 달리 보수 또는 보강이 요구되는 부위, 예를 들면, 대상체의 췌장 또는 혈액 시스템내로 직접 또는 간접적으로 투여된다.

바람직하게는, STRO-1⁺ 세포-유래한 상층액 또는 가용성 인자, STRO-1⁺ 세포 또는 이의 후대 세포는 대상체의 혈류로 전달된다. 예를 들면, STRO-1⁺ 세포-기원한 상층액 또는 가용성 인자, STRO-1⁺ 세포 또는 이의 후대 세포는 비경구적으로 전달된다. 비경구 투여의 예시적인 경로는 복강내, 심실내, 뇌실내, 경막내를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 바람직하게는, STRO-1⁺ 세포-기원한 상층액 또는 가용성 인자, STRO-1⁺ 세포 또는 이의 후대 세포는 동맥내, 대동맥내, 심장의 심방 또는 심실내 또는 췌장으로 연결된 혈관내, 예를 들면, 복부 동맥, 상부 장간막 동맥, 췌장십이지장 동맥 또는 비장 동맥내로 전달된다. 또 다른 예에서, STRO-1⁺ 세포-기원한 상층액 또는 가용성 인자, STRO-1⁺ 세포 또는 이의 후대 세포는 대퇴 동맥 또는 복강 동맥으로 투여된다.

심장의 심방 또는 심실내로의 세포 전달의 경우에, 세포를 좌심방 또는 좌심실에 투여하여 세포가 폐로 급속히 전달되는 것으로부터 발생될 수 있는 합병증을 피하는 것이 바람직하다.

바람직하게는, STRO-1⁺ 세포-기원한 상층액 또는 가용성 인자, STRO-1⁺ 세포 또는 이의 후대 세포는, 예를 들면, 주사기를 사용하거나, 카테테르 또는 중심선(central line)을 통해 전달 부위에 주사된다.

치료학적 제형을 위한 투여 요법(administration regimen)의 선택은 실체의 혈청 또는 조직 전환률, 증상의 정도, 및 실체의 면역원성을 포함하는 여러 인자에 의존한다. 바람직하게는, 투여 섭생은 허용되는 수준의 부작용과 일치하는 환자에게 전달된 치료학적 화합물의 양을 최대화한다. 따라서, 전달된 제형의 양은 부분적으로는 특정 실체 및 치료되는 상태의 중증도에 의존한다.

하나의 예에서 STRO-1⁺ 세포-기원한 상층액 또는 가용성 인자, STRO-1⁺ 세포 또는 이의 후대 세포는 단일 거환 투여량으로 전달된다. 이와는 달리, STRO-1⁺ 세포-기원한 상층액 또는 가용성 인자, STRO-1⁺ 세포 또는 이의 후대 세포는 연속 주입에 의해, 또는 예를 들면, 1일, 1주, 또는 주당 1 내지 7회의 간격에서의 투여량으로 투여된다. 바람직한 투여량 프로토콜은 상당한 바람직하지 않은 부작용을 피하는 최대 투여량 또는 투여 횟수를 포함하는 것이다. 전체 주당 투여량은 사용되는 화합물의 유형 및 활성에 의존한다. 적절한 투여량은 예를 들면, 치료에 영향을 미치기 위해 당해 분야에서 공지되거나 예측되거나 치료에 영향을 미치는 것으로 예측된 매개변수 또는 인자를 사용하여 임상의가 결정한다. 일반적으로, 투여량은 어느 정도 최적 투여량 미만의 양으로 시작하여 이후 바람직하거나 최적 효과가 어떠한 부정적인 부작용과 관련하여 달성될 때까지 소량씩 증가하면서 증가시킨다. 중요한 진단 척도는 당뇨병의 증상들의 것을 포함한다.

췌장 기능장애의 진행을 치료하거나 지연시키는 것에 관한 본 발명의 예에 따라, STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자를 예를 들면, 당해 분야에 공지되고/되거나 본원에 기술된 표준 방법, 예를 들면, 내당뇨를 사용하여, 질환의 진단 후 투여한다.

췌장 기능장애의 발병을 예방하거나 지연시키는 것에 관한 예들의 경우, STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 기원한 가용성 인자는 질환의 임상적 진단 전, 예를 들면, 대상체가 손상된 내당뇨 및/또는 손상된 공복 당혈증으로 고생하는 경우 및/또는 T 세포 및/또는 B 세포의 집단의 확장 및/또는 자가항체의 생산(예를 들면, 췌장 β-섬 세포에 대한 세포독성 T 세포 및/또는 제1형 당뇨병의 발병 또는 진행시 하나 이상의 췌장 β-섬 세포 마커에 대한 자가 항체의 확장)에 의해 나타나는 것과 같은 자가면역 반응 전 또는 이와 동시에 제 I형 당뇨병의 경우에, 질환의 임상적 진단 전에 투여된다. 자가면역 반응의 발병을 측정하거나 예측하기 위한 방법은 숙련가에게 명확하고/하거나 본원에 기술되어 있다. 예를 들면, 췌장 β-세포의 표면으로부터 또는 표면상에서 기원한 항원에 대한 자가 항체의 검출은 대상체에 의한 상기 세포에 대한 면역 반응의 지표이다. 하나의 이러한 검정은 대상체의 혈청 속에서 섬 세포 항체를 검출한다. 당해 검정은 섬 세포를 포함하는 췌장의 단면을 피검자로부터의 혈청과 접촉시킴을 포함한다. 이후에, 췌장 β-섬 세포에 결합할 수 있는 피검자로

부터의 혈청중 면역글로불린을 사람 면역글로불린에 결합하는 제2의 표지된 항체를 사용하여 검출한다. 형광성 마커를 사용하여 섬 세포 항체를 검출하기에 적합한 방법은 예를 들면, 문헌(참조: Bottazzzo et al, Lancet 2: 1279-83, 1974)에 기술되어 있다. 이와는 달리, 또는 추가적으로, 검정을 사용하여 피검자에서 특이적인 항원에 결합하는 자가-항체를 검출한다. 예로써, 브루킹(Brooking) 등은 문헌(참조: Clin Chim Acta 331:55-59, 2003)에서 GAD65에 대한 자가 항체의 검출을 위한 ELISA 기반 검정을 기술하고 있다. 기술된 검정은 미세역가 플레이트상에서 저 농도의 GAD 항원을 사용하여 시료내 자가항체를 포획한다. 유체 상에서 바이오티닐화된 GAD는 자가항체의 제2 결합 부위에 의해 포획되며, 이는 비-동위원소 검출가능한 신호를 생산하기 위해 검출된 바이오티닐화된 GAD65이다. 문헌(참조: Nagata et al, Ann. New York Acad. Sci 1037: 10-15, 2004)에는 인슐린, IA-2 및 GAD65에 대한 자가항체의 존재를 검출하기에 유용한 ELISPOT 검증을 기술하고 있다.

[0223] 치료요법/예방을 모니터링하는 방법

[0224] 치료요법/예방을 모니터링하는 방법은 본원의 기술내용을 기초로 당해 분야의 숙련가에게 익숙할 것이다. 예를 들면, 혈당 수준 및/또는 인슐린 수준 및/또는 아밀라제 수준은 당해 분야에 공지되고/되거나 본원에 기술된 방법을 사용하여 평가한다.

[0225] 또 다른 예에서, 췌장의 시료(예를 들면, 생검)을 치료 후에 수득하여 베타 세포(예를 들면, 인슐린을 발현하는 세포) 및/또는 알파 세포(예를 들면, 글루카곤을 발현하는 세포) 및/또는 섬 및/또는 PDX-1 발현 세포의 수를, 예를 들면, 면역조직화학, 면역형광성 또는 핵산 증폭 검정, 예를 들면, 종합효소 연쇄 반응(PCR)을 사용하여 수득한다. 이러한 검정은 본원에 기술되어 있다.

발명의 효과

[0227] 본 발명은 췌장 기능을 개선시킬 필요가 있는 대상체에게 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 후대 세포 및/또는 이로부터 유래한 가용성 인자를 투여함을 포함하여, 상기 대상체에서 췌장 기능을 개선시키는 방법을 제공한다. 본 발명의 방법은 예를 들면, 췌장의 비정상적인 내분비 또는 외분비 기능으로부터 초래되는 췌장 기능장애로부터 생성되거나 이와 관련된 질환의 발병 또는 진행을 치료하고/하거나 예방하고/하거나 지연시키는데 유용하다.

도면의 간단한 설명

[0229] 도 1은 STZ-유도된 당뇨병 NOD/scid 마우스에서 혈당 수준(BGL)에 있어 STRO-1⁺ 세포의 효과를 나타내는 도식이다. 혈당 수준은 STZ 치료요법(화살표) 후 10일 째에 좌심실(CM)내에서 STRO-1+ 세포 또는 비히클(CV)을 투여한 당뇨병 마우스에서 측정하였다. 혈당 값은 평균 당(mM) +/-SE이다. 스튜던트 T-시험(student's t-test)을 p<0.05에서의 유의성으로 수행하였다.

도 2는 STZ 치료 후 10일 째에 기본선과 비교하여 치료 후 7, 14 및 21일째에 STZ-유도된 당뇨병 NOD/scid 마우스에서 혈당 수준에 있어 STRO-1⁺ 세포의 효과를 나타내는 도식이다. 혈당 수준은 좌심실내에 비히클(CV) 또는 STRO-1+ 세포(CM)을 투여한 당뇨병 마우스에서 측정하였다. 결과는 10일째에 세포 치료요법의 개시에 비해 BGL에 있어서 변화율(%)로 나타낸다. 스튜던트 t-시험을 p<0.05에서의 유의성으로 수행하였다.

도 3은 세포 치료요법 투여 후 21일째에 STZ-유도된 당뇨병 NOD/scid 마우스에서 인슐린 수준에 있어서 STRO-1⁺ 세포의 효과를 나타내는 도식이다. 혈청 마우스 인슐린 수준은 좌심실에 비히클(CV) 또는 STRO-1⁺ 세포 (CM)를 주사한 당뇨병 마우스에서 측정하였다. 마우스 인슐린 값은 $\mu\text{g/L}$ +/-SE로 나타낸다. 스튜던트 t-시험을 p<0.05에서의 유의성으로 수행하였다.

도 4a는 세포 치료요법 투여 후 21일째에 STZ-유도된 당뇨병 NOD/scid 마우스에서 췌장 미세혈관 밀도에 있어서 동맥내 STRO-1⁺ 세포의 효과를 나타내는 도식이다. 항-평활근 액틴(SMA) 염색된 미세혈관의 총 수는 췌장 단면의 횡단면 부위당 크기 분포를 기준으로 측정하였다. 데이터는 평균 +/- sem으로 나타내고; 비히클 그룹의 수 N = 8이며, STRO-1 치료요법의 수는 N = 6마리 동물이다. 스튜던트 T-시험을 p<0.05에서의 유의성으로 수행하였다.

도 4b는 STRO-1 세포로 처리된 마우스의 췌장 조직에서 다양한 직경의 마우스 항-평활근 액틴 IgG2a-FITC 염색된 미세혈관을 나타내는 현미경사진(200x)의 사본이다.

도 5a는 세포 치료요법 투여 후 21일째에 STZ-유도된 당뇨병 NOD/scid 마우스에서 췌장 mRNA 프로파일에 있어

동맥내 STRO-1⁺ 세포의 효과를 나타내는 도식이다. RNA는 비히클(CV) 및 STRO-1 치료요법(CM) 그룹의 췌장 조직으로부터 추출하고, 역-전사시키고 베타-세포 재생과 관련된 전사 인자에 대해 PCR 증폭시켰다: Mafa, Ngn3, Pdx-1. 총 RNA 성분을 하우스-키핑(house-keeping) 유전자 베타-액틴과 관련하여 표준화하였다. 데이터는 평균 +/- sem을 나타내고; 비히클 그룹의 수 N = 8이며, STRO-1 치료요법의 수는 N = 6마리 동물이다. 스튜던트 T-시험을 p<0.05에서의 유의성으로 수행하였다.

도 5b는 세포 치료요법 투여후 21일째에 STZ-유도된 당뇨병 NOD/scid 마우스에서 PDX-1 양성 세포에 있어 동맥내 STRO-1⁺ 세포의 효과를 나타내는 도식이다. 항-PDX-1 염색된 췌장 조직을 섬 부위 mm²당 PDX-1 양성 세포에 대해 분석하였다. 데이터는 평균 +/- sem을 나타내고; 비히클 그룹의 수 N = 8이며, STRO-1 치료요법의 수는 N = 6마리 동물이고, 처리되지 않은 대조군(STZ 부재)의 수 N = 3마리 동물이다. 스튜던트 T-시험을 p<0.05에서의 유의성으로 수행하였다.

도 5c는 마우스 항-PDX-1(IgG2b)로 염색하고 염소 항-마우스 IgG2b-Alexa 555 접합체로 검출한 항원-회수된 포르말린-고정된 파라핀 봉매된 단면(antigen-retrieved formalin-fixed paraffin embedded section)을 나타내는 일련의 현미경사진(400x)의 일련의 사본이다.

도 6a는 세포 치료요법 21일 후 STZ-유도된 당뇨병 NOD/scid 마우스내 췌장 섬 특징에 있어 동맥내 STRO-1⁺ 세포의 효과를 나타내는 도식이다. H&E 염색된 췌장 조직을 섬 밀도에 대해 분석하고, 이를 실현한 단면 부위와 관련하여 표준화하였다. 데이터는 평균 +/- sem을 나타내고; 비히클 그룹의 수 N = 8이며, STRO-1 치료요법의 수는 N = 6마리 동물이다. 스튜던트 T-시험을 p<0.05에서의 유의성으로 수행하였다.

도 6b는 세포 치료요법 21일 후 STZ-유도된 당뇨병 NOD/scid 마우스내 췌장 섬 특징에 있어서 동맥내 STRO-1⁺ 세포의 효과를 나타내는 도식이다. H&E 염색된 췌장 조직을 평균 섬 직경에 대해 분석하고, 이를 실현한 단면 부위와 관련하여 표준화하였다. 데이터는 평균 +/- sem을 나타내고; 비히클 그룹의 수 N = 8이며, STRO-1 치료요법의 수는 N = 6마리 동물이다.

도 6c는 세포 치료요법 21일 후 STZ-유도된 당뇨병 NOD/scid 마우스내 췌장 섬 특징에 있어서 동맥내 STRO-1⁺ 세포의 효과를 나타내는 도식이다. H&E 염색된 췌장 조직을 평균 섬 부위에 대해 분석하고, 이를 실현한 단면 적과 관련하여 표준화하였다. 데이터는 평균 +/- sem을 나타내고; 비히클 그룹의 수 N = 8이며, STRO-1 치료요법의 수는 N = 6마리 동물이다.

도 7a는 세포 치료요법 21일 후 STZ-유도된 당뇨병 NOD/scid 마우스내 섬 특징에 있어서 동맥내 STRO-1⁺ 세포의 효과를 나타내는 도식이다. 항-인슐린 염색된 췌장 조직을 섬 부위 mm²당 인슐린 양성 세포에 대해 분석하였다. 데이터는 평균 +/- sem을 나타내고; 비히클 그룹의 수 N = 8이며, STRO-1 치료요법의 수는 N = 6마리 동물이며 처리되지 않은 대조군(STZ 부재)의 수 N = 3 동물이다. 스튜던트 T-시험을 p<0.05에서의 유의성으로 수행하였다.

도 7b는 기니아 피그 항-인슐린으로 염색하고 항-기니아-피그 IgG-로다민 접합체로 검출한 항원-회수된 포르말린-고정된 파라핀 봉매된 단면을 나타내는 일련의 현미경사진(200x)의 사본이다.

도 7c는 세포 치료요법 21일 후 STZ-유도된 당뇨병 NOD/scid 마우스내 섬 특성에 있어서 동맥내 STRO-1⁺ 세포의 효과를 나타내는 도식이다. 항-글루카곤 염색된 췌장 조직을 섬 부위 mm²당 글루카곤 양성 세포에 대해 분석하였다. 데이터는 평균 +/- sem을 나타내고; 비히클 그룹의 수 N = 8이며, STRO-1 치료요법의 수는 N = 6마리 동물이며 처리되지 않은 대조군(STZ 부재)의 수 N = 3 동물이다. 스튜던트 T-시험을 p<0.05에서의 유의성으로 수행하였다.

도 7d는 마우스 항-글루카곤으로 염색하고 염소 항-마우스 IgG-FITC 접합체로 검출한 항원-회수된 포르말린-고정된 파라핀 봉매된 단면을 나타내는 일련의 현미경사진(200x)의 사본이다.

도 7e는 총 알파 + 베타 세포의 비율로서 섬 베타 세포내 수를 나타내는 도식이다. 나타낸 데이터는 인슐린-양성 세포의 수/섬 부위 mm²로부터 계산하였다. 데이터는 평균 +/- sem을 나타내고; 비히클 그룹의 수 N = 8이며, STRO-1 치료요법의 수는 N = 6마리 동물이며 처리되지 않은 대조군(STZ 부재)의 수 N = 3 동물이다. 스튜던트 T-시험을 p<0.05에서의 유의성으로 수행하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0230] 본 발명을 다음 비-제한적인 실시예에서 추가로 기술한다.
- [0232] **실시예 1: STRO-1⁺ 세포를 가진 당뇨병 마우스의 치료**
- [0233] 1.1 물질 및 방법
- [0234] 마우스에서 스트렙토조토신 (STZ)-유도된 당뇨병
- [0235] 7 내지 8주령의 수컷 면역결핍성 NOD/scid 마우스[NOD.CB17-Prkdc^{scid}/J; 공급원: 애니멀 리서치 센터(Animal Research Centre), 오스트레일리아 퍼쓰(Perth) 소재]에게 35 mg/kg의 베타-세포 독소, 스트렙토조토신(STZ; 제조원: 시그마-알드리히, 매릴랜드 세인트 루이스 소재)으로 4시간 아침 공복 후 1 내지 4일째에 매일 복강내 (i.p.) 주사하였다. STZ를 pH 4.5의 시트르산나트륨 완충액 속에 용해하고, 제조한지 15분내에 주사하였다. 마우스를 멸균 조건하에 유지시켰다.
- [0237] 세포 및 치료 그룹의 주입
- [0238] 기탁된 골수 세포로부터의 면역자기적으로 선택된 사람 STRO-1⁺ 기질 세포를 문현(참조: Gronthos and Zannettino (Methods Mol Biol. 449:45-57, 2008)에 기술되고 제조업자[안지오블라스트 시스템스(Angioblast Systems), 미국 소재]로부터 수득한 바와 같이 필수적으로 확장시켰다. 4회 계대접종 후, ProFreezeTM-CDM[제조원: 론자(Lonza), 미국 소재] 속에 동결보존시킨 STRO-1⁺ 기질 세포를 해동시키고 즉시 주사하기 위해 마우스 당 200μl의 비히를 속에 구성하였다. 10일 째에, STZ 치료 후, NOD/scid 마우스에게 단일 투여량의 세포를 마취된 마우스의 좌 심실(동맥 경로)내로 흉벽을 통해 주사하였다. 대조군 마우스에게는 200μl의 비히를(7.5% DMSO 및 알파-MEM을 함유하는 ProFreezeTM-CDM)을 동맥 또는 정맥 경로를 통해 주사하였다.
- [0240] 혈당 및 인슐린에 대한 검정
- [0241] 혈당을 4시간 아침 공복 후에 혈당계[Optimum XceedTM 당뇨병 모니터링 시스템; 제조원: 애보트 다이아그노스틱스(Abbott Diagnostics), 오스트레일리아 빅토리아 소재]를 사용하여 꼬리-정맥 혈액 속에서 검정하였다. 혈액 인슐린을 마취된 마우스의 심장내 천자에 의해 수득된 혈액에서 검정한 후 이를 마우스-특이적인 ELISA 키트 [제조원: 울트라센시티브 마우스 인슐린 ELISA 메르코디아(Ultrasensitive Mouse Insulin ELISA Mercodia), 스웨덴 업살라 소재]를 사용하여 32일째에 사멸시켰다.
- [0243] 조직 시료의 제조
- [0244] 동물을 경추 탈구로 희생시키고 췌장을 제거하고 대칭적으로 해부하여 1/2은 10% 중성 포르말린 속에 고정시키고 나머지는 조직-텍 OCT 화합물(Tissue-Tek OCT Compound)[제조원: 사쿠라 피네테크(Sakura Finetek), 캘리포니아 토란스 소재] 속에 봉매하고 드라이아이스 상에서 동결시키고 -70°C에서 저장하였다. 췌장을 당해 연구에서 대부분의 분석을 위해 세부적으로 사용한 반면, 폐, 간, 심장, 비장, 위, 장/맹장, 방광, 고환 및 뇌와 같은 기타 조직은 조직병리학을 위해 수집하였다.
- [0246] 췌장 조직의 조직학 및 면역형광성 염색
- [0247] 췌장의 조직학을 위해 포르말린-고정된 파라핀 봉매된(FFPE) 단면은 헤마톡실린 및 에오신(H&E)으로 염색하였다. 유리 현미경 슬라이드상에 옮겨놓은 FFPE 조직 단면(5μm)을 탈파라핀 처리하고 가압 쿠커 속에서 시트레이트 완충액 속에서 가열함으로써 항원을 회복시켰다. 항원 회복 후, 단면을 10% 정상 염소 혈청을 사용하여 2시간 동안 차단하고, 앞서 시험하여 항원 회복 조직: 기니아-피그 항-인슐린[1:100; 제조원: 밀리포어(Millipore), 미국 소재], 마우스 항-글루카곤(10μg/ml; 클론 K79bB10; AbCAM), 마우스 항-PDX-1 [10μg/ml; 클론 267712; 제조원: 알 앤드 디 시스템스(R&D Systems)]내에서 마우스-특이적인 분자를 검출하기 위해 입증된 다음 항체를 사용하여 면역형광성 검출에 사용하였다. 2시간의 원시 항체 항온처리 단계 후, 슬라이드를 5분 동안 0.1% 정상의 염소 혈청/PBS로 세척하고 종-특이적인 제2 항체(1:400; 염소 항-마우스 알렉사 플루오르(Alexa Fluor 555); 분자 프로브(Molecular Probe) 또는 염소-항-기니아-피그 로다민; 제조원: 잭슨 래보러토리즈(Jackson Laboratories) 또는 염소 항-마우스 IgG1-FITC; AbCAM]과 함께 실온에서 추가로 90분 동안 항온 처리하였다. 대조군은 주요 항체를 생략하는 것을 포함하였다. 췌장 조직내 평활근 액틴(SMA)의 염색을 마우

스 항-SMA-FITC mAb (2 mg/ml; 클론 1A4; AbCAM)을 사용하여 직접적인 면역형광성으로 수행하였다.

[0249] 면역염색의 평가

[0250] 슬라이드는 짜이스 관측기(Zeiss Observer) Z1 현미경(독일)에서 관찰하였으며, 상(image)은 악시오캠(AxioCam) MRm을 사용하여 사진을 촬영하였다. H&E 또는, 인슐린, 글루카곤, PDX-1 및 SMA에 대한 항체로 염색한 췌장 단면의 상을 포착하여 검출된 형광성 프로브를 악시오 버전(Axio Vision) Rel 4.7 소프트웨어로 분석하였다. 각각의 실험 동물로부터 각각 5 mm의 H&E 단편을 사용하여 섬의 총 수를 계수하고 섬 크기(면적 및 직경 측정)에 대해 분석하고 상 분석에 의해 측정된 각각의 총 단면적에 대해 표준화하였다. 또한, 항-인슐린, 글루카곤 또는 PDX-1 항체로 염색된 5 μ m FFPE 단면으로 회복된 각각의 항원을 양성적으로 염색된 세포의 총 수에 대해 계수하고 각각 측정된 총 단면적 또는 총 섬 면역에 대해 표준화하였다. 다양한 직경의 췌장 미세혈관의 분포를 계수하고 상 분석에 의해 측정하여 시험한 이들 각각의 단면적에 대해 표준화하였다. 모든 상을 20 내지 40x의 대물렌즈 확대로 분석하였다.

[0252] 반-정량적 RT-PCR에 의한 RNA 분석

[0253] 실험 그룹의 췌장으로부터의 RNA 시료를 각각의 동결시킨 조직으로부터 총 100mm의 단면으로부터 트리졸 시약 속에서 추출하였다. 트리졸 조직 추출물을 일리스트라 RNAspin 미니 RNA 분리 키트(illustra RNAspin Mini RNA Isolation Kit)[제조원: 지이 헬쓰케어(GE Healthcare), 영국 소재]를 사용하여 RNA에 대해 정제하였다. 총 RNA를 분광광도계적으로 정량화하고 1 μ g을 올리고-dT(pdT₁₂₋₁₈) 및 MMLV 역(reverse) 트랜스크립타제를 사용하여 역-전사시켰다. cDNA 시료를 Tth Plus DNA 폴리머라제[제조원: 로슈 어플라이드 사이언스(Roche Applied Science)]를 사용하는 MafA, Ngn3, 및 Pdx-1에 대한 쥐 유전자에 대한 프라이머를 사용하여 표 1에 명시한 증폭 조건하에 PCR 증폭시켰다. 베타-액틴 유전자를 사용하여 표적 유전자 발현을 표준화하였다. PCR 생성물을 코닥(Kodak) ID 3.5 소프트웨어를 사용하여 UV-조명하에 가시화된 밴드의 농도계 분석(densitometric analysis)으로 정량화하였다.

표 1

PCR 증폭

유전자	생성물 bp	주기 조건	주기
액틴	238	94°C 1분/55°C 30초/72°C 30초	28
NGN3	347	94°C 1분/55°C 30초/72°C 30초	45
MafA	393	94°C 1분/58°C 30초/72°C 30초	45
PDX-1	243	94°C 1분/55°C 30초/72°C 30초	30

[0255] 통계적 분석스튜던트 T-시험을 P 값을 위해 사용하였다.

[0257] 1.2 결과

[0258] NOD/scid 마우스에서 스트렙토조토신-유도된 고혈당증

[0259] 고혈당증을 NOD/scid 마우스에서 STZ 35 mg/kg/일을 4회 매일 복강내 주사하여 유도시켰다. 연구 1일째에, 즉, 첫번째 STZ 주사 전에, 동물의 전체 그룹(N = 80)에 대한 평균 공복 혈당 수준(BGL)은 7 mM +/- 1.5 표준 편차 (SD)이었다. 동물이 연구 10일째(즉, STZ 과정의 완료 후 5일째)에 치료하지 않은 마우스에서 평균 혈당 수준 초과의 3SD(standard deviation)보다 큰 BGL(blood glucose level)을 가진 경우 고혈당증으로 발전하는 것으로 고려하였다. 후속적으로 본 기준에 따른 고혈당증을 달성하지 않은 마우스는 모든 분석으로부터 제외시켰다. 10일 째에 고혈당증에 대한 상기 기준을 충족한 29마리의 마우스가 존재하였다. 이를 마우스에서, 10일째에 평균 BGL은 상기 기준선의 217% 초과로 증가된, 15.2 mM +/- 0.6이었다.

[0261] 당뇨병 NOD/scid 마우스에서 혈당 수준에서 STRO-1⁺ 기질 세포의 동맥내 주사의 효과

- [0262] 도 1에 나타낸 바와 같이, 단일 투여량의 2.5×10^6 STRO-1⁺ 세포를 저혈당증 마우스내로 동맥내 경로로 주사하여 세포 치료요법 이후에 3주 전체 동안 BGL을 감소시켰다.
- [0263] 도 1은, STRO-1⁺ 세포의 단일 동맥내 주사가 비히클 단독의 동맥내 주사와 비교하여 당뇨병 마우스에서 BGL의 조기 감소를 유도하였음을 나타낸다. BGL에 있어서의 감소는 17일째로서 조기에 명백해지며, 24일째에 최대 (35% 평균 감소, 평균 BGL 12.7 mM +/- 1.2 대 19.6 mM +/- 2.1; p=0.012)가 되며, 이후 3주 전체에서 지속되었다.
- [0265] STRO-1⁺ 세포의 단일 동맥내 주사는 기준 선에 대해 혈당 수준에 있어서 조기 및 지속적인 감소를 초래한다.
- [0266] STRO-1⁺ 세포의 단일 동맥내 주사를 제공받은 STZ 처리된 마우스는 이후 3주 전체를 통해 10일째 기준선 수준에 비해 평균 BGL에 있어서의 지속적인 감소를 입증하였다. 도 2에 나타낸 바와 같이, 이러한 동물의 그룹은 전체 연구 기간 전반에서 예비-치료요법 수준 이하의 평균 BGL을 가진 반면, 매질-처리된 대조군은 점진적으로 증가된 BGL 수준을 입증하였다. STZ 치료 후 10일째에 STRO-1⁺ 세포의 동맥내 주사를 제공받은 그룹은 7, 14, 및 21일째에 기준선 BGL과 비교하여 각각 -11%, -14%, 및 -4%의 평균 BGL 감소를 입증하였다. 대조적으로, 동맥내 매질만을 제공받은 대조군 그룹은 7, 4 및 21일째의 기본선 BGL과 비교하여 각각 +8%, +20%, 및 +17%의 평균 BGL 증가를 입증하였다.
- [0268] 당뇨병 NOD/scid 마우스에서 사람 STRO-1⁺ 세포의 단일 동맥내 주사는 3주 후 마우스 인슐린의 상당히 증가된 순화 수준을 초래한다.
- [0269] 도 3에 나타낸 바와 같이, 마우스-특이적인 인슐린 ELISA에 의해 치료한 후 21일 째에 측정한 순환하는 혈청 인슐린 수준은, STRO-1⁺ 세포를 3주 먼저 동맥내 주사한 당뇨병 마우스가 비히클-치료한 당뇨병 마우스와 비교하여 상당히 더 높은 순환하는 내인성 인슐린 수준을 가졌음을 입증하였다(0.79 mg/L +/- 0.11 대 0.57 mg/L +/- 0.02; p=0.009).
- [0271] STRO-1⁺ 세포의 단일 동맥내 주사는 당뇨병 NOD/scid 마우스에서 증가된 췌장 미세혈관 밀도를 초래한다.
- [0272] 췌장 조직을 평활근 마우스 액틴 단백질에 대해 직접 접합시킨 단일클론 항체(mAb)로 염색하여 STRO-1⁺ 세포 치료요법이 손상된 췌장내 동맥생성을 유도하는지를 측정하였다. 면역염색 후, 전체 단면을 스캐닝하고, 미세혈관의 총 수를 계수하고 총 단면적에 대해 표준화하였다. 혈관 수를 계수하고 <20 μ m, 20 내지 100 μ m 및 >100 μ m의 3개의 명확한 혈관 직경으로 크기 기준으로 분류하였다. 도 4는, 비히클 그룹과 비교하여 STRO-1⁺ 세포 치료요법 그룹에서 직경이 <20 μ m인 평활근 액틴 양성 미세혈관의 수가 176% 증가되었음을 나타낸다(299.8 +/- 52 대 169.1 +/- 18.5; p=0.01). 따라서, STRO-1⁺ 세포를 사용한 치료요법은 손상된 췌장내 소 동맥혈관경 반응을 유도한다.
- [0274] STRO-1⁺ 세포의 단일 동맥내 주사는 당뇨병 NOD/scid 마우스에서 PDX-1 전사 인자의 증가된 췌장 발현을 초래한다.
- [0275] 사람 STRO-1⁺ 세포 치료요법이 당뇨병 NOD/scid 마우스의 내인성 베타 세포에 있어서 재생성 반응을 유도할 수 있었는지를 평가하기 위해, 췌장 발달 및 베타 세포 생성(참조: Zhou et al., Nature 455:627-632, 2008)과 관련된 PDX-1, MafA, 및 Ngn3 전사 인자의 mRNA 발현 수준을 시험하였다. 도 5A에 나타낸 바와 같이, 비히클 그룹과 비교하여 STRO-1⁺ 세포 치료요법 그룹에서 전사 인자 PDX-1에 대한 평균 췌장 mRNA 수준에 있어서 2.5배 증가되었다(p=0.01). 증가는 또한 전사 인자 MafA 및 Ngn3에 대한 췌장 mRNA 수준에 있어서의 증가가 또한 주목되었지만, 이들은 상당한 증가에 도달하지는 않았다.
- [0276] PDX 전사 인자의 증가된 단백질 수준이 STRO-1⁺ 세포 치료요법에 노출된 췌장 섬에 의해 발현되었다는 것을 확인하기 위해, 건강한 비-당뇨병 NOD/scid 마우스, 대조군 매질로 처리된 당뇨병 NOD/scid 마우스, 및 동맥내 STRO-1⁺ 세포로 처리된 당뇨병 NOD/scid 마우스로부터의 섬 단면을 항-PDX-1 mAb를 사용하여 면역조직화학적으로 시험하였다. 도 5B에 나타낸 바와 같이, 스트렙토조토신 치료는 건강한 비-당뇨병 마우스와 비교하여 PDX-1 단백질 양성인 섬 세포의 평균 수에 있어서 59% 감소를 초래하였다(37.1 +/- 12 평균 양성 세포/섬 대 15.1 +/-

4.8 평균 양성 세포/섬, $p=0.03$). 대조군 매질을 제공받은 스트렙토조토신-처리된 동물과 비교하여, STRO-1⁺ 세포의 동맥내 주사는 PDX-1 단백질 양성인 섬 세포의 수를 평균 71% ($25.7 +/- 2.2$ 평균 양성 세포/섬, $p=0.049$)까지 증가시켰으며, 단지 31%($p=NS$)인 비-당뇨병 동물과 비교하여 PDX-1 단백질 양성 세포에 있어서 평균 감소를 초래하였다. 도 5C에서 형광성 현미경 사진은 비-당뇨병이거나 또는, 당뇨병이고 STRO-1⁺ 세포로 처리한 대표적인 NOD/scid 동물로부터의 췌장 섬이 유사한 수의 PDX-1-양성 세포를 입증하였음을 나타낸다. 대조적으로, 당뇨병이 있으며 대조군 매질을 제공받은 대표적인 NOD/scid 동물로부터의 췌장 섬은 PDX-1 단백질-양성인 세포의 현저히 감소된 수를 입증한다.

[0278] STRO-1⁺세포의 단일 동맥내 주사는 증가된 수의 췌장 섬을 초래한다.

[0279] 총 췌장 섬의 수에 있어서 STRO-1⁺ 세포를 사용한 치료의 효과를 또한 평가하였다. 도 6A에 나타낸 바와 같이, 3주 일찍 STRO-1⁺ 세포를 단일 동맥내 주사로 제공받은 동물은 희생시 매질만을 주사한 대조군과 비교하여 췌장 섬의 2배 초과의 더 큰 수를 입증하였다($0.78 +/- 0.07$ 대 $0.38 +/- 0.07$ 섬/mm², $p=0.0012$). 총 섬 수에 있어서의 증가 외에, 치료 그룹들 사이에 평균 섬 직경 또는 섬 면적에 있어서 상당한 변화는 관측되지 않았다(참조: 도 6B 및 6C).

[0281] STRO-1⁺세포의 단일 동맥내 주사는 증가된 수의 내인성 베타 세포, 알파 세포에 있어서의 감소, 및 당뇨병 NOD/scid 마우스내의 정상 베타/알파 세포 비의 재-획립을 초래한다.

[0282] 항-마우스 인슐린 mAb 염색을 사용하여 건강한 비-당뇨병 NOD/scid 마우스, 대조군 매질로 처리한 당뇨병 NOD/scid 마우스, 및 STRO-1⁺ 세포로 동맥내 처리한 당뇨병 NOD/scid 마우스의 수를 정량화하였다. 도 7A에 나타낸 바와 같이, 스트렙토조토신 치료는 건강한 비-당뇨병 마우스와 비교하여 섬내에서 베타 세포 수에 있어 21% 감소를 초래하였다($6726 +/- 450/\text{mm}^2$ 섬 면적 대 $5289 +/- 387/\text{mm}^2$, $p=0.04$). 대조군을 제공받은 스트렙토조토신-처리된 동물과 비교하여, STRO-1⁺ 세포의 동맥내 주사는 베타 세포 수를 평균 8%($5709 +/- 690/\text{mm}^2$) 증가시켰으며, 단지 15%($p=NS$)인 비-당뇨병 동물과 비교하여 베타 세포에 있어 평균 감소를 초래한다. 도 B에서 형광 현미경사진에서, 각각의 비-당뇨병 대조군 동물의 섬내 베타 세포는 섬의 중심 부위내 전형적으로 조밀하게 패킹된 인슐린-양성 형광성 세포의 국재화를 입증한다. 그러나, 대표적인 STZ-처리된 마우스에서, 베타 세포는 섬내에서 거의 풍부하지 않고 파괴된 패턴을 나타낸다. STRO-1⁺ 세포로 처리한 대표적인 마우스에서 베타 세포는 더 풍부하고 덜 파괴된 형광성의 중간 패턴을 입증한다.

[0283] 항-글루카곤 mAb 염색을 사용하여 건강한 비-당뇨병 NOD/scid 마우스, 대조군 매질로 처리한 당뇨병 NOD/scid 마우스, 및 STRO-1⁺ 세포로 동맥내 처리한 당뇨병 NOD/scid 마우스의 췌장 단면에서 섬내 알파 세포의 수를 정량화하였다. 도 7C에 나타낸 바와 같이, 스트렙토조토신 치료는 건강한 비-당뇨병 마우스와 비교하여 섬내 알파 세포 수에 있어 470% 증가를 초래하였다($1046 +/- 46/\text{mm}^2$ 섬 부위 대 $4954 +/- 632/\text{mm}^2$, $p=0.003$). 대조군 매질을 제공받은 스트렙토조토신-처리된 동물과 비교하여, STRO-1⁺ 세포의 동맥내 주사는 알파 세포 수를 평균 44%($2764 +/- 274/\text{mm}^2$, $p=0.008$) 감소시켰으며, 단지 164%($p=0.002$)인 비-당뇨병 동물과 비교하여 알파 세포에서 평균 증가를 초래하였다. 도 7D에 나타낸 형광 현미경 사진에서, 대표적인 비-당뇨병 대조군 동물의 정상 섬내 알파 세포는 정돈된 주변에 배열된 글루카곤-염색된 세포로서 확인될 수 있다. 그러나, 대표적인 STZ-처리된 마우스에서, 알파 세포는 더 풍부하고 섬 전체에 확산 패턴을 나타낸다. STRO-1⁺ 세포로 처리된 대표적인 마우스의 섬내 알파 세포는 보다 말초적인 형광성 패턴을 입증하고 섬의 중심 전체에 걸쳐서 덜 풍부하였다.

[0284] 도 7E는 건강한 비-당뇨병 NOD/scid 마우스, 대조군 매질로 처리한 당뇨병 NOD/scid 마우스, 및 STRO-1⁺ 세포로 동맥내 처리한 당뇨병 NOD/scid 마우스내 알파 세포에 대한 베타 세포의 비를 묘사한다. 스트렙토조신 처리는 건강한 비-당뇨병 마우스와 비교하여 섬내 총 알파 및 베타 세포에 대한 베타 세포 수의 비율에 있어 40% 감소를 초래하였다($86 +/- 0.9\%$ 대 $52 +/- 2.6\%$, $p=0.00002$). 대조군 매질을 제공받은 스트렙토조토신-처리된 동물과 비교하여, STRO-1⁺ 세포의 동맥내 주사는 알파 세포에 대한 베타 세포 비율을 평균 29%($52 +/- 2.6\%$ 대 $67 +/- 3.9\%$, $p=0.005$)까지 증가시켰다. 따라서, 스트렙토조토신에 의해 당뇨병이 된 NOD/scid 마우스의 STRO-1⁺

세포 치료는 췌장섬내 알파 세포에 대한 베타 세포의 보다 정상적인 비를 재-획립하였다.

[0286] 논의

[0287] 본 연구는, 단일 투여량의 사람 STRO-1⁺ 세포가 스트렙토조토신에 의해 당뇨병으로 된 NOD/scid 마우스에서 지속적인 베타 세포 재생을 유도하고 저혈당증을 회복하는데 효과적이었다. 당뇨병의 스트렙토조토신(STZ)-유도된 실험 모델은 인슐린-생성 베타 세포의 감소된 수, 증가된 글루카곤-생산 알파 세포, 및 GLUT2 mRNA 및 단백질 발현에 있어서의 감소와 함께, PDX-1 유전자 녹다운 이후 관측된 것과 유사한 당뇨병 표현형을 초래한다(참조: Liu et al., Mol Ther 15:86-93, 2007; and Wang et al., Diabetes 47:50-6, 1998). 단일 투여량의 STRO-1⁺ 세포는 지속적인 PDX-1 활성화, 증가된 내인성 베타 세포 수, 글루카곤-발현 알파 세포에 있어서의 감소 및 향상된 인슐린 생산을 초래하였다.

[0288] 단일 투여량의 STRO-1⁺ 세포 이후 STZ-처리된 NOD/scid 당뇨병 마우스에서 PDX-1 발현에 있어서 지속적인 유도 및, 췌장 베타와 알파 세포 사이의 재-획립된 항상성은 동일한 쥐 모델에서 글루카곤-유사 펩티드-1(GLP-1)의 장기간 과발현을 유도시키기 위한 유전자 치료요법의 투여 후 보고된 특징(참조: Liu et al., Mol Ther 15:86-93, 2007)과 매우 유사한 특징이다. GLP-1은 췌장으로 이동하여, PDX-1 및 GLUT2를 활성화시키고 증가된 인슐린 분비를 초래하는 위-기원한 펩티드이다. 이의 발견은 베타 세포에서 증가된 GLP-1 활성을 초래하는 2개의 새로운 부류의 제제: (a) 장기간 작용하는 수용체 효능제이거나 GLP-1, 디펩티딜 펩티다제 IV(DPPIV)의 천연 길항제에 의한 분해에 대해 내성인 GPP-1 유사체, 및 (2) 증가된 내인성 GLP-1 활성을 초래하는 경구-활성인 DPPIV 길항제의 개발을 가져온다.

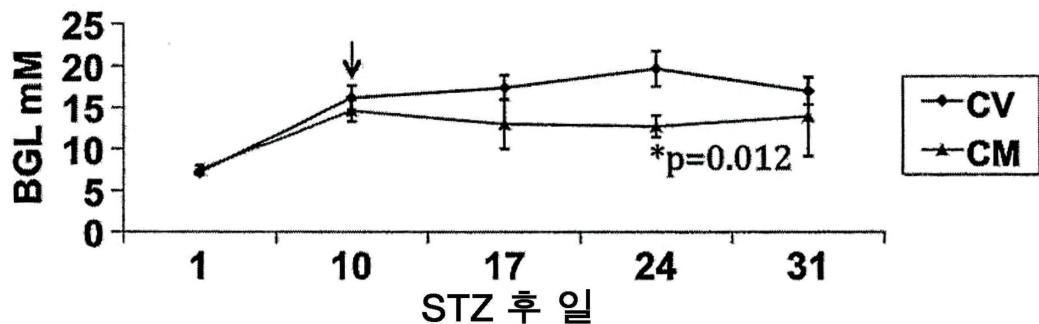
[0289] 그러나, 이들 제제의 임상적 용도는 온화한 형태의 제Ⅱ형 당뇨병의 치료에 한정되어 왔다. 이들의 비교적 짧은 반감기, 빈번한 투여 요구도, 및 심각한 베타 세포 손실의 경우에 효능의 상대적인 결핍은 제1형 당뇨병 또는 다른 인슐린-의존성 환자에 대한 인슐린-예비 제제(insulin-sparing agent)로서의 이들의 용도를 배제시켜 왔다. 실제로, DPPIV 길항제는 증가하는 내인성 GLP-1 수준에도 불구하고 STZ-처리된 마우스에서 확립된 당뇨병을 회복시킬 수 없으며(참조: Kim et al., Diabetes 50:1562-1570, 2001), 저-투여량의 STZ 및 부분적인 베타 세포 손실과 함께 수반되는 지속적인 투여의 셋팅시 저혈당증을 단지 개선시킬 수 있다(참조: Muet al., Diabetes 55:1695-1704, 2006). 유사하게, GLP-1 효능제는 STZ 전 또는 이와 함께 제공되는 경우에 단지 효과적이며 지속적인 투여를 필요로 한다(참조: Tourrell et al., Diabetes 50:1562-1570, 2001; Li et al., J Biol Chem 278:471-478, 2003; Gezginci-Oktayoglu and Bolkent, Biochem Cell Biol 87:641-651, 2009). 이와 함께, 이들 데이터는, DPPIV 억제제 및 GLP-1 유사체가 상당한 베타 세포 덩어리가 여전히 존재하는 경우에 베타 세포 재생을 촉진하는데 단지 효과적임을 제안한다.

[0290] 대조적으로, 본 연구는, 심지어 STRO-1⁺ 세포의 단일 주사가 베타 세포 덩어리가 여전히 거의 존재하지 않는 경우에도 지속적인 베타 세포 재생을 유도할 수 있음을 제안한다. 이는 완전한 베타 세포 손실의 모델인, 고 투여량의 STZ의 과정 후 5일째에 투여하는 경우 확립된 저혈당증을 회복시키는 세포의 능력에 의해 입증된다. 유사한 결과가 유전자 치료요법을 사용한 GLP-1의 지속된 과발현에 의해 단지 달성될 수 있다(참조: Liu et al., Mol Ther 15:86-93, 2007). STRO-1⁺ 치료요법의 장기-지속되는 강력한 효과는, 이러한 유형의 세포 치료요법이 DPPIV 억제제 또는 GLP-1 유사체가 할 수 없는 인슐린-의존성 당뇨병에서 지속적인 당 조절 및 인슐린-예비 효과를 제공할 수 있음을 나타낸다.

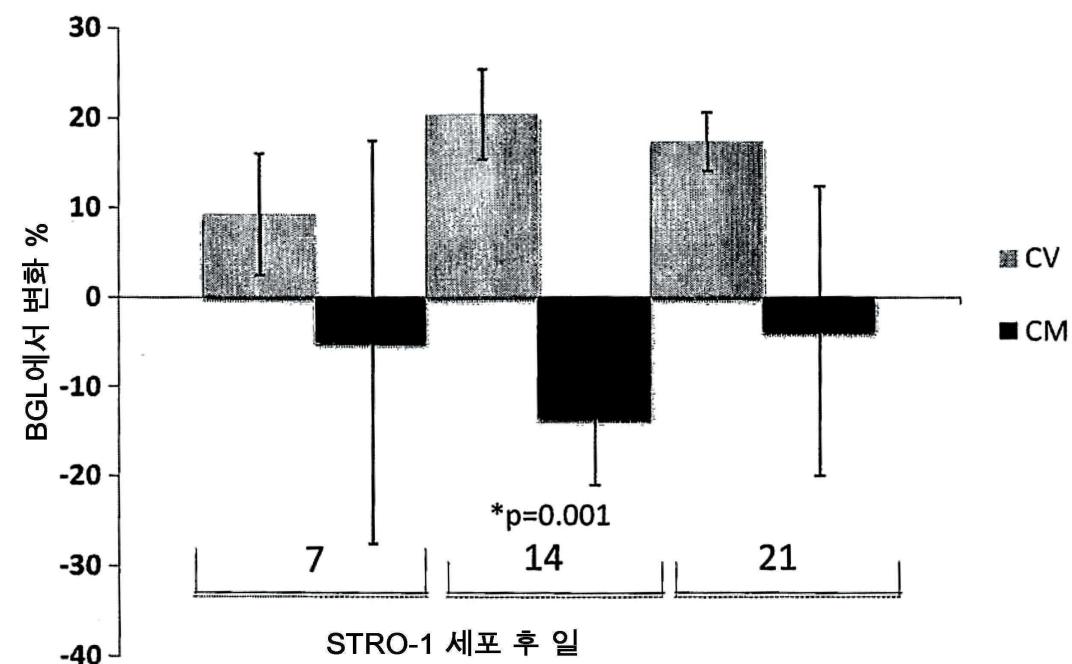
도면

도면1

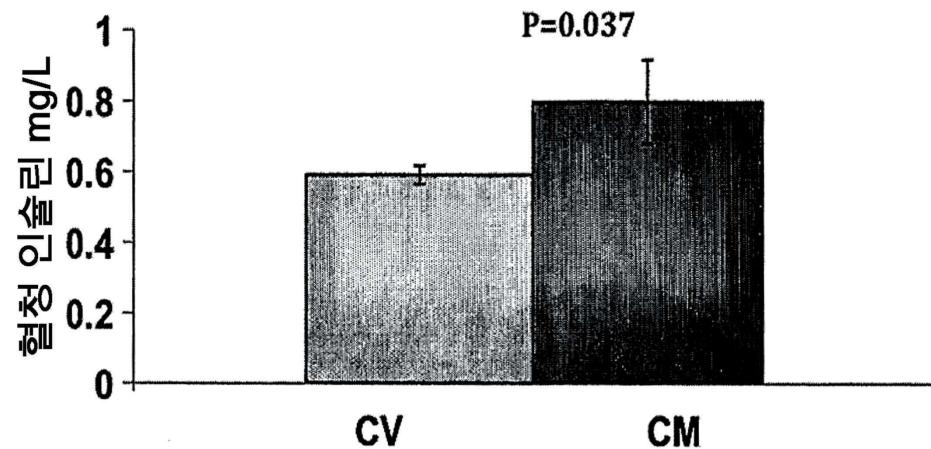
CV 대 CM



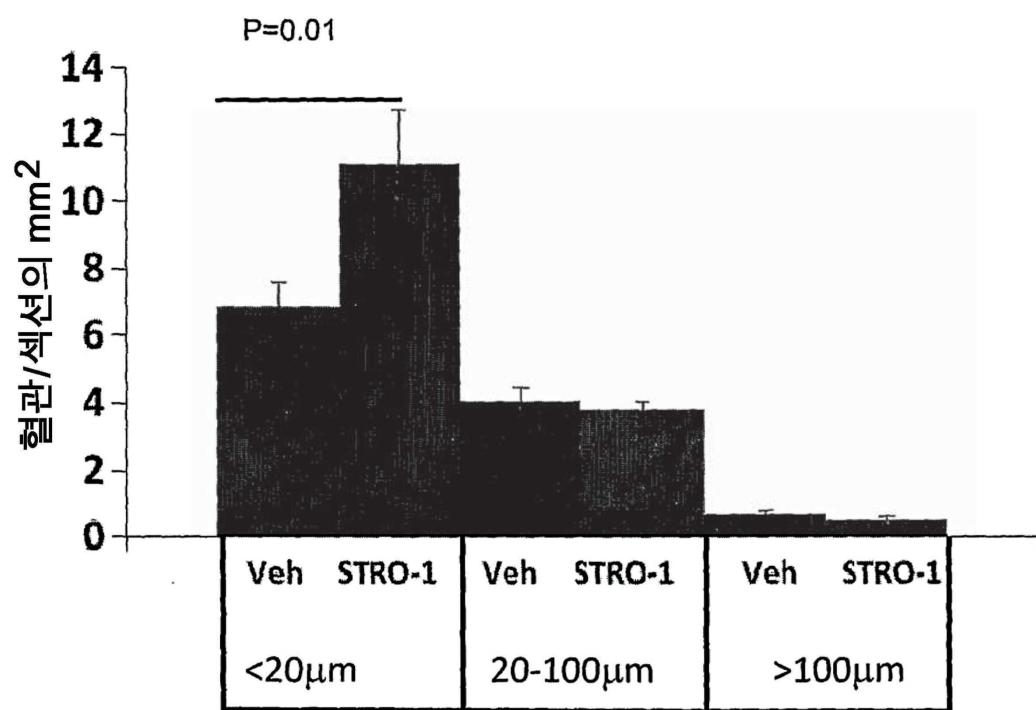
도면2



도면3



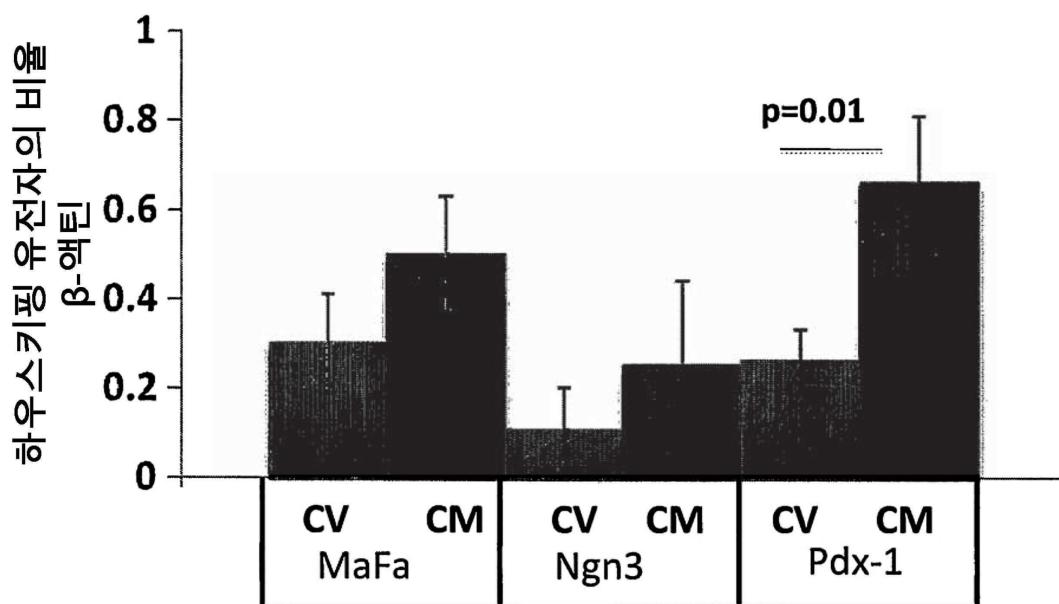
도면4a



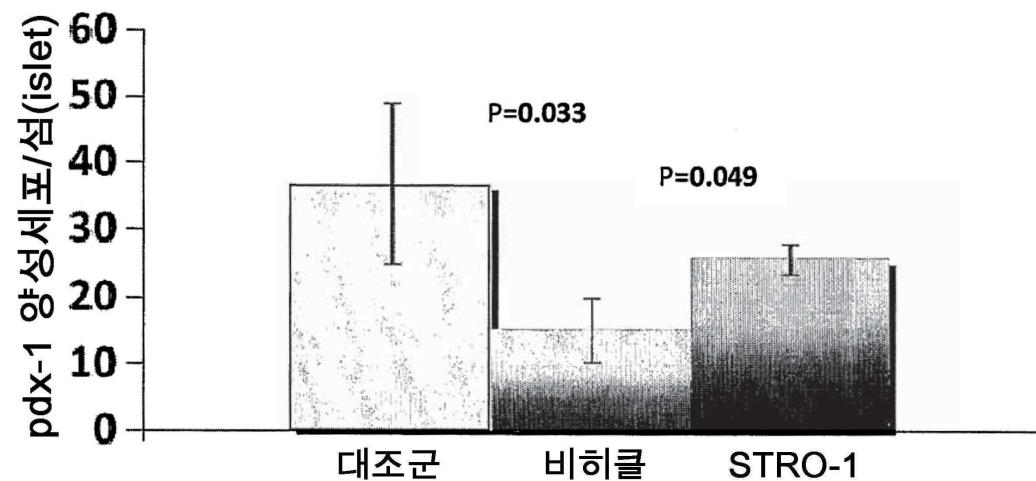
도면4b



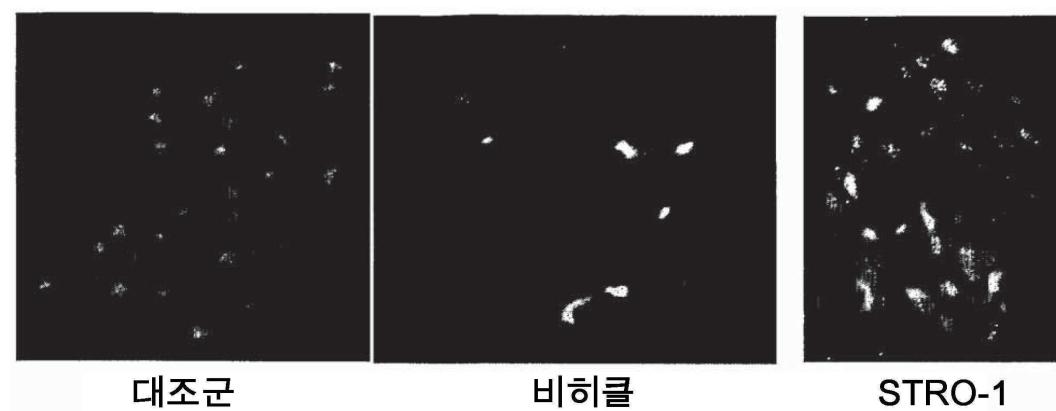
도면5a



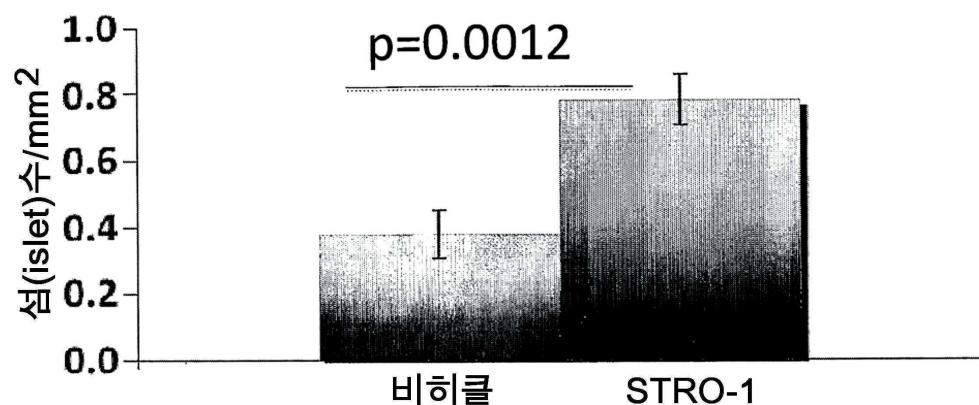
도면5b



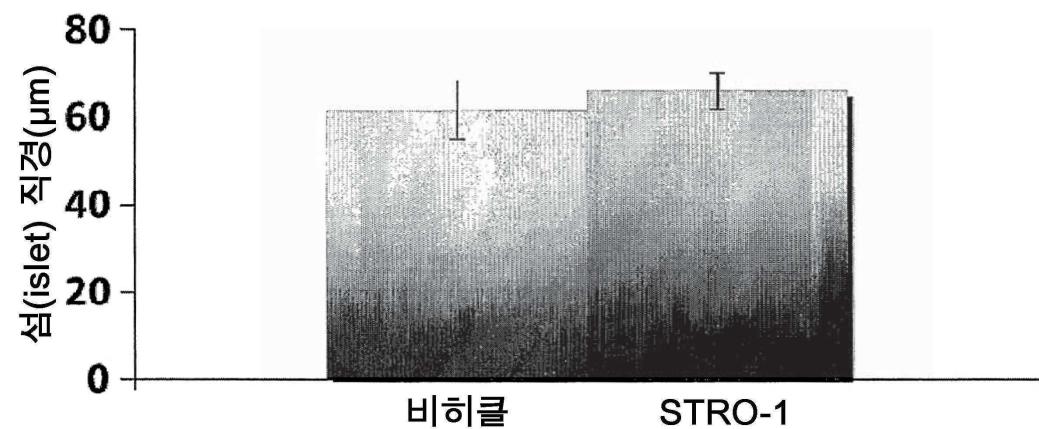
도면5c



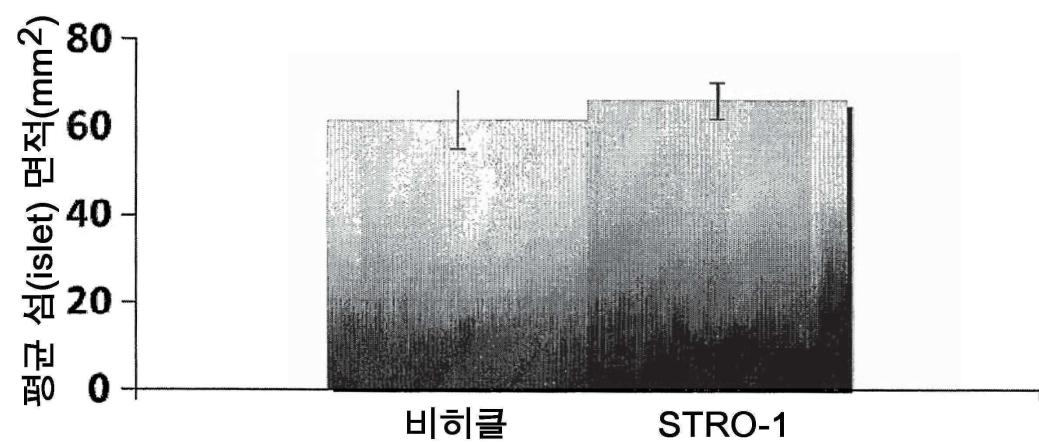
도면6a



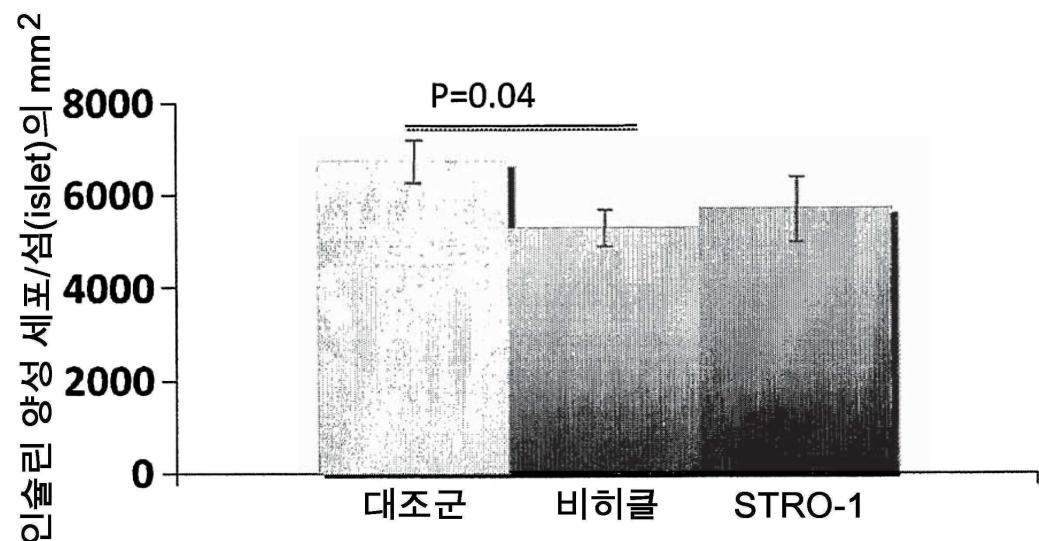
도면6b



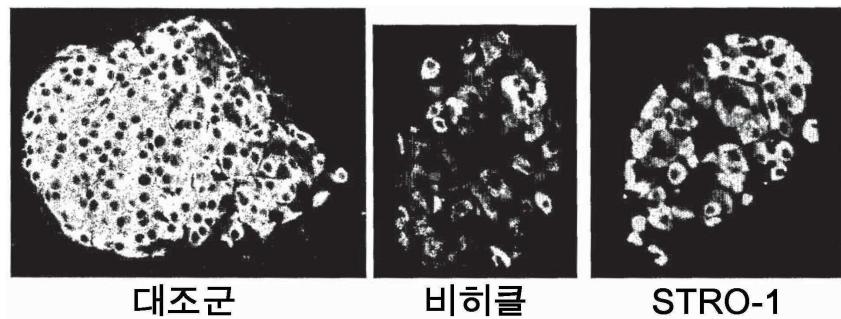
도면6c



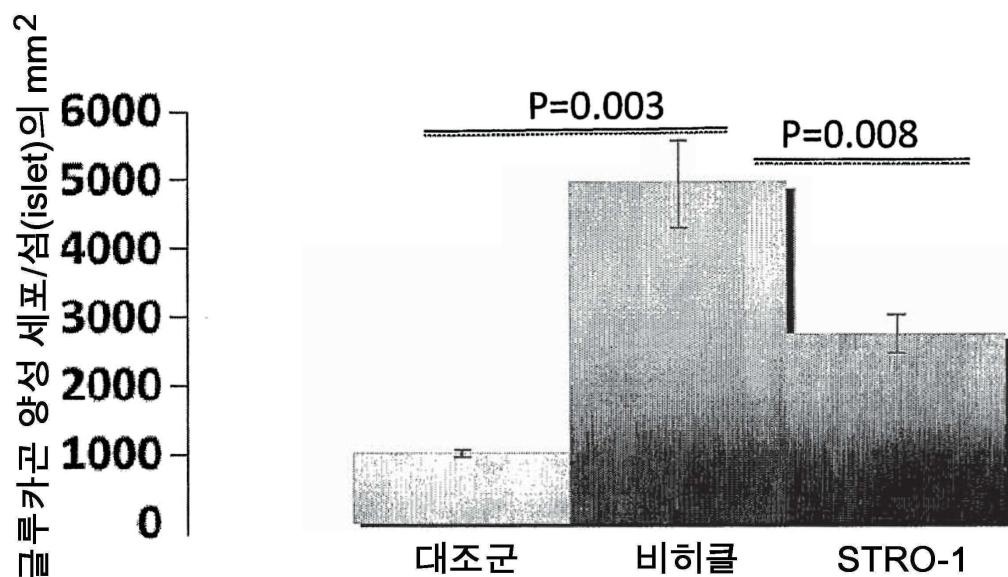
도면7a



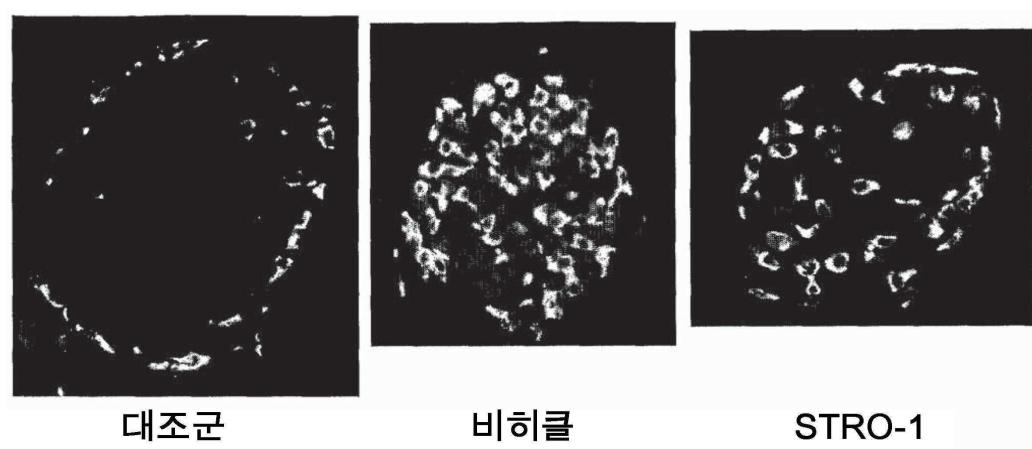
도면7b



도면7c



도면7d



도면7e

