(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0053909
(43) 공개일자 2014년05월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 35/28 (2006.01) *A61K 35/12* (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-7033588
(22) 출원일자(국제) 2012년05월18일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2013년12월18일
(86) 국제출원번호 PCT/AU2012/000549
(87) 국제공개번호 WO 2012/155209
국제공개일자 2012년11월22일
(30) 우선권주장
61/488,037 2011년05월19일 미국(US)

(71) 출원인
메소블라스트, 아이엔씨.
미국, 뉴욕 10016, 뉴욕, 매디슨 애비뉴 275, 4층
(72) 발명자
크리쉬난 라비
오스트레일리아 사우스 오스트레일리아 5070 로이스톤 파크 배탐스 로드 63
이테스쿠 실뷔
오스트레일리아 빅토리아 3000 멜버른 콜린스 스트리트 55 레벨 39
(74) 대리인
제일특허법인

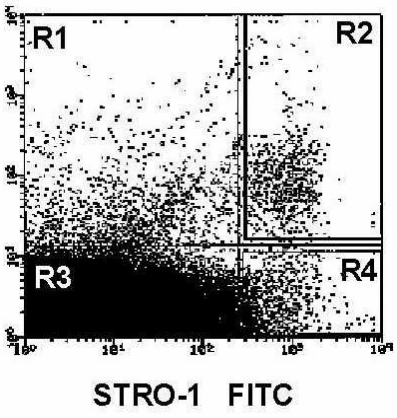
전체 청구항 수 : 총 22 항

(54) 발명의 명칭 **비만 및/또는 대사 증후군을 치료하는 방법**

(57) 요 약

본 발명은 STRO-1^{+} 세포가 농축된 세포 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자를 대상에게 투여함을 포함하는, 비만의 치료 또는 예방 또는 체중 감소의 유발 또는 대사 증후군의 치료 또는 예방을 위한 방법에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

STRO-1^{+} 세포가 농축된 세포 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자를 대상에게 투여함을 포함하는, 대상의 체중을 감소시키는 방법.

청구항 2

STRO-1^{+} 세포가 농축된 세포 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자를 대상에게 투여함을 포함하는, 대상의 과도한 체중 또는 비만을 치료 또는 예방하는 방법.

청구항 3

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

세포 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자의 투여가 투여 후 약 4주에 체중을 약 3% 이상만큼 감소시키는, 방법.

청구항 4

STRO-1^{+} 세포가 농축된 세포 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자를 대상에게 투여함을 포함하는, 대상의 대사 증후군 또는 이의 증상을 치료 또는 예방하는 방법.

청구항 5

제 4 항에 있어서,

대사 증후군의 증상이 증가된 트리글리세리드, 증가된 저밀도 지단백질, 감소된 고밀도 지단백질, 감소된 지단백질 지수, 증가된 공복 포도당 수준, 증가된 공복 인슐린, 섭취 후 감소된 포도당 청소율, 인슐린 저항성, 손상된 내당능, 비만 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 6

제 4 항 또는 제 5 항에 있어서,

세포 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자의 투여가 (i) 감소된 트리글리세리드; (ii) 감소된 저밀도 지단백질; (iii) 증가된 고밀도 지단백질; (iv) 증가된 지단백질 지수; (v) 감소된 공복 포도당 수준; (vi) 췌장에 의한 증가된 인슐린 분비; (vii) 섭취 후 증가된 포도당 청소율; (viii) 감소된 인슐린 저항성; 및 (ix) 감소된 체중 중 하나 이상의 결과를 야기하는, 방법.

청구항 7

제 1 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항에 있어서,

STRO-1^{밝음} 세포가 농축된 세포 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자를 투여함을 포함하는, 방법.

청구항 8

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서,

STRO-1^{+} 세포가 농축된 세포 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자가 전신 투여되는, 방법.

청구항 9

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

세포 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자가 여러 차례 투여되는, 방법.

청구항 10

제 9 항에 있어서,

세포 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자가 4주 이상의 기간 당 1회 투여되는, 방법.

청구항 11

제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 있어서,

(i) 트리글리세리드의 감소; (ii) 저밀도 지단백질의 감소; (iii) 고밀도 지단백질의 증가; (iv) 지단백질 지수의 증가; (v) 공복 포도당 수준의 감소; (vi) 췌장에 의한 인슐린 분비의 증가; (vii) 섭취 후 포도당 청소율의 증가; (viii) 인슐린 저항성의 감소; 및 (ix) 체중의 감소 중 하나 이상의 결과를 달성하기에 충분한 투여량의 세포 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자를 투여함을 포함하는, 방법

청구항 12

제 1 항 내지 제 11 항 중 어느 한 항에 있어서,

1 kg 당 0.1 x 10^6 내지 5 x 10^6개의 STRO-1^+ 세포 및/또는 이의 후손을 투여함을 포함하는, 방법.

청구항 13

제 1 항 내지 제 11 항 중 어느 한 항에 있어서,

1 kg 당 0.3 x 10^6 내지 2 x 10^6개의 STRO-1^+ 세포 및/또는 이의 후손을 투여함을 포함하는, 방법.

청구항 14

제 1 항 내지 제 11 항 중 어느 한 항에 있어서,

낮은 투여량의 STRO-1^+ 세포 및/또는 이의 후손을 투여함을 포함하는, 방법.

청구항 15

제 14 항에 있어서,

낮은 투여량의 STRO-1^+ 세포 및/또는 이의 후손이 1 kg 당 0.1 x 10^5 내지 0.5 x 10^6개의 STRO-1^+ 세포 및/또는 이의 후손을 포함하는, 방법.

청구항 16

제 14 항에 있어서,

낮은 투여량의 STRO-1^+ 세포 및/또는 이의 후손이 1 kg 당 0.3 x 10^6개의 STRO-1^+ 세포 및/또는 이의 후손을 포함하는, 방법.

청구항 17

제 1 항 내지 제 16 항 중 어느 한 항에 있어서,

STRO-1^+ 세포가 농축된 집단 및/또는 후손 세포가 자가 또는 동종이계이고/이거나 가용성 인자가 자가 또는 동종이계 세포로부터 유도될 수 있는, 방법.

청구항 18

제 1 항 내지 제 17 항 중 어느 한 항에 있어서,

STRO-1^{+} 세포가 농축된 집단 및/또는 후손 세포가 투여 전 및/또는 가용성 인자의 획득 전에 배양에 의해 확장되는, 방법.

청구항 19

제 1 항 내지 제 18 항 중 어느 한 항에 있어서,

STRO-1^{+} 세포가 농축된 세포 집단이 STRO-1^{밝음}이고/이거나 조직 비-특이적 알칼리 포스파타제(TNAP)를 발현시키고/시키거나, 후손 세포 및/또는 가용성 인자가 STRO-1^{밝음}이고/이거나 TNAP를 발현시키는 STRO-1^{+} 세포로부터 유도되는, 방법.

청구항 20

제 1 항 내지 제 19 항 중 어느 한 항에 있어서,

STRO-1^{+} 세포 및/또는 이의 후손 세포 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자가 상기 STRO-1^{+} 세포 및/또는 이의 후손 세포 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자와 담체 및/또는 부형제를 포함하는 조성물의 형태로 투여되는, 방법.

청구항 21

비만 및/또는 대사 증후군 및/또는 대사 증후군의 증상의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 STRO-1^{+} 세포가 농축된 세포 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들로부터 유도되는 가용성 인자.

청구항 22

대상의 비만 및/또는 대사 증후군 및/또는 대사 증후군의 증상의 치료 또는 예방용 약제의 제조에 있어서, STRO-1^{+} 세포가 농축된 세포 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들로부터 유도되는 가용성 인자의 용도.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 비만 및/또는 대사 증후군을 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다.

[0002] **관련된 출원 데이터**

[0003] 본 출원은 2011년 5월 19일자로 제출된 "비만 및/또는 대사 증후군을 치료하는 방법(Method for treating obesity and/or metabolic syndrome)"이라는 명칭의 미국 가출원 제 61/488,037 호를 우선권으로 주장하며, 이의 전문이 본원에 참고자료로 편입된다.

배 경 기 술

[0004] 대사 증후군(Metabolic Syndrome)

[0005] 대사 증후군(동의어, 증후군 X)은 전세계적으로 만연된 것으로 보이는 사회경제적 비용이 드는 복합 장애다. 미국의 인구 약 32%는 대사 증후군을 앓는 것으로 보이며, 나이가 들수록 위험은 증가된다(예를 들어, 40 내지 60세의 40%는 이 증후군을 앓는 것으로 본다). 대사 증후군은 관상 심장 질환, 죽상경화증 질환, 고혈압, 뇌졸중 및 유형 2 당뇨병과 같은 많은 장애들의 증가된 위험과 관련이 있다. 현재, 대사 증후군은 다음 기준들 중 세 가지 이상의 존재에 기초하여 진단된다:

[0006] ○ 늘어난 허리 둘레: 인종, 나라 및 성별에 따라 늘어나는 정도를 정의함;

[0007] ○ 증가된 트리글리세리드: ≥ 150 mg/dL 혈액(1.7 mmol/L 혈액) 또는 증가된 트리글리세리드에 대한 약물 치료;

[0008] ○ 감소된 고밀도 지단백질(HDL) 콜레스테롤: 남성의 경우 < 40 mg/dL 혈액(1.0 mmol/L 혈액), 여성의 경우 <

50 mg/dL 혈액(1.3 mmol/L 혈액) 또는 낮은 고밀도 지단백질 콜레스테롤에 대한 약물 치료;

[0009] ○ 증가된 혈압: 수축기 ≥ 130 mmHg 및/또는 이완기 ≥ 85 mmHg 또는 고혈압에 대한 약물 치료(또는 높은 혈압에 대한 약물 치료); 및

[0010] ○ 증가된 공복 포도당: > 100 mg/dL 혈액 (또는 고혈당증에 대한 약물 치료).

[0011] 대사 증후군에 대한 현재 비-약리학적 요법은 운동과 식이요법을 포함한다. 약리학적 치료들은 대사 증후군의 증상들 중 하나를 일반적으로 표적으로 한다. 예를 들어, 트리글리세리드 및 HDL 수준을 개선시키는 화합물들은 대사 증후군을 치료하는데 유용한 것으로 제안되었다. 그러나, 이들 약물은 다양한 바람직하지 못한 부작용을 겪는다. 예를 들어, 다음과 같다:

[0012] ● 클로피브레이트(피브린산 유도체)는 유병률(morbidity) 및 치사율(mortality rates)을 증가시킨다. 더욱이, 설치류에서 종양형성능(tumorigenicity)이 설명되었다. 임상 시험에서 일부 피브레이트가 크레아티닌 수준을 가역적으로 증가시키는 원인이라는 것을 보여주었다.

[0013] ● 니아신은 다중 부작용을 가지는데, 그 중 최악은 화학물질에 의한 간염이다. 다른 부작용으로는 홍조, 가려움 및 발진을 포함한다.

[0014] ● 스타틴(Statin)은 근육 통증 및 횡문근융해증(이는 신장 부전 및 사망으로 이어질 수 있다), 근육 허약, 신경장해 및 기억력 상실과 연합된다. 더욱이, 스타틴은 상대적으로 짧은 반감기를 가지고, 치료적 이득을 제공하기 위해서는 정규적인 투약이 요구된다. 예를 들어, 아트로바스타틴은 약 20 내지 30시간의 효과적인 반감기를 가지고, 장기-작용 스타틴으로 간주된다.

[0015] 상기 내용으로부터 대사 증후군에 대한 치료/예방 방법에 있어서 당분야에는 필요성이 있다는 것이 자명하다. 예시적인, 치료/예방 방법들은 대사 증후군의 몇 가지 증상들을 치료 또는 예방할 것이다.

[0016] 비만

[0017] 비만의 발생은 전세계를 통하여 급격히 증가되어 왔었고, 지난 30년간 가장 두드러졌다. 2000년, 총 3880만 미국 성인 또는 이 나라의 인구의 30%는 비만으로 분류되었다(예를 들어, 코카소이드인의 경우 적어도 30 kg/㎡, 일본인의 경우 25 kg/㎡ 및 중국인의 경우 28 kg/㎡의 체질량지수를 갖는다). 비만은 다수의 질환 또는 장애들과 연관되거나 이를 야기하는 원인으로 간주되며, 그리고 비만 관련된 장애로 인하여 미국에서 매년 대략 280,000명이 사망하게 되는 것으로 추정된다.

[0018] 비만은 비-치명적인 쇠약해지는 용태, 예를 들어, 골관절염 및 호흡기 장애들로부터, 생명을 위협하는 만성 장애들, 예를 들어, 고혈압, 유형 2 당뇨병, 죽상경화증, 심혈관 질환, 일부 형태의 암 및 뇌졸중 발달에 이르는 많은 비만-관련된 합병증의 발생 위험 인자다.

[0019] 비만인 대상들의 수가 증가함에 따라(미국에서만 지난 10년간 비만 발생이 1/3 증가되었다), 비만 및 비만-관련된 합병증을 관리하는 새로운 그리고 효과적인 전략들의 개발의 필요성이 점차 증가되었다.

[0020] 비만의 높은 발생률과 이것이 어떻게 발생되는 지에 대한 우리의 이해에 있어서 많은 진전이 있음에도 불구하고, 현재 치료 전략은 장기적인 성공을 얻는 데는 계속 실패하였다. 더욱이, 체중 감량을 한 대상들 중 대략 90 내지 95%는 후속적으로 이들의 감량된 체중이 되돌아왔다.

[0021] 비만의 장기적 치료를 위하여 FDA에서 현재 승인한 치료 약물은 소수이다. 이들 화합물중 하나인 오르리스타트(orlistat)는 체내로 지방 흡수를 차단시키는 작용을 하는 췌장 리파제 저해물질이다. 그러나, 이 약물을 사용하면 신체로부터 소화되지 않은 지방의 통과의 불쾌한 부작용이 또한 수반된다.

[0022] 비만 치료에 현재 이용되는 또다른 약물은 식욕 억제제인 시부트라민이다. 시부트라민은 뇌에서 노르아드레날린과 세로토닌의 재취입을 선택적으로 억제하는 β-페닐아민이다. 불행하게도, 시부트라민의 이용은 증가된 혈압과 증가된 심박수와 또한 관련된다. 이들 부작용의 결과로써, 시부트라민의 투약은 가장 유효한 투여량 아래의 수준으로 제한된다.

[0023] 비만의 단기 치료를 위한 화합물들은 식욕 억제제들, 예를 들어, 암페타민 유도체들을 포함한다. 그러나, 이들 화합물은 매우 중독성이다. 더욱이, 이들 체중 감량 약물들에 대해 대상들은 상이하게 반응하는데, 일부는 다른 사람들보다 체중 감량이 더 많고, 일부는 어떻든 간에 조금의 체중도 감량되지 않는다.

[0024] 상기 내용에 근거하여 비만의 치료 또는 예방 또는 체중 감소를 위한 방법들이 당분야에 필요하다는 것은 당업

자들에게 자명할 것이다.

발명의 내용

[0025] 본 발명자들은 STRO-1^{+} 세포 조제물(preparations)을 이용하여 인간이 아닌 영장류 모델에서 체중 감소 및/또는 비만 치료 및/또는 대사 증후군 치료를 할 수 있다는 것을 발견하였다. 예를 들어, STRO-1^{+} 세포 조제물을 투여하면, 이들은 트리글리세리드의 수준을 감소시켰고, 초저밀도 지단백질(VLDL)의 수준을 감소시켰고, HDL의 수준을 증가시켰고, 내당능(glucose tolerance)을 개선시켰고, 감소된 공복 인슐린 및 포도당 수준을 감소시켰고, 체중을 감소시켰다는 것을 발명자들이 발견하였다. 따라서, 발명자들은 대사 증후군의 진단에 필요한 다수의 증상을 치료할 수 있었다. 이 세포 조제물의 단일 투여는 적어도 3개월간 치료 효과를 제공하며, 다중 투여는 이 시간을 연장시키고, 효과 수준을 증가시킨다는 것을 또한 발명자들은 보여주었다.

[0026] 본 개시내용은 대상의 체중을 감소시키는 방법을 제시하는데, 상기 방법은 STRO-1^{+} 세포들 및/또는 이의 후손 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자들이 농축된 세포 집단을 상기 대상에게 투여함을 포함한다.

[0027] 한 실례에서, 상기 대상은 과체중이다. 한 실례에서, 상기 대상은 비만이다.

[0028] 한 실례에서, 상기 대상은 유형 2 당뇨병을 앓는다. 또다른 실례에서, 상기 대상은 유형 2 당뇨병을 앓지 않는다.

[0029] 본 개시내용은 한 대상에서 비만을 치료 또는 예방하는 방법을 추가적으로 제시하는데, 상기 방법은 STRO-1^{+} 세포들 및/또는 이의 후손 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자들이 농축된 세포 집단을 상기 대상에게 투여함을 포함한다.

[0030] 한 실례에서, 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 투여로 투여 후 약 4주에 체중은 약 3% 또는 3.5% 이상 감소된다.

[0031] 한 실례에서, 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 투여로 체중은 투여 후 약 8주에 약 4% 또는 4.5% 이상 감소된다.

[0032] 한 실례에서, 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 투여로 투여 후 약 12주에 체중은 약 4% 또는 4.5% 이상 감소된다.

[0033] 예를 들어, 체중 감소는 세포들의 최초 투여 이후이다.

[0034] 한 실례에서, 상기 방법은 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들을 적어도 2회 투여함을 포함한다. 예를 들어, 각 투여는 약 12주의 기간을 둔다. 한 실례에서, 투여로 최초 투여 후 16주에 체중은 약 5% 이상 감소된다.

[0035] 한 실례에서, 상기 방법은 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 투여를 2회 이상 포함하되, 각 투여는 약 12주의 기간을 두며, 이 투여에 의해 최초 투여 후 20주에 체중은 약 6% 이상 감소된다.

[0036] 한 실례에서, 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 투여는 상기 대상이 현저하게 적은 음식을 섭취하고/하거나 상기 대상의 음식 섭취 욕구를 현저하게 감소시키는 원인이 되지 않는다. 이는 상기 방법이 더 적은 음식을 섭취하게 하는 것을 추가적으로 포함하지 않는다는 말이 아니라(예를 들어, 상기 대상 치료 전 또는 치료 초기의 섭취된 양과 비교하여), 단지 투여는 대상의 음식 섭취 자체에 영향을 주지 않는다.

[0037] 본 개시내용은 대상의 대사 증후군 또는 이의 증상을 치료 또는 예방하는 방법을 또한 제시하는데, 상기 방법은 상기 대상에게 STRO-1^{+} 세포들 및/또는 이의 후손 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자들이 농축된 세포 집단의 투여를 포함한다.

[0038] 한 실례에서, 대사 증후군의 증상은 증가된 트리글리세리드, 증가된 저밀도 지단백질, 감소된 고밀도 지단백질, 감소된 지단백질 지수, 증가된 공복 포도당 수준, 증가된 공복 인슐린 수준, 감소된 포도당 청소율, 인슐린 저항성, 손상된 내당능, 비만 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0039] 한 실례에서, 상기 방법은 다음 증상들 중 2가지 또는 3가지 또는 4가지 또는 5가지 또는 모두를 감소시키거나

예방한다.

[0040] 한 실례에서, 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 투여로 다음 중 하나 또는 그 이상을 초래한다: (i) 감소된 트리글리세리드; (ii) 감소된 저밀도 지단백질; (iii) 증가된 고밀도 지단백질; (iv) 증가된 지단백질 지수; (v) 감소된 공복 포도당 수준; (vi) 감소된 공복 인슐린 수준; (vii) 섭취 후 증가된 포도당 청소율; (viii) 감소된 인슐린 저항성; 및 (ix) 감소된 체중.

[0041] 한 실례에서, 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 투여는 상기한 것 중 2가지 또는 3가지 또는 4가지 또는 5가지 또는 모두를 초래한다.

[0042] 한 실례에서, 상기 방법은 대사 증후군 및/또는 이의 증상이 진행 또는 악화되는 것을 막는다.

[0043] 한 실례에서, 임의의 실례의 본 개시내용에서 기술된 방법은 STRO-$1^{밝음}$ 세포들 및/또는 이의 후손 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자들이 농축된 세포들의 집단을 투여함을 포함한다.

[0044] 한 실례에서, 임의의 실례내 본 개시내용에서 기술된 방법은 STRO-1^{+} 및 조직 비-특이적 알칼리 포스파타제$^{+}$(TNAP^{+}) 세포들 및/또는 이의 후손 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자들이 농축된 세포들의 집단을 투여함을 포함한다.

[0045] 한 실례에서, STRO-1^{+} 세포들 및/또는 이의 후손 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자들이 농축된 집단은 전신으로 투여된다. 예를 들어, 상기 집단 및/또는 후손 및/또는 가용성 인자들은 정맥으로 투여된다.

[0046] 한 실례에서, 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들은 여러 차례 투여된다.

[0047] 예를 들어, 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들은 2주 또는 그 이상의 주마다 한 번씩 투여된다.

[0048] 예를 들어, 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들은 3주 또는 그 이상의 주마다 한 번씩 투여된다.

[0049] 예를 들어, 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들은 4주 또는 그 이상의 주마다 한번씩 투여된다.

[0050] 한 실례에서, 상기 방법은 상기 대상을 모니터링하고 다음 중 하나 이상이 발생할 때 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 추가 투여량을 투여함을 포함한다:

[0051] (i) 트리글리세리드 수준이 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 투여 후 1개월 또는 2개월 때 탐지된 수준 이상의 수준으로 증가되거나 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 최초 투여 전 탐지된 수준과 유사한 수준으로 증가된다;

[0052] (ii) 저밀도 지단백질 수준은 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 투여이후 1개월 또는 2개월 때 탐지된 수준 이상의 수준으로 증가되거나 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 최초 투여 전 탐지된 수준과 유사한 수준으로 증가된다;

[0053] (iii) 고밀도 지단백질 수준은 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 투여 후 1개월 또는 2개월 때 탐지된 수준 이상의 수준으로 감소되거나 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 최초 투여 전 탐지된 수준과 유사한 수준으로 감소된다;

[0054] (iv) 지단백질 지수는 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 투여 후 1개월 또는 2개월 때 탐지된 수준 이상의 수준으로 감소되거나 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 최초 투여 전 탐지된 수준과 유사한 수준으로 감소된다;

[0055] (v) 공복 포도당 수준은 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 투여 후 1개월 또는 2개월 때 탐지된 수준 이상의 수준으로 증가되거나 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 최초 투여 전 탐지된 수준과 유사한 수준으로 증가된다;

[0056] (vi) 공복 인슐린 수준은 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 투여 후 1개월 또는 2개월 때 탐지된 수준 이상의 수준으로 감소되거나 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 최초 투여 전 탐지된 수준과 유사한 수준으로 감소된다;

[0057] (vii) 섭취 후 포도당 청소율은 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 투여 후 1개월 또는 2개월 때 탐지된 수준 이상의 수준으로 감소되거나 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 최초 투여 전 탐지된 수준과 유사한 수준으로 감소된다;

[0058] (viii) 인슐린 저항성은 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 투여 후 1개월 또는 2개월 때 탐지된 수준 이상의 수준으로 증가되거나 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 최초 투여 전 탐지된 수준과 유사한 수준으로 증가된다;

[0059] (ix) 체중은 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 투여이후 1개월 또는 2개월 때 탐지된 수준 이상의 수준으로 증가되거나 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 최초 투여 전 탐지된 수준과 유사한 수준으로 증가된다.

[0060] 한 실례에서, 임의의 실례에 따라 본 명세서에서 기술된 방법은 다음 중 하나 이상을 획득하는데 충분한 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들의 투여량을 투여함을 포함한다: (i) 트리글리세리드의 감소; (ii) 저밀도 지단백질의 감소; (iii) 고밀도 지단백질의 증가; (iv) 지단백질 지수의 증가; (v) 공복 포도당 수준의 감소; (vi) 공복 인슐린 수준의 감소; (vii) 섭취 후 포도당 청소율의 증가; (viii) 인슐린 저항성의 감소; 및 (ix) 체중의 감소.

[0061] 한 실례에서, 이 투여량은 상기한 것의 적어도 2가지 또는 3가지 또는 4가지 또는 5가지 또는 모두를 획득하는데 충분하다.

[0062] 한 실례에서, 임의의 실례에 따라 본 명세서에서 기술된 방법은 1 kg 당 0.1 x 10^6 내지 5 x 10^6의 STRO-1^+ 세포들 및/또는 이의 후손을 투여함을 포함한다.

[0063] 한 실례에서, 임의의 실례에 따라 본 명세서에서 기술된 방법은 1 kg 당 0.3 x 10^6 내지 2 x 10^6의 STRO-1^+ 세포들 및/또는 이의 후손을 투여함을 포함한다. 예를 들어, 상기 방법은 1 kg 당 약 1 x 10^6 또는 2 x 10^6의 STRO-1^+ 세포들 및/또는 이의 후손을 투여함을 포함한다.

[0064] 한 실례에서, 임의의 실례에 따라 본 명세서에서 기술된 방법은 낮은 투여량의 STRO-1^+ 세포들 및/또는 이의 후손을 투여함을 포함한다. 예를 들어, 낮은 투여량의 STRO-1^+ 세포들 및/또는 이의 후손은 1 kg 당 0.1 x 10^5 내지 0.5 x 10^6개의 STRO-1^+ 세포들 및/또는 이의 후손을 포함한다. 예를 들어, STRO-1^+ 세포들 및/또는 이의 후손의 낮은 투여량은 1 kg 당 약 0.3 x 10^6개의 STRO-1^+ 세포들 및/또는 이의 후손을 포함한다.

[0065] 한 실례에서, 상기 집단 및/또는 이의 후손 세포들은 자가(autogeneic) 또는 동종이계(allogeneic)이고/이거나 이 가용성 인자들은 자가 또는 동종이계 세포들로부터 유도될 수 있다. 한 실례에서, 상기 집단 및/또는 이의 후손은 동종이계이고/이거나 이들의 가용성 인자들은 동종이계 세포들의 것이다.

[0066] 상기 실례에 따라, 상기 방법은 상기 집단 및/또는 후손 세포들 및/또는 가용성 인자들을 획득하는 것을 추가적으로 포함할 수 있거나 상기 집단 및/또는 후손 세포들 및/또는 가용성 인자들을 단리하는 것을 추가적으로 포함할 수 있다. 한 실례에서, 상기 집단 및/또는 후손 세포들은 STRO-1 및/또는 TNAP의 발현에 기초한다.

[0067] 한 실례에서, 상기 집단 및/또는 후손 세포들 및/또는 가용성 인자들은 치료될 대상으로부터 획득된다. 또다른 실례에서, 상기 집단 및/또는 후손 세포들 및/또는 가용성 인자들은 동일한 종의 상이한 대상으로부터 얻는다.

[0068] 한 실례에서, STRO-1^+ 세포들 및/또는 후손 세포들이 농축된 집단은 투여 전 및/또는 이들의 가용성 인자의 획득 전에 배양 확장되었다.

[0069] 상기 실례에 따르면, 임의의 실례에 따른 본 명세서에서 기술된 방법은 상기 집단 및/또는 후손 세포들을 배양하는 것을 추가적으로 포함할 수 있다.

[0070] 한 실례에서, STRO-1^+ 세포들 및/또는 이의 후손 세포들 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자들은 상기 STRO-1^+ 세포들 및/또는 이의 후손 세포들 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자들과 담체 및/또는 부형제를 포함하는 조성물 형태로 투여된다.

[0071] 상기 실례에 따르면, 임의의 실례에 따른 본 명세서에서 기술된 방법은 상기 집단 및/또는 후손 및/또는 가용성

인자들을 조성물로 제형화하는 것을 추가적으로 포함할 수 있다.

[0072] 한 실례에서, 상기 대상은 비만으로 고통을 받고/받거나 대사 증후군을 앓는다. 예를 들어, 상기 대상은 치료를 요한다.

[0073] 한 실례에서, 상기 대상은 비만을 앓을 위험에 처하고/하거나 대사 증후군을 앓을 위험에 처해있다.

[0074] 본 개시내용은 비만 및/또는 대사 증후군 및/또는 대사 증후군의 증상을 치료 또는 예방하는데 이용하기 위한 STRO-1^{+} 세포들 및/또는 이의 후손 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자들이 농축된 세포 집단을 또한 제공한다.

[0075] 본 개시내용은 대상에게서 비만 및/또는 대사 증후군 및/또는 대사 증후군의 증상을 치료 또는 예방하는 약제의 제조에 STRO-1^{+} 세포들 및/또는 이의 후손 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자들이 농축된 세포 집단의 용도를 또한 제공한다.

[0076] 본 개시내용은 임의의 실례에 따라 본 명세서에서 설명된 방법에 사용하기 위하여 지침과 함께 포장된 STRO-1^{+} 세포들 및/또는 이의 후손 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자들이 농축된 세포 집단을 담은 키트를 또한 제공한다.

[0077] 예를 들어, 본 개시내용은 임의의 실례에 따라 본 명세서에서 설명된 방법에서 이 조성물의 용도를 나타내는 제품 정보와 함께 포장된 상기 집단 및/또는 이의 후손 및/또는 이들의 가용성 인자들을 포함하는 조성물을 담은 키트를 또한 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0078] **도 1.** 성숙 인간 골수 다형핵 세포(BMMNC)에 의한 TNAP(STRO-3) 및 간엽성 전구 세포 마커, STRO-$1^{밝음}$의 공동-발현. 이중-칼라 면역형광과 유세포분석법은 FITC에 커플링된 염소 항-뮤린 IgM 항체로 간접적으로 표지된 STRO-1 MACS-선별된 BMMNC(x 축), 및 PE에 커플링된 염소 항-뮤린 IgG로 간접적으로 표지된 STRO-3 mAb(뮤린 IgG1)(y 축)의 배양에 의해 수행되었다. 점도표 히스토그램은 리스트모드 데이터(listmode data)로서 수집된 5 x 10^{4} 이벤트를 나타낸다. 수직선과 수평선은 동일한 조건 하에 처리된 아이소타입-정합된 대조 항체, 1B5(IgG)와 1A6.12(IgM)로 획득된 < 1.0% 평균 형광의 반응성 수준으로 설정되었다. 이들 결과는 STRO-$1^{밝음}$ 세포의 소수 집단이 TNAP(위쪽 오른쪽 사분면)를 공동-발현하지만, 나머지 STRO-1^{+} 세포가 STRO-3 mAb와 반응하지 않는다는 것을 증명한다.

도 2. 염소 항-뮤린 IgM 또는 IgG 공액된-FITC 2차 항체들을 이용하여 탐지된 아이소타입(IgM, IgG2a 및 IgG1) 음성 대조군(점선)과 비교하여, 간엽성 줄기 세포 마커들, STRO-1, STRO-4 및 CD146(실선)의 양성 세포 표면 발현과 함께 배양 확장된 골수 유도된 게잡이원숭이 MPC의 단일 세포 현탁액을 이용하여 생성된 대표적 유세포분석을 보여주는 그래프 설명. 대표적 히스토그램은 게잡이원숭이 MPC가 단핵세포/대식세포(CD14), 조혈 줄기/선조 세포들(CD34) 및 성숙한 백혈구(CD45)의 마커들에 대한 세포 표면 발현이 부족하다는 것을 또한 보여준다. 아이소타입 대조와 비교하여 1% 이상의 형광 수준은 양성을 나타낸다.

도 3. 정맥내 내당능 테스트(IVGTT) 이후 조기 단계(5 내지 20분; 왼쪽 편)와 후기 단계(30 내지 60분; 오른쪽 편)에서 인슐린 반응에 대해 1개월의 반복된 평가에 대해 곡선 아래 평균 면적(AUC)을 나타내는 그래프 설명. 테스트들은 당뇨성 동물과 비-당뇨성 동물(표시된 것과 같이)에서 실행되었다.

도 4. 포도당의 정맥내 주입 후 후기 단계 인슐린 반응의 곡선 아래 평균 매월 면적(AUC_{30}-60분)을 보여주는 그래프 설명. MPC 치료 전 1개월과 치료 후 6개월에 각 비-당뇨성 동물 및 당뇨성 동물(표시된 것과 같이)에 대한 개별 데이터를 나타내었다. 화살표는 MPC가 주입된 시간을 나타낸다.

도 5. MPC의 연속적 투약이 포도당 로딩(loading)에 대한 후기-단계 인슐린 반응에서 점진적 증가를 유도한다는 것을 보여주는 그래프 설명. 패널 (a)의 그림은 비-당뇨성 및 당뇨성 동물들의 집단(표시된 것과 같이)에 대해 정맥내 포도당 주입 후 후기 단계 인슐린 반응 1개월의 곡선 아래 평균 면적($AUC_{30-60분}$)을 보여준다. MPC 치료 전 1개월과 치료 후 6개월에 각 비-당뇨성 동물 및 당뇨성 동물에 대한 데이터를 나타낸다. 화살표는 MPC

가 주입된 시간을 나타낸다. 패널 3(b)의 그림은 치료되지 않은 기준선과 비교하여 집단간 후기 단계 인슐린 반응에서 매달 평균 변화 비율을 설명한다.

도 6. 정맥내 포도당의 주입 후 후기 단계 인슐린 반응(30 내지 60분) 동안 매달 평균 혈액 포도당 청소율을 보여주는 그래프 설명. 비-당뇨성 및 당뇨성 동물들(표시된 것과 같이)에 대해 개별 데이터를 설명한다. 화살표는 MPC가 주입된 시간을 나타낸다.

도 7. MPC는 높은 포도당 로딩 후 포도당 청소율의 점진적 증가를 유도한다는 것을 보여주는 그래프 설명. 패널 (a)는 정맥내 포도당의 주입 후 후기 단계 인슐린 반응(30 내지 60분) 동안 매달 평균 혈액 포도당 청소율을 보여준다. MPC 치료 전 1개월과 치료 후 6개월에 각 비-당뇨성 및 당뇨성 집단에 대한 개별 데이터를 나타낸다. 화살표는 MPC가 주입된 시간을 나타낸다. 패널 5(b)는 처리 전 기준선과 비교하여 집단마다 포도당 처리율의 매달 평균 변화율을 나타낸다.

도 8. MPC로 치료된 원숭이들에서 매달 평균 공복 혈액 포도당 수준(상부 패널들)과 매달 평균 공복 인슐린 수준(하부 패널들)을 보여주는 그래프 설명. MPC 치료 전 1개월과 치료 후 6개월에 각 비-당뇨성 동물(공복 BGL 기준선 > 110 mg/dL) 및 당뇨성 동물(공복 BGL 기준선 < 110mg/dL)에 대한 개별 데이터를 나타낸다. 화살표는 MPC가 주입된 시간을 나타낸다. 각 동물의 MPC 투여량을 나타낸다.

도 9. MPC를 투여받은 동물의 매달 평균 공복 혈액 포도당 수준(상부 패널)과 매달 평균 공복 인슐린 수준(하부 패널)을 나타내는 그래프 설명. MPC 치료 전 1개월과 치료 후 6개월에 각 비-당뇨성 동물 집단(공복 BGL 기준선 > 110 mg/dL) 및 당뇨성 동물(공복 BGL 기준선 < 110 mg/dL)에 대한 개별 데이터를 나타낸다. 화살표는 MPC가 주입된 시간을 나타낸다.

도 10. MPC 치료는 지속적인 많은 음식물 섭취에도 불구하고 지속적인 체중 감소를 유도한다는 것을 보여주는 그래프 설명. 패널 (a)는 비-당뇨성 및 당뇨성 동물들 모두에서 매달 평균 체중 변화를 보여준다. MPC 치료 전 1개월과 치료 후 6개월에 비-당뇨성 동물 및 당뇨성 동물에 대한 개별 데이터를 나타낸다. 화살표는 MPC가 주입된 시간을 나타낸다. 각 동물의 MPC 투여량은 각 패널의 상단에 나타낸다. 패널 (b)는 체중 측정 기간을 통하여 각 개별 동물이 섭취한 음식의 양(주 당 소비된 펠렛의 평균 수)을 보여준다. 패널 (c)는 치료를 받지 않은 기준선과 비교하여 MPC 요법 후 동물의 풀링(pooling)된 군에서 매달 평균 체중 감소를 보여준다. MPC 치료 과정 동안 체중 감소 범위는 4% 내지 6% 범위이다.

도 11. 비-당뇨성 및 당뇨성 동물에서 매달 공복 지질 프로파일(표시된 것과 같음)을 보여주는 그래프 설명. MPC 치료 전 1개월과 치료 후 6개월에 비-당뇨성 동물 및 당뇨성 동물에 대한 개별 데이터를 나타낸다. 화살표는 MPC가 주입된 시간을 나타낸다. 각 동물의 MPC 투여량은 각 패널의 상단에 나타낸다.

도 12. 비-당뇨성 및 당뇨성 동물에서 매달 공복 지질 프로파일(표시된 것과 같음)을 보여주는 그래프 설명. MPC 치료 전 1개월과 치료 후 6개월에 비-당뇨성 동물 및 당뇨성 동물에 대한 데이터를 나타낸다. 화살표는 MPC가 주입된 시간을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0079] 일반적 기술 및 선택된 정의들

[0080] 명세서를 통하여, 다른 언급이 없는 한 또는 내용이 다른 것들을 요구하지 않는 한, 이들 단계중 하나 및 다수(예를 들어, 하나 또는 그 이상), 문제의 조성물의 단계들의 집단 또는 집단을 포괄하도록 단일 단계, 문제의 조성물, 문제의 조성물의 단계들의 집단 또는 집단에 대한 언급이 있을 것이다.

[0081] 본 명세서에서 기술된 각 실례는 다른 명시적 언급이 없는 한, 본 개시내용의 각 실례 및 모든 다른 실례에 대해 필요한 변경을 하여 적용될 수 있다.

[0082] 본 개시내용 및 이의 개별 실례는 명시적으로 언급된 것 이외의 다양한 변화 및 수정을 사용할 수 있다는 것을 당업계 숙련자들은 인지할 것이다. 본 개시내용은 이러한 모든 변화 및 수정을 포함하는 것으로 이해된다. 본 개시내용은 이 명세서에서 개별적으로 또는 집합적으로 언급된 또는 표시된 모든 단계들, 특징들, 조성물들 및 화합물들, 및 상기 단계들 또는 특징들의 임의의 및 모든 조합들 또는 임의의 2개 이상의 상기 단계들 또는 특징들을 또한 포함한다.

[0083] 본 개시내용은 본 명세서에 포함된 개시내용의 특정 실례에 의해 그 범위가 제한되지 않으며, 이들 실례는 설명을 목적으로만 의도된 것이다. 기능적으로 등가의 산물들, 조성물들 및 방법들은 본 명세서에서 설명된 것과

같이 개시내용 및 이의 실례의 범위내에 명백히 있다.

[0084] 본 개시내용은 다른 언급이 없는 한, 분자 생물학, 미생물학, 바이러스학, 재조합 DNA 기술, 용액에서 펩티드 합성, 고형상 펩티드 합성, 및 면역학의 통상적인 기술을 이용하여 과도한 실험없이 실시된다. 이러한 과정들은 예를 들어, 문헌[Sambrook, Fritsch & Maniatis, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratories, New York, Second Edition (1989)]의 Vol I, II 및 III 전체; 문헌[DNA Cloning: A Practical Approach, Vols. I and II (D. N. Glover, ed., 1985), IRL Press, Oxford] 전체 내용; 문헌[Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach (M. J. Gait, ed, 1984) IRL Press, Oxford] 전체 내용, 및 특히 Gait, ppl-22의 논문; 문헌[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] 전체 내용; 문헌[Immobilized Cells and Enzymes: A Practical Approach (1986) IRL Press, Oxford] 전체 내용; 문헌[Perbal, B., A Practical Guide to Molecular Cloning (1984); Methods In Enzymology (S. Colowick and N. Kaplan, eds., Academic Press, Inc.)] 시리즈 전체; 문헌[J.F. Ramalho Ortigao, "The Chemistry of Peptide Synthesis" In: Knowledge database of Access to Virtual Laboratory website (Interactiva, Germany)]; 문헌[Sakakibara, D., Teichman, J., Lien, E. Land Fenichel, R.L. (1976). *Biochem. Biophys. Res. Commun. 73* 336-342]; 문헌[Merrifield, R.B. (1963). *J. Am. Chem. Soc. 85,* 2149-2154]; 문헌[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. Wnsch, E., ed. (1974) Synthese von Peptiden in Houben-Weyls Metoden der Organischen Chemie (Mler, E., ed.), vol. 15, 4th edn., Parts 1 and 2, Thieme, Stuttgart; Bodanszky, M. (1984) Principles of Peptide Synthesis, Springer-Verlag, Heidelberg]; 문헌[Bodanszky, M. & Bodanszky, A. (1984) The Practice of Peptide Synthesis, Springer-Verlag, Heidelberg]; 문헌[Bodanszky, M. (1985) *Int. J. Peptide Protein Res.* 25, 449-474]; 문헌[Handbook of Experimental Immunology, VoIs. I-IV (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds., 1986, Blackwell Scientific Publications)]; 및 문헌[Animal Cell Culture: Practical Approach, Third Edition (John R. W. Masters, ed., 2000), ISBN 0199637970] 전체 내용에 기술된다.

[0085] 명세서를 통하여, 다른 언급이 없는 한, 단어 "포함하다(comprise)" 또는 "포함하는(comprising)"과 같은 변형은 언급된 단계 또는 요소 또는 정수 또는 단계들 또는 요소들 또는 정수들의 집단을 포함하지만, 임의의 다른 단계 또는 요소 또는 정수 또는 요소들 또는 정수들의 집단을 배제하지 않는다는 의미로 이해될 것이다.

[0086] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, "로부터 유도된"은 특정 원천으로부터 반드시 직접적으로 유도될 필요는 없지만, 해당 원천으로부터 명시된 완전체(integer)를 획득할 수 있음을 나타낸다. STRO-1^{+} 세포들 및/또는 이의 후손 세포들로부터 유도된 가용성 인자들의 내용에서, STRO-1^{+} 세포들 및/또는 이의 후손 세포들을 시험관에서 배양하는 동안 생성된 하나 이상의 인자들, 예를 들어, 단백질들, 펩티드들, 탄수화물들 등을 의미할 것이다.

[0087] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "증가된 트리글리세리드"는 혈액 1 dL 당 약 150 mg 이상의 트리글리세리드(1.7 mmol/L 혈액)를 의미하는 것으로 이해될 것이다. 대상내 지질 및/또는 지단백질 수준을 평가하는 방법들은 당업계 숙련자들에게 자명하고 한외원심분리, 면역분석을 포함한다.

[0088] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "증가된 저밀도 지단백질(LDL)"은 혈액 1 dL 당 100 mg 이상의 LDL, 또는 심장 질환 또는 죽상경화증을 앓는 사람의 경우 1 dL 당 70 mg 이상의 LDL을 의미하는 것으로 이해될 것이다. 대상내에서 지질 및/또는 지단백질 수준을 측정하는 방법들은 당업계 숙련자들에게 자명하고, 한외원심분리, 면역분석을 포함한다.

[0089] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "감소된 고밀도 지단백질(HDL) 콜레스테롤"은 혈액 1 dL 당 40 mg 미만의 HDL(1.0 mmol/L 혈액), 또는 여성의 경우 혈액 1 dL 당 50 mg 미만의 HDL(1.3 mmol/L 혈액)을 의미하는 것으로 이해될 것이다. 대상내에서 지질 및/또는 지단백질 수준을 측정하는 방법들은 당업계 숙련자들에게 자명하고, 한외원심분리, 면역분석을 포함한다.

[0090] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "지단백질 지수"는 비-HDL 콜레스테롤에 대한 HDL의 비율을 의미하는 것으로 이해될 것이다. 따라서, HDL의 수준이 높을수록 및/또는 비-HDL 콜레스테롤이 낮을수록, 이 비율은 더 높다.

[0091] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "증가된 공복 포도당 수준"은 혈장 1 L 당 5.6 mmol 포도당(또는 혈장 1 dL 당 100 mg 포도당) 내지 혈장 1 L 당 6.9 mmol 포도당(또는 혈장 1 dL 당 125 mg 포도당) 범위의 공복 혈장

포도당 수준을 의미하는 것으로 이해될 것이다.

[0092] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "증가된 공복 인슐린 수준"은 약 60 pmol/L 이상의 공복 인슐린 수준을 의미하는 것으로 이해될 것이다. 이는 인슐린 저항성의 증거이기도 하다.

[0093] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "손상된 내당능"은 75 그램의 경구 포도당 복용량을 복용한 후 2시간 시점에서 혈장 포도당 농도가 7.8 mmol/dL(140 mg/dL) 이상(예를 들어, 7.8 내지 11 mmol/dL(140 내지 197 mg/dL))을 의미하는 것으로 이해될 것이다. 이 정의는 예를 들어, 정맥내 내당능 테스트를 이용하여 평가된 허용된 정의를 또한 고려한다.

[0094] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "인슐린 저항성"은 손상된 내당능 및/또는 증가된 공복 인슐린 수준을 특징으로 하는 상태를 포괄한다.

[0095] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "과체중" 또는 "과도한 체중"은 25 이상의 체질량 지수를 의미하는 것으로 이해될 것이다. 일부 실례들에서, 이 용어는 비만을 포괄한다. 일부 실례들에서, 이 용어는 BMI 25 내지 30과 같은 전(pre)-비만을 포괄한다. "과체중"의 다른 임상적으로 수용되는 정의들도 이 용어에 의해 고려된다. 과체중인 대상들은 비만 발생 위험에 처한 것으로 또한 간주된다.

[0096] 본 명세서에서 "대사 증후군의 발생 위험에 처한" 대상의 언급은 60대의 대상 및/또는 라틴 아메리카인 및/또는 아시아 인종으로서 및/또는 25 또는 그 이상 및/또는 유형 2 당뇨병의 가족력을 가진 대상 및/또는 임신 동안 당뇨병 병력(임신성 당뇨병)을 가진 대상 및/또는 비만의 가족력을 가진 대상 및/또는 고혈압, 심혈관 질환 또는 다낭 난소 증후군중 하나 이상의 진단을 받은 대상을 포함한다.

[0097] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "유효량"은 다음 중 하나 이상을 획득하는데 STRO-1^+ 세포들 및/또는 이의 후손 세포들 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자들의 충분한 양을 의미할 것이다: (i) 트리글리세리드의 감소; (ii) 저밀도 지단백질의 감소; (iii) 고밀도 지단백질의 증가; (iv) 지단백질 지수의 증가; (v) 공복 포도당 수준의 감소; (vi) 췌장에 의한 인슐린 분비의 증가; (vii) 음식 섭취 후 포도당 청소율의 증가; 및 (viii) 인슐린 저항성의 감소; 및 (ix) 체중의 감소.

[0098] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "치료적 유효량"은 대사 증후군 및/또는 비만을 치료하여, 상기 대상이 대사 증후군 및/또는 비만에 대한 임상적 기준을 더 이상 충족하지 않도록 하기에 충분한 STRO-1^+ 세포들 및/또는 이의 후손 세포들 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자들의 양을 의미한다. 예를 들어, 비만인 대상의 체중은 상기 대상이 더 이상 비만에 해당되지 않는 지점까지 감소된다(예를 들어, 이들은 초과 중량 또는 정상일 수 있다).

[0099] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "예방적 유효량"은 대사 증후군 및/또는 비만의 개시를 막거나 억제하거나 지연시키기 위한, 예를 들어, 대상이 대사 증후군 및/또는 비만의 진단을 위한 임상 기준을 발달시키지 않도록 하기에 충분한 STRO-1^+ 세포들 및/또는 이의 후손 세포들 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자들의 양을 의미한다. 예를 들어, 과체중 대상은 비만이 되는 체중 지점까지 체중의 증가가 지속되지 않도록 치료를 받는다.

[0100] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "낮은 투여량(low dose)"은 1 x 10^6 미만의 STRO-1^+ 세포들 및/또는 이의 후손의 양을 의미하지만, 본 명세서에서 정의된 바와 같은 "유효량" 및/또는 "치료적 유효량" 및/또는 "예방적 유효량"이 되기에는 충분한 것으로 이해된다. 예를 들어, 낮은 투여량은 0.5 x 10^6개 이하의 세포들, 또는 0.4 x 10^6개 이하의 세포들 또는 0.3 x 10^6개 이하의 세포들 또는 0.1 x 10^6개 이하의 적은 세포들을 포함한다.

[0101] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "치료하다(treat)" 또는 "치료(treatment)" 또는 "치료하는(treating)"은 치료적 유효량의 가용성 인자들 및/또는 세포들을 투여하고, 대사 증후군의 증상을 감소 또는 억제시켜, 상기 대상이 더 이상 이 증후군으로 진단을 받지 않고/거나 더 이상 비만이 되지 않도록 대상의 체중이 감소되는 것을 의미한다.

[0102] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "예방하다(prevent)" 또는 "예방하는(preventing)" 또는 "예방(prevention)"은 예방적 유효량의 가용성 인자들 및/또는 세포들을 투여하고, 대사 증후군의 발달 또는 진행을 중단 또는 방해 또는 지연시키고/시키거나 비만의 발달을 중단 또는 방해 또는 지연시키는 것을 의미한다.

[0103] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "가용성 인자"는 물 용해성인 STRO-1^+ 세포 및/또는 이의 후손에 의해 생산된, 임의의 분자, 예를 들어, 단백질, 펩티드, 당단백질, 당펩티드, 지질단백질, 지질펩티드, 탄수화물 등을 의미할 때 사용된다. 이런 가용성 인자는 세포내의 것이고/이거나 세포에 의해 분비될 수 있다. 이런 가용성 인자는 복잡한 혼합물(예를 들어, 상층액) 및/또는 이의 분획이고/이거나 정제된 인자일 수 있다. 한 실례에서, 가용성 인자는 상층액내에 포함된다. 따라서, 하나 이상의 가용성 인자의 투여에 관한 본 명세서에서 임의의 실례는 상층액의 투여에 준용될 수 있는 것으로 간주된다.

[0104] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "상층액"은 적합한 배지, 예를 들어, 액상 배지에서 STRO-1+ 세포들 및/또는 이의 후손을 시험관내에서 배양한 후 생성된 비-세포성 물질을 지칭한다. 전형적으로, 상층액은 적합한 조건 및 시간하에 배지에서 세포를 배양하고, 이어서 원심분리와 같은 과정에 의해 세포성 물질을 제거함으로써 생산된다. 상층액은 투여 전 추가 정제 단계를 거치거나 거치지 않을 수 있다. 한 실례에서, 상층액은 10^5개 미만의 세포들, 10^4개 미만, 예를 들어, 10^3개 미만의 세포를 포함하는데, 예를 들어, 살아있는 세포가 없다.

[0105] 본 명세서에서 사용된 것과 같이, 용어 "정상 또는 건강한 개인"은 당분야에 공지된 임의의 방법에 의해 및/또는 본 명세서에서 설명된 방법에 의해 평가될 때 대사 증후군 또는 비만을 겪지 않는 대상을 의미할 때 사용된다. 한 실례에서, "정상 또는 건강한 개인"은 대사 증후군의 임의의 증상을 앓지 않고/거나 35 미만의 BMI를 가진다.

[0106] STRO-1^+ 세포들 또는 후손 세포들, 및 상층액 또는 이들로부터 유도된 하나 이상의 가용성 인자들

[0107] STRO-1^+ 세포는 골수, 혈액, 유치(예를 들어, 벗겨진 유치), 치수 세포, 지방 조직, 피부, 비장, 췌장, 뇌, 신장, 간, 심장, 망막, 뇌, 모낭, 장, 폐, 림프절, 흉선, 골, 인대, 힘줄, 골격근, 피부 및 골막에서 발견되는 세포들이다.

[0108] 한 실례에서, STRO-1^+ 세포는 하나 이상 또는 2개 이상 및/또는 3개의 생식세포주(germ line) 예를 들어, 중배엽(mesoderm) 및/또는 내배엽(endoderm) 및/또는 외배엽(ectoderm)으로 분화될 수 있다.

[0109] 한 실례에서, STRO-1^+ 세포는 지방성, 골질, 연골성, 탄성, 근육성 및 섬유성 연결 조직이 포함되지만 이들에 국한되지 않는 다수의 세포 유형으로 분화할 수 있는 다능성 세포이다. 이들 세포가 들어가는 특정한 계통 결정(lineage-commitment)와 분화 경로는 기계적 영향 및/또는 내인성 생물활성 인자, 예를 들어, 성장 인자, 사이토킨, 및/또는 호스트 조직에 의해 확립된 국소 미세환경 조건(local microenvironmental condition)으로부터의 다양한 영향에 따라 좌우된다. 따라서, STRO-1^+ 다능성 세포는 분열하여 딸 세포를 산출하는 비-조혈성 기원 세포이고, 이들은 줄기 세포이거나, 때가 되면, 비가역적으로 분화하여 표현형 세포를 산출하는 전구 세포이다.

[0110] 한 실례에서, STRO-1^+ 세포는 개체, 예를 들어, 치료되는 개체 또는 관련된 개체 또는 관련 없는 개체(동일한 종 또는 상이한 종인지에 상관없이)로부터 획득된 샘플로부터 농축된다. 본 명세서에서, 용어 "농축(enriching)되는", "농축(enrichment)" 또는 이의 변형은 세포의 처리되지 않은 집단(예를 들어, 고유 환경에서 세포)과 비교할 때, 한 가지 특정 세포 유형의 비율 또는 다수의 특정 세포 유형의 비율이 증가되는 세포 집단을 기술하는데 이용된다. 한 실례에서, STRO-1^+ 세포가 농축된 집단은 약 0.1% 또는 0.5% 또는 1% 또는 2% 또는 5% 또는 10% 또는 15% 또는 20% 또는 25% 또는 30% 또는 50% 또는 75% 이상의 STRO-1^+ 세포들을 포함한다. 이에 대해, 용어 "STRO-1^+ 세포가 농축된 세포 집단"은 "X% STRO-1^+ 세포를 포함하는 세포 집단"에 대한 명백한 뒷받침을 제공하기 위해 사용되며, 이때 X%는 본 명세서에서 언급된 백분율이다. STRO-1^+ 세포들은 일부 실례들에서, 클론생성 콜로니, 예를 들어 CFU-F(섬유아세포)를 형성하고 또는 이의 하위 집단(예를 들어, 50% 또는 60% 또는 70% 또는 70% 또는 90% 또는 95%)은 이 활성을 보유할 수 있다.

[0111] 한 실례에서, 세포 집단은 선택가능한 형태의 STRO-1^+ 세포들을 포함하는 세포 조제물로부터 농축된다. 이 점에 있어서, 용어 "선택가능한 형태"는 이 세포들이 STRO-1^+ 세포들의 선별을 허용하는 마커(예를 들어, 세포 표면 마커)을 발현시킨다는 것으로 이해될 것이다. 이 마커는 STRO-1일 수 있지만, 반드시 그렇지는 않다. 예를 들어, 본 명세서에서 설명된 및/또는 구체화된 것과 같이, STRO-2 및/또는 STRO-3(TNAP) 및/또는 STRO-4 및/또

는 VCAM-1 및/또는 CD146 및/또는 3G5를 발현시키는 세포들(예를 들어, MPC)은 또한 STRO-1을 발현시킨다(그리고, STRO-1^{밝음}일 수 있다). 따라서, 세포들이 STRO-1^{+}라는 표시는 이 세포들이 STRO-1 발현에 의해 선택될 수 있다는 것을 의미하지 않는다. 한 실례에서, 이 세포들은 STRO-3 발현에 의해 선택되는데, 예를 들어, 이들은 STRO-3^{+}(TNAP^{+})이다.

[0112] 세포 또는 이의 집단의 선택에 대한 언급은 특정 조직 원천으로부터의 선택을 요구하지 않는다. 본 명세서에서 기술된 것과 같이, STRO-1^{+} 세포들은 방대한 원천으로부터 선택되거나 단리되거나 농축될 수 있다. 즉, 일부 실례들에서, 이들 용어는 STRO-1^{+} 세포들(예를 들어, MPC) 또는 맥관화된 조직을 포함하는 임의의 조직으로부터 또는 혈관주위세포(예를 들어, STRO-1^{+} 혈관주위세포) 또는 본 명세서에서 언급된 임의의 하나 이상의 조직을 포함하는 것으로부터 선택을 위한 뒷받침을 제공한다.

[0113] 한 실례에서, 본 개시내용의 방법에 이용된 세포는 TNAP^{+}, VCAM-1^{+}, THY-1^{+}, STRO-2^{+}, STRO-4^{+}(HSP-90β), CD45^{+}, CD146^{+}, 3G5^{+} 또는 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 개별적으로 또는 집단적으로 선택되는 하나 이상의 마커를 발현한다.

[0114] "개별적으로"는 본 발명이 언급된 마커 또는 마커의 군을 별도로 포함하고, 개별 마커 또는 마커의 군이 본 명세서에 별도로 열거되지 않았음에도 불구하고, 첨부된 청구항이 이런 마커 또는 마커의 군을 별도로 및 서로로부터 나누어 정의한다는 것을 의미한다.

[0115] "집단적으로"는 본 발명이 임의의 숫자 또는 조합의 언급된 마커 또는 마커의 군을 포함하고, 이런 숫자 또는 조합의 마커 또는 마커의 군이 본 명세서에 구체적으로 열거되지 않았음에도 불구하고, 첨부된 청구범위가 이런 조합 또는 하위-조합을 별도로 및 임의의 다른 조합의 마커 또는 마커의 군으로부터 나누어 정의한다는 것을 의미한다.

[0116] 한 실례에서, STRO-1^{+} 세포는 STRO-1^{밝음}이다. 한 실례에서, STRO-1^{밝음} 세포는 STRO-1^{흐림} 또는 STRO-1^{중간} 세포에 비하여 우선적으로 농축된다.

[0117] 한 실례에서, STRO-1^{밝음} 세포는 추가적으로, TNAP^{+}, VCAM-1^{+}, THY-1^{+}, STRO-2^{+}, STRO-4^{+}(HSP-90P) 및/또는 CD146^{+} 중 하나 이상이다. 예를 들어, 이 세포들은 상기 마커들중 하나 이상에 대해 선택되고/되거나 상기 마커들중 하나 이상을 발현하는 것으로 보인다. 이점에 있어서, 기존에 농축된 또는 단리된 세포들이라기 보다는 명시적으로 테스트할 필요가 없는 마커를 발현하는 것으로 나타난 세포들이 테스트되고, 후속적으로 이용되며, 단리된 또는 농축된 세포들은 동일한 마커를 또한 발현하는 것으로 합당하게 추정될 수 있다.

[0118] 한 실례에서, 간엽성 전구 세포는 제 WO 2004/85630 호에서 정의된 바와 같은 혈관주위 간엽성 전구 세포이다.

[0119] 소정의 마커에 대해 "양성"인 것으로 지칭되는 세포는 마커가 세포 표면 상에 존재하는 정도에 따라, 상기 마커를 낮은(lo 또는 흐림) 또는 높은(밝음) 수준으로 발현할 수 있고, 여기서 이들 용어는 세포의 분류 과정에 이용된 형광 또는 다른 마커의 강도에 관계한다. lo(또는 흐림 또는 둔감) 및 밝음의 구별은 분류되는 특정 세포 집단에서 이용된 마커의 문맥에서 이해될 것이다. 소정의 마커에 대해 "음성"인 것으로 지칭되는 세포는 상기 세포로부터 반드시 완전하게 존재하지 않는 것은 아니다. 이 용어는 마커가 상기 세포에 의해 상대적으로 매우 낮은 수준에서 발현되고, 검출가능하게 표지될 때 매우 낮은 신호를 발생시키거나, 배경 수준, 예를 들어, 아이소타입 대조 항체를 이용하여 검출된 수준 이상으로 검출되지 않는다는 것을 의미한다.

[0120] 본 명세서에서 이용된, 용어 "밝음"은 검출가능하게 표지될 때 상대적으로 높은 신호를 발생시키는 세포 표면 상에 마커를 지칭한다. 이론에 한정됨 없이, "밝음" 세포는 샘플내에 다른 세포보다 표적 마커 단백질(예를 들어, STRO-1에 의해 인식되는 항원)을 더욱 많이 발현하는 것으로 제안된다. 예를 들어, STRO-1^{밝음} 세포는 형광 활성화 세포 분류(FACS) 분석에 의한 측정에서 FITC-접합된 STRO-1 항체로 표지될 때, 비-밝음 세포(STRO-1$^{둔감/흐림}$)보다 더욱 큰 형광 신호를 발생시킨다. 한 실례에서, "밝음" 세포는 출발 샘플내에 포함된 가장 밝게 표지된 골수 단핵 세포 중에서 약 0.1% 이상을 구성한다. 다른 실례들에서, "밝음" 세포는 출발 샘플 내에 포함된 가장 밝게 표지된 골수 단핵 세포 중에서 약 0.1% 이상, 약 0.5% 이상, 약 1% 이상, 약 1.5% 이상, 또는 약 2% 이상을 구성한다. 한 실례에서, STRO-1^{밝음} 세포는 "배경", 다시 말하면, STRO-1^{-} 세포에 비하여, STRO-1 표면

발현의 2 로그 크기(log magnitude) 높은 발현을 갖는다. 그에 비해, STRO-1^{흐림} 및/또는 STRO-1^{중간} 세포는 "배경"보다 STRO-1 표면 발현의 2 로그 크기 미만, 전형적으로 약 1 로그 이하의 보다 높은 발현을 갖는다.

[0121] 본 명세서에서, 용어 "TNAP"는 조직 비-특이적 알칼리성 포스파타아제의 모든 동족체(isoform)를 포함하는 것으로 의도된다. 예를 들어, 용어는 간 동족체(LAP), 골 동족체(BAP) 및 신장 동족체(KAP)를 포함한다. 한 실례에서, TNAP는 BAP이다. 한 실례에서, 본 명세서에서 TNAP는 부다페스트 협약(Budapest Treaty)의 규정 하에 수탁 번호 PTA-7282로 2005년 12월 19일자에 아메리칸 타입 컬쳐 콜렉션(American Type Culture Collection, ATCC)에 기탁된 하이브리도마 세포주에 의해 생산된 STRO-3 항체에 결합할 수 있는 분자를 지칭한다.

[0122] 더 나아가, 바람직한 실례에서, STRO-1^{+} 세포는 클론원성 CFU-F를 발생시킬 수 있다.

[0123] STRO-1^{+} 다능성 세포 중에서 유의미한 부분이 적어도 2가지 상이한 생식세포주로 분화할 수 있는 것이 바람직하다. 다능성 세포가 결정(commitment)될 수 있는 계통의 무제한적 실례에는 골 전구 세포; 담관 상피 세포와 간세포에 대해 다능성인 간세포 기원; 희소돌기아교세포(oligodendrocyte)와 별아교세포(astrocyte)로 진행하는 아교 세포 전구체를 발생시킬 수 있는 신경 국한된 세포; 뉴런으로 진행하는 뉴런 전구체; 심근과 심근세포, 포도당-반응성 인슐린 분비 췌장 베타 세포주에 대한 전구체가 포함된다. 다른 계통에는 치아모세포(odontoblast), 상아질-생산 세포(dentin-producing cell)와 연골세포, 및 망막 색소 상피 세포, 섬유아세포, 피부 세포, 예를 들어, 케라티노사이트, 수상돌기 세포, 모낭 세포, 신관 상피 세포, 평활근과 골격근 세포, 고환 기원(testicular progenitor), 혈관 내피 세포, 힘줄, 인대, 연골, 지방세포, 섬유아세포, 골수 간질, 심근, 평활근, 골격근, 혈관주위, 혈관, 상피, 아교, 뉴런, 별아교 및 희소돌기아교 세포의 전구 세포가 포함되지만 이들에 국한되지 않는다.

[0124] 또다른 실례에서, STRO-1^{+} 세포는 배양 시에, 조혈 세포를 발생시킬 수 없다.

[0125] 한 가지 실례에서, 이들 세포는 치료되는 개체로부터 채취되고, 표준 기술을 이용하여 시험관내에서 배양되고, 자기조직 또는 동종이계 조성물로서 개체에 투여를 위한 상층액 또는 가용성 인자 또는 확대된 세포를 획득하는데 이용된다. 대안적 실례에서, 하나 이상의 확립된 인간 세포주의 세포가 이용된다. 본 개시내용의 또다른 유용한 가지 실례에서, 비-인간 동물의 세포(또는 환자가 인간이 아니면, 다른 종으로부터)가 이용된다.

[0126] 본 개시내용에서는 또한, 시험관내 배양액으로부터 생산되는 STRO-1^{+} 세포 및/또는 이들의 후손 세포(후자는 또한, 확대된 세포로서 지칭됨)로부터 획득되거나 유래되는 상층액 또는 가용성 인자의 이용을 고려한다. 본 발명의 확대된 세포는 배양액 조건(배양 배지에서 자극 인자의 숫자 및/또는 유형 포함), 계대배양(passage)의 횟수 및 이와 유사한 것에 따라, 매우 다양한 표현형을 가질 수 있다. 특정 실례에서, 후손 세포는 모(母) 집단으로부터 약 2, 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 또는 약 10회 계대배양 후 획득된다. 하지만, 후손 세포는 모 집단으로부터 임의의 횟수의 계대배양 후 획득될 수도 있다.

[0127] 후손 세포는 적절한 배지에서 배양함으로써 획득될 수 있다. 세포 배양액과 관련하여 이용될 때, 용어 "배지"는 세포를 둘러싸는 환경의 성분을 포함한다. 배지는 고체, 액체, 기체 또는 상(phase)과 물질(material)의 혼합물일 수 있다. 배지에는 액체 성장 배지(Growth Media)뿐만 아니라 세포 성장을 유지하지 않는 액체 배지가 포함된다. 배지에는 또한, 아교질 배지, 예를 들어, 아가, 아가로오스, 젤라틴 및 콜라겐 매트릭스가 포함된다. 예시적인 기체 배지에는 페트리 접시 또는 다른 고형 또는 반고형 서포트 상에서 성장하는 세포가 노출되는 기체 상(gaseous phase)이 포함된다. 용어 "배지"는 또한, 비록 세포와 아직 접촉되지 않은 경우에도 세포 배양에서 이용이 의도되는 물질을 지칭한다. 다시 말하면, 박테리아 배양액에 대해 제조된 영양소 농축된 액체가 배지이다. 물 또는 다른 액체와 혼합될 때 세포 배양에 적합해지는 분말 혼합물은 "분말 배지"로 명명될 수 있다.

[0128] 한 가지 실례에서, 본 발명의 방법에 유용한 후손 세포는 STRO-3 항체로 표지된 자성 비드를 이용하여 골수로부터 TNAP^{+} STRO-1^{+} 세포를 단리하고, 이후, 단리된 세포를 배양 확대함으로써 획득된다(적절한 배양 조건의 실례를 위해 문헌[Gronthos *et al. Blood 85*: 929-940, 1995]을 참고한다).

[0129] 한 가지 실례에서, 이런 확대된 세포(후손)(예를 들어, 적어도 5회 계대배양 후)는 TNAP^{-}, CC9^{+}, HLA 클래스 I^{+}, HLA 클래스 II^{-}, CD14^{-}, CD19^{-}, CD3^{-}, CD11a-c^{-}, CD31^{-}, CD86^{-}, CD34^{-} 및/또는 CD80^{-}일 수 있다. 하지만, 본 명세서에서 기술된 것들과 상이한 배양 조건 하에, 상이한 마커의 발현이 변할 수도 있다. 또한, 이들 표현형의

세포가 확대된 세포 집단에서 우세할 수 있긴 하지만, 이것은 이러한 표현형을 갖지 않는 적은 부분의 세포가 존재한다는 것을 의미하지 않는다(예를 들어, 확대된 세포 중에서 적은 비율은 $CC9^-$일 수 있다). 한 가지 실례에서, 확대된 세포는 상이한 세포 유형으로 분화하는 능력을 여전히 갖는다.

[0130] 한 가지 실례에서, 상층액 또는 가용성 인자, 또는 세포 그 자체를 획득하는데 이용되는 확대된 세포 집단은 세포 중에서 25% 이상, 예를 들어, 50% 이상이 $CC9^+$인 세포를 포함한다.

[0131] 다른 실례에서, 상층액 또는 가용성 인자, 또는 세포 그 자체를 획득하는데 이용되는 확대된 세포 집단은 세포 중에서 40% 이상, 예를 들어, 45% 이상이 $STRO\text{-}1^+$인 세포를 포함한다.

[0132] 추가의 실례에서, 확대된 세포는 LFA-3, THY-1, VCAM-1, ICAM-1, PECAM-1, P-셀렉틴, L-셀렉틴, 3G5, CD49a/CD49b/CD29, CD49c/CD29, CD49d/CD29, CD90, 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-4(HSP-90P), $STRO\text{-}1^{밝음}$ 및 CD146 또는 이들 마커의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 마커를 집단적으로 또는 개별적으로 발현할 수 있다.

[0133] 한 가지 실례에서, 후손 세포는 제 WO 2006/032092 호에서 정의되고/되거나 기술된 바와 같은 다능성 확대된 $STRO\text{-}1^+$ 다능성 세포 후손(MEMP)이다. 후손이 유래될 수 있는 $STRO\text{-}1^+$ 다능성 세포의 농축된 집단을 제조하는 방법은 제 WO 01/04268 호 및 제 WO 2004/085630 호에서 기술된다. 시험관내 배경에서, $STRO\text{-}1^+$ 다능성 세포는 드물게는, 절대 순수한 조제물로서 존재하고, 일반적으로 조직 특이적 결정된 세포(TSCC)인 다른 세포와 함께 존재할 것이다. 제 WO 01/04268 호에서는 약 0.1% 내지 90%의 순도 수준에서 골수로부터 이런 세포를 수확하는 것을 언급한다. 후손이 유래되는 MPC를 포함하는 집단은 조직 공급원으로부터 직접적으로 수확되거나, 대안으로, 생체 외(*ex vivo*)에서 이미 확대된 집단일 수 있다.

[0134] 예를 들어, 후손은 그들이 존재하는 집단의 전체 세포 중에서 약 0.1, 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 또는 95% 이상을 포함하는, 실질적으로 정제된 $STRO\text{-}1^+$ 다능성 세포의 수확된, 확대되지 않은 집단으로부터 획득될 수 있다. 이러한 수준은 예를 들어, TNAP, STRO-4(HSP-90P), $STRO\text{-}1^{밝음}$, $3G5^+$, VCAM-1, THY-1, CD146 및 STRO-2로 이루어진 군에서 개별적으로 또는 집단적으로 선택되는 하나 이상의 마커에 대해 양성인 세포를 선별함으로써 달성될 수 있다.

[0135] MEMPS는 그들이 마커 $STRO\text{-}1^{밝음}$에 대해 양성이고 마커 알칼리성 포스파타아제(ALP)에 대해 음성인 점에서, 새로 수확된 $STRO\text{-}1^+$ 다능성 세포로부터 구별될 수 있다. 대조적으로, 새로 단리된 $STRO\text{-}1^+$ 다능성 세포는 $STRO\text{-}1^{밝음}$과 ALP 둘 모두에 대해 양성이다. 본 개시내용의 한 가지 실례에서, 투여된 세포 중에서 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 이상은 표현형 $STRO\text{-}1^{밝음}$, ALP^-를 갖는다. 추가 한 가지 실례에서, MEMPS는 마커 Ki67, CD44 및/또는 CD49c/CD29, VLA-3, α3β1 중에서 하나 이상에 대해 양성이다. 또 다른 실례에서, MEMPS는 TERT 활성을 나타내지 않고/거나 마커 CD18에 대해 음성이다.

[0136] $STRO\text{-}1^+$ 세포 출발 집단은 제 WO 01/04268 호 또는 제 WO 2004/085630 호에서 기술된 임의의 하나 이상의 조직 유형, 다시 말하면, 골수, 치수 세포, 지방 조직 및 피부, 또는 아마도 더욱 넓게는, 지방 조직, 치아, 치수, 피부, 간, 신장, 심장, 망막, 뇌, 모낭, 장, 폐, 비장, 림프절, 흉선, 췌장, 골, 인대, 골수, 힘줄 및 골격근으로부터 유래될 수 있다.

[0137] 본 개시내용에 설명된 방법들을 실시함에 있어서, 임의의 소정의 세포 표면 마커를 보유하는 세포의 분리가 다수의 상이한 방법에 의해 달성될 수 있지만, 예시적인 방법은 관련된 마커에 결합제(예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편)의 결합, 그 이후에 높은 수준 결합, 또는 낮은 수준 결합 또는 결합 없음을 나타내는 것들의 분리에 의존하는 것으로 이해될 것이다. 가장 편리한 결합 작용제는 항체 또는 항체-계 분자, 예를 들어, 단클론 항체이거나, 이들 후자 작용제의 특이성으로 인하여 단클론 항체에 기초된 분자(예를 들어, 이의 항원 결합 단편들을 포함하는 단백질들)이다. 항체가 양쪽 단계에 이용될 수 있지만, 다른 작용제가 이용될 수도 있고, 따라서 이들 마커에 대한 리간드는 또한, 그들을 보유하거나, 그들이 없는 세포를 농축하는데 이용될 수 있다.

[0138] 항체 또는 리간드는 조제(粗製) 분리를 가능하게 하는 고형 지지체에 부착될 수 있다. 예를 들어, 분리 기술은 수집되는 분획의 생존능의 유지를 극대화시킨다. 상이한 효능의 다양한 기술이 상대적 조제(粗製) 분리를 달성

하는데 이용될 수 있다. 이용되는 특정 기술은 분리의 효능, 연관된 세포독성, 수행의 용이함과 속도, 및 정교한 장비 및/또는 기술에 대한 필요성에 좌우될 것이다. 분리를 위한 절차에는 항체-코팅된 자성 비드를 이용한 자성 분리, 친화성 크로마토그래피 및 고형 매트릭스에 부착된 항체로 "팬닝(panning)"이 포함되지만 이들에 국한되지 않는다. 정확한 분리를 제공하는 기술에는 FACS가 포함되지만 이에 국한되지 않는다. FACS를 수행하는 방법은 당업자에게 명백할 것이다.

[0139] 본 명세서에서 기술된 각 마커에 대한 항체는 상업적으로 구입가능하고(예를 들어, STRO-1에 대한 단클론 항체는 알 앤드 디 시스템스(R & D Systems, 미국)로부터 상업적으로 구입가능하다), ATCC 또는 다른 기탁 기관으로부터 입수가능하고/하거나 당분야에 인정된 기술을 이용하여 생산될 수 있다.

[0140] 한 실례에서, STRO-1^+ 세포를 단리하는 방법은 예를 들어, STRO-1의 높은 수준 발현을 인식하는 자성 활성화된 세포 분리(MACS)를 이용하는 고형 상 분류 단계인 첫 번째 단계를 포함한다. 제 WO 01/14268 호에서 기술된 바와 같이, 더욱 높은 수준의 전구 세포 발현을 유발하기 위해 요망되면, 두 번째 분류 단계가 뒤따를 수 있다. 이러한 두 번째 분류 단계는 2개 이상의 마커의 이용을 필요로 할 수 있다.

[0141] STRO-1^+ 세포를 획득하는 방법은 또한, 공지된 기술을 이용한 첫 번째 농축 단계 전 이들 세포의 공급원의 수확을 포함할 수 있다. 따라서, 상기 조직은 외과적으로 제거될 것이다. 공급원 조직을 포함하는 세포는 이후, 소위 단일 세포 현탁액 내로 분리될 것이다. 이러한 분리는 물리적 및/또는 효소적 수단에 의해 달성될 수 있다.

[0142] 일단 적절한 STRO-1^+ 세포 집단이 획득되면, 이것은 임의의 적절한 수단에 의해 배양되거나 확대되어 MEMP가 획득될 수 있다.

[0143] 한 가지 실례에서, 이들 세포는 치료되는 개체로부터 채취되고, 표준 기술을 이용하여 시험관내에서 배양되고, 자기조직 또는 동종이계 조성물로서 개체에 투여를 위해 상층액 또는 가용성 인자 또는 확대된 세포를 획득하는데 이용된다. 대안적 실례에서, 확립된 인간 세포주 중에서 하나 이상의 세포는 상층액 또는 가용성 인자를 획득하는데 이용된다. 본 발명의 다른 유용한 실례에서, 비-인간 동물의 세포(또는 환자가 인간이 아니면, 다른 종으로부터)가 상층액 또는 가용성 인자를 획득하는데 이용된다.

[0144] 본 개시내용의 방법 및 용도는 비-인간 영장류 세포, 유제류, 개, 고양이, 토끼목, 설치류, 조류 및 어류 세포가 포함되지만 이들에 국한되지 않는 임의의 비-인간 동물 종으로부터 세포를 이용하여 실시될 수 있다. 본 개시내용의 방법이 실시될 수 있는 영장류 세포에는 침팬지, 비비, 게잡이원숭이, 및 임의의 다른 신세계 또는 구세계 원숭이의 세포가 포함되지만 이들에 국한되지 않는다. 본 개시내용이 실시될 수 있는 유제류 세포에는 소, 돼지, 양, 염소, 말, 물소 및 들소의 세포가 포함되지만 이들에 국한되지 않는다. 본 개시내용이 실시될 수 있는 설치류 세포에는 생쥐, 쥐, 기니 피그, 햄스터 및 게르빌루스 세포가 포함되지만 이들에 국한되지 않는다. 본 개시내용이 실시될 수 있는 토끼목 종의 실례에는 집토끼, 산토끼, 야토, 솜꼬리토끼, 눈신토끼 및 새앙토끼가 포함된다. 닭(갈루스 ㄱ갈루스(*Ilus gallus*))은 본 개시내용이 실시될 수 있는 조류 종의 실례이다.

[0145] 한 실례에서, 세포는 인간 세포들이다.

[0146] 본 발명의 방법에 유용한 세포는 사용에 앞서, 또는 상층액 또는 가용성 인자를 획득하기에 앞서 보관될 수 있다. 진핵 세포, 특히 포유동물 세포의 보존과 보관을 위한 방법과 프로토콜은 당분야에 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Pollard, J. W. and Walker, J. M. (1997) Basic Cell Culture Protocols, Second Edition, Humana Press, Totowa, N.J.]; 및 문헌[Freshney, R. I. (2000) Culture of Animal Cells, Fourth Edition, Wiley-Liss, Hoboken, N.J.]을 참고한다). 단리된 줄기 세포, 예를 들어, 간엽성 줄기/기원 세포, 또는 이의 후손의 생물학적 활성을 유지하는 임의의 방법이 본 발명과 관련하여 이용될 수 있다. 한 가지 실례에서, 이들 세포는 냉동-보존(cryo-preservation)을 이용함으로써 유지되고 보관된다.

[0147] 유전자 조작된 세포

[0148] 한 실례에서, STRO-1^+ 세포 및/또는 이의 후손 세포는 예를 들어, 목적 단백질을 발현시키기 위하여 유전적으로 변형된다. 예를 들어, 대사 증후군 또는 비만의 치료에 유용한 단백질, 예를 들어, 글루카곤 유사 단백질-1(GLP-1) 또는 펩티드 YY(PYY) 또는 이의 활성 단편들(예를 들어, PYY[3-36]), 엑센딘-4 또는 엑세나티드(Exenatide)를 발현시키도록 조작된다.

[0149] 세포를 유전자 조작하기 위한 방법은 당업자에게 명백할 것이다. 예를 들어, 세포내에서 발현되는 핵산은 세포

내에서 발현을 유도하기 위한 프로모터에 작동가능하게 연결된다. 예를 들어, 핵산은 개체의 다양한 세포에서 작동하는 프로모터, 예를 들어, 바이러스 프로모터, 예를 들어, CMV 프로모터(예를 들어, CMV-IE 프로모터) 또는 SV-40 프로모터에 연결된다. 추가 적절한 프로모터는 당분야에 공지되어 있고, 본 개시내용의 현재 실례에 준용될 것이다.

[0150] 한 실례에서, 핵산은 발현 구조체의 형태로 제공된다. 본 명세서에서, 용어 "발현 구조체"는 세포내에서, 발현 구조체가 작동가능하게 연결되는 핵산(예를 들어, 리포터 유전자 및/또는 역-선택가능 리포터 유전자)에 발현을 공여하는 능력을 갖는 핵산을 지칭한다. 본 개시내용의 문맥내에서, 발현 구조체는 이종기원 DNA를 발현가능 형식으로 유지하고/하거나 복제할 수 있는 플라스미드, 박테리오파아지, 파지미드, 코스미드, 바이러스 하위-게놈 또는 게놈 단편, 또는 기타 핵산이거나, 이를 포함할 수 있는 것으로 이해된다.

[0151] 본 개시내용의 실시를 위한 적절한 발현 구조체의 구성을 위한 방법은 당업자에게 명백할 것이고, 예를 들어, 문헌[Ausubel et al (In: Current Protocols in Molecular Biology. Wiley Interscience, ISBN 047 150338, 1987)] 또는 문헌[Sambrook et al (In: Molecular Cloning: Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratories, New York, Third Edition 2001)]에서 기술된다. 예를 들어, 발현 구조체의 각 성분은 예를 들어, PCR을 이용하여 적절한 주형 핵산으로부터 증폭되고, 적절한 발현 구조체, 예를 들어, 플라스미드 또는 파지미드 내로 차후 클로닝된다.

[0152] 이런 발현 구조체에 적합한 벡터는 당분야에 공지되어 있고/거나 본 명세서에서 기술된다. 예를 들어, 포유동물 세포에서 본 발명의 방법에 적합한 발현 벡터는 예를 들어, 인비트로겐(Invitrogen)에 의해 공급된 pcDNA 벡터 스위트의 벡터, pCI 벡터 스위트(프로메가(Promega))의 벡터, pCMV 벡터 스위트(클론텍(Clontech))의 벡터, pM 벡터(클론텍), pSI 벡터(프로메가), VP 16 벡터(클론텍) 또는 pcDNA 벡터 스위트(인비트로겐)의 벡터이다.

[0153] 당업자는 추가 벡터 및 이런 벡터의 공급원, 예를 들어, 라이프 테크놀로지스 코포레이션(Life Technologies Corporation), 클론텍 또는 프로메가를 인지할 것이다.

[0154] 발현을 위한 세포내로 단리된 핵산 분자 또는 이를 포함하는 유전자 구조체를 도입하기 위한 수단은 당업자에게 공지되어 있다. 소정의 생물체에 대해 이용되는 기술은 공지된 성공적인 기술에 좌우된다. 세포내로 재조합 DNA를 도입하기 위한 수단에는 그중에서도 특히, 미세주사, DEAE-덱스트란 매개된 형질감염, 리포좀, 예를 들어, 리포펙타민(깁코(Gibco), 미국 메릴랜드) 및/또는 셀펙틴(cellfectin)(깁코, 미국 메릴랜드)에 의해 매개된 형질감염, PEG-매개된 DNA 흡수, 전기천공(electroporation) 및 예를 들어, DNA-코팅된 텅스텐 또는 금 입자(아그라세투스 인코포레이티드(Agracetus Inc.), 미국 위스콘신주)를 이용한 미세입자 폭발(microparticle bombardment)이 포함된다.

[0155] 대안으로, 본 개시내용의 발현 구조체는 바이러스 벡터이다. 적절한 바이러스 벡터는 당분야에 공지되어 있고 상업적으로 구입가능하다. 핵산의 전달 및 상기 핵산의 호스트 세포 게놈으로의 통합(integration)을 위한 전통적인 바이러스-기초된 시스템에는 예를 들어, 레트로바이러스 벡터, 렌티바이러스 벡터 또는 아데노-연관된 바이러스 벡터가 포함된다. 대안으로, 아데노바이러스 벡터는 에피솜(episome) 상태로 남아있는 핵산을 호스트 세포내로 도입하는데 유용하다. 바이러스 벡터는 표적 세포와 조직에서 유전자 전달의 효율적이고 다재다능한 방법이다. 추가적으로, 높은 형질도입(transduction) 효율이 많은 상이한 세포 유형과 표적 조직에서 관찰되었다.

[0156] 예를 들어, 레트로바이러스 벡터는 일반적으로, 최대 6 내지 10 kb의 외래 서열에 대한 포장 수용력(packaging capacity)을 갖는 시스-작용 긴 말단 반복(long terminal repeat, LTR)을 포함한다. 최소 시스-작용 LTR은 벡터의 복제와 포장에 충분하고, 이것은 이후, 발현 구조체를 표적 세포내로 통합하여 장기 발현을 제공하는데 이용된다. 폭넓게 이용되는 레트로바이러스 벡터에는 뮤린 백혈병 바이러스(MuLV), 긴팔 원숭이 백혈병 바이러스(GaLV), 유인원 면역결핍 바이러스(SrV), 인간 면역결핍 바이러스(HIV), 및 이들의 조합에 기초하는 것들이 포함된다(예를 들어, 문헌[Buchscher *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 *BioTechniques* 7:980-990, 1989; Miller, A. D. *Human Gene Therapy* 7:5-14, 1990; Scarpa *et al Virology* 75:849-852, 1991; Burns *et al. Proc. Natl. Acad. Sci USA* 90:8033-8037, 1993]).

[0157] 핵산 전달을 위해 다양한 아데노-연관된 바이러스(AAV) 벡터 시스템 역시 개발되었다. AAV 벡터는 당분야에 공지된 기술을 이용하여 용이하게 구성될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 제 5,173,414 호 및 제 5,139,941 호;

제 WO 92/01070 호 및 제 WO 93/03769 호; 문헌[Lebkowski *et al. Molec. Cell. Biol.* 5:3988-3996, 1988; Vincent et al. (1990) Vaccines 90 (Cold Spring Harbor Laboratory Press);Carter *Current Opinion in Biotechnology* 5:533-539, 1992; Muzyczka. *Current Topics in Microbiol, and Immunol. 755*:97-129, 1992; Kotin, Human Gene Therapy 5:793-801, 1994; Shelling and Smith *Gene Therapy* 7:165-169, 1994; and Zhou *et al. J Exp. Med. 179*:1867-1875, 1994]을 참고한다.

[0158] 본 발명의 발현 구조체를 전달하는데 유용한 추가 바이러스 벡터에는 예를 들어, 바이러스의 폭스 패밀리(pox family), 예를 들어, 우두 바이러스(vaccinia virus) 및 조류 폭스바이러스(avian poxvirus) 또는 알파바이러스(alphavirus) 또는 접합체 바이러스 벡터로부터 유래된 것들(예를 들어, 문헌[Fisher-Hoch *et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA* 56:317-321, 1989]에서 기술된 것들)이 포함된다.

[0159] 세포 및 가용성 인자의 치료적/예방적 잠재력 분석

[0160] 대사 증후군 또는 비만을 치료 또는 방지 또는 대사 증후군 또는 비만 개시 또는 진행을 지연시키기 위하여 세포들 또는 가용성 인자들의 능력을 측정하는 방법들은 당업자에게 자명할 것이다.

[0161] 예를 들어, 세포들 또는 가용성 인자들 (예를 들어, 인자들의 혼합물 또는 단일 인자 또는 인자들의 분획물(예를 들어, 친화력 정제 또는 크로마토그래피에 의해 유도된))은 대사 증후군 및/또는 비만의 모델에 투여되고, 그리고 하나 또는 그 이상 증상들에 대한 효과가 평가된다.

[0162] 대사 증후군의 예시적인 모델은 고지방을 섭취한 KK/Ta 마우스(문헌[Akagiri et *al., J Clin Biochem Nutr.* 42: 150157, 2008]), C57Bl/6NCrl-Lepr^{db-1b}/Crl 마우스(찰스 리버 래보러토리스(Charles River Laboratories)), 많은 과당을 섭취한 설치류(문헌[Le and Tappy, *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care,* 9: 469-475, 2006]), 많은 설탕을 섭취한 랫(문헌[Coelho *et al., Regulatory Peptides*, 162: 6167, 2010]), 고지방을 섭취한 설치류, 및 고지방 및 고탄수화물을 섭취한 설치류(예를 들어, 문헌[Panchal and Brown, *Journal of Biomedicine and Biotechnology* (2011)]에서 검토된 것과 같이).

[0163] 비만의 예시적인 유전적 모델은 *dbldb* 마우스, *obiob* 마우스, 주커(Zucker) 당뇨성 지방 랫 및 오츠카 롱-에반스 토쿠시마 패티 랫(Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty Rat)을 포함한다.

[0164] 비만이 예시적으로 유도된 모델은 고지방 섭취된 설치류 및/또는 고지방 및 고탄수화물 섭취된 설치류를 포함한다.

[0165] 한 실례에서, 대사 증후군 및/또는 비만의 모델은 고지방 섭취된 인간이 아닌 영장류, 예를 들어, 게잡이원숭이다.

[0166] 본 개시내용은 대사 증후군 또는 비만의 치료, 예방, 또는 지연을 위한 세포 또는 가용성 인자의 확인 또는 단리를 위한 방법을 또한 제공한다는 것은 상기 내용으로부터 당업자에게 자명할 것이며, 상기 방법은 (i) 대사 증후군 및/또는 비만을 앓고 있는 시험 대상에게 세포 또는 가용성 인자를 투여하고, 상기 대상의 대사 증후군 및/또는 체중을 평가하는 단계; 및 (ii) 세포 또는 가용성 인자가 투여되지 않은, 대사 증후군 및/또는 비만을 앓고 있는 대조군 대상에서 대사 증후군의 증상 및/또는 체중을 (i)의 대상의 대사 증후군의 증상 및/또는 체중 수준과 비교하는 단계를 포함하고, 이때 대조군 대상과 비교하여 시험 대상의 증상의 개선 및/또는 감소된 체중은 이 세포 또는 가용성 인자가 대사 증후군 및/또는 이의 비만을 치료한다는 것을 나타낸다.

[0167] 이 세포는 임의의 실시예에 따라 본 개시내용에서 기술된 임의의 세포일 수 있다.

[0168] 예시적인 증상들은 본 개시내용에서 설명된다.

[0169] 세포 조성물

[0170] 본 개시내용의 한 실례에서, STRO-1^{+} 세포 및/또는 이의 후손 세포는 조성물의 형태로 투여된다. 한 실례에서, 이런 조성물은 약학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 포함한다.

[0171] 용어 "담체" 와 "부형제"는 활성 화합물의 보관, 투여, 및/또는 생물학적 활성을 용이하게 하기 위해 당분야에서 편의적으로 이용되는 물질의 조성(composition of matter)을 지칭한다(예를 들어, 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th Ed., Mac Publishing Company (1980)]을 참고한다). 담체는 또한, 활성 화합물의 임의의 바람직하지 않은 부작용을 감소시킬 수 있다. 적절한 담체는 예를 들어 안정적이고, 예를 들면, 담체내의 다른 성분과 반응할 수 없다. 한 실례에서, 담체는 치료에 이용되는 투여량과 농도에서 수용자에서

유의미한 국소 또는 전신 부작용을 발생시키지 않는다.

[0172] 본 개시내용에 적합한 담체는 통상적으로 이용되는 것, 예를 들어, 물, 염수, 수성 덱스트로스, 락토오스, 링거 용액, 완충된 용액, 히알루로난 및 글리콜을 포함하고, 특히 용액(등장성일 때)을 위해 선호되는 액체 담체이다. 적절한 약학적 담체와 부형제에는 전분, 셀룰로오스, 포도당, 락토오스, 수크로오스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 백악, 실리카 겔, 스테아레이트 마그네슘, 스테아레이트 나트륨, 모노스테아레이트 글리세롤, 염화나트륨, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 물, 에탄올 등이 포함된다.

[0173] 또다른 실례에서, 담체는 예를 들어, 세포가 성장되거나 현탁되는 배지 조성물이다. 예를 들어, 이런 배지 조성물은 투여되는 개체에서 임의의 유해한 효과를 유도하지 않는다.

[0174] 예시적인 담체와 부형제는 세포의 생존능 및/또는 대사 증후군 및/또는 비만을 감소, 예방 또는 지연시키는 세포의 능력에 유해한 영향을 주지 않는다.

[0175] 한 가지 실례에서, 담체 또는 부형제는 세포 및/또는 가용성 인자를 적절한 pH에 유지시켜 생물학적 활성을 발휘하도록 하는 완충 활성을 제공하고, 예를 들어, 담체 또는 부형제는 포스페이트 완충된 염수(PBS)이다. PBS는 매력적인 담체 또는 부형제인데, 그 이유는 이것이 세포 및 인자와 최소한으로 상호작용하고 세포 및 인자의 신속한 방출을 가능하게 하기 때문이고, 이런 경우에 본 개시내용의 조성물은, 예를 들어 주사에 의해 혈류에, 또는 조직 또는 조직을 둘러싸거나 조직에 인접한 구역내로 직접 적용을 위한 액체로서 생산될 수 있다.

[0176] STPvO-1^+ 세포 및/또는 이들의 후손 세포는 또한, 수용자-화합성이고 수용자에게 유해하지 않는 산물로 분해되는 골격(scaffold)내에 함입되거나 끼워 넣어질 수 있다. 이들 골격은 수용자 대상내로 이식되는 세포에 대한 지지체와 보호를 제공한다. 천연 및/또는 합성 생물분해성 골격은 이런 골격의 실례이다.

[0177] 다양한 상이한 골격이 본 발명의 실시에 성공적으로 이용될 수 있다. 예시적인 골격에는 생물학적, 분해성 골격이 포함되지만 이들에 국한되지 않는다. 천연 생물분해성 골격에는 콜라겐, 피브로넥틴 및 라미닌 골격이 포함된다. 세포 이식 골격에 적합한 합성 재료는 광범위한 세포 성장과 세포 기능을 지원할 수 있어야 한다. 이런 골격은 또한, 재흡수될 수도 있다. 적절한 골격에는 예를 들어, 문헌[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]에서 기술된 바와 같은 폴리글리콜산 골격; 또는 합성 중합체, 예를 들어, 폴리무수물, 폴리오르토에스테르 및 폴리락트산이 포함된다.

[0178] 또다른 실례에서, 이들 세포는 겔 골격(예를 들어, 업존 캄파니(Upjohn Company)로부터의 겔폼(Gelfoam))에 담겨 투여될 수 있다.

[0179] 본 개시내용에 유용한 세포 조성물은 단독으로, 또는 다른 세포와의 혼합물로서 투여될 수 있다. 본 개시내용의 조성물과 공동으로 투여될 수 있는 세포에는 다능성(multipotent) 또는 만능성(pluripotent) 세포 또는 줄기세포, 또는 골수 세포가 포함되지만 이들에 국한되지 않는다. 상이한 유형의 세포는 투여 직전에 또는 조금 전에 본 발명의 조성물과 혼합되거나, 이들은 투여에 앞서 일정한 기간 동안 함께 공동-배양될 수 있다.

[0180] 한 실례에서, 조성물은 효과량 또는 치료적 또는 예방적 효과량의 세포를 포함한다. 예를 들어, 조성물은 약 1 x 10^5개 STRO-1^+ 세포/kg 내지 약 1 x 10^7개 STRO-1^+ 세포/kg 또는 약 1 x 10^6개 STRO-1^+ 세포/kg 내지 약 5 x 10^6개 STRO-1^+ 세포/kg을 포함한다. 투여되는 세포의 정확한 양은 환자의 연령, 체중과 성별, 및 대사 증후군 및/또는 비만의 정도와 심각도를 비롯한 다양한 인자에 좌우된다.

[0181] 한 실례에서, 낮은 투여량의 세포가 상기 대상에게 투여된다. 예시적인 투여량은 약 0.1 x 10^4 내지 0.5 x 10^6개 세포/kg, 예를 들어, 약 0.1 x 10^5 내지 0.5 x 10^6개 세포/kg, 이를 테면, 약 0.5 x 10^5 내지 0.5 x 10^6개 세포/kg, 예를 들어, 약 0.1 x 10^6 내지 0.5 x 10^6개 세포/kg, 예를 들어, 약 0.2 x 10^6 또는 0.3 x 10^6개 또는 0.4 x 10^6개 세포/kg을 포함한다.

[0182] 일부 실례에서, 세포는 이들 세포가 개체의 순환(circulation)내로 빠져나가는 것을 허용하지 않지만, 이들 세포에 의해 분비되는 인자가 순환내로 들어가도록 허용하는 챔버내에 포함된다. 이러한 방식으로, 가용성 인자는 세포가 이들 인자를 개체의 순환내로 분비하도록 허용함으로써 개체에 투여될 수 있다. 이런 챔버는 가용성 인자의 국소 수준을 증가시키기 위해 개체내의 부위에 동등하게 이식될 수 있고, 예를 들어, 이식된 췌장내에

또는 인근에 이식될 수 있다.

[0183] 본 개시내용의 일부 실례에서, 세포 조성물로 치료의 개시에 앞서 환자를 면역억제하는 것이 필요하거나 바람직하지 않을 수도 있다. 따라서, 동종이계, 또는 심지어 이종 STRO-1^{+} 세포 또는 이의 후손에 의한 이식이 일부 경우에 관용될 수 있다.

[0184] 하지만, 다른 경우들에, 세포 조성물에 대항하여 대상의 면역 반응을 감소시키기 위하여, 세포 요법을 시작하기에 앞서, 환자를 약리학적으로 면역억제하는 것이 바람직하거나 적절할 수 있다. 이것은 전신 또는 국소 면역억제 작용제의 이용을 통해 달성되거나, 캡슐화된 장치에서 세포를 전달함으로써 달성될 수 있다. 세포는 세포 및 세포의 치료 인자에 의해 요구되는 영양소와 산소에 침투성이고, 면역 체액 인자와 세포에 불침투성인 캡슐 내에 캡슐화될 수 있다. 예를 들어, 봉합제(encapsulant)는 저자극성(hypoallergenic)이고, 표적 조직내에 쉽고 안정되게 위치되고, 이식된 구조에 부가된 보호를 제공한다. 이식된 세포에 대한 면역 반응을 감소시키거나 제거하기 위한 이들 수단 및 다른 수단은 당분야에 공지되어 있다. 대안으로서, 이들 세포는 그들의 면역원성을 줄이기 위해 유전자 조작될 수 있다.

[0185] 가용성 인자의 조성물

[0186] 한 실례에서, STRO-1^{+} 세포-유래된 및/또는 후손 세포-유래된 상층액 또는 가용성 인자는 예를 들어, 적절한 담체 및/또는 부형제를 포함하는 조성물의 형태로 투여된다. 한 실례에서, 담체 또는 부형제는 가용성 인자 또는 상층액의 생물학적 효과에 부정적인 영향을 주지 않는다.

[0187] 한 실례에서, 조성물은 상층액의 가용성 인자 또는 성분, 예를 들어, 프로테아제 저해제를 안정화시키는 물질의 조성을 포함한다. 한 실례에서, 프로테아제 저해제는 개체에 대한 유해한 효과가 나타낼 만큼 충분한 양으로 포함되지 않는다.

[0188] STRO-1^{+} 세포-유래된 및/또는 후손 세포-유래된 상층액 또는 가용성 인자를 포함하는 조성물은 예를 들어, 배양액 배지에서 또는 안정된 담체 또는 완충액 용액, 예를 들어, 포스페이트 완충된 염수에서 적절한 액체 현탁액으로서 제조될 수 있다. 적절한 담체는 상기 본 개시내용에서 기술된다. 또다른 실례에서, STRO-1^{+} 세포-유래된 및/또는 후손 세포-유래된 상층액 또는 가용성 인자를 포함하는 현탁액은 주사를 위한 유성 현탁액이다. 적절한 친유성 용매 또는 비히클에는 지방 오일, 예를 들어, 참깨 오일; 또는 합성 지방산 에스테르, 예를 들어, 에틸 올리에이트 또는 트리글리세리드; 또는 리포좀이 포함된다. 주사에 이용되는 현탁액은 또한, 현탁액의 점도를 증가시키는 물질, 예를 들어, 카르복시메틸 셀룰로오스 나트륨, 소르비톨, 또는 덱스트란을 내포할 수 있다. 선택적으로, 현탁액은 또한, 고도로 농축된 용액의 제조가 가능하도록 화합물의 용해도를 증가시키기 위해 적절한 안정화제 또는 작용제를 내포할 수 있다.

[0189] 무균 주사가능 용액은 적절한 용매에서 필요한 양으로 상층액 또는 가용성 인자를 필요에 따라, 앞서 열거된 성분 중에서 한 가지 또는 이들의 조합과 통합하고, 그 이후에 여과된 멸균에 의해 제조될 수 있다.

[0190] 일반적으로, 분산액은 상층액 또는 가용성 인자를 기본 분산 매체 및 앞서 열거된 것들로부터 필요한 다른 성분을 내포하는 무균 비히클내로 통합함으로써 제조된다. 무균 주사가능 용액의 제조를 위한 무균 분말의 경우에, 바람직한 제조 방법은 미리 무균-여과된 용액으로부터 활성 성분 + 임의의 추가 원하는 성분의 분말을 산출하는 진공 건조(vacuum drying) 및 냉동-건조(freeze-drying)이다. 본 개시내용의 대안적 양상에 따라서, 상층액 또는 가용성 인자는 용해성을 증강시키는 하나 이상의 추가 화합물로 조제될 수 있다.

[0191] 다른 예시적인 담체 또는 부형제는 예를 들어, 문헌[Hardman, et al. (2001) Goodman and Gilman's The Pharmaceutical 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]에서 기술된다.

[0192] 치료적 조성물은 전형적으로, 제조와 보관 조건 하에 무균이고 안정되어야 한다. 조성물은 용액, 마이크로에멀젼, 리포좀, 또는 기타 정연한 구조로서 조제될 수 있다. 담체는 예를 들어, 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 및 액상 폴리에틸렌 글리콜 등), 및 이들의 적절한 혼합물을 내포하는 용매 또는

분산 매체일 수 있다. 적절한 유동성(fluidity)은 예를 들어, 레시틴과 같은 코팅의 이용에 의해, 분산액의 경우에 필요한 입자 크기의 유지에 의해, 그리고 계면활성제의 이용에 의해 유지될 수 있다. 일부 경우들에서, 조성물내에 등장성 작용제, 예를 들어, 당, 다가알코올, 예를 들어, 만니톨, 소르비톨, 또는 염화나트륨을 포함하는 것이 바람직할 것이다. 주사가능 조성물의 연장된 흡수는 흡수를 지연시키는 작용제, 예를 들어, 모노스테아레이트 염과 젤라틴을 조성물내에 포함함으로써 달성될 수 있다. 게다가, 가용성 인자는 시한 방출 제제(time release formulation), 예를 들어, 느린 방출 중합체(slow release polymer)를 포함하는 조성물에 담겨 투여될 수 있다. 활성 화합물은 급속한 방출로부터 화합물을 보호하는 담체로, 이식물 및 미세캡슐화된 전달 시스템(microencapsulated delivery system)을 비롯한 방출 제어형 제제(controlled release formulation)로서 제조될 수 있다. 생물분해성, 생체적합성 중합체, 예를 들어, 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리무수물, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르, 폴리락트산 및 폴리락틱, 폴리글리콜릭 공중합체(PLG)가 이용될 수 있다. 이런 제제의 제조를 위한 많은 방법이 특허되었거나, 당업자에게 일반적으로 공지되어 있다.

[0193] 상층액 또는 가용성 인자는 예를 들어, 가용성 인자의 느린 방출을 제공하기 위해 적절한 매트릭스와 공동으로 투여될 수 있다.

[0194] 조성물의 추가 성분들

[0195] STRO-1$^+$ 세포-유도된 상층액 또는 가용성 인자들, STRO-1$^+$ 세포들 또는 이의 후손은 다른 유익한 약물들 또는 생물학적 분자들(성장 인자들, 영양에 관한 인자들)과 함께 투여될 수 있다. 다른 물질들과 함께 투여될 때, 이들은 단일 약학 조성물 안에서 함께 투여될 수 있거나, 별도의 약학 조성물로서, 다른 물질들과 동시에 또는 순차적으로(다른 물질들의 투여 전 또는 후) 투여될 수 있다. 함께 투여될 수 있는 생활성 인자들은 항-자가사멸제(apoptotic agent)(예를 들어, EPO, EPO 미메티바디(mimetibody), TPO, IGF-I 및 IGF-II, HGF, 카스파제 억제제들); 항-염증성 물질(예를 들어, p38 MAPK 억제제들, TGF-베타 억제제들, 스타틴, IL-6 및 IL-1 억제제들, 페미롤라스트(PEMIROLAST), 트라닐라스트(TRANILAST), 레미케이드(REMICADE), 시롤리무스(SIROLIMUS), 및 NSAID(비-스테로이드성 항-염증성 약물들; 예를 들어, 테폭살린(TEPOXALIN), 톨메틴(TOLMETIN), 수프로펜(SUPROFEN)); 면역억제성/면억조절성 물질들(예를 들어, 칼시뉴린 억제제들, 예를 들어 사이클로스포린, 타크로리무스); mTOR 억제제(예를 들어, 시롤리무스(SIROLIMUS), 에버롤리무스(EVEROLIMUS)); 항-증식제(예를 들어, 아자티오프린, 미코페놀레이트 모페틸); 코르티코스테로이드(예를 들어, 프레디니솔론, 하이드로코르티손); 항체들 이를 테면, 단클론 항-IL-2R알파 수용체 항체들(예를 들어, 바실리시마브, 다클리주마브), 다클론성 항-T-세포 항체들(예를 들어, 항-흉선세포 글로블린(ATG); 항-임파세포 글로블린(ALG); 단클론 항-T 세포 항체 OKT3)); 항-트롬보겐 물질들(예를 들어, 헤파린, 헤파린 유도체들, 유로키나제, PPack(덱스트로페닐알라닌 프롤린 아르기닌 클로로메틸케톤), 항트롬빈 화합물들, 혈소판 수용체 길항물질들, 항-트롬빈 항체들, 항-혈소판 수용체 항체들, 아스피린, 디피리다몰 프로타민, 히루딘, 프로스타글란딘 억제제들, 및 혈소판 억제제들); 및 항-산화제(예를 들어, 프로부콜, 비타민 A, 아스코르브산, 토코페롤, 코엔자임 Q-10, 글루타티온, L-시스테인, N-아세틸시스테인), 및 국소 마취제를 포함한다.

[0196] 한 실례에서, 임의의 실례에 따라 본 개시내용에서 설명된 조성물은 본 개시내용에서 설명된 것과 같이 대사 증후군 및/또는 비만의 치료 또는 예방을 위한 추가 인자, 예를 들어, 스타틴을 포함한다.

[0197] 대안으로, 또는 추가적으로, 임의의 실례에 따라 본 개시내용에 설명된 것과 같이, 세포들, 분비된 인자들 및/또는 조성물은 임의의 대사 증후군 및/또는 비만의 공지된 치료와 조합된다.

[0198] 한 실례에서, 임의의 실시예에 따라 본 개시내용에서 설명된 것과 같이 약학 조성물은 대사 증후군 치료 및/또는 비만에 이용된 화합물을 포함한다. 대안으로, 본 개시내용의 임의의 실시예에 따라 설명된 것과 같이 치료/예방 방법은 대사 증후군 치료 및/또는 비만에 이용되는 화합물의 투여를 포함한다. 예시적인 화합물들이 본 개시내용에 설명되며, 이들은 본 개시내용의 이들 실례에 필요한 변경에 의해 적용될 수 있다.

[0199] 또다른 실례에서, 임의의 실례에 따라 본 개시내용에서 설명된 조성물은 선조 세포가 맥관 세포로의 분화를 유도 또는 강화시키는 인자를 추가적으로 포함한다. 예시적인 인자들은 맥관 내피 성장 인자(VEGF), 혈소판 유도된 성장 인자 (PDGF; 예를 들어, PDGF-BB), 및 FGF를 포함한다.

[0200] 또다른 실례에서, 임의의 실시예에 따라 본 개시내용에서 설명된 조성물은 조직 특이적 결정된(committed) 세포(TSCC)를 추가적으로 포함한다. 이 점에 있어서, 국제 특허 출원 제 PCT/AU2005/001445 호는 TSCC 및 STRO-1$^+$ 세포들의 투여가 TSCC의 강화된 증식을 유도할 수 있다고 설명한다. 한 실례에서, TSCC는 맥관 세포이다. 대상으로의 이러한 조성물의 투여는 맥관 구조의 증가된 생산, 예를 들어, 병에 걸린 조직으로 운반될 영양분의

증가로 이어질 수 있다.

[0201] 의료 장치

[0202] 본 개시내용은 임의의 실례에 따른 본 명세서에서 기술된 방법에 사용하기 위한 의료 장치를 또한 제공한다. 예를 들어, 본 개시내용은 임의의 실례에 따라 본 개시내용에서 설명된 것과 같은 STRO-1$^+$ 세포들 및/또는 이의 후손 세포들 및/또는 이들로부터 얻은 가용성 인자들을 포함하는 주사기 또는 카테터 또는 다른 적합한 운반 장치를 제공한다. 선택적으로, 주사기 또는 카테터는 임의의 실례에 따른 본 명세서에서 기술된 방법에 사용하기 위한 지침과 함께 포장된다.

[0203] 또다른 실례에서, 본 개시내용은 임의의 실례에 따라 본 개시내용에서 설명된 것과 같은 STRO-1$^+$ 세포들 및/또는 이의 후손 세포들 및/또는 이들로부터 얻은 가용성 인자들을 포함하는 이식물을 제공한다. 선택적으로, 이식물은 임의의 실례에 따른 본 명세서에서 기술된 방법에 사용하기 위한 지침과 함께 포장된다. 적합한 이식물은 상기 본 개시내용에서 설명된 것과 같이 골격과 STRO-1$^+$ 세포들 및/또는 이의 후손 세포들 및/또는 이들로부터 얻은 가용성 인자들로 형성될 수 있다.

[0204] 투여 방식

[0205] STRO-1$^+$ 세포-유래된 상층액 또는 가용성 인자, STRO-1$^+$ 세포 또는 이의 후손은 외과적으로 이식되거나, 주사되거나, 전달되거나(예를 들어, 카테터 또는 주사기에 의해), 또는 수복 또는 증가가 요구되는 부위, 예를 들어, 지방 패트로 직접적으로 또는 간접적으로 달리 투여될 수 있다.

[0206] 한 실례에서, STRO-1$^+$ 세포-유래된 상층액 또는 가용성 인자, STRO-1$^+$ 세포 또는 이의 후손은 대상의 혈류로 전달된다. 예를 들어, STRO-1$^+$ 세포-유래된 상층액 또는 가용성 인자, STRO-1$^+$ 세포 또는 이의 후손은 비경구 전달된다. 비경구 투여의 예시적인 루트에는 복막내, 심실내, 뇌실내, 척수강내 또는 정맥내가 포함되지만 이들에 국한되지 않는다. 한 실례에서, STRO-1$^+$ 세포-유래된 상층액 또는 가용성 인자, STRO-1$^+$ 세포 또는 이의 후손은 동맥내, 대동맥내, 심장의 심방 또는 심실내, 혈관, 예를 들어, 정맥내로 전달된다.

[0207] 심장의 심방 또는 심실로의 세포 전달의 경우에, 세포는 폐에 세포의 급속한 전달로부터 발생할 수 있는 합병증을 피하기 위해 왼쪽 심방 또는 심실에 투여될 수 있다.

[0208] 한 실례에서, STRO-1$^+$ 세포-유래된 상층액 또는 가용성 인자, STRO-1$^+$ 세포 또는 이의 후손은 정맥내로 전달된다.

[0209] 한 실례에서, STRO-1$^+$ 세포-유래된 상층액 또는 가용성 인자, STRO-1$^+$ 세포 또는 이의 후손은 예를 들어, 주사기를 이용하여, 또는 카테터 또는 중심선(central line)을 통해 전달 부위내로 주사된다.

[0210] 치료적 제제에 대한 투여 섭생의 선별은 독립체의 혈청 또는 조직 회전율(turnover rate), 증상의 수준, 및 독립체의 면역원성(immunogenicity)을 비롯한 여러 인자에 좌우된다. 바람직하게는, 투여 섭생은 허용되는 수준의 부작용과 일관되게, 환자의 전달되는 치료적 화합물의 양을 극대화시킨다. 따라서 전달되는 제제의 양은 특정 독립체 및 치료되는 질환의 심각도에 부분적으로 좌우된다.

[0211] 한 실례에서, STRO-1$^+$ 세포-유래된 상층액 또는 가용성 인자, STRO-1$^+$ 세포 또는 이의 후손은 단일 일시주사 투여량(single bolus dose)으로서 전달된다. 대안으로, STRO-1$^+$ 세포-유래된 상층액 또는 가용성 인자, STRO-1$^+$ 세포 또는 이의 후손은 연속 주입(continuous infusion)에 의해, 또는 예를 들어, 하루, 1주 또는 1 주당 1 내지 7회의 간격의 투여량에 의해 투여된다. 예시적인 투여 프로토콜은 유의미한 원치 않는 부작용을 회피하는 최대량 또는 투약 빈도(dose frequency)를 수반하는 것이다. 총 주간 투여량은 이용되는 화합물의 유형과 활성에 좌우된다. 적절한 투여량의 결정은 예를 들어, 치료에 영향을 주거나, 치료에 영향을 줄 것으로 예측되는 당분야에서 공지되거나 예상되는 파라미터 또는 인자를 이용하여 임상의에 의해 만들어진다. 일반적으로, 투여는 최적 투여량(optimum dose)보다 다소 적은 양으로 시작되고, 그 이후 임의의 부정적인 부작용에 비하여 원하는 또는 최적 효과가 달성될 때까지 작은 증분에 의해 증가된다.

[0212] 본 발명자들은 STRO-1$^+$ 세포들 및/또는 이의 후손 및/또는 이들로부터 유도된 가용성 인자들에 의해 제공되는

치료 효과는 대상에서 적어도 4주간 관찰된다는 것을 보여주었다. 따라서, 일부 실례들에서 세포들은 주당, 격주로, 3주에 한번 또는 4주에 한번 투여된다.

[0213] 대사 증후군 및/또는 비만의 치료 또는 진행을 지연시키기 위한 본 개시내용의 실례에 따르면, STRO-1^+ 세포들 및/또는 이의 후손 세포들 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자들은 예를 들어, 당 분야에 공지된 표준 방법들 및/또는 본 개시내용에서 설명된 방법들을 이용하여 질환의 진단 후 투여된다.

[0214] 대사 증후군 및/또는 비만을 예방하거나 개시를 지연시키는 이들 실례의 경우, STRO-1^+ 세포들 및/또는 이의 후손 세포들 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자들은 질환의 임상전 진단에 앞서 투여될 수 있다.

[0215] 본 개시내용은 다음의 비-제한적 실시예들을 포함한다.

[0216] **실시예**

[0217] 실시예 1: STRO-3^+ 세포의 선별에 의한 MPC의 면역선별

[0218] 골수(BM)는 건강한 정상 성인 지원자(20 내지 35세 연령)로부터 수확되었다. 간단히 말하면, 40 mL의 BM이 후장골극(posterior iliac crest)으로부터 리튬-헤파린 항응혈약-내포 튜브내로 흡출된다.

[0219] BMMNC는 기존 문헌[Zannettino, A.C. *et al.* (1998) *Blood* 92: 2613-2628]에서 기술된 바와 같이, 림포프렙(Lymphoprep, 상표)(나이콤드 파마(Nycomed Pharma), 노르웨이 오슬로)을 이용한 밀도 구배 분리에 의해 제조된다. 4℃에서 30분 동안 400 x g에서 원심분리 이후에, 연층(buffy layer)은 이전 피펫(transfer pipette)으로 제거되고, 5% 소 태아 혈청(FCS, 씨에스엘 리미티드(CSL Limited), 오스트레일리아 빅토리아)을 내포하는 행크(Hank) 균형 염 용액(HBSS; 라이프 테크놀로지스, 미국 메릴랜드주 게터스버그)으로 구성되는 "HHF"에서 3회 세척된다.

[0220] STRO-3^+(또는 $TNAP^+$) 세포는 기존 문헌[Gronthos *et al.* (2003) *Journal of Cell Science* 116: 1827-1835; Gronthos, S. and Simmons, P.J. (1995) *Blood* 85: 929-940]에서 기술된 바와 같이, 자성 활성화 세포 분리에 의해 차후 단리되었다. 간단히 말하면, 대략 1 내지 3 x 10^8 BMMNC는 HHF에서 10%(v/v) 정상 토끼 혈청으로 구성되는 차단 완충액에서, 얼음 위에서 20분 동안 배양되었다. 이들 세포는 차단 완충액에서 STRO-3 mAb의 10 ㎍/mL 용액 200 ㎕와 함께, 얼음 위에서 1시간 동안 배양된다. 이들 세포는 400 x g에서 원심분리에 의해 HHF에서 차후 2회 세척된다. HHF 완충액에서 1/50 희석의 염소 항-생쥐 γ-비오틴(써던 바이오테크놀로지 어쏘시에이트스(Southern Biotechnology Associates), 영국 버킹햄)이 첨가되고, 이들 세포는 얼음 위에서 1시간 동안 배양된다. 세포는 MACS 완충액(1% BSA, 5 mM EDTA 및 0.01% 나트륨 아지드로 보충된 Ca^{2+}-부재 및 Mn^{2+}-부재 PBS)에서 상기와 같이 2회 세척되고 0.9 mL MACS 완충액의 최종 부피에서 재현탁되었다.

[0221] 100 ㎕ 스트렙타비딘 마이크로비들(밀테니 바이오텍(Miltenyi Biotec); 독일 베르기쉬 글라드바흐)이 세포 현탁액에 첨가되고 얼음 위에서 15분 동안 배양된다. 세포 현탁액은 2회 세척되고, 0.5 mL의 MACS 완충액에서 재현탁되고, 미니 MACS 칼럼(엠에스 칼럼스(MS Columns), 밀테니 바이오텍) 위에 차후 적하되고, STRO-3 mAb(수탁번호 PTA-7282로 2005년 12월 19일자에 ATCC에 기탁됨 - 제 WO 2006/108229 호를 참고한다)에 결합하지 않은 세포를 회수하기 위해 0.5 mL MACS 완충액으로 3회 세척된다. 추가의 1 mL MACS 완충액의 첨가 후, 칼럼은 자석으로부터 제거되고, $TNAP^+$ 세포는 정압(positive pressure)에 의해 단리된다. 각 분획으로부터의 세포의 분취량은 스트렙타비딘-FITC로 염색될 수 있고, 순도는 유세포분석법에 의해 평가될 수 있다.

[0222] 실시예 2: STRO-3 mAb에 의해 선별된 세포는 STRO-$1^{밝음}$ 세포이다

[0223] 세포 STRO-$1^{밝음}$ 세포를 단리하기 위한 단일 반응물로서 STRO-3 mAb를 이용하는 잠재력을 확증하기 위한 실험이 설계되었다.

[0224] STRO-3(IgG1)은 STRO-1(IgM)의 것과 상이한 아이소타입이라는 점을 고려하여, 클론원성 CFU-F를 확인하는 STRO-3의 능력은 MACS 절차를 이용하여 단리된 STRO-1^- 세포와의 공동-발현에 기초하여 이중-칼라 FACS 분석에 의해 평가되었다(도 1). 점도표 히스토그램은 리스트모드 데이터로서 수집된 5 x 10^4개 사건을 나타낸다. 수직선과 수평선은 동일한 조건 하에 처리된 아이소타입-정합된 대조 항체, 1B5(IgG)와 1A6.12(IgM)로 획득된 < 1.0% 평

균 형광의 반응성 수준으로 설정되었다. 이들 결과는 STRO-1^{밝음} 세포의 소수 집단이 TNAP(위쪽 오른쪽 사분면)를 공동-발현하지만, 나머지 STRO-1^{+} 세포가 STRO-3 mAb와 반응하지 않는다는 것을 증명한다. 4개의 사분면 모두로부터 FACS에 의해 단리된 세포는 CFU-F의 발생에 대해 차후 검정되었다(표 1).

표 1

세포 표면 마커 STRO-1과 TNAP의 공동-발현에 기초된 이중-칼라 FACS 분석에 의한 인간 골수 세포의 농축(도 1을 참고한다). FACS 분류된 세포는 20% FCS로 보충된 알파 MEM에서 표준 클론원성 조건 하에 배양되었다. 상기 데이터는 도말된 10^5 세포당 14일 집락-형성 세포(CFU-F)의 평균 숫자 ± SE(n=3 상이한 골수 흡입물)를 나타낸다. 이들 데이터는 인간 MPC가 STRO-1 항원을 밝게 공동-발현하는 BM의 TNAP 양성 분획에 배타적으로 국한된다는 것을 암시한다.

[0225]

골수 분획	CFU-F/10^5 세포들의 빈도	농축(증가 배수)
분획화안된 BMMNC	11.0 ± 2.2	1.0
TNAP^{+}/STRO-1^{밝음}	4,511 ± 185	410
TNAP^{+}/STRO-1^{흐림}	0.0	0.0

[0226] 실시예 3: 게잡이원숭이 STRO-3^{+} MPC의 특징

[0227] 원숭이 골수 선조 세포(게잡이원숭이로부터; cyno-MPC)는 암컷 마카카 파시쿨라리스(*Macaca fascicularis*)로부터 수집된 골수 흡출물 약 15 mL로부터 단리되었다. 골수 흡출물 현탁액은 피콜(Ficoll) 기울기를 이용하여 단리되었고, 비-핵형성 세포들(적색 혈액 세포들)을 제거하기 위하여 세척되었다. 핵형성 세포들을 헤아리고, CA12 항체(항-STRO-3)와 다이날비드(Dynalbead)의 부착에 의해 분리되었다. 부착된 항체 및 비드와 함께 있는 세포들은 MPC-1 자석의 자장에서 양성적으로 선택되었다. 양성 선택된 세포들을 헤아리고, 성장 배지에서 계대(p.) 0에서 T-플라스크에 접종시켰다. 사전-선택, 양성, 및 음성 세포들을 콜로니 형성 분석(CFU-F)에 이용하였다.

[0228] cyno-MPC 세포들에게 성장 배지를 공급하였다. 모든 배양물(p.0 - p.5)은 이들이 원하는 합류에 도달될 때까지 2 내지 4일마다 공급을 받았다. 그 다음 세포들은 계대배양되고 HBSS 세척에 의해 수확되고, 그 다음 콜라게나제, 및 트립신/베르센(Trypsin/Versene)을 이용하여 공격되었다. p.1 세포들을 헤아리고, T-플라스크 안에 접종되었다. p.1 cyno-MPC이 원하는 합류에 도달될 때, 이 세포들은 수확되고, 그리고 제어된 속도 냉동기를 이용하여 냉동보존되었다.

[0229] 계대 1 냉동보존된 cyno-MPC를 해동시키고, T-플라스크(p.2) 안에 접종되었다. p.2 세포들은 p.3에서 셀 팩토리(Cell Factory)로 계대되었다. p.3 세포들은 수확되고, 셀 팩토리 안으로 p.4로 계대되었다. 여분의 p.3 세포들은 냉동보존되었다. p.4 세포들은 p.5에서 6 x 셀 팩토리로 계대되었다. p.5 cyno-MPC가 원하는 합류에 도달되었을 때, 이 세포들은 수확되었고, 제어된 속도 냉동기를 이용하여 냉동보존되었다. 세포들은 50% 알파 MEM, 42.5% 프로프리즈(Profreeze), 및 7.5% DMSO에서 냉동보존되었다. 샘플은 CFU-F 분석, FACS, 무균성, 미코플라즈마, 및 엔도톡신에 대해 시험되었다.

[0230] 배양된 cyno-MPC의 면역표현형의 대표적인 유동세포 분석의 결과는 도 2에 나타낸다. 나타낸 것과 같이, 이들

세포들은 STRO-1^{+}, STRO-4^{+} 및 CD146^{+}이다.

[0231] p5의 Cyno MPC는 해동되었고, 실시예 4에서 기술된 것과 같이, 당뇨성 및 비-당뇨성 게잡이원숭이의 정맥 주사용으로 이용되었다.

[0232] 실시예 4: STRO-3 MPC는 낮은 투여량에서 대사 증후군 및 비만의 치료에 효과적이다

[0233] 치료용으로 5마리 게잡이원숭이를 선택하였다. 이 원숭이들은 당뇨성 대사 증후군(체질량 지수 > 35, 트리글리세리드 > 75 mg/dL 및 낮은 HDL 수준)을 보유하였다. 공복 포도당 수준, 공복 인슐린 수준, 및 정맥내 내당능 테스트(IVGTT) 이후 인슐린/포도당 반응에 기초하여 당뇨병의 명백한 증상들에 대해 1개월 기간을 통하여 원숭이들은 평가되었다. 5마리 중 3마리 원숭이는 당뇨병을 가진 것으로 확인되었다(월 평균 공복 포도당 > 110). 원숭이들의 기준 특징은 표 2에 나타내었다.

표 2

당뇨성 및 비-당뇨성 동물들의 특징

[0234]

특징	비-당뇨성 (n=2)	당뇨성 (n=3)
체중 (kg)	7.8	9.0
공복 포도당 (mg/dL)	92	140
공복 인슐린 (mU/L)	45	28
트리글리세리드 (mg/dL)	25	18
지단백질 지수	0.6	0.3

[0235] 원숭이들을 집단 1, 2 또는 3으로 할당하였다. 동물들은 동종이계 MPC(실시예 2에서 설명된 것과 같이 단리된)의 단일 서행 정맥내(IV) 주입을 다음과 같이 명시된 투여량으로 머리 정맥 또는 적합한 주변 정맥 안으로 제공받았다(투여량은 기록된 최종 체중에 따라 조정되었다):

표 3

치료 집단의 요약

[0236]

군	용량 수준	용량 MPC/kg	경로
1	낮음	$0.3x10^{6}$	IV
2	중간	1×10^{6}	IV
3	높음	2×10^{6}	IV

[0237] 3개월 동안 원숭이들은 동일 투여량에서 2번째 MPC 주입을 제공받았다.

[0238] 첫 주입 후 6개월에 걸쳐, 원숭이들은 체중, 지질 프로파일, 공복 혈액 포도당 수준, 공복 혈액 인슐린 수준, 및 IVGTT에 대한 포도당 및 인슐린 반응에 대해 2주마다 평가를 받았다.

[0239] 결과

[0240] 도 3은 당뇨성 동물이 MPC의 주입 전 포도당 로딩에 대한 후기 단계 인슐린 반응에서 결점을 보인다는 것을 설명한다.

[0241] 도 4에 나타난 결과에서 비-당뇨성 동물들에서, 제 1 투여량의 MPC는 인슐린 반응에서 중간 수준의 변화를 유도하고, 제 2 투여량에서 3개월 동안(예를 들어, 4내지 6월) 지속적인 심층 인슐린 반응을 유도하였다는 것을 보여준다. 당뇨성 집단에서 제 1과 제 2 MPC 투여량은 6개월간 지속되는 증가된 인슐린 반응을 순차적으로 설명하였다. 이들 데이터는 당뇨성 및 중간 수준의 당뇨성 동물들에서 포도당 로딩 후 인슐린 반응의 유도에 의해 설명된 것과 같이 췌장 베타-세포 기능을 개선시킬 수 있다는 것을 뒷받침한다.

[0242] 도 5에 나타난 개별 동물 데이터와 일관되게, 도 5(패널 a)에서 비-당뇨성 동물에 대한 집단 데이터는 제 2 MPC 주입이 3개월(예를 들어, 4 내지 6월) 동안 지속되었던 심층 인슐린 반응을 유도하였다. 이는 도 5(패널 b)에서 확증되는데, 이 도면에서 제 2 MPC 주입 후 후기 단계 인슐린 반응에서 50 내지 100% 유도가 있음을 보여준

다.

[0243] 그러나, 도 5(패널 a)에서, 풀링된 당뇨성 집단 데이터는 제 1과 제 2 MPC 투여량이 6개월간 지속되었던 후기 단계 인슐린 반응을 순차적으로 증가시켰다는 것을 보여준다. 제 1 과 제 2 MPC 주입 후 후기 단계 인슐린 반응에서 각각 40 내지 75% 및 75 내지 175% 증가가 관찰되었다. 이들 데이터는 MPC의 연속 투여량이 포도당 로딩 후 후기 단계 인슐린 반응을 유도한다는 것을 뒷받침한다.

[0244] MPC 치료는 또한 비-당뇨성 동물에서 제 1 및 제 2 MPC 치료 후 포도당 청소률의 증가를 또한 초래하였다(도 6). 예를 들어, 제 2 투여량은 3개월(예를 들어, 4 내지 6월) 동안 지속적인 반응을 유도하였다. 추가로, 당뇨성 동물들에서, 제 1 과 제 2 MPC 투여량은 6개월 동안 지속되는 포도당 청소율의 증가된 속도를 설명하였다. 이들 데이터는 도 4와 5에서 설명된 것과 같이, 포도당 로딩 후 후기 단계 인슐린 반응에서 유도가 도 6에 나타낸 치료 전 기준선 값과 비교하여 MPC 치료 후 포도당 청소율의 증가에 원인이 된다는 것을 나타낸다.

[0245] 제 1과 제 2 MPC 치료 후 비-당뇨성 집단에서 포도당 청소의 증가된 속도가 또한 관찰되었다(도 7 패널 a). 이 증가는 도 7(패널 b)에서 포도당 청소에서 평균 변화 비율로 나타낸다(1 내지 3월의 경우 5 내지 10% 대 4 내지 6월의 경우 15 내지 25%).

[0246] 당뇨성 집단의 경우, 제 1 및 제 2 MPC는 도 7(패널 b)에 나타낸 것과 같이 기준선과 비교하여 10 내지 20%에서 6개월 동안 지속되는 포도당 청소율의 일정하게 증가된 속도를 순차적으로 설명하였다. 연속적인 MPC 치료들은 iv 포도당 로딩 후 포도당 청소율에서 점진적 증가를 유도한다는 것을 이들 데이터는 나타낸다.

[0247] MPC의 투여는 또한 월평균 혈액 포도당 수준에서 지속적인 감소를 유도하고, 공복 인슐린 수준을 개선시킨다는 것을 보여주었다(도 8). 비-당뇨성 동물 #1880(기준선 80 mg/dL)에서 MPC의 제 1 투여는 공복 포도당 수준의 감소를 초래하였다. 동물 #1880은 또한 제 1 투여 후 공복 인슐린 수준이 감소됨을 보여주었다.

[0248] 동물 #3351은 제 2 MPC 투여의 2개월 째 후 공복 BGL의 감소를 보여주었다. 이 동물(MPC 요법 전 기준선에서 과다인슐린증이었음)은 MPC 주입 후 6개월 동안 인슐린 수준의 정상화를 보여주었다.

[0249] 모든 당뇨성 동물은 치료 이전 기선과 비교하였을 때 MPC 치료 값 후 공복 BGL에서 심층 감소(6개월 동안 지속적으로 기준선 이하)를 나타내었다. 이들 데이터는 MPC 치료가 월 평균 혈액 포도당 수준에서 지속적인 감소를 유도한다는 것을 설명한다.

[0250] 도 9는 비-당뇨성 집단에서, 제 1 및 제 2 MPC 투약이 MPC 치료 전의 기준선 값들과 비교하여 공복 포도당 수준의 감소를 초래하였다는 것을 보여준다. MPC 주입 후, 6개월 동안 인슐린 수준의 지속적인 정상화가 또한 있었다. 당뇨성 집단에서, 치료 전 기준선 값과 비교하였을 때, MPC 치료 후 공복 BGL에서 심층 감소가 있었고, 기준선 아래로 6개월 동안 지속되었다. 더욱이, 당뇨성 집단에서, 제 1 MPC는 치료 전 기준선 값과 비교하여 공복 인슐린 수준을 감소시켰다. 이들 데이터는 MPC 치료가 월 평균 공복 혈액 포도당 수준에서 지속적인 감소를 유도한다는 것을 설명한다. 대사 증후군을 앓고 있는 비-당뇨성 동물에서 6개월 동안 공복 인슐린 수준의 지속적인 감소가 있었고, 이 효과는 당뇨성 군에서 3개월 동안 일시적이었다.

[0251] 도 9(a)는 비-당뇨성 동물과 당뇨성 동물 모두에서 월 평균 체중 변화를 보여준다. MPC 치료 전 1개월과 치료 후 6개월 시점에 비-당뇨성 동물과 당뇨성 동물에서 개별 데이터를 나타낸다. 화살표는 MPC가 주입된 시점을 나타낸다. 각 동물의 MPC 투여량은 각 패널의 상단에 나타낸다.

[0252] 도 10 패널 (a)에 나타낸 것과 같이, 치료 전 체중과 비교하였을 때, 비-당뇨성 동물 #1880에서 제 1 MPC 투여가 체중 감소에 일시적인 효과가 있었고, MPC의 제 2 투여는 체중 감소에서 점진적 효과를 가졌다. 비-당뇨성 동물 #3351은 MPC 투여 모두에서 점진적 체중 감소 패턴을 보여주었다. 각 개별 동물의 경우, 도 10 패널 (b)에 나타난 것과 같이 체중 측정 기간 동안 안정적인 음식 섭취에도 불구하고 놀랍게도 체중 감소가 발생되었다.

[0253] 당뇨가 있는 동물 #1624 및 #7581에서, MPC의 제 1 및 제 2 투여 후 지속적인 체중 감소가 있었다. 동물 #2875의 체중은 MPC 치료 동안 치료되지 않은 기준선 이하에 있었다.

[0254] 도 10 패널 (c)는 치료되지 않은 기준선에 대해 MPC 요법 후 모집된 동물 집단에서 월 평균 체중 감소 비율을 나타낸다. MPC 치료 과정 동안 체중 감소는 4% 내지 6%의 범위에 있다. MPC 치료는 비-당뇨성 및 당뇨성 동물에서 감소된 공복 혈액 포도당 수준, 증가된 포도당 청소율과 연합된 체중 감소를 유도하며, MPC 치료 후 포도당 자극된 인슐린 생산을 유도하였다는 것을 이들 데이터는 설명한다.

[0255] 도 11에서는 비-당뇨성 동물에서, MPC 요법 후, 처리 전 값과 비교하여, 트리글리세리드와 VLDL의 지속적인 감

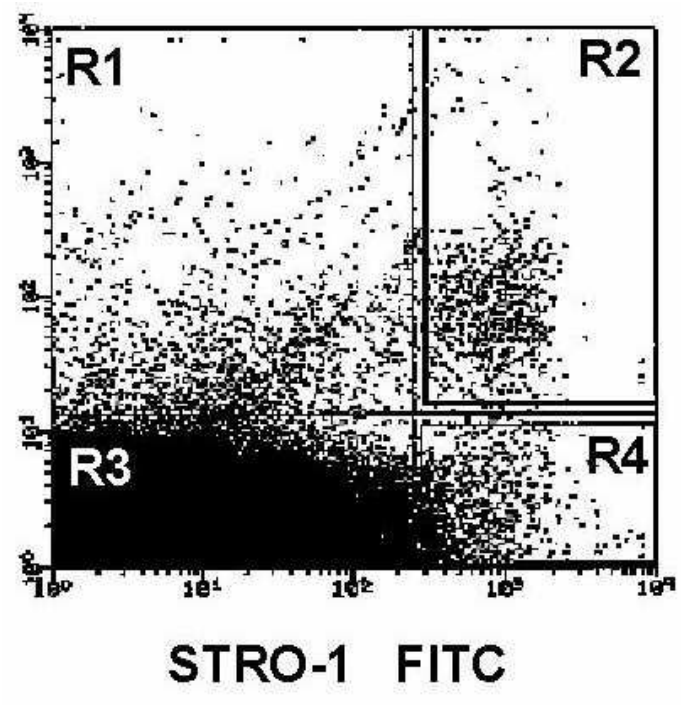
소, 및 HDL 수준의 증가가 있었다는 것을 보여준다. 동물 #1880에서, MPC의 제 2 투여의 효과에 대한 증거인데, 제 1 MPC 투여와 비교하였을 때, 제 2 MPC 투여 후 지단백질 지수의 증가를 보여준다. 이들 두 비-당뇨성 동물 모두에서 6개월 동안 지단백질 지수의 지속적 감소가 나타났다. 도 11에서 제공된 데이터는 MPC 치료가 비-당뇨성 동물에서 장기 지질 프로파일의 개선과 당뇨성 동물에서 단기 지질 파일을 개선시킨다는 것을 설명한다.

[0256] 비-당뇨성 집단에서, 6개월 기간 동안 처리 전 값과 비교하여 MPC 요법 후 트리글리세리드 및 VLDL에서 지속적인 감소와 HDL 수준의 증가가 있었다(도 12). 지질 프로파일 변화와 일치하게, 비-당뇨성 집단은 6개월 동안 지단백질 지수의 지속적 증가를 나타내었다. 당뇨성 동물들은 MPC의 제 1 투여 후 2개월 동안 지속되었던 단기적 효과를 보여주었다. 이들 데이터는 MPC 치료가 비-당뇨성 동물에서 장기 지질 프로파일의 개선과 당뇨성 동물에서 단기 지질 프로파일을 개선시킨다는 것을 설명한다.

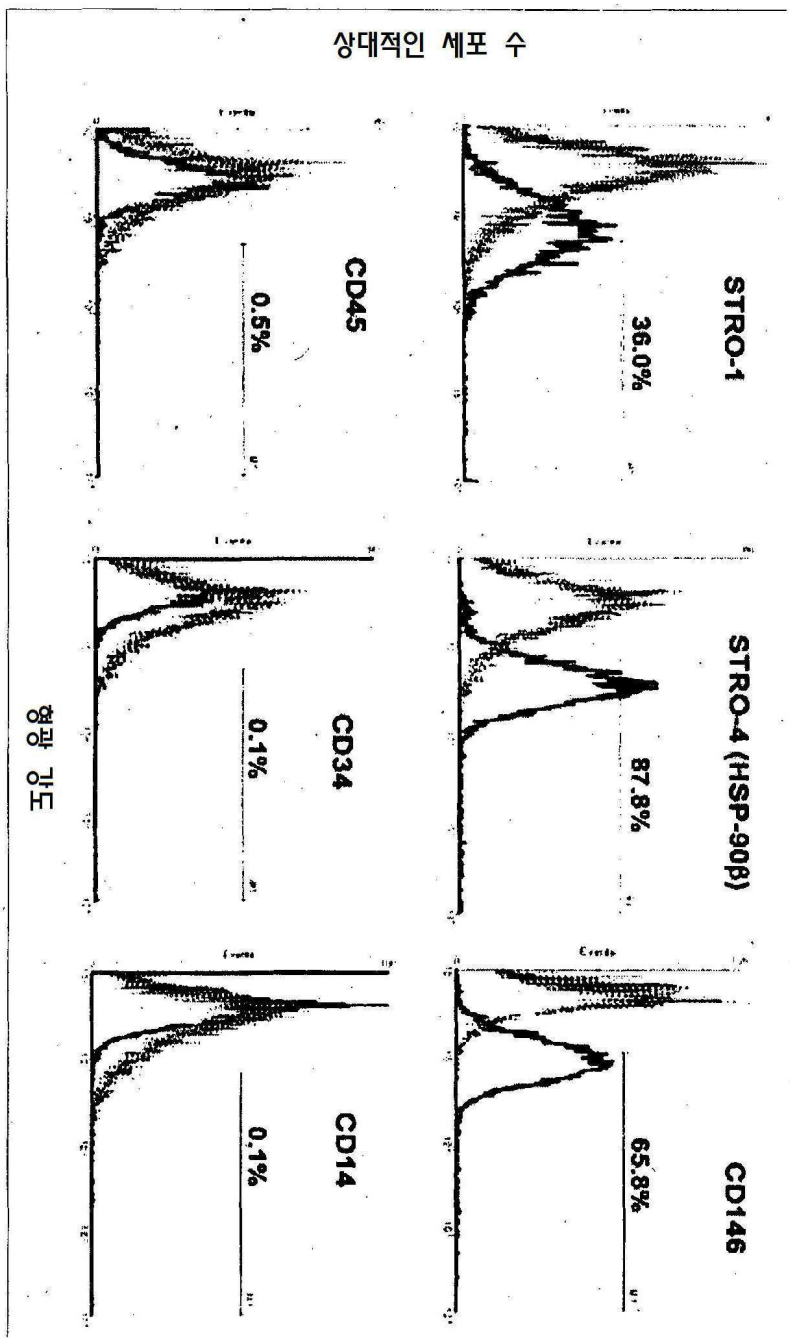
[0257] 본 개시내용에서 제시된 데이터에서 연구되었던 마루리티언(Mauritian) 게잡이원숭이는 식이요법에 의해 유도된 대사 증후군을 가지고 있으며, 유형 2 당뇨병으로의 진행은 감소된 인슐린 수준과 포도당 로딩에 대한 후기 단계 인슐린 반응에서의 결함과 연관된다. 3개월 간격을 둔 연속적인 MPC 투여는 인슐린 반응의 점진적 증강과 6개월에 걸친 포도당 청소율의 개선을 가져온다. 더욱이, 정맥내 MPC 주입은 임의의 저혈당증 없이 6개월에 걸쳐 공복 혈액 포도당 수준을 정상화시킨다. MPC 치료는 6개월에 걸쳐 점진적으로 체중 감소를 가져오며, 대사 증후군과 연합된 정도를 벗어난 지질 프로파일을 정상화시킨다. 당뇨가 없는 대상에서 지질을 낮추는 효과는 6개월 이상 지속된다.

도면

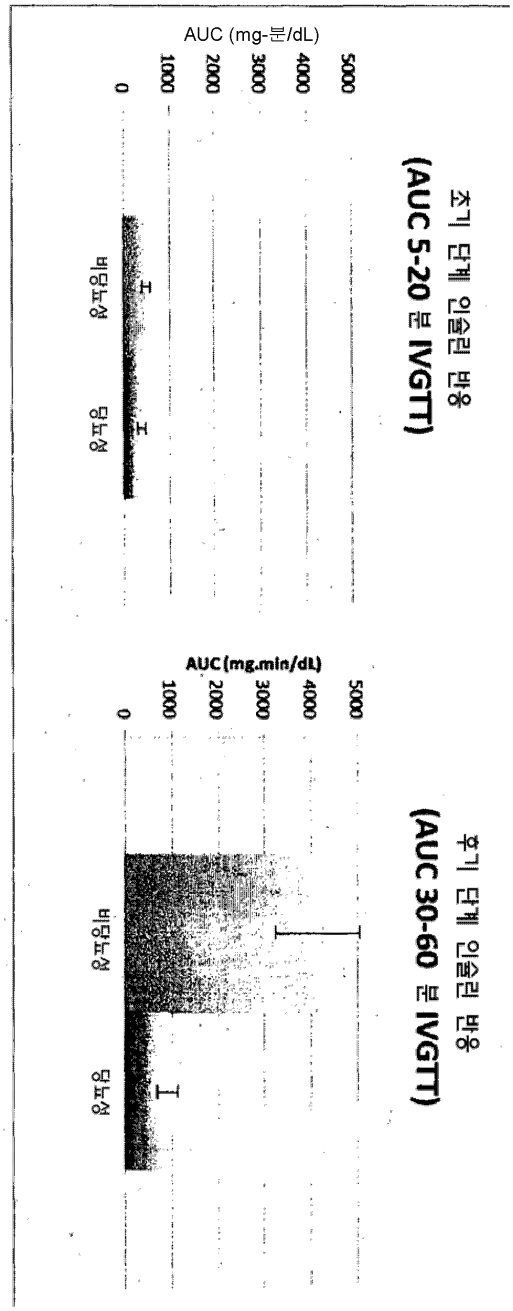
도면1



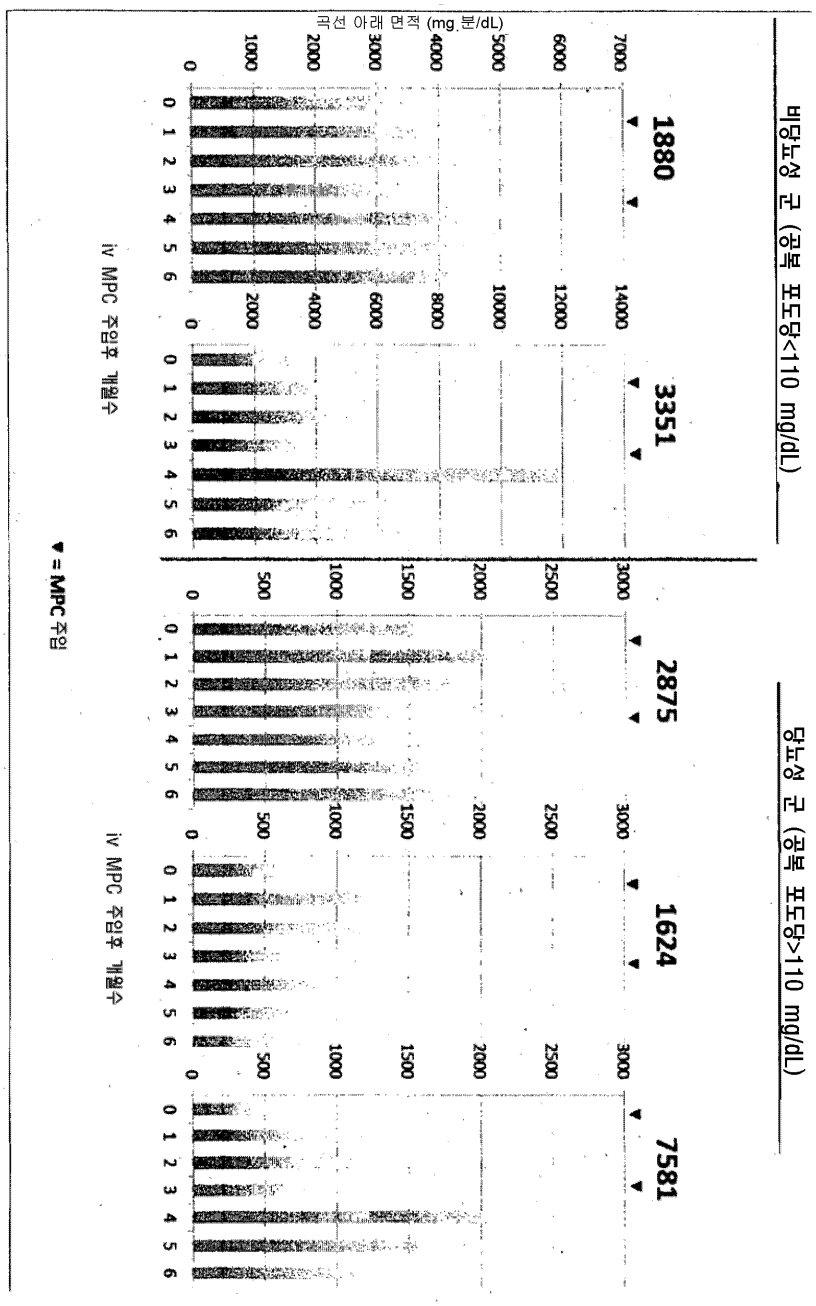
도면2


상대적인 세포 수
형광 강도
STRO-1
36.0%
CD45
0.5%
STRO-4 (HSP-90β)
87.8%
CD34
0.1%
CD146
65.8%
CD14
0.1%

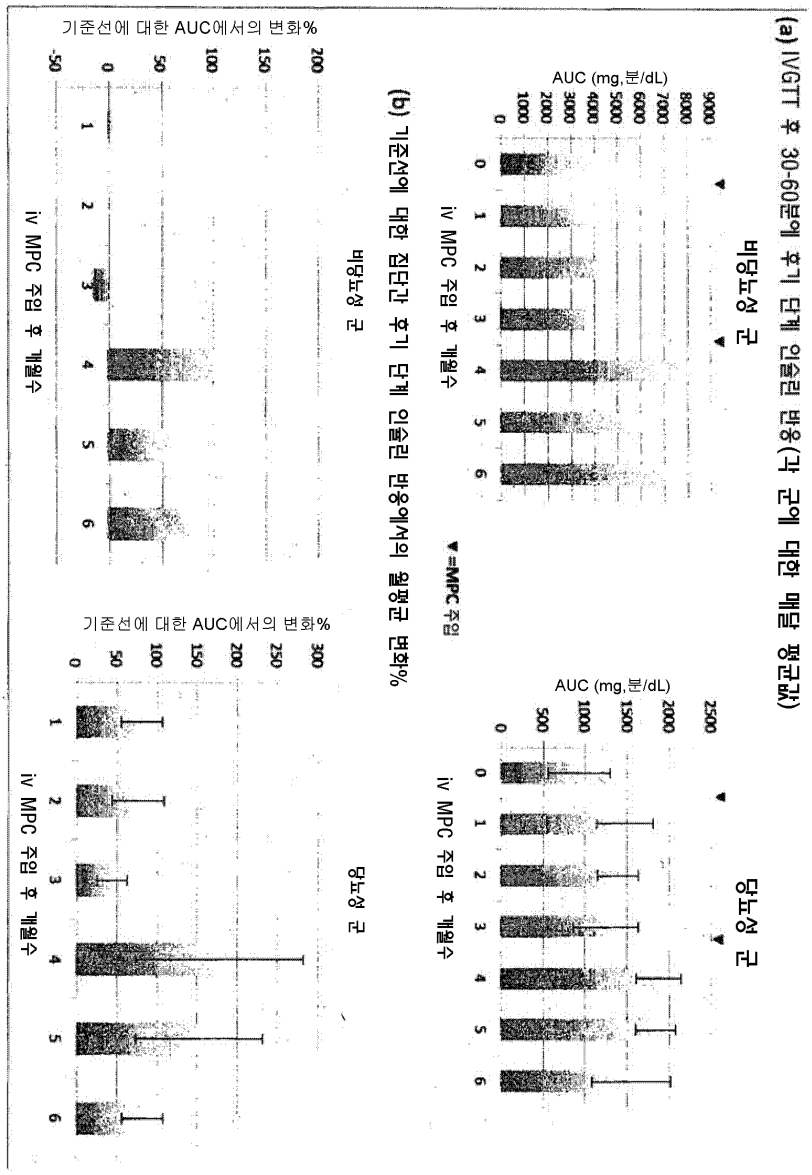
도면3


조기 단계 인슐린 반응
(AUC 5-20 분 IVGTT)
AUC (mg-분/dL)
0
1000
2000
3000
4000
5000
식후
식전
후기 단계 인슐린 반응
(AUC 30-60 분 IVGTT)
AUC (mg.min/dL)
0
1000
2000
3000
4000
5000
식후
식전

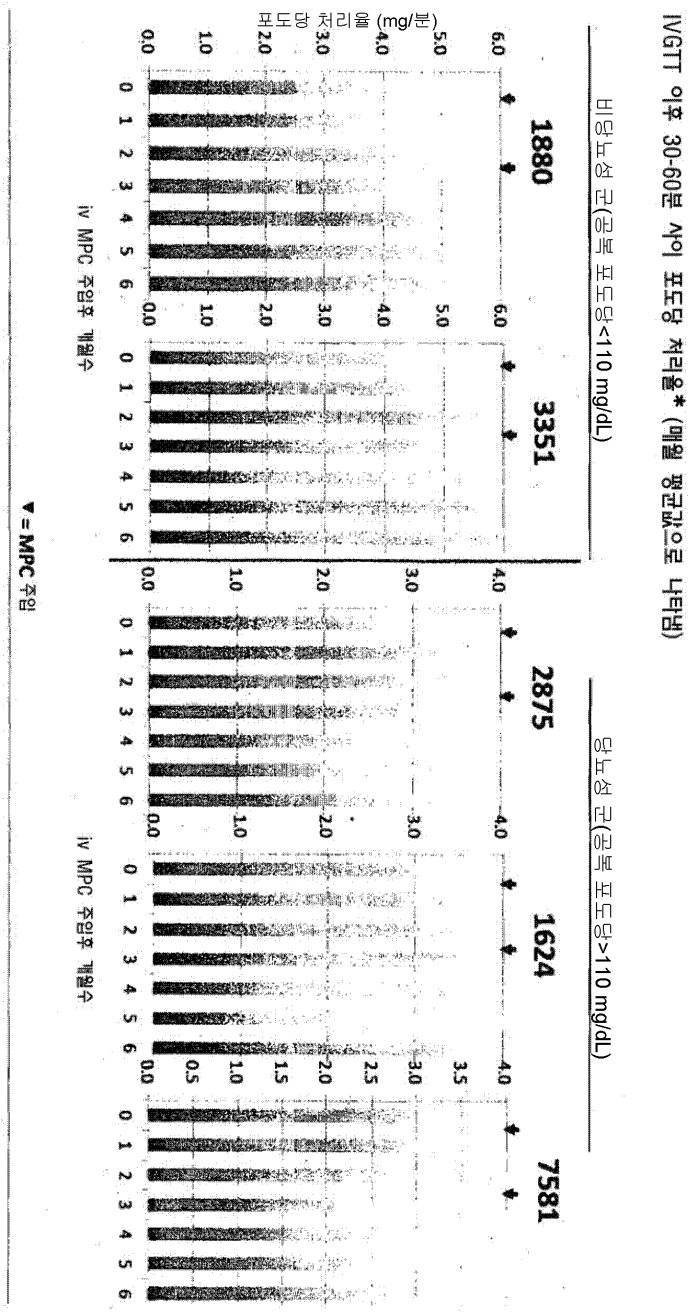
도면4


비당뇨성 군 (공복 포도당<110 mg/dL)
당뇨성 군 (공복 포도당>110 mg/dL)
곡선 아래 면적 (mg.분/dL)
1880
3351
2875
1624
7581
iv MPC 주입후 개월수
▼ = MPC 주입

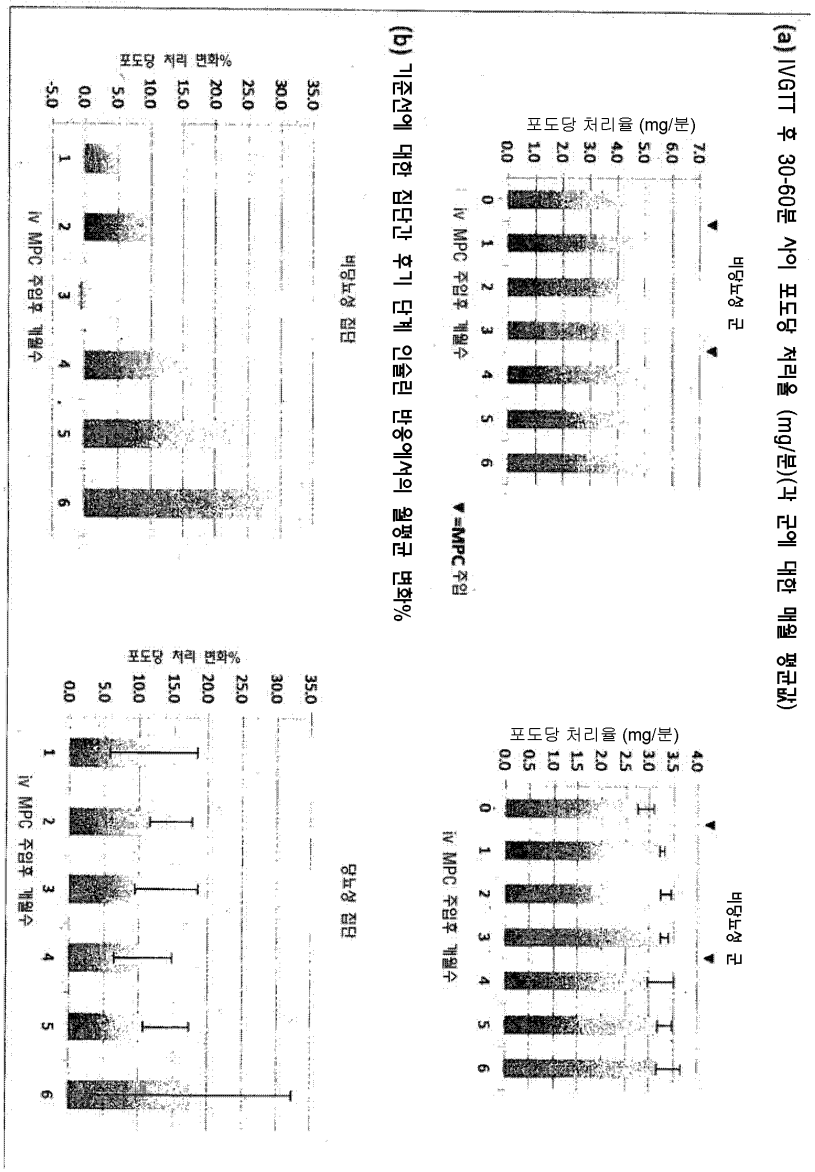
도면5


(a) IVGTT 후 30-60분에 후기 단계 인슐린 방출 대한 매칭 평균값)
AUC (mg,분/dL)
비당뇨병 군
당뇨병 군
iv MPC 주입 후 개월수
▼=MPC 주입
(b) 기준선에 대한 진단 후기 단계 인슐린 방출에서의 평균 변화%
기준선에 대한 AUC에서의 변화%
비당뇨병 군
당뇨병 군
iv MPC 주입 후 개월수

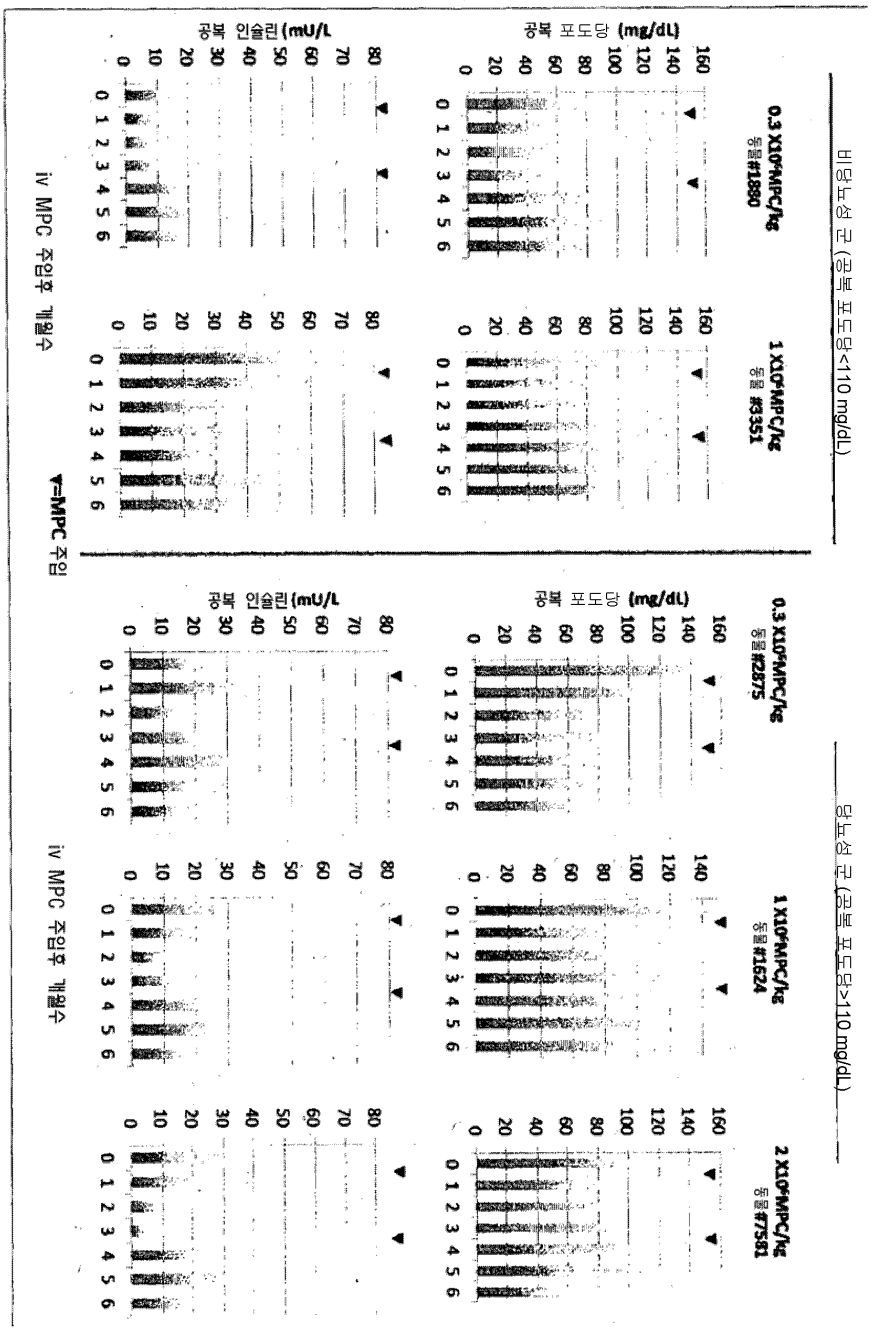
도면6


IVGTT 이후 30-60분 사이 포도당 처리율* (매월 평균값으로 나타냄)
비당뇨성 군(공복 포도당<110 mg/dL)
당뇨성 군(공복 포도당>110 mg/dL)
포도당 처리율 (mg/분)
1880
3351
2875
1624
7581
iv MPC 주입후 개월수
▼ = MPC 주입

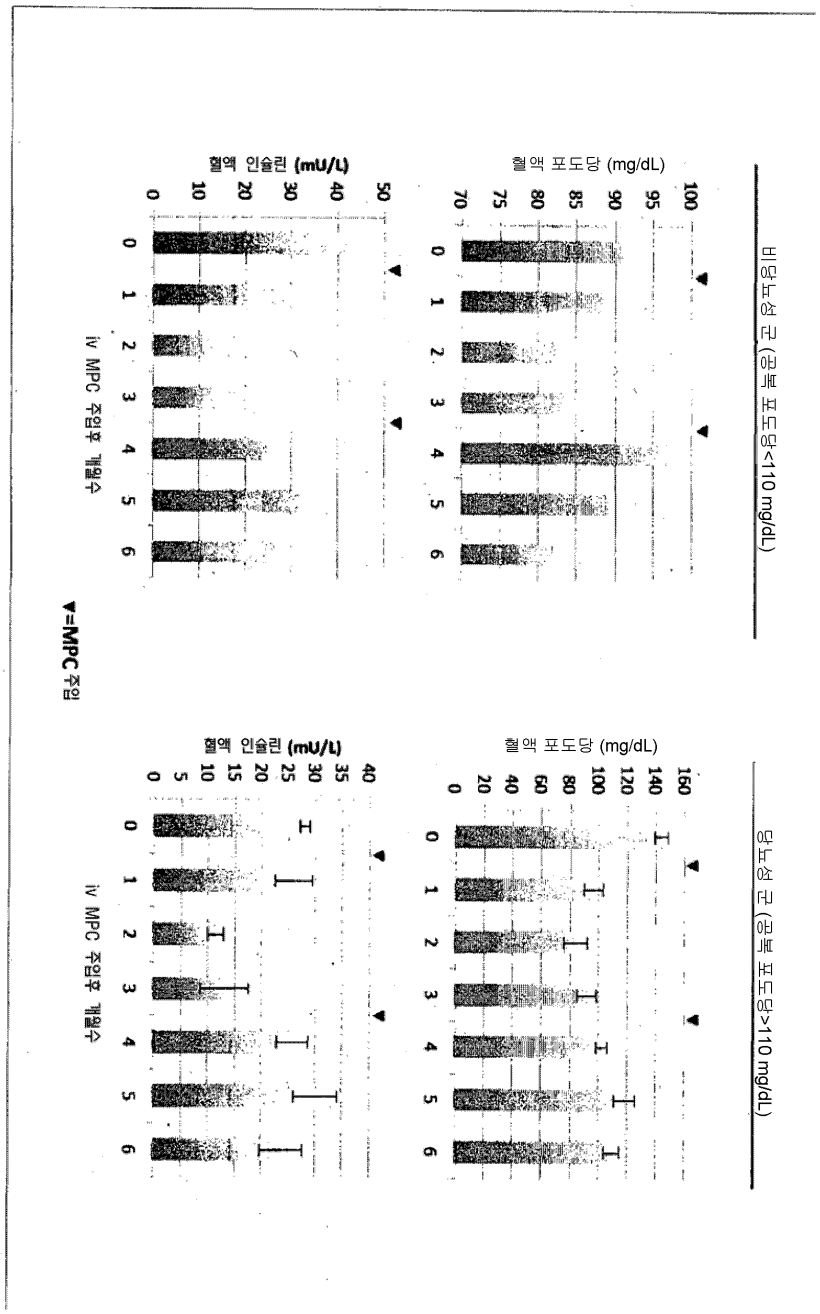
도면7


(a) IVGTT 후 30-60분 사이 포도당 처리율 (mg/분)(각 군에 대한 매월 평균값)
비당뇨성 군
당뇨성 군
포도당 처리율 (mg/분)
iv MPC 주입후 개월수
▼=MPC 주입
(b) 기준선에 대한 집단간 후기 단계 인슐린 반응에서의 월평균 변화%
비당뇨성 집단
당뇨성 집단
포도당 처리 변화%
iv MPC 주입후 개월수

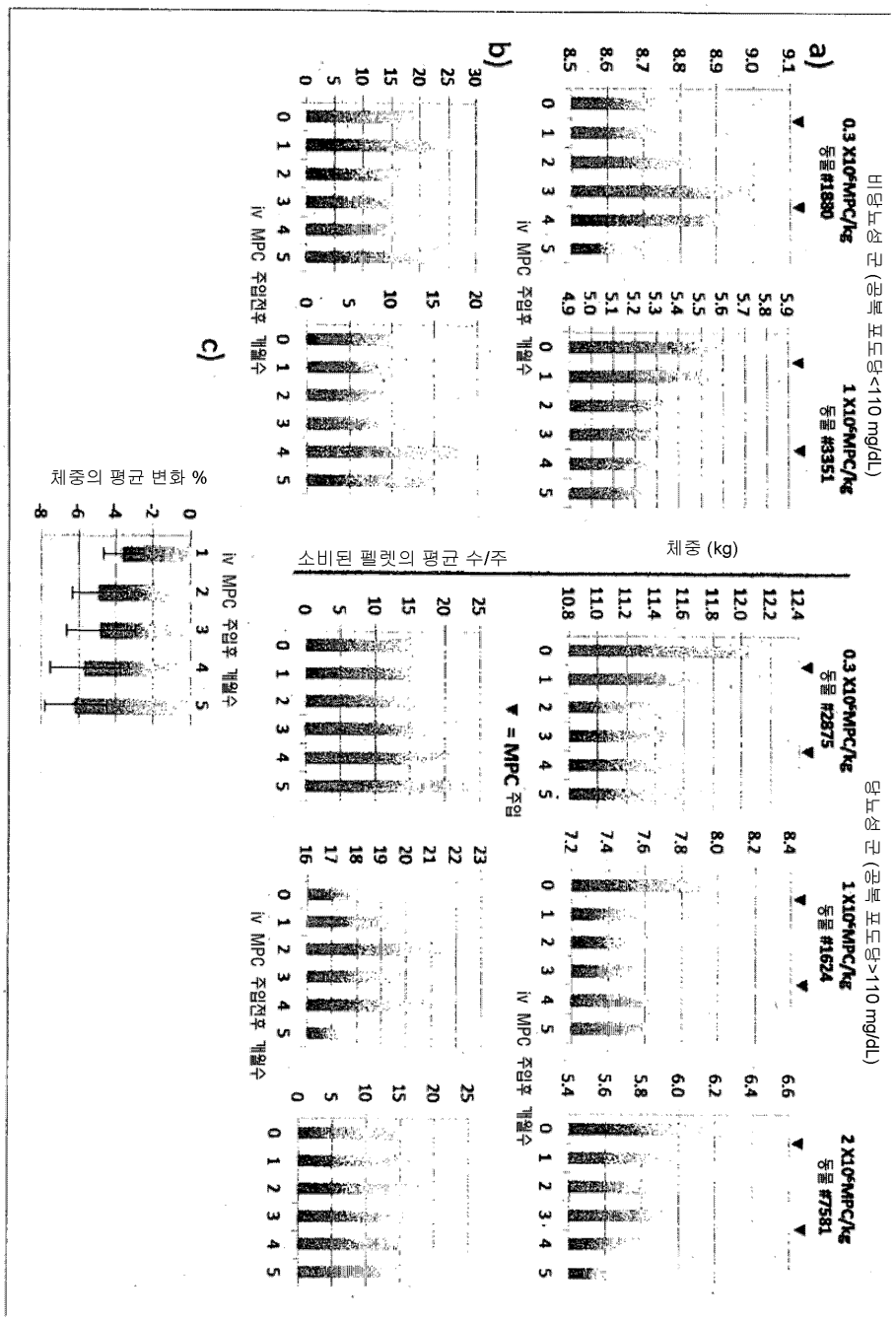
도면8


비당뇨형 군 (음성 표준 혈당<110 mg/dL)
당뇨형 군 (양성 표준 혈당<110 mg/dL)
0.3 X10⁶MPC/kg
동물#1880
1 X10⁶MPC/kg
동물 #3351
0.3 X10⁶MPC/kg
동물#2875
1 X10⁶MPC/kg
동물#1624
2 X10⁶MPC/kg
동물#7581
공복 포도당 (mg/dL)
공복 인슐린(mU/L
iv MPC 주입후 개월수
▼=MPC 주입

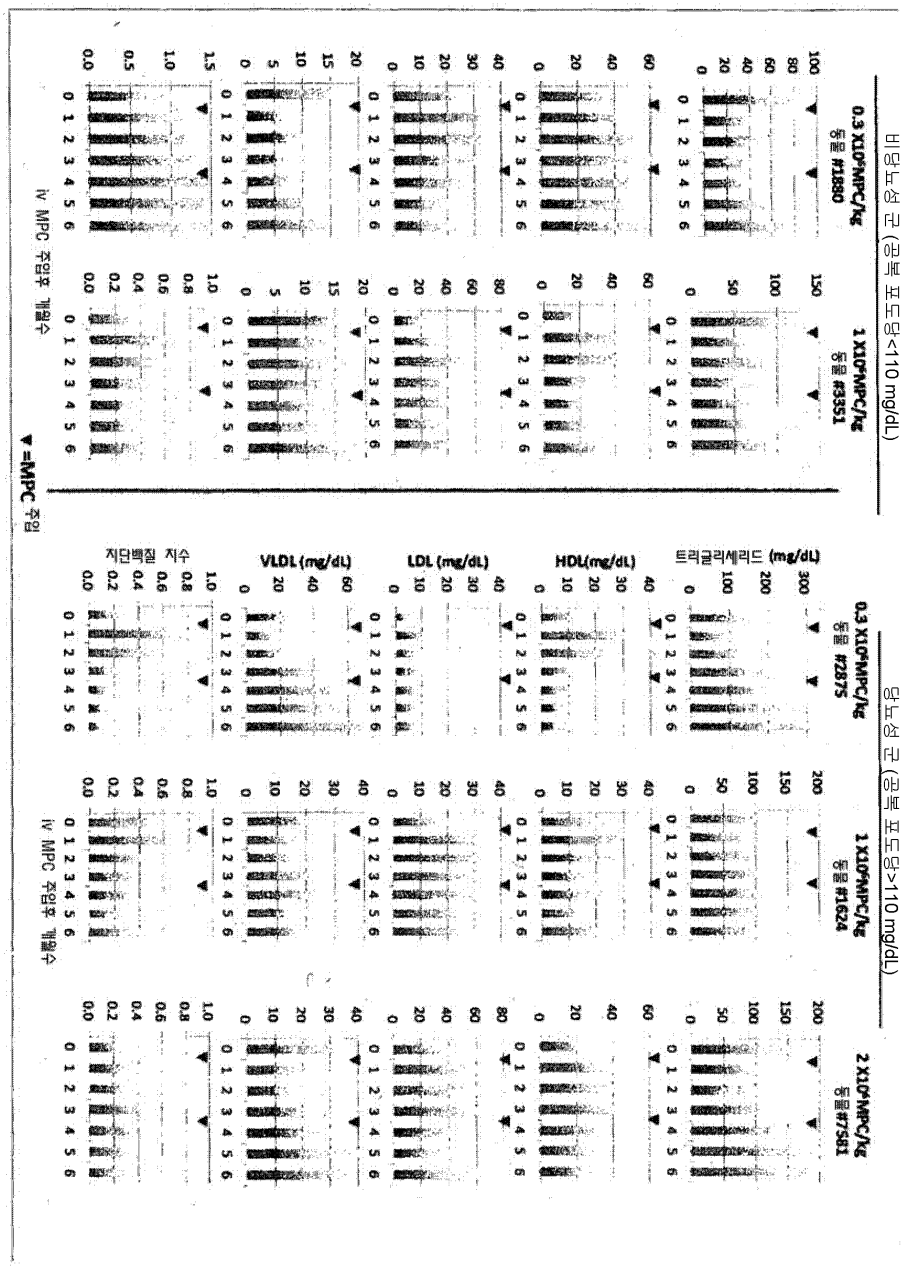
도면9


비당뇨성 공복 혈당도 (혈당도<110 mg/dL)
혈액 포도당 (mg/dL)
혈액 인슐린 (mU/L)
iv MPC 주입후 개월수
당뇨성 공복 혈당도 (혈당도>110 mg/dL)
혈액 포도당 (mg/dL)
혈액 인슐린 (mU/L)
iv MPC 주입후 개월수
▼=MPC 주입

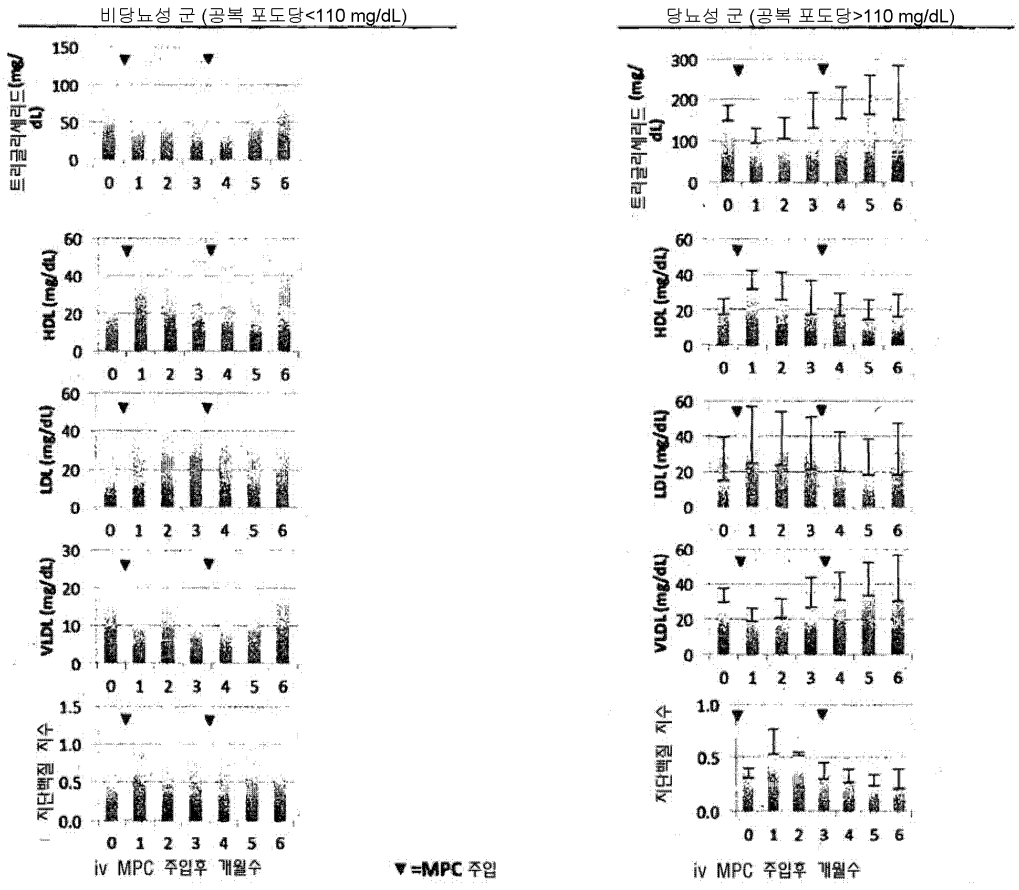
도면10


비당뇨성 군 (공복 포도당<110 mg/dL)
당뇨성 군 (공복 포도당>110 mg/dL)
a)
0.3 X10⁶MPC/kg
동물 #1880
1 X10⁶MPC/kg
동물 #3351
0.3 X10⁶MPC/kg
동물 #2875
1 X10⁶MPC/kg
동물 #1624
2 X10⁶MPC/kg
동물 #7581
체중 (kg)
iv MPC 주입후 개월수
b)
소비된 펠렛의 평균 수/주
▼ = MPC 주입
c)
체중의 평균 변화 %
iv MPC 주입후 개월수

도면11


비당뇨성 군 (공복 혈당<110 mg/dL)
당뇨성 군 (공복 혈당>110 mg/dL)
0.3 X10⁶MPC/kg
동물 #1830
1 X10⁶MPC/kg
동물 #3351
0.3 X10⁶MPC/kg
동물 #2875
1 X10⁶MPC/kg
동물 #1624
2 X10⁶MPC/kg
동물#7581
트리글리세리드 (mg/dL)
HDL(mg/dL)
LDL (mg/dL)
VLDL (mg/dL)
지단백질 지수
iv MPC 주입후 개월수
▼=MPC 주입

도면12


비당뇨성 군 (공복 포도당<110 mg/dL)
당뇨성 군 (공복 포도당>110 mg/dL)
트리글리세리드(mg/dL)
HDL (mg/dL)
LDL (mg/dL)
VLDL (mg/dL)
지단백질 지수
iv MPC 주입후 개월수
▼=MPC 주입