(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0059639
(43) 공개일자 2024년05월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 35/745 (2015.01) *A23L 33/135* (2016.01)
A61K 35/741 (2015.01) *A61K 35/742* (2015.01)
A61K 35/747 (2015.01) *A61K 39/395* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) *A61P 31/04* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *A61P 35/02* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 35/745 (2013.01)
A23L 33/135 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2024-7013503(분할)
(22) 출원일자(국제) 2016년06월01일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2017-7037299
원출원일자(국제) 2016년06월01일
심사청구일자 2021년05월31일
(85) 번역문제출일자 2024년04월23일
(86) 국제출원번호 PCT/US2016/035228
(87) 국제공개번호 WO 2016/196605
국제공개일자 2016년12월08일
(30) 우선권주장
62/169,112 2015년06월01일 미국(US)
62/248,741 2015년10월30일 미국(US)

(71) 출원인
더 유니버서티 오브 시카고
미국 일리노이 60637 시카고 싸우스 엘리스 애버뉴 5801
(72) 발명자
가제스키, 토마스 에프.
미국 일리노이 60637 시카고 싸우스 엘리스 애버뉴 5801
시반, 아예렛
미국 일리노이 60637 시카고 싸우스 엘리스 애버뉴 5801
코랄레스, 레티시아
미국 일리노이 60637 시카고 싸우스 엘리스 애버뉴 5801
(74) 대리인
특허법인 무한

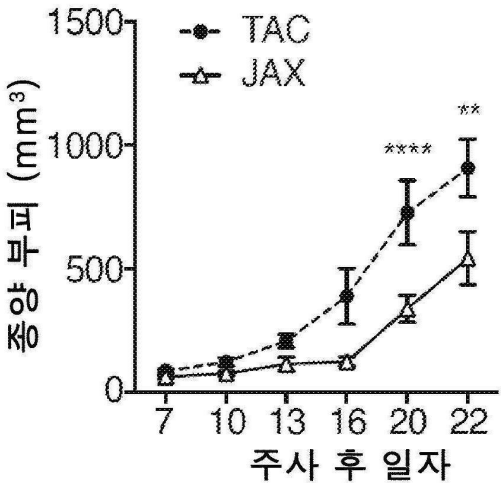
전체 청구항 수 : 총 150 항

(54) 발명의 명칭 **공생 미생물총의 조작에 의한 암의 치료**

(57) 요 약

공생 미생물총의 조작에 의한 암의 치료 및/또는 예방 방법이 본원에 제공된다. 특히, 하나 이상의 병용치료를 용이하게 하기 위해 대상에서의 미생물총 (예컨대, 장내 미생물총)의 양, 신원, 존재, 및/또는 비율이 조작된다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61K 35/741 (2013.01)
A61K 35/742 (2013.01)
A61K 35/747 (2013.01)
A61K 39/39558 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
A61P 31/04 (2018.01)
A61P 35/00 (2018.01)
A61P 35/02 (2018.01)
C07K 16/2827 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

하기를 위해 대상 내의 하나 이상의 공생 미생물의 수준을 조절하는 것을 포함하는, 대상에서 암을 치료하거나 예방하는 방법: (A) 대상에 의한 면역 반응을 향상시키고, (B) 암의 성장 또는 확산을 억제하고, (C) 암에 의한 면역 회피를 억제하고/하거나 (D) 치료제의 효능을 향상시키기 위해.

청구항 2

제1항에 있어서, 하나 이상의 공생 미생물의 수준이 대상의 내장 내에서 조절되는 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 하나 이상의 공생 미생물의 수준을 조절하는 것은 *아들레르크레우트지아 (Adlercreutzia), 오실로피라 (Oscillopira), 몰리쿠테스 (Mollicutes), 부티리비브리오 (Butyrivibrio), 박테로이데스 (Bacteroides), 클로스트리듐 (Clostridium), 푸소박테리움 (Fusobacterium), 유박테리움 (Eubacterium), 루미노코커스 (Ruminococcus), 펩토코커스 (Peptococcus), 펩토스트렙토코커스 (Peptostreptococcus), 비피도박테리움 (Bifidobacterium), 리케넬라 (Rikenella), 알리스티페스 (Alistipes), 마리닐라빌리아 (Marinilabilia), 아내로스티페스 (Anaerostipes), 에셰리키아 (Escherichia)*, 및/또는 *락토바실러스 (Lactobacillus)* 속으로부터 선택되는 하나 이상의 박테리아의 수준을 증가시키고/시키거나 감소시키는 것을 포함하는 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 하나 이상의 공생 미생물의 수준을 조절하는 것은 유익한 미생물을 대상에게 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 유익한 미생물은 박테리아인 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 박테리아는 *아들레르크레우트지아, 오실로피라, 몰리쿠테스, 부티리비브리오, 박테로이데스, 클로스트리듐, 푸소박테리움, 유박테리움, 루미노코커스, 펩토코커스, 펩토스트렙토코커스, 비피도박테리움, 리케넬라, 알리스티페스, 마리닐라빌리아, 아내로스티페스, 에셰리키아*, 및/또는 <b1/>락토바실러스 속으로부터 선택되는 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 박테리아는 *비피도박테리움*인 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, *비피도박테리움*은 *비피도박테리움 락티스 (Bifidobacterium lactis), 비피도박테리움 비피듐 (Bifidobacterium bifidium), 비피도박테리움 롱검 (Bifidobacterium longum), 비피도박테리움 아니말리스 (Bifidobacterium animalis), 비피도박테리움 브레베 (Bifidobacterium breve), 비피도박테리움 인펀티스 (Bifidobacterium infantis), 비피도박테리움 카테눌라툼 (Bifidobacterium catenulatum), 비피도박테리움 슈도카테눌라툼 (Bifidobacterium pseudocatenulatum), 비피도박테리움 아돌레센티스 (Bifidobacterium adolescentis)*, 및 *비피도박테리움 안굴라툼 (Bifidobacterium angulatum)*으로 이루어진 군으로부터 선택되는 박테리아를 포함하는 방법.

청구항 9

제4항에 있어서, 유익한 미생물은 프로바이오틱 조성물로서 또는 공여자로부터의 미생물총 이식을 통해 투여되

는 방법.

청구항 10

제1항에 있어서, 하나 이상의 공생 미생물의 수준을 조절하는 것은 하나 이상의 항미생물제를 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 항미생물제는 유해한 미생물을 사멸시키는 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 항미생물제는 항생제인 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 유익한 미생물을 대상에게 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 14

제1항에 있어서, 암 요법을 대상에게 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 대상 내에서 하나 이상의 공생 미생물의 수준을 조절하는 것은 대상에 의한 면역 반응을 향상시키고/시키거나 암에 의한 면역 회피를 억제시키키며, 암 요법은 면역요법인 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 면역요법은 항-CTLA-4 항체 및/또는 항-PD-L1 또는 항-PD-1 항체의 투여를 포함하는 방법.

청구항 17

제14항에 있어서, 대상 내에서 하나 이상의 공생 미생물의 수준을 조절하는 것은 치료제의 효능을 향상시키고, 암 요법은 상기 치료제인 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 치료제는 화학치료제를 포함하는 방법.

청구항 19

제1항에 있어서, 대상을 암에 의한 면역 회피에 대해 시험하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 20

제1항에 있어서, 수술, 방사선, 및/또는 화학치료적 암 개입을 추가로 포함하는 방법.

청구항 21

유익한 공생 미생물 및 암 치료제를 포함하는 키트 또는 조성물로서, 상기 조성물 또는 상기 키트의 성분은 대상에게 치료적 전달을 위해 제형화된 키트 또는 조성물.

청구항 22

암의 치료 및/또는 면역 회피의 억제에 있어서 약제로서 사용하기 위한 유익한 공생 미생물.

청구항 23

비*피도박테리움, 리케넬라, 알리스티페스, 마리닐라빌리아*, 또는 *아내로스티페스* 속의 박테리아를 포함하는 박테리아 제형을 대상에게 투여하는 것을 포함하는 대상에서 암을 치료하거나 예방하는 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 박테리아 제형 내의 박테리아 중 적어도 50%가 *비피도박비피도, 리케넬라, 알리스티페스, 마리닐라빌리아*, 또는 *아내로스티페스* 속인 방법.

청구항 25

제23항에 있어서, 박테리아 제형 내의 박테리아 중 적어도 90%가 *비피도박비피도, 리케넬라, 알리스티페스, 마리닐라빌리아*, 또는 *아내로스티페스* 속인 방법.

청구항 26

제23항에 있어서, 박테리아 제형이 *비피도박테리움* 속의 박테리아를 포함하는 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, 박테리아 제형 내의 박테리아 중 적어도 50%가 *비피도박테리움* 속인 방법.

청구항 28

제26항에 있어서, 박테리아 제형 내의 박테리아 중 적어도 90%가 *비피도박테리움* 속인 방법.

청구항 29

제26항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, *비피도박테리움 속의 박테리아가 비피도박테리움 락티스 (Bifidobacterium lactis), 비피도박테리움 비피둠 (Bifidobacterium bifidium), 비피도박테리움 롱검 (Bifidobacterium longum), 비피도박테리움 아니말리스 (Bifidobacterium animalis), 비피도박테리움 브레베 (Bifidobacterium breve), 비피도박테리움 인펀티스 (Bifidobacterium infantis), 비피도박테리움 카테눌라툼 (Bifidobacterium catenulatum), 비피도박테리움 슈도카테눌라툼 (Bifidobacterium pseudocatenulatum), 비피도박테리움 아돌레센티스 (Bifidobacterium adolescentis), 비피도박테리움 안굴라툼 (Bifidobacterium angulatum), 비피도박테리움 아스테로이데스 (Bifidobacterium asteroids), 비피도박테리움 보움 (Bifidobacterium boum), 비피도박테리움 코에리눔 (Bifidobacterium choerinum), 비피도박테리움 코리네포르메 (Bifidobacterium coryneforme), 비피도박테리움 쿠니쿨리 (Bifidobacterium cuniculi), 비피도박테리움 덴티콜렌스 (Bifidobacterium denticolens), 비피도박테리움 덴티움 (Bifidobacterium dentium), 비피도박테리움 갈리쿰 (Bifidobacterium gallicum), 비피도박테리움 갈리나룸 (Bifidobacterium gallinarum), 비피도박테리움 인디쿰 (Bifidobacterium indicum), 비피도박테리움 이노피나툼 (Bifidobacterium inopinatum), 비피도박테리움 마그눔 (Bifidobacterium magnum), 비피도박테리움 메리시쿰 (Bifidobacterium merycicum), 비피도박테리움 미니뭄 (Bifidobacterium minimum), 비피도박테리움 슈도롱검 (Bifidobacterium pseudolongum), 비피도박테리움 풀로룸 (Bifidobacterium pullorum), 비피도박테리움 사이크래로필룸 (Bifidobacterium psychraerophilum), 비피도박테리움 루미난티움 (Bifidobacterium ruminantium), 비피도박테리움 새쿨라레 (Bifidobacterium saeculare), 비피도박테리움 스카르도비 (Bifidobacterium scardovii), 비피도박테리움 시미애 (Bifidobacterium simiae), 비피도박테리움 서브틸 (Bifidobacterium subtile), 비피도박테리움 테람시도필룸 (Bifidobacterium therammcidophilum), 비피도박테리움 테르모필룸 (Bifidobacterium thermophilum), 비피도박테리움 추루미엔세 (Bifidobacterium tsurumiense), 비피도박테리움 우리날리스 (Bifidobacterium urinalis),* 및 *비피도박테리움 (Bifidobacterium)* 종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 30

제23항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 급성 비림프구성 백혈병 (acute nonlymphocytic leukemia), 만성 림프구성 백혈병 (chronic lymphocytic leukemia), 급성 과립구성 백혈병 (acute granulocytic leukemia), 만성 과립구성 백혈병 (chronic granulocytic leukemia), 급성 전골수성 백혈병 (acute promyelocytic leukemia), 성인 T-세포 백혈병 (adult T-cell leukemia), 무백혈병성 백혈병 (aleukemic leukemia), 백혈구병성 백혈병 (leukocythemic leukemia), 호염기성 백혈병 (basophilic leukemia), 아세포 백혈병 (blast cell leukemia), 소 백혈병 (bovine leukemia), 만성 골수성 백혈병 (chronic myelocytic leukemia), 피부 백혈병 (leukemia cutis), 배아 백혈병 (embryonal leukemia), 호산구성 백혈병 (eosinophilic leukemia), 그로스 백혈병 (Gross' leukemia), 리더 세포 백혈병 (Rieder cell leukemia), 쉴링

백혈병 (Schilling's leukemia), 줄기세포 백혈병 (stem cell leukemia), 아백혈병성 백혈병(subleukemic leukemia), 미분화 세포 백혈병 (undifferentiated cell leukemia), 모양세포 백혈병 (hairy-cell leukemia), 성혈세포성 백혈병 (hemoblastic leukemia), 혈구아세포성 백혈병 (hemocytoblastic leukemia), 조직구성 백혈병 (histiocytic leukemia), 줄기세포 백혈병 (stem cell leukemia), 급성 단구성 백혈병 (acute monocytic leukemia), 백혈구 감소성 백혈병 (leukopenic leukemia), 림프구성 백혈병 (lymphatic leukemia), 림프아세포 백혈병 (lymphoblastic leukemia), 림프모구 백혈병 (lymphocytic leukemia), 림프행성 백혈병 (lymphogenous leukemia), 림프구성 백혈병 (lymphoid leukemia), 림프육종 세포 백혈병 (lymphosarcoma cell leukemia), 비만세포 백혈병 (mast cell leukemia), 거대핵세포 백혈병 (megakaryocytic leukemia), 미세골수아구성 백혈병 (micromyeloblastic leukemia), 단구성 백혈병 (monocytic leukemia), 골수아구 백혈병 (myeloblastic leukemia), 골수성 백혈병 (myelocytic leukemia), 골수 과립구성 백혈병 (myeloid granulocytic leukemia), 골수단구성 백혈병 (myelomonocytic leukemia), 네겔리 백혈병 (Naegeli leukemia), 형질세포 백혈병 (plasma cell leukemia), 형질구성 백혈병 (plasmacytic leukemia), 전골수성 백혈병 (promyelocytic leukemia), 선방암종 (acinar carcinoma), 선포 암종 (acinous carcinoma), 선양낭성 암종 (adenocystic carcinoma, adenoid cystic carcinoma), 선암종 (carcinoma adenomatosum), 부신 피질의 암종 (carcinoma of adrenal cortex), 폐포성 암종 (alveolar carcinoma, alveolar cell carcinoma, basal cell carcinoma), 폐포 세포 암종 (alveolar cell carcinoma), 기저 세포 암종 (basal cell carcinoma), 기저세포양 암종 (carcinoma basocellulare, basaloid carcinoma), 바닥편평세포 세포 암종 (basosquamous cell carcinoma), 기관지폐포 암종 (bronchioalveolar carcinoma), 기관지 암종 (bronchiolar carcinoma), 기관지원성 암종 (bronchogenic carcinoma), 대뇌양 암종 (cerebriform carcinoma), 담관세포 암종 (cholangiocellular carcinoma), 융모막 암종 (chorionic carcinoma), 콜로이드 암종 (colloid carcinoma), 면포암종 (comedo carcinoma), 자궁체 암종 (corpus carcinoma), 사상 암종 (cribriform carcinoma), 흉부 갑옷 암종 (carcinoma en cuirasse), 피부 암종 (carcinoma cutaneum), 원주상 암종 (cylindrical carcinoma), 원주상 세포 암종 (cylindrical cell carcinoma), 유관 암종 (duct carcinoma), 듀럼 암종 (carcinoma durum), 배아 암종 (embryonal carcinoma), 뇌양 암종 (encephaloid carcinoma), 유포피 암종 (epiennoid carcinoma), 상피 선양 암종 (carcinoma epitheliale adenoids), 외성장 암종 (exophytic carcinoma), 궤양외 암종 (carcinoma ex ulcere), 섬유성 암종 (carcinoma fibrosum), 젤라틴모양 암종 (gelatiniform carcinoma), 젤라틴성 암종 (gelatinous carcinoma), 거대 세포 암종 (giant cell carcinoma), 반지 세포 암종 (signet-ring cell carcinoma), 단순 암종 (carcinoma simplex), 소세포 암종 (small-cell carcinoma), 솔라노이드 암종 (solanoid carcinoma), 구상세포 암종 (spheroidal cell carcinoma), 방추 세포 암종 (spindle cell carcinoma), 해면질 암종 (carcinoma spongiosum), 편평 암종 (squamous carcinoma), 편평 세포 암종 (squamous cell carcinoma), 스트링 암종 (string carcinoma), 모세혈관확장성 암종 (carcinoma telangiectaticum, carcinoma telangiectodes), 이행 세포 암종 (transitional cell carcinoma), 결절성 암종 (carcinoma tuberosum, tuberous carcinoma), 우췌상 암종 (verrucous carcinoma), 융모상 암종 (carcinoma villosum), 거대세포 암종 (carcinoma gigantocellulare), 샘 암종 (glandular carcinoma), 과립막 세포 암종 (granulosa cell carcinoma), 털-기질 암종 (hair-matrix carcinoma), 간세포양 암종 (hematoid carcinoma), 간세포 암종 (hepatocellular carcinoma), 허슬 세포 암종 (Hurthle cell carcinoma), 초자 암종 (hyaline carcinoma), 하이퍼네프로이드 암종 (hypernephroid carcinoma), 유아성 배아 암종 (infantile embryonal carcinoma), 상피내 암종 (carcinoma in situ, intraepidermal carcinoma), 크롬폐쳐 암종 (Krompecher's carcinoma), 컬키츠키-세포 암종 (Kulchitzky-cell carcinoma), 거대 세포 암종 (large-cell carcinoma), 렌즈모양 암종 (lenticular carcinoma, carcinoma lenticulare), 지방성 암종 (lipomatous carcinoma), 림프상피 암종 (lymphoepithelial carcinoma), 수양 암종 (carcinoma medullare), 수질 암종 (medullary carcinoma), 멜라닌성 암종 (melanotic carcinoma), 피부연성 암종 (carcinoma molle), 점액 암종 (mucinous carcinoma, carcinoma muciparum), 점액세포 암종 (carcinoma mucocellulare), 점액표피양 암종 (mucoepidermoid carcinoma), 점막 암종 (carcinoma mucosum, mucous carcinoma), 점액종성 암종 (carcinoma myxomatodes), 비인두 암종 (naspharyngeal carcinoma), 연맥세포 암종 (oat cell carcinoma), 화골성 암종 (carcinoma ossificans), 유골 암종 (osteoid carcinoma), 유두상 암종 (papillary carcinoma), 문맥주위 암종 (periportal carcinoma), 전침윤 암종 (preinvasive carcinoma), 가시세포 암종 (prickle cell carcinoma), 풀모양 암종 (pultaceous carcinoma), 신장의 신장 세포 암종 (renal cell carcinoma of kidney), 예비 세포 암종 (reserve cell carcinoma), 육종성 암종 (carcinoma sarcomatodes), 슈나이더 암종 (schneiderian carcinoma), 경성 암종 (scirrhous carcinoma), 음낭 암종 (carcinoma scroti), 연골육종 (chondrosarcoma), 섬유육종 (fibrosarcoma), 림프육종 (lymphosarcoma), 흑색육종 (melanosarcoma), 점액육종 (myxosarcoma), 골육종 (osteosarcoma), 자궁내막 육종 (endometrial

sarcoma), 간질 육종 (stromal sarcoma), 유잉 육종 (Ewing' s sarcoma), 근막 육종 (fascial sarcoma), 섬유아세포 육종 (fibroblastic sarcoma), 거대 세포 육종 (giant cell sarcoma), 아베메티 육종 (Abemethy's sarcoma), 지방조직 육종 (adipose sarcoma), 지방육종 (liposarcoma), 포상연부 육종 (alveolar soft part sarcoma), 법랑아 육종 (ameloblastic sarcoma), 포도상형 육종 (botryoid sarcoma), 녹색종 육종 (chloroma sarcoma), 융모막 암종 (chorio carcinoma), 배아 육종 (embryonal sarcoma), 윌름 종양 육종 (Wilms' tumor sarcoma), 과립구성 육종 (granulocytic sarcoma), 호지킨 육종 (Hodgkin's sarcoma), 특발성 다발성 색소출혈성 육종 (idiopathic multiple pigmented hemorrhagic sarcoma), B 세포의 면역아세포성 육종 (immunoblastic sarcoma of B cells), 림프종 (lymphoma), T-세포의 면역아세포성 육종 (immunoblastic sarcoma of T-cells), 젠센 육종 (Jensen's sarcoma), 카포시 육종 (Kaposi's sarcoma), 쿠퍼 세포 육종 (Kupffer cell sarcoma), 혈관육종 (angiosarcoma), 백혈구육종 (leukosarcoma), 악성 간엽 육종 (malignant mesenchymoma sarcoma), 방골성 육종 (parosteal sarcoma), 망상세포 육종 (reticulocytic sarcoma), 라우스 육종 (Rous sarcoma), 혈청세포 육종 (serocystic sarcoma), 활막 육종 (synovial sarcoma), 모세혈관확장성 육종 (telangiectaltic sarcoma), 호지킨병 (Hodgkin's Disease), 비호지킨 림프종 (Non-Hodgkin's Lymphoma), 다발성 골수종 (multiple myeloma), 신경아세포종 (neuroblastoma), 유방암 (breast cancer), 난소암 (ovarian cancer), 폐암 (lung cancer), 횡문근육종 (rhabdomyosarcoma), 원발성 혈소판감소증 (primary thrombocytosis), 원발성 마크로글로불린혈증 (primary macroglobulinemia), 소세포 폐 종양 (small-cell lung tumors), 원발성 뇌 종양 (primary brain tumors), 위암 (stomach cancer), 결장암 (colon cancer), 악성 췌장 인슐린혈증 (malignant pancreatic insulanoma), 악성 유암종 (malignant carcinoid), 악성전구 피부 병변 (premalignant skin lesions), 고환암 (testicular cancer), 림프종 (lymphomas), 갑상선암 (thyroid cancer), 신경아세포종 (neuroblastoma), 식도암 (esophageal cancer), 비뇨생식기암 (genitourinary tract cancer), 악성 고칼슘혈증 (hypercalcemia), 자궁경부암 (cervical cancer), 자궁내막암 (endometrial cancer), 부신피질암 (adrenal cortical cancer), 하딩-파세이 흑색종 (Harding-Passey melanoma), 소아 흑색종 (juvenile melanoma), 악성 흑색점 흑색종 (lentigo maligna melanoma), 악성 흑색종 (malignant melanoma), 선단 흑자성 흑색종 (acral-lentiginous melanoma), 무멜라닌성 흑색종 (amelanotic melanoma), 양성 소아 흑색종 (benign juvenile melanoma), 클라우드만 흑색종 (Cloudman's melanoma), S91 흑색종 (S91 melanoma), 결절성 흑색종 (nodular melanoma), 손톱밑 흑색종 (subungual melanoma), 및 표재 확장성 흑색종 (superficial spreading melanoma)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 31

제23항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 대상이 인간인 방법.

청구항 32

제23항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 박테리아 제형이 경구 투여, 직장 투여, 국소 투여, 흡입 또는 주사에 의해 투여되는 방법.

청구항 33

제26항에 있어서, 박테리아 제형이 경구 투여에 의해 투여되는 방법.

청구항 34

제27항에 있어서, 박테리아 제형이 식품인 방법.

청구항 35

제23항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 박테리아 제형이 적어도 약 $5x10^6$ CFU의 박테리아를 포함하는 방법.

청구항 36

제23항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 박테리아 제형이 둘 이상의 용량으로 대상에게 투여되는 방법.

청구항 37

제36항에 있어서, 둘 이상의 용량 중 적어도 2개의 용량의 투여가 적어도 1일 분리된 방법.

청구항 38

제37항에 있어서, 둘 이상의 용량 중 적어도 2개의 용량의 투여가 적어도 1주 분리된 방법.

청구항 39

제23항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 항생제를 대상에게 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 40

제39항에 있어서, 항생제는 박테리아 제형 전에 대상에게 투여되는 방법.

청구항 41

제40항에 있어서, 항생제는 박테리아 제형이 대상에게 투여되기 적어도 1일 전에 대상에게 투여되는 방법.

청구항 42

제23항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제를 대상에게 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 43

제42항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제는 면역 체크포인트 단백질에 특이적으로 결합하는 단백질 또는 폴리펩타이드인 방법.

청구항 44

제43항에 있어서, 면역 체크포인트 단백질은 CTLA4, PD-1, PD-L1, PD-L2, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, KIR, LAG3, TIM-3 또는 VISTA로 이루어진 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 45

제43항 또는 제44항에 있어서, 폴리펩타이드 또는 단백질은 항체 또는 이의 항원-결합 단편인 방법.

청구항 46

제42항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제는 간섭 핵산 분자인 방법.

청구항 47

제46항에 있어서, 간섭 핵산 분자는 siRNA 분자, shRNA 분자 또는 안티센스 RNA 분자인 방법.

청구항 48

제42항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제는 니볼루맙 (nivolumab), 펨브롤리주맙 (pembrolizumab), 피딜리주맙 (pidilizumab), AMP-224, AMP-514, STI-A1110, TSR-042, RG-7446, BMS-936559, BMS-936558, MK-3475, CT 011, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0020718C, AUR-012 및 STI-A1010으로 이루어진 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 49

제42항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제는 박테리아 제형 전에 투여되는 방법.

청구항 50

제49항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제는 박테리아 제형의 적어도 1일 전에 투여되는 방법.

청구항 51

제42항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 체크포인트는 박테리아 제형과 거의 동시에 투여되는 방법.

청구항 52

제51항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제는 박테리아 제형과 동일한 일자에 투여되는 방법.

청구항 53

제42항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제는 박테리아 제형 후에 투여되는 방법.

청구항 54

제49항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제는 박테리아 제형의 적어도 1일 후에 투여되는 방법.

청구항 55

제42항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제는 주사에 의해 투여되는 방법.

청구항 56

제55항에 있어서, 주사는 정맥내, 근육내, 종양내 또는 피하 주사인 방법.

청구항 57

면역 체크포인트 억제제 및 *비피도박테리움* 속의 박테리아를 포함하는 박테리아 제형을 대상에게 투여하는 것을 포함하는 인간 대상에서 암을 치료하는 방법.

청구항 58

제57항에 있어서, 박테리아 제형 내의 박테리아 중 적어도 50%가 *비피도박테리움* 속인 방법.

청구항 59

제57항에 있어서, 박테리아 제형 내의 박테리아 중 적어도 90%가 *비피도박비피도* 속인 방법.

청구항 60

제57항에 있어서, *비피도박테리움* 속의 박테리아가 *비피도박테리움 락티스*, *비피도박테리움 비피둠*, *비피도박테리움 롱검*, *비피도박테리움 아니말리스*, *비피도박테리움 브레베*, *비피도박테리움 인펀티스*, *비피도박테리움 카테눌라툼*, *비피도박테리움 슈도카테눌라툼*, *비피도박테리움 아돌레센티스*, *비피도박테리움 안굴라툼*, *비피도박테리움 아스테로이데스*, *비피도박테리움 보움*, *비피도박테리움 코에리눔*, *비피도박테리움 코리네포르메*, *비피도박테리움 쿠니쿨리*, *비피도박테리움 덴티콜렌스*, *비피도박테리움 덴티움*, *비피도박테리움 갈리쿰*, *비피도박테리움 갈리나룸*, *비피도박테리움 인디쿰*, *비피도박테리움 이노피나툼*, *비피도박테리움 마그눔*, *비피도박테리움 메리시쿰*, *비피도박테리움 미니뭄*, *비피도박테리움 슈도롱검*, *비피도박테리움 풀로룸*, *비피도박테리움 사이크래로필룸*, *비피도박테리움 루미난티움*, *비피도박테리움 새쿨라레*, *비피도박테리움 스카르도비*, *비피도박테리움 시미애*, *비피도박테리움 서브틸*, *비피도박테리움 테람시도필룸*, *비피도박테리움 테르모필룸*, *비피도박테리움 추루미엔세*, *비피도박테리움 우리날리스* 또는 *비피도박테리움 종*의 박테리아를 포함하는 방법.

청구항 61

제57항에 있어서, 박테리아 제형이 경구 투여 또는 직장 투여에 의해 투여되는 방법.

청구항 62

제61항에 있어서, 박테리아 제형이 경구 투여에 의해 투여되는 방법.

청구항 63

제57항에 있어서, 박테리아 제형이 적어도 $5x10^6$CFU의 *비피도박테리움* 속의 박테리아를 포함하는 방법.

청구항 64

제1항에 있어서, 박테리아 제형이 둘 이상의 용량으로 대상에게 투여되는 방법.

청구항 65

제64항에 있어서, 둘 이상의 용량의 투여가 적어도 1주 분리된 방법.

청구항 66

제57항에 있어서, 박테리아 제형의 투여 전에 항생제를 대상에게 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 67

제66항에 있어서, 항생제가 박테리아 제형이 대상에게 투여되기 적어도 1일 전에 대상에게 투여되는 방법.

청구항 68

제57항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 면역 체크포인트 단백질에 결합하는 단백질 또는 폴리펩타이드인 방법.

청구항 69

제68항에 있어서, 면역 체크포인트 단백질이 CTLA4, PD-1, PD-L1, PD-L2, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, KIR, LAG3, TIM-3 또는 VISTA인 방법.

청구항 70

제69항에 있어서, 면역 체크포인트 단백질이 PD-1 또는 PD-L1인 방법.

청구항 71

제57항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 면역 체크포인트 단백질에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편인 방법.

청구항 72

제71항에 있어서, 면역 체크포인트 단백질이 CTLA4, PD-1, PD-L1, PD-L2, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, KIR, LAG3, TIM-3 또는 VISTA인 방법.

청구항 73

제72항에 있어서, 면역 체크포인트 단백질이 PD-1 또는 PD-L1인 방법.

청구항 74

제57항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 니볼루맙 (nivolumab), 펨브롤리주맙 (pembrolizumab), 피딜리주맙 (pidilizumab), AMP-224, AMP-514, STI-A1110, TSR-042, RG-7446, BMS-936559, BMS-936558, MK-3475, CT 011, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0020718C, AUR-012 및 STI-A1010인 방법.

청구항 75

제57항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 정맥내 주사, 근육내 주사, 종양내 주사 또는 피하 주사에 의해 투여되는 방법.

청구항 76

적어도 $5x10^6$CFU의 *비피도박테리움* 속의 박테리아를 포함하는 박테리아 제형을 대상에게 투여하는 것을 포함하는 인간 대상에서 암을 치료하는 방법으로서, 박테리아 제형 내의 박테리아 중 적어도 50%가 *비피도박테리움* 속인 방법.

청구항 77

제76항에 있어서, 박테리아 제형 내의 박테리아 중 적어도 90%가 *비피도박테리움* 속인 방법.

청구항 78

제76항에 있어서, *비피도박테리움* 속의 박테리아가 *비피도박테리움 락티스, 비피도박테리움 비피둠, 비피도박테리움 롱검, 비피도박테리움 아니말리스, 비피도박테리움 브레베, 비피도박테리움 인펀티스, 비피도박테리움 카테눌라툼, 비피도박테리움 슈도카테눌라툼, 비피도박테리움 아돌레센티스, 비피도박테리움 안굴라툼, 비피도박테리움 아스테로이데스, 비피도박테리움 보움, 비피도박테리움 코에리눔, 비피도박테리움 코리네포르메, 비피도박테리움 쿠니쿨리, 비피도박테리움 덴티콜렌스, 비피도박테리움 덴티움, 비피도박테리움 갈리쿰, 비피도박테리움 갈리나룸, 비피도박테리움 인디쿰, 비피도박테리움 이노피나툼, 비피도박테리움 마그눔, 비피도박테리움 메리시쿰, 비피도박테리움 미니뭄, 비피도박테리움 슈도롱검, 비피도박테리움 풀로룸, 비피도박테리움 사이크래로필룸, 비피도박테리움 루미난티움, 비피도박테리움 새쿨라레, 비피도박테리움 스카르도비, 비피도박테리움 시미애, 비피도박테리움 서브틸, 비피도박테리움 태람시도필룸, 비피도박테리움 테르모필룸, 비피도박테리움 추루미엔세, 비피도박테리움 우리날리스* 또는 *비피도박테리움 종*의 박테리아를 포함하는 방법.

청구항 79

제76항에 있어서, 박테리아 제형이 경구 투여 또는 직장 투여에 의해 투여되는 방법.

청구항 80

제79항에 있어서, 박테리아 제형이 경구 투여에 의해 투여되는 방법.

청구항 81

제76항에 있어서, 박테리아 제형이 둘 이상의 용량으로 대상에게 투여되는 방법.

청구항 82

제76항에 있어서, 박테리아 제형이 대상에게 투여되기 전에 항생제를 대상에게 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 83

제76항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제를 대상에게 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 84

제83항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 CTLA4, PD-1, PD-L1, PD-L2, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, KIR, LAG3, TIM-3 또는 VISTA에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편인 방법.

청구항 85

제83항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 PD-1 또는 PD-L1에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편인 방법.

청구항 86

제83항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 니볼루맙 (nivolumab), 펨브롤리주맙 (pembrolizumab), 피딜리주맙 (pidilizumab), AMP-224, AMP-514, STI-A1110, TSR-042, RG-7446, BMS-936559, BMS-936558, MK-3475, CT O11, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0020718C, AUR-012 및 STI-A1010인 방법.

청구항 87

공여자 대상으로부터 수득된 미생물총을 포함하는 박테리아 제형을 수령자 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 수령자 대상에서 암을 치료하거나 예방하는 방법으로서, 공여자 대상은 면역 체크포인트 억제제 면역요법에 의해 암의 치료를 촉진하는 미생물총을 포함하는 방법.

청구항 88

제87항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제를 수령자 대상에게 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 89

제88항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 면역 체크포인트 단백질에 특이적으로 결합하는 단백질 또는 폴리펩타이드인 방법.

청구항 90

제88항에 있어서, 면역 체크포인트 단백질이 CTLA4, PD-1, PD-L1, PD-L2, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, KIR, LAG3, TIM-3 또는 VISTA로 이루어진 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 91

제89항 또는 제90항에 있어서, 폴리펩타이드 또는 단백질이 항체 또는 이의 항원-결합 단편인 방법.

청구항 92

제88항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 간섭 핵산 분자인 방법.

청구항 93

제92항에 있어서, 간섭 핵산 분자가 siRNA 분자, shRNA 분자 또는 안티센스 RNA 분자인 방법.

청구항 94

제88항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 니볼루맙 (nivolumab), 펨브롤리주맙 (pembrolizumab), 피딜리주맙 (pidilizumab), AMP-224, AMP-514, STI-A1110, TSR-042, RG-7446, BMS-936559, BMS-936558, MK-3475, CT 011, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0020718C, AUR-012 및 STI-A1010으로 이루어진 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 95

제88항 내지 제94항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 박테리아 제형 전에 투여되는 방법.

청구항 96

제95항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 박테리아 제형의 적어도 1일 전에 투여되는 방법.

청구항 97

제88항 내지 제94항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 체크포인트가 박테리아 제형과 거의 동시에 투여되는 방법.

청구항 98

제97항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 박테리아 제형과 동일한 일자에 투여되는 방법.

청구항 99

제88항 내지 제94항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 박테리아 제형 후에 투여되는 방법.

청구항 100

제88항 내지 제94항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 박테리아 제형의 적어도 1일 후에 투여되는 방법.

청구항 101

제88항 내지 제100항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 주사에 의해 투여되는 방법.

청구항 102

제101항에 있어서, 주사가 정맥내, 근육내, 종양내 또는 피하 주사인 방법.

청구항 103

제87항 내지 제102항 중 어느 한 항에 있어서, 공여자 대상으로부터 수득된 미생물총이 배설물인 방법.

청구항 104

제87항 내지 제102항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 기생충 또는 유해한 미생물이 수령자 대상에게 투여되기 전에 미생물총으로부터 제거되는 방법.

청구항 105

제87항 내지 제102항 중 어느 한 항에 있어서, 박테리아 제형이 경구 투여 또는 직장 투여에 의해 수령자 대상에게 투여되는 방법.

청구항 106

제87항 내지 제105항 중 어느 한 항에 있어서, 박테리아 제형이 둘 이상의 용량으로 대상에게 투여되는 방법.

청구항 107

제106항에 있어서, 둘 이상의 용량의 투여가 적어도 1주 분리되는 방법.

청구항 108

제87항 내지 제107항 중 어느 한 항에 있어서, 박테리아 제형의 투여 전에 항생제를 대상에게 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 109

제108항에 있어서, 항생제가 박테리아 제형이 대상에게 투여되기 적어도 1일 전에 대상에게 투여되는 방법.

청구항 110

제87항 내지 제109항 중 어느 한 항에 있어서, 공여자 대상으로부터 미생물총을 수득하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 111

공여자 대상으로부터 수득된 미생물총을 포함하는 박테리아 제형으로서, 공여자 대상은 면역 체크포인트 억제제 면역요법에 의해 암의 치료를 촉진하는 미생물총을 포함하는 박테리아 제형.

청구항 112

제111항에 있어서, 공여자 대상의 배설물을 포함하는 박테리아 제형.

청구항 113

제111항 또는 제112항에 있어서, 미생물총에 원래 존재하는 하나 이상의 유해한 미생물이 제거되거나 사멸된 박테리아 제형.

청구항 114

제111항 내지 제113항 중 어느 한 항에 있어서, 미생물총이 하나 이상의 미생물이 농축된 박테리아 제형.

청구항 115

제114항에 있어서, 미생물총이 *비피도박테리움, 리케넬라, 알리스티페스, 마마리닐라빌리*, 또는 *아내로스티페스* 속의 박테리아가 농축된 박테리아 제형.

청구항 116

제115항에 있어서, 박테리아 제형이 적어도 $5x10^{6}$CFU의 *비피도비피도박, 리케넬라, 알리스티페스, 마리닐라빌리아*, 또는 *아내로스티페아* 속의 박테리아를 포함하는 박테리아 제형.

청구항 117

제114항에 있어서, 미생물총이 *비피도박테리움* 속이 농축된 박테리아 제형.

청구항 118

제117항에 있어서, 박테리아 제형이 적어도 $5x10^6$CFU의 *비피도비피도박* 속의 박테리아를 포함하는 박테리아 제형.

청구항 119

제111항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 박테리아 제형이 적어도 $5x10^6$CFU의 박테리아를 포함하는 박테리아 제형.

청구항 120

제111항 내지 제119항 중 어느 한 항에 있어서, 박테리아 제형이 약제학적으로 허용가능한 담체를 추가로 포함하는 박테리아 제형.

청구항 121

제120항에 있어서, 박테리아 제형이 고체 제형인 박테리아 제형.

청구항 122

제121항에 있어서, 박테리아 제형이 분말, 정제, 환제, 캡슐, 카세트, 좌제, 또는 분산가능한 과립으로서 제형화되는 박테리아 제형.

청구항 123

제120항에 있어서, 박테리아 제형이 액체 제형인 박테리아 제형.

청구항 124

제123항에 있어서, 박테리아 제형이 유화액, 시럽, 엘릭서르, 수용액 또는 수성 현탁액으로서 제형화되는 박테리아 제형.

청구항 125

제111항 내지 제124항 중 어느 한 항에 있어서, 경구 전달을 위해 제형화되는 박테리아 제형.

청구항 126

제111항 내지 제124항 중 어느 한 항에 있어서, 직장 전달을 위해 제형화되는 박테리아 제형.

청구항 127

제111항 내지 제126항 중 어느 한 항의 박테리아 제형을 수령자 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 수령자 대상에서 암을 치료하거나 예방하는 방법.

청구항 128

제127항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제를 수령자 대상에게 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 129

제128항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 면역 체크포인트 단백질에 특이적으로 결합하는 단백질 또는 폴리펩타이드인 방법.

청구항 130

제128항에 있어서, 면역 체크포인트 단백질이 CTLA4, PD-1, PD-L1, PD-L2, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, KIR,

LAG3, TIM-3 또는 VISTA로 이루어진 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 131

제129항 또는 제130항에 있어서, 폴리펩타이드 또는 단백질이 항체 또는 이의 항원-결합 단편인 방법.

청구항 132

제128항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 간섭 핵산 분자인 방법.

청구항 133

제132항에 있어서, 간섭 핵산 분자가 siRNA 분자, shRNA 분자 또는 안티센스 RNA 분자인 방법.

청구항 134

제128항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 니볼루맙 (nivolumab), 펨브롤리주맙 (pembrolizumab), 피딜리주맙 (pidilizumab), AMP-224, AMP-514, STI-A1110, TSR-042, RG-7446, BMS-936559, BMS-936558, MK-3475, CT 01 1, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0020718C, AUR-012 및 STI-A1010으로 이루어진 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 135

제128항 내지 제134항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 박테리아 제형 전에 투여되는 방법.

청구항 136

제135항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 박테리아 제형의 적어도 1일 전에 투여되는 방법.

청구항 137

제128항 내지 제134항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 체크포인트가 박테리아 제형과 거의 동시에 투여되는 방법.

청구항 138

제137항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 박테리아 제형과 동일한 일자에 투여되는 방법.

청구항 139

제128항 내지 제134항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 박테리아 제형 후에 투여되는 방법.

청구항 140

제128항 내지 제134항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 박테리아 제형의 적어도 1일 후에 투여되는 방법.

청구항 141

제128항 내지 제140항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제가 주사에 의해 투여되는 방법.

청구항 142

제141항에 있어서, 주사가 정맥내, 근육내, 종양내 또는 피하 주사인 방법.

청구항 143

제127항 내지 제142항 중 어느 한 항에 있어서, 박테리아 제형이 경구 투여 또는 직장 투여에 의해 수령자 대상에게 투여되는 방법.

청구항 144

제127항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 박테리아 제형이 둘 이상의 용량으로 대상에게 투여되는 방법.

청구항 145

제144항에 있어서, 둘 이상의 용량의 투여가 적어도 1주 분리된 방법.

청구항 146

제127항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, 박테리아 제형의 투여 전에 항생제를 대상에게 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 147

제146항에 있어서, 항생제가 박테리아 제형이 대상에게 투여되기 적어도 1일 전에 대상에게 투여되는 방법.

청구항 148

제127항 내지 제147항 중 어느 한 항에 있어서, 공여자 대상으로부터 미생물총을 수득하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 149

제127항 내지 제148항 중 어느 한 항에 있어서, 공여자 대상이 체크포인트 억제제 면역요법에 대한 반응 및/또는 공여자 대상 암 유형에 기초하여 선택되는 방법.

청구항 150

제111항 내지 제126항 중 어느 한 항에 있어서, 공여자가 체크포인트 억제제 면역요법에 대한 공여자의 반응 및/또는 공여자 대상 암 유형에 기초하여 선택되는 박테리아 제형.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원에 대한 교차참조**

[0002] 본원은 U.S. 가특허출원 62/169,112(2015년 6월 1일 출원), 및 U.S. 가특허출원 62/248,741(2015년 10월 30일 출원)의 우선권 이점을 주장하고, 이들 각각은 그 전체가 참고로 본 명세서에 편입되어 있다.

[0003] **기술분야**

[0004] 공생 미생물총의 조작에 의한 암의 치료 및/또는 예방 방법이 본원에 제공된다. 특히, 하나 이상의 병용치료를 용이하게 하기 위해 대상에서의 미생물총 (예컨대, 장내 미생물총)의 양, 신원, 존재, 및/또는 비율이 조작된다.

배 경 기 술

[0005] 숙주 면역 시스템의 이용은 면역 기억과 관련된 이점의 지속성과 함께, 정상 조직에의 손상을 제한하면서 종양 세포를 특이적으로 표적화하는 그의 잠재성 때문에 암의 치료를 위한 유망한 접근법이다. 특히 면역 억제 경로를 차단하는 항체, 구체적으로 CTLA-4 및 PD-1/PD-L1 축 (axis)을 이용한 최근의 임상적 성공에 의해 열의가 높아졌다 (Hodi 등 The New England journal of medicine 363, 711-723 (2010); Hamid 등 The New England journal of medicine 369, 134-144 (2013); 그 전체가 참고로 본원에 포함됨). 초기 데이터는 이러한 면역요법에 대한 임상적 반응이 기저선에서 종양 미세환경에서 진행되는 내인성 T 세포 반응의 증거를 보이는 환자에서 더 빈번하다는 것을 나타내었다 (Tumeh 등 Nature 515, 568-571 (2014); Spranger 등 Science translational medicine 5, 200ra116 (2013); Ji 등 Cancer immunology, immunotherapy: CII 61, 1019-1031 (2012); Gajewski 등 Cancer journal 16, 399-403 (2010); 그 전체가 참고로 본원에 포함됨). 이러한 T 세포 염증성 종양 미세환경의 기능적 및 임상적 중요성에도 불구하고, 이 표현형의 존재 또는 부존재를 지배하는 기전은 잘 이해되지 않고 있다. 환자간 이질성의 이론적 원인은 숙주 수준에서 생식계열 유전적 차이, 종양 세포에서 체세포 변화 패턴의 다양성, 및 전신 면역에 영향을 미칠 가능성이 있는 환경적 차이를 포함한다.

발명의 내용

[0006] 공생 미생물총의 조작에 의한 암의 치료 및/또는 예방 방법이 본원에 제공된다. 특히, 하나 이상의 병용치료를 용이하게 하기 위해 대상에서의 미생물총 (예컨대, 장내 미생물총)의 양, 신원, 존재, 및/또는 비율이 조작된다.

[0007] 일부 구현예에서, 하기를 위해 대상 내의 하나 이상의 공생 미생물의 수준을 조절하는 것을 포함하는, 대상에서 암을 치료하거나 예방하는 방법이 본원에 제공된다: (A) 대상에 의한 면역 반응을 향상시키고, (B) 암의 성장 또는 확산을 억제하고, (C) 암에 의한 면역 회피를 억제하고/하거나 (D) 치료제의 효능을 향상시키기 위해. 일부 구현예에서, 하나 이상의 공생 미생물의 수준은 대상의 장내에서 조절된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 공생 미생물의 수준을 조절하는 것은 *아들레르크레우트지아 (Adlercreutzia), 오실로피라 (Oscillopira), 몰리쿠테스 (Mollicutes), 부티리비브리오 (Butyrivibrio), 박테로이데스 (Bacteroides), 클로스트리듐 (Clostridium), 푸소박테리움 (Fusobacterium), 유박테리움 (Eubacterium), 루미노코커스 (Ruminococcus), 펩토코커스 (Peptococcus), 펩토스트렙토코커스 (Peptostreptococcus), 비피도박테리움 (Bifidobacterium), 리케넬라 (Rikenella), 알리스티페스 (Alistipes), 마리닐라빌리아 (Marinilabilia), 아내로스티페스 (Anaerostipes), 에세리키아 (Escherichia)*, 및/또는 *락토바실러스 (Lactobacillus)* 속으로부터 선택되는 하나 이상의 박테리아의 수준을 증가시키고/시키거나 감소시키는 것을 포함한다.

[0008] 일부 구현예에서, 하나 이상의 공생 미생물의 수준을 조절하는 것은 유익한 미생물을 대상에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 유익한 미생물은 박테리아이다. 일부 구현예에서, 박테리아는 *아들레르크레우트지아, 오실로피라, 몰리쿠테스, 부티리비브리오, 박테로이데스, 클로스트리듐, 푸소박테리움, 유박테리움, 루미노코커스, 펩토코커스, 펩토스트렙토코커스, 비피도박테리움, 리케넬라, 알리스티페스, 마리닐라빌리아, 아내로스티페스, 에세리키아*, 및/또는 *락토바실러스 속으로부터 선택된다*. 일부 구현예에서,

[0009] 박테리아는 *비피도박테리움*이다. 일부 구현예에서, *비피도박테리움*은 *비피도박테리움 락티스 (Bifidobacterium lactis), 비피도박테리움 비피둠 (Bifidobacterium bifidium), 비피도박테리움 롱검 (Bifidobacterium longum), 비피도박테리움 아니말리스 (Bifidobacterium animalis), 비피도박테리움 브레베 (Bifidobacterium breve), 비피도박테리움 인펀티스 (Bifidobacterium infantis), 비피도박테리움 카테눌라툼 (Bifidobacterium catenulatum), 비피도박테리움 슈도카테눌라툼 (Bifidobacterium pseudocatenulatum), 비피도박테리움 아돌레센티스 (Bifidobacterium adolescentis)*, 및 *비피도박테리움 안굴라툼 (Bifidobacterium angulatum)*으로 이루어진 군으로부터 선택되는 박테리아를 포함한다. 일부 구현예에서, 유익한 미생물은 프로바이오틱 조성물로서 또는 공여자로부터의 미생물총 이식을 통해 투여된다.

[0010] 일부 구현예에서, 하나 이상의 공생 미생물의 수준을 조절하는 것은 하나 이상의 항미생물제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 항미생물제는 유해한 미생물을 사멸시킨다. 일부 구현예에서, 항미생물제는 항생제이다. 일부 구현예에서, 방법은 유익한 미생물을 대상에게 투여하는 것을 추가로 포함한다.

[0011] 일부 구현예에서, 방법은 대상에게 암 요법을 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 대상 내의 하나 이상의 공생 미생물의 수준을 조절하는 것은 대상에 의한 면역 반응을 향상시키고/시키거나 암에 의한 면역 회피를 억제하며, 암 요법은 면역요법이다. 일부 구현예에서, 면역요법은 항-CTLA-4 항체 및/또는 항-PD-L1 또는 항-PD-1 항체의 투여를 포함한다. 일부 구현예에서, 대상 내의 하나 이상의 공생 미생물의 수준을 조절하는 것은 치료제의 효능을 향상시키며, 암 요법은 상기 치료제이다. 일부 구현예에서, 치료제는 화학치료제를 포함한다. 일부 구현예에서, 방법은 대상을 암에 의한 면역 회피에 대해 시험하는 것을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 방법은 수술, 방사선, 및/또는 화학치료적 암 개입을 추가로 포함한다.

[0012] 일부 구현예에서, 유익한 공생 미생물 및 암 치료제를 포함하는 키트 또는 조성물이 본원에 제공되며, 상기 조성물 또는 상기 키트의 성분은 대상에게 치료적 전달을 위해 제형화된다.

[0013] 일부 구현예에서, 암의 치료 및/또는 면역 회피의 억제에서 약물로서 사용하기 위한 유익한 공생 미생물이 본원에 제공된다.

[0014] 일부 구현예에서, *비피도박테리움, 리케넬라, 알리스티페스, 마리닐라빌리아*, 또는 *아내로스티페스* 속의 박테리아를 포함하는 박테리아 제형을 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 암을 치료하거나 예방하는 방법이 본원에 제공된다. 일부 구현예에서, 박테리아 제형 내의 박테리아 중 적어도 50%는 비피도박테리움, *리케넬라, 알리스티페스, 마리닐라빌리아*, 또는 *아내로스티페스* 속이다. 일부 구현예에서, 박테리아 제형 내의 박테리아 중 적어도 90%는 비피도박테리움, *리케넬라, 알리스티페스, 마리닐라빌리아*, 또는 *아내로스티페스* 속이다. 일부 구현예에서, 박테리아 제형은 비피도박테리움 속의 박테리아를 포함한다. 일부 구현예에서, 박테리아 제형 내의

박테리아 중 적어도 50%는 비피도박테리움 속이다. 일부 구현예에서, 박테리아 제형 내의 박테리아 중 적어도 90%는 비피도박테리움 속이다.

[0015] 일부 구현예에서, 비피도박테리움 속의 박테리아는 비피도박테리움 락티스 (Bifidobacterium lactis), 비피도박테리움 비피둠 (Bifidobacterium bifidium), 비피도박테리움 롱검 (Bifidobacterium longum), 비피도박테리움 아니말리스 (Bifidobacterium animalis), 비피도박테리움 브레베 (Bifidobacterium breve), 비피도박테리움 인펀티스 (Bifidobacterium infantis), 비피도박테리움 카테눌라툼 (Bifidobacterium catenulatum), 비피도박테리움 슈도카테눌라툼 (Bifidobacterium pseudocatenulatum), 비피도박테리움 아돌레센티스 (Bifidobacterium adolescentis), 비피도박테리움 안굴라툼 (Bifidobacterium angulatum), 비피도박테리움 아스테로이데스 (Bifidobacterium asteroids), 비피도박테리움 보움 (Bifidobacterium boum), 비피도박테리움 코에리눔 (Bifidobacterium choerinum), 비피도박테리움 코리네포르메 (Bifidobacterium coryneforme), 비피도박테리움 쿠니쿨리 (Bifidobacterium cuniculi), 비피도박테리움 덴티콜렌스 (Bifidobacterium denticolens), 비피도박테리움 덴티움 (Bifidobacterium dentium), 비피도박테리움 갈리쿰 (Bifidobacterium gallicum), 비피도박테리움 갈리나룸 (Bifidobacterium gallinarum), 비피도박테리움 인디쿰 (Bifidobacterium indicum), 비피도박테리움 이노피나툼 (Bifidobacterium inopinatum), 비피도박테리움 마그눔 (Bifidobacterium magnum), 비피도박테리움 메리시쿰 (Bifidobacterium merycicum), 비피도박테리움 미니뭄 (Bifidobacterium minimum), 비피도박테리움 슈도롱검 (Bifidobacterium pseudolongum), 비피도박테리움 풀로룸 (Bifidobacterium pullorum), 비피도박테리움 사이크래로필룸 (Bifidobacterium psychraerophilum), 비피도박테리움 루미난티움 (Bifidobacterium ruminantium), 비피도박테리움 새쿨라레 (Bifidobacterium saeculare), 비피도박테리움 스카르도비 (Bifidobacterium scardovii), 비피도박테리움 시미애 (Bifidobacterium simiae), 비피도박테리움 서브틸 (Bifidobacterium subtile), 비피도박테리움 테람시도필룸 (Bifidobacterium therammcidophilum), 비피도박테리움 테르모필룸 (Bifidobacterium thermophilum), 비피도박테리움 추루미엔세 (Bifidobacterium tsurumiense), 비피도박테리움 우리날리스 (Bifidobacterium urinalis), 비피도박테리움 종 (Bifidobacterium sp)으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0016] 일부 구현예에서, 암은 급성 비림프구성 백혈병 (acute nonlymphocytic leukemia), 만성 림프구성 백혈병 (chronic lymphocytic leukemia), 급성 과립구성 백혈병 (acute granulocytic leukemia), 만성 과립구성 백혈병 (chronic granulocytic leukemia), 급성 전골수성 백혈병 (acute promyelocytic leukemia), 성인 T-세포 백혈병 (adult T-cell leukemia), 무백혈병성 백혈병 (aleukemic leukemia), 백혈구병성 백혈병 (leukocythemic leukemia), 호염기성 백혈병 (basophilic leukemia), 아세포 백혈병 (blast cell leukemia), 소 백혈병 (bovine leukemia), 만성 골수성 백혈병 (chronic myelocytic leukemia), 피부 백혈병 (leukemia cutis), 배아 백혈병 (embryonal leukemia), 호산구성 백혈병 (eosinophilic leukemia), 그로스 백혈병 (Gross' leukemia), 리더 세포 백혈병 (Rieder cell leukemia), 쉴링 백혈병 (Schilling's leukemia), 줄기세포 백혈병 (stem cell leukemia), 아백혈병성 백혈병(subleukemic leukemia), 미분화 세포 백혈병 (undifferentiated cell leukemia), 모양세포 백혈병 (hairy-cell leukemia), 성혈세포성 백혈병 (hemoblastic leukemia), 혈구아세포성 백혈병 (hemocytoblastic leukemia), 조직구성 백혈병 (histiocytic leukemia), 줄기세포 백혈병 (stem cell leukemia), 급성 단구성 백혈병 (acute monocytic leukemia), 백혈구 감소성 백혈병 (leukopenic leukemia), 림프구성 백혈병 (lymphatic leukemia), 림프아세포 백혈병 (lymphoblastic leukemia), 림프모구 백혈병 (lymphocytic leukemia), 림프행성 백혈병 (lymphogenous leukemia), 림프구성 백혈병 (lymphoid leukemia), 림프육종 세포 백혈병 (lymphosarcoma cell leukemia), 비만세포 백혈병 (mast cell leukemia), 거대핵세포 백혈병 (megakaryocytic leukemia), 미세골수아구성 백혈병 (micromyeloblastic leukemia), 단구성 백혈병 (monocytic leukemia), 골수아구 백혈병 (myeloblastic leukemia), 골수성 백혈병 (myelocytic leukemia), 골수 과립구성 백혈병 (myeloid granulocytic leukemia), 골수단구성 백혈병 (myelomonocytic leukemia), 네겔리 백혈병 (Naegeli leukemia), 형질세포 백혈병 (plasma cell leukemia), 형질구성 백혈병 (plasmacytic leukemia), 전골수성 백혈병 (promyelocytic leukemia), 선방 암종 (acinar carcinoma), 선포 암종 (acinous carcinoma), 선양낭성 암종 (adenocystic carcinoma, adenoid cystic carcinoma), 선암종 (carcinoma adenomatosum), 부신 피질의 암종 (carcinoma of adrenal cortex), 폐포성 암종 (alveolar carcinoma, alveolar cell carcinoma, basal cell carcinoma), 폐포 세포 암종 (alveolar cell carcinoma), 기저 세포 암종 (basal cell carcinoma), 기저세포양 암종 (carcinoma basocellulare, basaloid carcinoma), 바닥편평세포 세포 암종 (basosquamous cell carcinoma), 기관지폐포 암종 (bronchioalveolar carcinoma), 기관지 암종 (bronchiolar carcinoma), 기관지원성 암종 (bronchogenic carcinoma), 대뇌양 암종 (cerebriform carcinoma), 담관세포 암종 (cholangiocellular carcinoma), 융모막 암종 (chorionic carcinoma), 콜로이드 암

종 (colloid carcinoma), 면포암종 (comedo carcinoma), 자궁체 암종 (corpus carcinoma), 사상 암종 (cribriform carcinoma), 흉부 갑옷 암종 (carcinoma en cuirasse), 피부 암종 (carcinoma cutaneum), 원주상 암종 (cylindrical carcinoma), 원주상 세포 암종 (cylindrical cell carcinoma), 유관 암종 (duct carcinoma), 듀럼 암종 (carcinoma durum), 배아 암종 (embryonal carcinoma), 뇌양 암종 (encephaloid carcinoma), 유포피 암종 (epiennoid carcinoma), 상피 선양 암종 (carcinoma epitheliale adenoids), 외성장 암종 (exophytic carcinoma), 궤양외 암종 (carcinoma ex ulcere), 섬유성 암종 (carcinoma fibrosum), 젤라틴 모양 암종 (gelatiniform carcinoma), 젤라틴성 암종 (gelatinous carcinoma), 거대 세포 암종 (giant cell carcinoma), 반지 세포 암종 (signet-ring cell carcinoma), 단순 암종 (carcinoma simplex), 소세포 암종 (small-cell carcinoma), 솔라노이드 암종 (solanoid carcinoma), 구상 세포 암종 (spheroidal cell carcinoma), 방추 세포 암종 (spindle cell carcinoma), 해면질 암종 (carcinoma spongiosum), 편평 암종 (squamous carcinoma), 편평 세포 암종 (squamous cell carcinoma), 스트링 암종 (string carcinoma), 모세혈관확장성 암종 (carcinoma telangiectaticum, carcinoma telangiectodes), 이행 세포 암종 (transitional cell carcinoma), 결절성 암종 (carcinoma tuberosum, tuberous carcinoma), 우췌상 암종 (verrucous carcinoma), 융모상 암종 (carcinoma villosum), 거대세포 암종 (carcinoma gigantocellulare), 샘 암종 (glandular carcinoma), 과립막 세포 암종 (granulosa cell carcinoma), 털-기질 암종 (hair-matrix carcinoma), 간세포양 암종 (hematoid carcinoma), 간세포 암종 (hepatocellular carcinoma), 허슬 세포 암종 (Hurthle cell carcinoma), 초자 암종 (hyaline carcinoma), 하이퍼네프로이드 암종 (hypernephroid carcinoma), 유아성 배아 암종 (infantile embryonal carcinoma), 상피내 암종 (carcinoma in situ, intraepidermal carcinoma), 크롬 페쳐 암종 (Krompecher's carcinoma), 컬키츠키-세포 암종 (Kulchitzky-cell carcinoma), 거대 세포 암종 (large-cell carcinoma), 렌즈모양 암종 (lenticular carcinoma, carcinoma lenticulare), 지방성 암종 (lipomatous carcinoma), 림프상피 암종 (lymphoepithelial carcinoma), 수양 암종 (carcinoma medullare), 수질 암종 (medullary carcinoma), 멜라닌성 암종 (melanotic carcinoma), 피부연성 암종 (carcinoma molle), 점액 암종 (mucinous carcinoma, carcinoma muciparum), 점액세포 암종 (carcinoma mucocellulare), 점액표피양 암종 (mucoepidermoid carcinoma), 점막 암종 (carcinoma mucosum, mucous carcinoma), 점액종성 암종 (carcinoma myxomatodes), 비인두 암종 (naspharyngeal carcinoma), 연맥세포 암종 (oat cell carcinoma), 화골성 암종 (carcinoma ossificans), 유골 암종 (osteoid carcinoma), 유두상 암종 (papillary carcinoma), 문맥주위 암종 (periportal carcinoma), 전침윤 암종 (preinvasive carcinoma), 가시 세포 암종 (prickle cell carcinoma), 풀모양 암종 (pultaceous carcinoma), 신장의 신장 세포 암종 (renal cell carcinoma of kidney), 예비 세포 암종 (reserve cell carcinoma), 육종성 암종 (carcinoma sarcomatodes), 슈나이더 암종 (schneiderian carcinoma), 경성 암종 (scirrhous carcinoma), 음낭 암종 (carcinoma scroti), 연골육종 (chondrosarcoma), 섬유육종 (fibrosarcoma), 림프육종 (lymphosarcoma), 흑색육종 (melanosarcoma), 점액육종 (myxosarcoma), 골육종 (osteosarcoma), 자궁내막 육종 (endometrial sarcoma), 간질 육종 (stromal sarcoma), 유잉 육종 (Ewing' s sarcoma), 근막 육종 (fascial sarcoma), 섬유아세포 육종 (fibroblastic sarcoma), 거대세포 육종 (giant cell sarcoma), 아베메티 육종 (Abemethy's sarcoma), 지방조직 육종 (adipose sarcoma), 지방육종 (liposarcoma), 포상연부 육종 (alveolar soft part sarcoma), 법랑아 육종 (ameloblastic sarcoma), 포도상형 육종 (botryoid sarcoma), 녹색종 육종 (chloroma sarcoma), 융모막 암종 (chorio carcinoma), 배아 육종 (embryonal sarcoma), 윌름 종양 육종 (Wilms' tumor sarcoma), 과립구성 육종 (granulocytic sarcoma), 호지킨 육종 (Hodgkin's sarcoma), 특발성 다발성 색소출혈성 육종 (idiopathic multiple pigmented hemorrhagic sarcoma), B 세포의 면역아세포성 육종 (immunoblastic sarcoma of B cells), 림프종 (lymphoma), T-세포의 면역아세포성 육종 (immunoblastic sarcoma of T-cells), 젠센 육종 (Jensen's sarcoma), 카포시 육종 (Kaposi's sarcoma), 쿠퍼 세포 육종 (Kupffer cell sarcoma), 혈관육종 (angiosarcoma), 백혈구육종 (leukosarcoma), 악성 간엽 육종 (malignant mesenchymoma sarcoma), 방골성 육종 (parosteal sarcoma), 망상세포 육종 (reticulocytic sarcoma), 라우스 육종 (Rous sarcoma), 혈청세포 육종 (serocystic sarcoma), 활막육종 (synovial sarcoma), 모세혈관확장성 육종 (telangiectaltic sarcoma), 호지킨병 (Hodgkin's Disease), 비호지킨 림프종 (Non-Hodgkin's Lymphoma), 다발성 골수종 (multiple myeloma), 신경아세포종 (neuroblastoma), 유방암 (breast cancer), 난소암 (ovarian cancer), 폐암 (lung cancer), 횡문근육종 (rhabdomyosarcoma), 원발성 혈소판감소증 (primary thrombocytosis), 원발성 마크로글로불린혈증 (primary macroglobulinemia), 소세포 폐 종양 (small-cell lung tumors), 원발성 뇌 종양(primary brain tumors), 위암 (stomach cancer), 결장암 (colon cancer), 악성 췌장 인슐린혈증 (malignant pancreatic insulanoma), 악성 유암종 (malignant carcinoid), 악성전구 피부 병변 (premalignant skin lesions), 고환암 (testicular cancer), 림프종 (lymphomas), 갑상선암 (thyroid cancer), 신경아세포종 (neuroblastoma), 식도암

(esophageal cancer), 비뇨생식기암 (genitourinary tract cancer), 악성 고칼슘혈증 (hypercalcemia), 자궁경부암 (cervical cancer), 자궁내막암 (endometrial cancer), 부신피질암 (adrenal cortical cancer), 하딩-파세이 흑색종 (Harding-Passey melanoma), 소아 흑색종 (juvenile melanoma), 악성 흑색점 흑색종 (lentigo maligna melanoma), 악성 흑색종 (malignant melanoma), 선단 흑자성 흑색종 (acral-lentiginous melanoma), 무멜라닌성 흑색종 (amelanotic melanoma), 양성 소아 흑색종 (benign juvenile melanoma), 클라우드만 흑색종 (Cloudman's melanoma), S91 흑색종 (S91 melanoma), 결절성 흑색종 (nodular melanoma), 손톱밑 흑색종 (subungual melanoma), 및 표재 확장성 흑색종 (superficial spreading melanoma)으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0017] 일부 구현예에서, 대상은 인간이다. 일부 구현예에서, 박테리아 제형은 경구 투여, 직장 투여, 국소 투여, 흡입 또는 주사에 의해 투여된다. 일부 구현예에서, 박테리아 제형은 식품이다. 일부 구현예에서, 박테리아 제형은 적어도 약 $5x10^6$ CFU의 박테리아를 포함한다. 일부 구현예에서, 박테리아 제형은 둘 이상의 용량으로 대상에게 투여된다. 일부 구현예에서, 둘 이상의 용량 중 적어도 2개의 용량의 투여는 적어도 1일 분리된다. 일부 구현예에서, 둘 이상의 용량 중 적어도 2개의 용량의 투여는 적어도 1주 분리된다.

[0018] 일부 구현예에서, 방법은 항생제를 대상에게 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 항생제는 박테리아 제형 전에 대상에게 투여된다. 일부 구현예에서, 항생제는 박테리아 제형이 대상에게 투여되기 적어도 1일 전에 대상에게 투여된다.

[0019] 일부 구현예에서, 방법은 면역 체크포인트 억제제를 대상에게 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 면역 체크포인트 단백질에 특이적으로 결합하는 단백질 또는 폴리펩타이드이다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 단백질은 CTLA4, PD-1, PD-L1, PD-L2, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, KIR, LAG3, TIM-3 또는 VISTA로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 또는 단백질은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 간섭 핵산 분자이다. 일부 구현예에서, 간섭 핵산 분자는 siRNA 분자, shRNA 분자 또는 안티센스 RNA 분자이다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 니볼루맙 (nivolumab), 펨브롤리주맙 (pembrolizumab), 피딜리주맙 (pidilizumab), AMP-224, AMP-514, STI-A1110, TSR-042, RG-7446, BMS-936559, BMS-936558, MK-3475, CT O1 1, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0020718C, AUR-012 및 STI-A1010으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 박테리아 제형 전에 투여된다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 박테리아 제형의 적어도 1일 전에 투여된다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트는 박테리아 제형과 거의 동시에 투여된다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 박테리아 제형과 동일한 일자에 투여된다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 박테리아 제형 후에 투여된다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 박테리아 제형의 적어도 1일 후에 투여된다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 주사에 의해 투여된다. 일부 구현예에서, 주사는 정맥내, 근육내, 종양내 또는 피하 주사이다.

[0020] 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제 및 비피도박테리움 속의 박테리아를 포함하는 박테리아 제형을 대상에게 투여하는 것을 포함하는 인간 대상에서 암을 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 일부 구현예에서, 하기 중 적어도 50% (예컨대, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 이상, 또는 이들 사이의 범위)는 비피도박테리움 속이다: 박테리아 제형 내의 박테리아. 일부 구현예에서, 하기 중 적어도 90% (예컨대, 90%, 95%, 99%, 99.9%, 99.99% 이상 또는 이들 사이의 범위)는 비피도박테리움 속이다: 박테리아 제형 내의 박테리아. 일부 구현예에서, 비피도박테리움 속의 박테리아는 비피도박테리움 락티스, 비피도박테리움 비피둠, 비피도박테리움 롱검, 비피도박테리움 아니말리스, 비피도박테리움 브레베, 비피도박테리움 인펀티스, 비피도박테리움 카테눌라툼, 비피도박테리움 슈도카테눌라툼, 비피도박테리움 아돌레센티스, 비피도박테리움 안굴라툼, 비피도박테리움 아스테로이데스, 비피도박테리움 보움, 비피도박테리움 코에리눔, 비피도박테리움 코리네포르메, 비피도박테리움 쿠니쿨리, 비피도박테리움 덴티콜렌스, 비피도박테리움 덴티움, 비피도박테리움 갈리쿰, 비피도박테리움 갈리나룸, 비피도박테리움 인디쿰, 비피도박테리움 이노피나툼, 비피도박테리움 마그눔, 비피도박테리움 메리시쿰, 비피도박테리움 미니뭄, 비피도박테리움 슈도롱검, 비피도박테리움 풀로룸, 비피도박테리움 사이크래로필룸, 비피도박테리움 루미난티움, 비피도박테리움 새쿨라레, 비피도박테리움 스카르도비, 비피도박테리움 시미애, 비피도박테리움 서브틸, 비피도박테리움 테람시도필룸, 비피도박테리움 테르모필룸, 비피도박테리움 추루미엔세, 비피도박테리움 우리날리스 종 또는 비피도박테리움 종의 박테리아를 포함한다. 일부 구현예에서, 박테리아 제형은 경구 투여 또는 직장 투여에 의해 투여된다. 일부 구현예에서, 박테리아 제형은 경구 투여에 의해 투여된다. 일부 구현예에서, 박테리아 제형은 적어도 $5x10^6$ CFU (예컨대,

$5x10^6$CFU, $1x10^7$CFU, $2x10^7$CFU, $5x10^7$CFU, $1x10^8$CFU, $2x10^8$CFU, $5x10^8$CFU, $1x10^9$CFU, $2x10^9$CFU, $5x10^9$CFU, $1x10^{10}$CFU, $2x10^{10}$CFU, $5x10^{10}$CFU, $1x10^{11}$CFU, $2x10^{11}$CFU, $5x10^{11}$CFU, $1x10^{12}$CFU, $2x10^{12}$CFU, $5x10^{12}$CFU 이상 또는 이들 사이의 범위)의 비피도박테리움 속의 박테리아를 포함한다. 일부 구현예에서, 박테리아 제형은 둘 이상의 용량으로 대상에게 투여된다 (예컨대, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 이상, 또는 이들 사이의 범위). 일부 구현예에서, 용량의 투여는 적어도 1주 분리된다. 일부 구현예에서, 방법은 박테리아 제형의 투여 전에 항생제를 대상에게 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 항생제는 박테리아 제형이 대상에게 투여되기 적어도 1일 전에 대상에게 투여된다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 면역 체크포인트 단백질에 결합하는 단백질 또는 폴리펩타이드이다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 면역 체크포인트 단백질에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 단백질은 CTLA4, PD-1, PD-L1, PD-L2, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, KIR, LAG3, TIM-3 또는 VISTA이다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 단백질은 PD-1 또는 PD-L1이다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 니볼루맙, 펨브롤리주맙, 피딜리주맙, AMP-224, AMP-514, STI-A1110, TSR-042, RG-7446, BMS-936559, BMS-936558, MK-3475, CT 01 1, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0020718C, AUR-012 및 STI-A1010이다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 정맥내 주사, 근육내 주사, 종양내 주사 또는 피하 주사에 의해 투여된다.

[0021] 일부 구현예에서, 하기를 포함하는 박테리아 제형을 대상에게 투여하는 것을 포함하는 인간 대상에서 암을 치료하는 방법이 본원에 제공되며: 적어도 5x106 CFU (예컨대, $5x10^6$ CFU, $1x10^7$ CFU, $2x10^7$ CFU, $5x10^7$ CFU, $1x10^8$ CFU, $2x10^8$ CFU, $5x10^8$ CFU, $1x10^9$ CFU, $2x10^9$ CFU, $5x10^9$ CFU, $1x10^{10}$ CFU, $2x10^{10}$ CFU, $5x10^{10}$ CFU, $1x10^{11}$ CFU, $2x10^{11}$ CFU, $5x10^{11}$ CFU, $1x10^{12}$ CFU, $2x10^{12}$ CFU, $5x10^{12}$ CFU 이상 또는 이들 사이의 범위)의 비피도박테리움 속의 박테리아, 여기서 하기 중 적어도 50% (예컨대, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 이상, 또는 이들 사이의 범위)는 비피도박테리움 속이다: 박테리아 제형 내의 박테리아. 일부 구현예에서, 하기 중 적어도 90% (예컨대, 90%, 95%, 99%, 99.9%, 99.99% 이상 또는 이들 사이의 범위)는 비피도박테리움 속이다: 박테리아 제형 내의 박테리아. 일부 구현예에서, 비피도박테리움 속의 박테리아는 비피도박테리움 락티스, 비피도박테리움 비피둠, 비피도박테리움 롱검, 비피도박테리움 아니말리스, 비피도박테리움 브레베, 비피도박테리움 인펀티스, 비피도박테리움 카테눌라툼, 비피도박테리움 슈도카테눌라툼, 비피도박테리움 아돌레센티스, 비피도박테리움 안굴라툼, 비피도박테리움 아스테로이데스, 비피도박테리움 보움, 비피도박테리움 코에리눔, 비피도박테리움 코리네포르메, 비피도박테리움 쿠니쿨리, 비피도박테리움 덴티콜렌스, 비피도박테리움 덴티움, 비피도박테리움 갈리쿰, 비피도박테리움 갈리나룸, 비피도박테리움 인디쿰, 비피도박테리움 이노피나툼, 비피도박테리움 마그눔, 비피도박테리움 메리시쿰, 비피도박테리움 미니뭄, 비피도박테리움 슈도롱검, 비피도박테리움 풀로룸, 비피도박테리움 사이크래로필룸, 비피도박테리움 루미난티움, 비피도박테리움 새쿨라레, 비피도박테리움 스카르도비, 비피도박테리움 시미애, 비피도박테리움 서브틸, 비피도박테리움 테람시도필룸, 비피도박테리움 테르모필룸, 비피도박테리움 추루미엔세, 비피도박테리움 우리날리스 종 또는 비피도박테리움 종의 박테리아를 포함한다. 일부 구현예에서, 박테리아 제형은 경구 투여 또는 직장 투여에 의해 투여된다. 일부 구현예에서, 박테리아 제형은 경구 투여에 의해 투여된다. 일부 구현예에서, 박테리아 제형은 둘 이상의 용량으로 대상에게 투여된다 (예컨대, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 이상, 또는 이들 사이의 범위). 일부 구현예에서, 방법은 박테리아 제형이 대상에게 투여되기 전에 항생제를 대상에게 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 방법은 면역 체크포인트 억제제를 대상에게 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 CTLA4, PD-1, PD-L1, PD-L2, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, KIR, LAG3, TIM-3 또는 VISTA에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1 또는 PD-L1에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 니볼루맙, 펨브롤리주맙, 피딜리주맙, AMP-224, AMP-514, STI-A1110, TSR-042, RG-7446, BMS-936559, BMS-936558, MK-3475, CT 01 1, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0020718C, AUR-012 및 STI-A1010이다.

도면의 간단한 설명

[0022] 도 1A-H.C57BL/6 JAX 및 TAC 마우스 간의 흑색종 성장 및 종양-특이적 면역 반응의 차이는 공동 사육시 제거된다. (A) 새로 도착한 JAX 및 TAC 마우스에서의 B16.SIY 종양 성장 동역학. (B) 종양 접종 7일 후 종양 보유 JAX 및 TAC 마우스에서의 IFN-γ ELISPOT. (C) IFN-γ 스팟의 평균 크기 (10^{-3} mm^2). (D) 종양 접종 21일 후 유세포 분석법에 의해 결정된 JAX 및 TAC 마우스의 종양 내의 총 $CD8^+$ T 세포 중 SIY^+ T 세포의 백분율. 대표적인 플롯 (좌측), 정량 (우측). (E) 종양 접종 전 3주간 공동 사육된 JAX 및 TAC 마우스에서의 B16.SIY 종양 성장

동역학. (F) 종양 접종 전 3주간 공동 사육된 종양 보유 JAX 및 TAC 마우스에서 IFN-γ 스팟/10^6 비장세포의 수. (G) IFN-γ 스팟의 평균 크기 (10^{-3} mm^2). (H) 종양 접종 전 3주간 공동 배양된 JAX 및 TAC 마우스의 종양 내의 총 $CD8^+$ T 세포 중 SIY^+ T 세포의 백분율.

도2A-G.JAX 배설물을 TAC 마우스에 경구 투여하는 것은 자발적인 항-종양 면역 및 αPD-L1 mAb 요법에 대한 반응을 향상시킨다. (A) 새로 도착한 TAC 마우스, 종양 이식 전에 PBS, TAC 또는 JAX 배설물을 경구로 위관투여한 TAC 및 JAX 마우스에서의 B16.SIY 종양 성장. (B) 종양 접종 7일 후 ELISPOT에 의해 결정된, IFN-γ 스팟의 수 x 평균 스팟 크기 (10^{-3} mm^2). (C) 종양 접종 21일 후, (A)에서와 같이 처리된 TAC 및 JAX 마우스의 종양 내의 SIY^+ $CD8^+$ T 세포의 백분율. 대표적인 플롯 (좌측), 정량 (우측). (D) 종양 이식 7 및 14일 후 JAX 배설물, 종양 이식 7, 10, 13 및 16일 후 αPD-L1 mAb, 또는 두 요법으로 처리되거나 처리되지 않은 TAC 마우스에서의 B16.SIY 종양 성장. (E) 처리 시작 5일 후 평가된 IFN-γ ELISPOT. (F) 처리 시작 14일 후 유세포분석법에 의해 결정된, 종양-침윤성 SIY^+ $CD8^+$ T 세포의 백분율. (G) 종양 이식 후 7, 10, 13 및 16일에 αPD-L1 mAb로 처리되거나 처리되지 않은, TAC 및 JAX 마우스에서의 B16.SIY 종양 성장 동역학.

도3A-G. 확립된 종양을 갖는 TAC 수령자에게 *비피도박테리움*을 직접 투여하는 것은 종양-특이적 면역 및 αPD-L1 mAb 요법에 대한 반응을 개선한다. (A-C) JAX, TAC, TAC-공급 TAC 및 JAX-공급 TAC 마우스로부터 수득된 배설물에서 박테리아 종 다양성 (A), 박테리아 -다양성의 주요 좌표 분석 플롯 (B) 및 상위 *비피도박테리움* 분류군의 조작 분류 단위 (OTU) 수준 (C). A-C에서의 비교는 각 판매회사로부터의 9-10개의 복제물 및 각 처리로부터의 4-5개의 복제물을 사용하여 수행하였다. (D) 종양 이식 7 및 14일 후 *비피도박테리움* (흰색 화살표), 종양 이식 7, 10, 13 및 16일 후 αPD-L1 mAb (검정색 화살표) 또는 두 요법으로 처리되거나 처리되지 않은, TAC 마우스에서의 B16.SIY 종양 성장 동역학. (E) 처리 시작 5일 후 평가된 IFN-γELISPOT. (F) 처리 시작 14일 후 유세포분석법에 의해 측정된 종양-침윤성 SIY^+ $CD8^+$ T 세포의 백분율. 대표적인 플롯 (좌측), 2개의 독립적 실험으로부터 조합된 데이터의 정량 (우측). (G) D에서와 같이 아이소타입-처리된 (좌측) 또는 CD8-고갈된 (우측) 그룹에 대한 B16.SIY 종양 성장.

도 4A-E.JAX 및 *비피도박테리움*-공급된 TAC 마우스로부터 단리된 수지상 세포는 항종양 면역과 관련된 유전자의 발현 증가 및 T 세포 활성화 능력의 증가를 나타낸다: (A) 입양 전달 (adoptive transfer) 후 7일에 TAC, JAX, 비피도박테리움-공급된 TAC 마우스의 종양-배출 림프절 (좌측) 및 비장 (우측)에서 2C $CD8^+$ T 세포의 IFN-γ MFI (평균 형광 강도)의 정량. (B) 유세포분석법에 의해 평가된 바와 같이 종양 이식 40시간 후 TAC, JAX, 및 *비피도박테리움*-공급된 TAC 마우스로부터 단리된 종양에서의 MHC 클래스 IIhi DC의 백분율. (C) DAVID 경로 분석에 의해 평가된 바와 같이, 종양 접종 40시간 후 종양으로부터 단리된 처리되지 않은 TAC DC와 비교하여 JAX 및 *비피도박테리움*-처리된 TAC 유래의 DC에서 증가된 유전자의 하위집단 내에서 발견되는 강화된 (enriched) 생물학적 경로 및 기능.막대는 JAX 및 *비피도박테리움*-공급된 TAC 마우스로부터 단리된 DC에서 상향조절된 경로 내의 유전자의 백분율을 나타낸다. 선은 피셔 (Fisher)의 정확한 검정에 의해 계산된 p-값을 나타낸다. (D) JAX, *비피도박테리움*-처리된 TAC 또는 처리되지 않은 TAC 마우스로부터 단리된 DC 내의 핵심적인 항종양 면역 유전자의 열 지도 (heat map). 각 유전자 전사체에 대한 평균 배수 변화가 우측에 나타나 있다. (E) 상이한 농도의 SIY 펩타이드의 존재하에 순수한 TAC, JAX, 및 비피도박테리움-처리된 TAC 마우스의 말초 림프성 조직으로부터 정제된 DC를 이용하여 시험관내에서 자극된 IFN-$γ^+$ 2C TCR Tg $CD8^+$ T 세포의 정량.

도 5A-D. (A) 예방적 배설물 전달의 도식: 시설에 도착하자마자 JAX 및 TAC 마우스로부터 수집된 배설물 펠렛을 PBS에 재현탁시키고, 균질화하고, B16.SIY 종양 접종 전에 2주 동안 매주 1회씩, 상층액을 나타낸 바와 같은 JAX 또는 TAC 수령자 내로 경구 위관영양법에 의해 도입하였다. (B) 종양 이식 전 2주 동안 매주 1회 TAC 또는 JAX 배설물을 경구로 위관투여한 JAX 마우스에서의 B16.SIY 종양 성장. (C) 종양 접종 7일 후 유세포분석법에 의해 결정된, 도 2A에서와 같은 그룹의 종양 내의 총 $CD8^+$ T 세포 중 SIY^+ T 세포의 백분율. (D) 종양 접종 21일 후 유세포분석법에 의해 결정된 바와 같이, αPD-L1 mAb로 처리되거나 처리되지 않은 JAX 및 TAC 마우스의 종양 내의 총 $CD8^+$ T 세포 중 SIY^+ T 세포의 백분율.

도6A-H. (A) TAC, JAX, TAC-공급된 TAC 및 JAX-공급된 TAC 마우스로부터 수득된 배설물에서 비피도박테리움 속에 속하는 모든 조합된 모든 분류군 (taxa)의 상대적 존재비 (abundance). 비교는 각 판매회사로부터 9-10개의 복제물 및 각 처리로부터 4-5개의 복제물을 사용하여 수행하였다. (B) 환원된 PBS에서 연속 희석 후 RCM 한천에

서 도말하고 혐기성 챔버에서 72시간 동안 인큐베이션한, 살아있는 비피도박테리아 및 열 불활성화된 비피도박테리아의 집락 형성 단위 (CFU)의 수. (C) 종양 이식 7 및 14일 후 살아있는 비피도박테리움, 열 불활성화된 비피도박테리움 또는 JAX 배설물로 처리되거나 처리되지 않은, TAC 마우스에서의 B16.SIY 종양 성장 동역학. (D) 처리 시작 14일 후 유세포분석법에 의해 측정된, C에서와 같은 처리 그룹에 대한 총 $CD8^+$ T 세포 중 종양-침윤성 SIY^+ T 세포의 백분율. C-D는 2-4개의 독립적 실험 (그룹당 5마리 마우스)로부터 조합된 데이터를 나타낸다. (E) 종양 이식 7 및 14일 후 비피도박테리움으로 처리되거나 처리되지 않은 TAC 마우스에서의 B16.F10 종양 성장 동역학. (F) 종양 이식 7 및 14일 후 비피도박테리움으로 처리되거나 처리되지 않은 TAC 마우스에서의 MB49 종양 성장 동역학. (G) 종양 이식 7 및 14일 후 락토바실러스 무리누스 또는 JAX 배설물로 처리되거나 처리되지 않은 TAC 마우스에서의 B16.SIY 종양 성장 동역학. (H) 처리 시작 18일 후 유세포분석법에 의해 결정된, G에서와 같이 처리 그룹에 대한 총 $CD8^+$ T 세포 중 종양-침윤성 SIY^+ T 세포의 백분율.

도7A-D. (A) 생체내 2C 증식 분석의 도식. CD8+ T 세포를 순수한 2C TCR Tg CD45.1+/.2+마우스의 비장 및 림프절로부터 단리하고, CFSE로 표지하고 TAC, JAX 또는 비피도박테리움-처리된 TAC 마우스로부터 유래된 CD45.2+ C57BL/6 마우스에 주사하였다. 24시간 후, 마우스에게 1x106 B16.SIY 흑색종 세포를 피하 접종하였다. 비장 및 종양-배출 림프절을 수확하고 SIY 펩타이드로 생체외에서 재자극시켰다. 세포내 IFN-γ 생산 및 CFSE 희석을 게이트된 (gated) CD45.1+/.2+ 2C T 세포에서 유세포분석법에 의해 평가하였다; TDLN=종양배출 림프절. (B) 게이트된 CD45.1+/.2+ 2C T 세포에서 유세포분석법 (좌측) 및 정량 (우측)에 의해 평가된 대표적인 CFSE 희석.

도8A-G. 확립된 종양을 갖는 TAC 수령자에게 비피도박테리움 을 직접 투여하는 것은 종양-특이적 면역 및 αPD-L1 mAb 요법에 대한 반응을 개선한다. (A) 도 2A에서와 같이 처리된 그룹에서 시간 경과에 따른 박테리아의 β-다양성의 주요 좌표 분석 플롯. (B) 새로 도착한 JAX 대 TAC 마우스 FDR<0.05 (비모수 t 검정)에서 유의하게 상이한 존재비의 분류군의 계통발생 분석; 막대는 로그 변환된 배수 변화를 나타내며, 내부 원=log10(10); 중간 원=log10(100); 외부 원=log10(1000)이다. (C) JAX-공급된 TAC 마우스 FDR<0.05 (비모수 t 검정)에서 유의하게 변경된 속-수준 분류군의 시간 경과에 따른 상대적 존재비를 입증하는 열 지도; 컬럼은 개별적인 마우스를 나타내고; 각 시점은 2개의 별개의 케이지 (케이지당 3-4마리 마우스)로부터의 마우스를 나타낸다. (D) 도착 14일 후 (A)에서와 같은 그룹으로부터 수득된 배설물에서의 비피도박테리움 OTU_681370의 상대적 존재비 및 종양에서의 SIY^+ $CD8^+$ T 세포의 빈도의 상관관계 플롯; p=1.4x10-5, FDR=0.0002, R2=0.86 (단일변량 회귀). (E) 종양 이식 7 및 14일 후 비피도박테리움 , 종양 이식 7, 10, 13 및 16일 후 αPD-L1 mAb, 또는 두 요법으로 처리되거나 처리되지 않은, TAC 마우스에서의 B16.SIY 종양 성장 동역학. (F) 처리 시작 5일 후 평가된 IFN-γ ELISPOT. (G) 처리 시작 14일 후 유세포분석법에 의해 결정된, 종양-침윤성 SIY^+ $CD8^+$ T 세포의 백분율.

도9A-E. (A) 상업적인 비피도박테리움 종으로 접종 후 7일에 TAC 마우스로부터 수득된 배설물에서 비피도박테리움 OTU_681370의 상대적 존재비. (B) 속-특이적 프라이머를 사용한 qPCR에 의해 평가된, 나타낸 바와 같은 그룹으로부터 수득된 배설물에서의 비피도박테리움 수준. (C) 처리 시작 14일 후 유세포분석법에 의해 평가된 바와 같은, 처리되지 않은 TAC 마우스 및 비피도박테리움-처리된 TAC 마우스의 종양 내의 총 $CD8^+$ T 세포 중 SIY^+ T 세포의 백분율을 나타내는 대표적인 플롯. (D) qPCR에 의해 평가된, 비피도박테리움 투여 3주 후 TAC 마우스에서의 비피도박테리움 수준. (E) 종양 이식 6주 전 비피도박테리움 으로 처리되지 않거나 접종된, TAC 마우스에서의 B16.SIY 종양 성장.

도10A-D. (A) 도 3E에서와 같이 아이소타입-처리된 (좌측) 또는 CD8-고갈된 (우측) 그룹에 대한 B16.SIY 종양 성장. (B) 환원된 PBS에서 연속 희석 후 RCM 한천에서 도말하고 혐기성 챔버에서 72시간 동안 인큐베이션한, 살아있는 비피도박테리아 및 열 불활성화된 비피도박테리아의 집락 형성 단위 (CFU)의 수.막대는 각 희석의 2 반복 플레이트를 나타낸다. (C) 종양 이식 7 및 14일 후 살아있는 비피도박테리움, 열 불활성화된 비피도박테리움 또는 JAX 배설물로 처리되거나 처리되지 않은, TAC 마우스에서의 B16.SIY 종양 성장 동역학. (D) 처리 시작 14일 후 유세포분석법에 의해 결정된, (C)에서와 같은 처리 그룹에 대한 총 $CD8^+$ T 세포 중 종양-침윤성 SIY^+ T 세포의 백분율.

도11A-E. (A) ATCC 유래의 B. 브레베 또는 B. 롱검으로 처리되거나 처리되지 않은, TAC 마우스에서의 B16.SIY 종양 성장 동역학. (B) 종양 이식 7 및 14일 후 비피도박테리움 으로 처리되거나 처리되지 않은 TAC 마우스에서의 B16.F10 종양 성장 동역학. (C) 종양 이식 7 및 14일 후 비피도박테리움 으로 처리되거나 처리되지 않은 TAC 마우스에서의 MB49 종양 성장 동역학. (D) 종양 이식 7 및 14일 후 락토바실러스 무리누스 또는 JAX 배설물로

처리되거나 처리되지 않은 TAC 마우스에서의 B16.SIY 종양 성장 동역학. (E) 처리 시작 18일 후 유세포분석법에 의해 결정된, (D)에서와 같은 처리 그룹에 대한 총 $CD8^+$ T 세포 중 종양-침윤성 SIY^+ T 세포의 백분율.

도12A-C. (A) 비피도박테리움-공급된 TAC 마우스 FDR<0.05 (비모수 t-검정)에서 유의하게 변경된 속-수준 분류군의 상대적 존재비를 나타내는 열 지도; 컬럼은 개별적인 마우스를 나타낸다; n = 그룹당 4-8마리 마우스. (B) 유세포분석법에 의해 평가된, 종양 접종 21일 후 JAX 및 TAC 마우스로부터 단리된 종양 내의 CD4+ FOXP3+ T 세포의 빈도; 대표적인 플롯 (상부), 정량 (하부). (C) qPCR에 의해 평가된, TAC, JAX 및 비피도박테리움-접종된 마우스의 장간막 림프절 (mesenteric lymph nodes, mLN), 비장 및 종양 내로의 비피도박테리움의 이동 (translocation)의 평가.

도13A-C. (A) JAX, TAC 및 비피도박테리움-처리된 TAC 마우스의 종양으로부터 DC를 단리하기 위한 전략을 나타내는 대표적인 플롯: 살아있는 CD45+CD3-CD19-MHCIIhiCD11c+ 수지상 세포를 나타낸 바와 같이 분류하였다. (B) DAVID 경로 분석에 의해 평가된 바와 같이, 접종 40시간 후 종양으로부터 단리된 처리되지 않은 TAC DC와 비교하여 JAX 및 비피도박테리움-처리된 TAC 유래의 DC에서 증가된 유전자 (배수 변화 ≥ 1.5)의 하위집단 내에서 발견되는 강화된 모든 생물학적 경로 및 기능. (C) (B)에서와 같이 마이크로어레이 유전자 발현 프로파일링에 의해 확인된 유전자의 qPCR 검증.

도14A-B. (A) 나타낸 바와 같은 상이한 농도의 SIY 펩타이드의 존재하에 순수한 TAC, JAX 및 비피도박테리움-처리된 TAC 마우스로부터 정제된 DC로 시험관내에서 자극된 2C CD8+ T 세포에서의 CFSE 희석 및 IFN-γ 생산의 대표적인 흐름 플롯. (B) 나타낸 바와 같은 상이한 농도의 SIY 펩타이드의 존재하에 순수한 TAC, JAX 및 비피도박테리움-처리된 TAC 마우스로부터 정제된 DC로 시험관내에서 자극된, 희석되지 않은 CFSE를 갖는 2C CD8+ T 세포의 백분율.

도15. 하기의 TAC 마우스에서의 B16.SIY 종양 성장: ATCC 15700 B. 브레베, ATCC BAA-999 B. 롱검, ATCC 27536 B.락티스 또는 ATCC 15696 B. 비피둠으로 개별적으로 처리되지 않거나 처리되거나, 또는 조합된 4개의 균주 모두로 처리됨.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0023] **정의**

[0024] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "미생물"은 박테리아, 진균, 및 고세균을 포함하는 세포 미생물을 지칭하며, 이는 개별적인 유기체 및 임의의 수의 유기체를 포함하는 집단 모두를 포함한다.

[0025] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "미생물총 (microflora)"은 별개의 환경에 위치하는 미생물의 집합체 (assemblage)를 지칭한다. 미생물총은, 예를 들어, 특정 환경에 서식하는 다양한 박테리아, 진균, 및/또는 고세균의 집단을 포함할 수 있다. 예를 들어, "장내 미생물총," "질 미생물총," 및 "경구 미생물총"은 각각 장, 질, 또는 입에 위치하거나 발견되는 하나 이상의 종의 미생물의 집합체이다. "정상 미생물총 (Normal microflora)"은 정상적인 비병리학적 상태의 특정 환경에 위치하는 미생물의 집단 (예컨대, 암이 없는 대상으로부터의 장내 미생물총의 샘플)을 지칭한다. "병리학적 미생물총"은 병리학적 상태의 특정 환경에 위치하는 미생물의 집단을 지칭하고, 다양한 미생물의 신원, 절대적 양, 또는 상대적 양의 측면에서 정상 미생물총과 상이하다.

[0026] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "공생 미생물 (commensal microbe)"은 숙주에 비병원성이고 숙주의 정상 미생물총의 일부인 미생물을 지칭한다.

[0027] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "병용투여"는 적어도 2개의 제제 (예컨대, 공생 미생물총 및 암 요법) 또는 요법을 대상에게 투여하는 것을 지칭한다. 일부 구현예에서, 둘 이상의 제제/요법의 병용투여는 동시에 발생한다. 다른 구현예에서, 둘 이상의 제제/요법의 병용투여는 순차적이다 (예컨대, 제1 제제/요법은 제2 제제/요법 전에 투여됨).

[0028] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "유익한 미생물"은 암/종양 세포의 성장을 억제하고/하거나 암/종양 세포의 치료를 촉진하는 (예컨대, 면역 회피를 억제하는) 미생물 (예컨대, 박테리움) 균주 또는 종을 지칭한다. 유익한 미생물은, 예를 들어, 항암/항종양 환경, 미세환경 및/또는 대사체 (metabolome)를 생성함으로써, 및/또는 면역 회피 또는 암 세포가 요법을 저항하는 다른 기전을 억제하는 환경, 미세환경 및/또는 대사체를 생성함으로써 기능할 수 있다.

[0029] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "유해한 미생물"은 암/종양 세포의 성장을 촉진하고/하거나 암/종양 세포의 치

료의 효과를 예방하거나 감소시키는 (예컨대, 면역 회피를 억제하는) 미생물 (예컨대, 박테리움) 균주 또는 종을 지칭한다. 유해한 미생물은, 예를 들어, 면역 회피 또는 암 세포가 요법을 저항하고/하거나 암/종양 성장을 향상시키는 다른 기전을 촉진하는 환경, 미세환경 및/또는 대사체를 생성함으로써 기능할 수 있다.

[0030] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "약제학적 제제"는 원하는 생물학적 반응을 유도하기 위해 대상에게 투여되는 화합물, 거대분자, 또는 다른 화학적/비-생물학적 독립체를 지칭한다. 약제학적 제제는, 국소적으로 및/또는 전신적으로, 인간 또는 다른 포유동물에서 생물학적으로 활성인 "약물" 또는 또 다른 독립체일 수 있다. 약물의 예는 머크 지수 (Merck Index) 및 의사의 탁상 편람 (Physicians Desk Reference)에 개시되어 있으며, 그 전체 개시내용은 모든 목적을 위해 참고로 본원에 포함되어 있다.

[0031] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "미생물 제제," "공생 미생물 제제," 및 "프로바이오틱"은 대상에게 투여하기 위한 미생물 또는 다수의 상이한 미생물의 집단을 포함하는 조성물을 지칭한다.

[0032] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "항미생물제"는 미생물 감염, 예를 들어, 박테리아, 바이러스, 원생동물 또는 진균에 의해 유발되는 감염을 치료하는 치료적 화합물 또는 생물활성 제제를 기술하는데 사용된다. 항미생물제는 항생제, 항진균제, 항바이러스 또는 항원생동물 또는 항기생충제 (이는 또한 다세포 기생충을 치료하는데 사용될 수 있음)일 수 있다.

[0033] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "항생제" 및 "항박테리아제"는 박테리아에 대해 활성인 화학 제제를 지칭한다. 일반 용법에서, 항생제는 박테리아를 사멸시키거나 이의 성장을 억제하는 물질 또는 화합물 (화학치료제로도 불림)이다. 항-박테리아 항생제는 그들의 표적 특이성에 따라 분류될 수 있다: "좁은 범위 (narrow-spectrum)" 항생제는 그람 음성 또는 그람 양성 박테리아와 같은 특정 유형의 박테리아를 표적화하는 반면, 광범위 (broad-spectrum) 항생제는 광범위한 박테리아에 영향을 미친다. 박테리아 세포벽 (예컨대, 페니실린, 세팔로스포린, 세펨) 또는 세포막 (예컨대, 폴리믹심)을 표적화하거나, 또는 필수 박테리아 효소를 방해하는 (예컨대, 퀴놀론, 설폰아미드) 항생제는 일반적으로 사실상 살균성이다. 아미노글리코시드, 매크로라이드 및 테트라사이클린과 같이 단백질 합성을 표적화하는 항생제는 일반적으로 정균성이다. 3가지 새로운 항생제의 부류는 하기를 포함한다: 사이클릭 리포펩타이드 (예컨대, 답토마이신 (daptomycin)), 글리실사이클린 (예컨대, 티게사이클린 (tigecycline)), 및 옥사졸리디논 (예컨대, 리네졸리드 (linezolid)). 티게사이클린은 광범위 항생제인 반면, 다른 두 가지는 그람 양성 감염에 유용하다.

[0034] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "항바이러스제"는 바이러스 감염을 치료하는데 사용되는 화학 제제를 지칭한다. 항바이러스 약물은 바이러스 감염을 치료하기 위해 특별히 사용되는 약물의 부류이며, 특정 항바이러스제는 특정 바이러스에 의한 감염을 치료하는데 유용하다. 항바이러스제는 전형적으로 바이러스 발달만을 억제한다.

[0035] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "항진균제"는 환자에서 진균 감염을 치료하는데 사용될 수 있는 치료 화합물 또는 생물활성제를 지칭한다. 항진균 약물은 진균 감염, 예컨대 무좀, 백선, 칸디다증 (아구창), 심각한 전신 감염, 예컨대 크립토코커스 수막염 (cryptococcal meningitis), 및 관련 진균 감염을 치료하는데 사용되는 약물이다. 항진균제는, 예를 들어, 그 중에서도, 폴리엔 항진균제, 이미다졸, 트리아졸 및 티아졸 항진균제, 알릴아민 (allylamine), 에키노칸딘 (echinocandin), 그리세오풀빈 (griseofulvin), 플리시스토신 (flycystosine), 운데실렌산 (undecylenic acid)을 포함한다.

[0036] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "항기생충제"는 선충류 (nematodes), 촌충류 (cestodes), 흡충류 (trematodes), 감염성 원생동물, 및 아메바 (amoeba)를 포함하는 기생충 질환을 치료하는데 사용되는 치료 화합물 또는 생물활성제를 지칭한다. 예시적인 항기생충제는 하기를 포함한다: 그 중에서도, 항선충류제 (예컨대, 메벤다졸 (mebendazole), 피란텔 파모에이트 (pyrantel pamoate), 티아벤다졸 (thiabendazole), 디에티카르바진 (diethycarbazine)), 항촌충류제 (예컨대, 니클로사미드 (niclosamide), 프라지콴텔 (praziquantel)), 항흡충류제 (예컨대, 프라지콴텔), 항아메바제 (예컨대, 리팜핀 (rifampin) 및 암포테리신 B (amphotericin B)), 항원생동물제 (예컨대, 멜라르소프롤 (melarsoprol), 에플로르니틴 (eflornithine), 메트로니다졸 (metronidazole) 및 티니다졸 (tinidazole)).

[0037] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "약제학적 제형"은 제제(들)를 대상에게 투여시 원하는 효과를 달성하는데 적합하게 만드는 것을 돕는 하나 이상의 추가 성분과 조합된 적어도 하나의 약제학적 제제 및/또는 미생물제를 지칭한다. 약제학적 제형은 투여 형태의 투여, 방출 (예컨대, 방출 시기), 전달능, 생체이용률, 효과 등을 향상시키기 위해 약제학적/미생물 제제와 물리적으로 결합된 하나 이상의 첨가제, 예를 들어 약제학적으로 허용가능한 부형제, 담체, 침투 증강제, 코팅제, 안정화제, 완충제 또는 다른 물질을 포함할 수 있다. 제형은, 예를 들어,

액체, 현탁액, 고체, 나노입자, 유화액, 미셀, 연고, 겔, 유화액, 코팅 등일 수 있다. 약제학적 제형은 단일 제제 또는 다수의 제제 (예컨대, 미생물제 및 약제학적 제제)를 함유할 수 있다.

[0038] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "대상"은 광범위하게, 비제한적으로, 인간 및 비인간 동물 (예컨대, 개, 고양이, 소, 말, 양, 가금류, 어류, 갑각류 등)을 포함하는 임의의 동물을 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "환자"는 전형적으로 질환 또는 병태 (예컨대, 암, 고체 종양 암, 비-T 세포 침윤된 종양 암 등)를 위해 치료되고 있는 대상을 지칭한다.

[0039] 본원에 사용된 바와 같이, "면역 반응"은 하기를 야기하는 면역계의 세포 (예컨대, T 림프구, B 림프구, 자연 살해 (NK) 세포, 대식세포, 호산구, 비만 세포, 수지상 세포, 호중구 등) 및 이러한 세포 또는 간 중 어느 것에 의해 생산된 가용성 거대분자 (Ab, 사이토카인, 및 보체)의 작용을 지칭한다: 대상으로부터 침입 병원균, 세포 또는 병원균, 또는 암세포 또는 다른 비정상적인 세포로 감염된 조직의 선택적 표적화, 이에 대한 결합, 이에 대한 손상, 이의 파괴, 및/또는 이의 제거.

[0040] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "면역조절제"는 면역 반응을 조절하는 제제 또는 신호전달 경로 (또는 이의 성분)을 지칭한다. 면역반응의 "조절," 또는 "변형"은 면역계의 임의의 변화 또는 이러한 세포의 활성의 임의의 변화를 지칭한다. 이러한 조절은 다양한 세포 유형의 수의 증가 또는 감소, 이들 세포의 활성의 증가 또는 감소, 또는 면역계 내에서 발생할 수 있는 임의의 다른 변화에 의해 나타날 수 있는 면역계의 자극 또는 억제를 포함한다. 억제 및 자극 면역조절제 모두가 확인되었으며, 이들 중 일부는 암 미세환경에서 향상된 기능을 가질 수 있다.

[0041] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "면역 회피"는 암/종양의 지속적인 성장 또는 확산을 최대화하거나 허용하기 위해 암 또는 종양 세포에 의한 대상의 면역계 또는 이의 성분 (예컨대, 내인성 T 세포 반응)을 억제하는 것을 지칭한다.

[0042] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "면역요법"은 면역 반응을 유도, 향상, 억제 또는 변형시키는 것을 포함하는 방법에 의한 질환 또는 병태 (예컨대, 암)의 치료 또는 예방을 지칭한다.

[0043] 본원에 사용된 바와 같이, "내인성 면역 반응을 강화시키는 것"은 대상에서 기존 면역 반응의 효과 또는 효능을 증가시키는 것을 의미한다. 이러한 효과 및 효능의 증가는, 예를 들어, 내인성 숙주 면역 반응을 억제하는 기전을 극복함으로써 또는 내인성 숙주 면역 반응을 향상시키는 기전을 자극함으로써 달성될 수 있다.

[0044] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "항체"는 전체 항체 분자 또는 이의 단편 (예컨대, Fab, Fab', 및 F(ab')2와 같은 단편)을 지칭하며, 이는 다클론 또는 단클론 항체, 키메라 항체, 인간화 항체, 인간 항체 등일 수 있다.

[0045] 천연 항체는 전형적으로 사량체 구조를 갖는다. 사량체는 전형적으로 2개의 동일한 폴리펩타이드 사슬 쌍을 포함하며, 각각의 쌍은 하나의 경쇄 (특정 구현예에서, 약 25 kDa) 및 하나의 중쇄 (특정 구현예에서, 약 50-70 kDa)를 갖는다. 천연 항체에서, 중쇄는 가변 영역, VH, 및 3개의 불변 영역, CH1, CH2, 및 CH3을 포함한다. VH 도메인은 중쇄의 아미노-말단에 있고, CH3 도메인은 카복시-말단에 있다. 천연 항체에서, 경쇄는 가변 영역, VL, 및 불변 영역, CL을 포함한다. 경쇄의 가변 영역은 경쇄의 아미노-말단에 있다. 천연 항체에서, 각 경쇄/중쇄 쌍의 가변 영역은 전형적으로 항원 결합 부위를 형성한다. 불변 영역은 전형적으로 효과기 기능을 담당한다.

[0046] 천연 항체에서, 가변 영역은 전형적으로 동일한 일반 구조를 나타내며, 여기서 비교적 보존된 프레임워크 영역 (FR)은 상보성 결정 영역 (CDR)으로도 불리는 3개의 초가변 영역에 의해 연결된다. 각 쌍의 2개의 사슬로부터의 CDR은 전형적으로 특이적 에피토프에의 결합을 가능하게 할 수 있는 프레임워크 영역에 의해 정렬된다. N-말단에서 C-말단으로, 경쇄 및 중쇄 가변 영역 모두는 전형적으로 도메인 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 및 FR4를 포함한다. 중쇄 상의 CDR은 H1, H2, 및 H3으로 지칭되는 반면, 경쇄 상의 CDR은 L1, L2, 및 L3으로 지칭된다. 전형적으로, CDR3은 항원-결합 부위 내에서 분자 다양성의 가장 큰 근원이다. H3은, 예를 들어, 특정 경우에, 2개의 아미노산 잔기만큼 짧거나 26보다 클 수 있다. 각 도메인에 대한 아미노산의 할당은 전형적으로 하기의 정의에 따른다: Kabat 등 (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Publication No.91-3242, vols.1-3, Bethesda, Md.); Chothia, C., 및 Lesk, A.M. (1987) J. Mol. Biol. 196: 901-917; 또는 Chothia, C. 등 Nature 342: 878-883 (1989). 본원에서, 용어 "CDR"은 달리 명시하지 않는 한 경쇄 또는 중쇄로부터의 CDR을 지칭한다.

[0047] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "중쇄"는 단독으로 또는 경쇄와 조합하여 항원 특이성을 제공하는데 충분한 중쇄 가변 영역 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 지칭한다.

[0048] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "경쇄"는 단독으로 또는 중쇄와 조합하여 항원 특이성을 제공하는데 충분한 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 지칭한다.

[0049] 본원에 사용된 바와 같이, 항체 또는 다른 독립체가 항원 또는 에피토프를 "특이적으로 인식하거나" 또는 "특이적으로 결합하는" 경우, 그것은 단백질 및/또는 거대분자의 복합 혼합물에서 상기 항원을 우선적으로 인식하고, 항원 또는 에피토프를 나타내지 않는 다른 독립체보다 실질적으로 더 높은 친화성으로 항원 또는 에피토프에 결합한다. 이와 관련하여, "실질적으로 더 높은 친화성"은 원하는 분석 또는 측정 장치를 사용하여 독립체와 구별되는 항원 또는 에피토프를 검출할 수 있도록 충분히 높은 친화성을 의미한다. 전형적으로, 그것은 하기의 결합 상수 (Ka)를 갖는 결합 친화성을 의미한다: 적어도 10^{7} M^{-1} (예컨대, $>10^{7}$ M^{-1}, $>10^{8}$ M^{-1}, $>10^{9}$ M^{-1}, $>10^{10}$ M^{-1}, $>10^{11}$ M^{-1}, $>10^{12}$ M^{-1}, $>10^{13}$ M^{-1} 등). 이러한 특정 구현예에서, 상이한 항원이 상기 특정 에피토프를 포함하는 한, 항체는 상이한 항원에 결합할 수 있다. 특정 경우에, 예를 들어, 상이한 종으로부터의 상동 단백질은 동일한 에피토프를 포함할 수 있다.

[0050] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "단클론 항체"는 동일한 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체의 실질적으로 균일한 집단의 구성원인 항체를 지칭한다. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 하이브리도마에 의해 분비된다. 이러한 특정 구현예에서, 하이브리도마는 당업자에게 공지된 특정 방법에 따라 생산된다. 예컨대, 하기를 참고한다: Kohler and Milstein (1975) Nature 256: 495-499; 그 전체가 참고로 본원에 포함됨. 특정 구현예에서, 단클론 항체는 재조합 DNA 방법을 사용하여 생산된다 (예컨대, U.S. 특허 번호 4,816,567호 참고). 특정 구현예에서, 단클론 항체는 파아지 디스플레이 라이브러리로부터 단리된 항체 단편을 지칭한다. 예컨대, 하기를 참고한다: Clackson 등 (1991) Nature 352: 624-628; 및 Marks 등 (1991) J. Mol. Biol. 222: 581-597; 그 전체가 참고로 본원에 포함됨.수식어 "단클론"은 항체의 실질적으로 균질한 집단으로부터 수득된 항체의 특성을 가리키며, 항체를 생산하는 방법을 특정 방법으로 제한하지 않는다. 다른 다양한 단클론 항체 생산 기술에 대해서는, 하기를 참고한다: 예컨대, Harlow 및 Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.); 그 전체가 참고로 본원에 포함됨.

[0051] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "항체 단편"은 적어도 일부 항원 결합 영역 또는 가변 영역을 포함하는, 전장 항체의 일부를 지칭한다. 항체 단편은, 비제한적으로, Fab, Fab', F(ab')2, Fv, scFv, Fd, 디아바디, 및 온전한 항체의 가변 영역의 적어도 일부를 보유하는 다른 항체 단편을 포함한다. 예컨대, 하기를 참고한다: Hudson 등 (2003) Nat. Med. 9: 129-134; 그 전체가 참고로 본원에 포함됨. 특정 구현예에서, 항체 단편은 재조합 DNA 기술, 또는 화학적 폴리펩타이드 합성에 의해 생산된 온전한 항체의 효소적 또는 화학적 절단 (예컨대, 항체의 파파인 소화 및 펩신 소화)에 의해 생산된다.

[0052] 예를 들어, "Fab" 단편은 하나의 경쇄 및 하나의 중쇄의 CH1 및 가변 영역을 포함한다. Fab 분자의 중쇄는 또 다른 중쇄 분자와 디설파이드 결합을 형성할 수 없다. "Fab'" 단편은 CH1 및 CH2 도메인 사이에서 연장되는, 부가적인 불변 영역을 포함하는 하나의 경쇄 및 하나의 중쇄를 포함한다. 사슬간 디설파이드 결합은 Fab' 단편의 2개의 중쇄 사이에서 형성되어 "F(ab')2" 분자를 형성할 수 있다.

[0053] "Fv" 단편은 중쇄 및 경쇄 모두의 가변 영역을 포함하나, 불변 영역이 없다. 단일-사슬 Fv (scFv) 단편은 가요성 링커에 의해 연결된 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하여 항원-결합 영역을 갖는 단일 폴리펩타이드 사슬을 형성한다. 예시적인 단쇄 항체는 하기에 상세히 논의된다: WO 제88/01649호 및 U.S. 특허제4,946,778호 및 제5,260,203호; 그 전체가 참고로 본원에 포함됨. 특정 경우에, 단일 가변 영역 (예컨대, 중쇄 가변 영역 또는 경쇄 가변 영역)은 항원을 인식하고 이에 결합하는 능력을 가질 수 있다.

[0054] 다른 항체 단편은 숙련된 당업자에 의해 이해될 것이다.

[0055] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "키메라 항체"는 적어도 2개의 상이한 공급원으로부터의 성분으로 이루어진 항체를 지칭한다. 특정 구현예에서, 키메라 항체는 또 다른 분자, 예컨대 제2 종으로부터 유래된 항체의 일부에 융합된 제1 종으로부터 유래된 항체의 일부를 포함한다. 이러한 특정 구현예에서, 키메라 항체는 인간으로부터 유래된 항체의 일부에 융합된 비인간 동물로부터 유래된 항체의 일부를 포함한다. 이러한 특정 구현예에서, 키메라 항체는 인간으로부터 유래된 항체의 불변 영역에 융합된 비인간 동물로부터 유래된 항체의 가변 영역의 전체 또는 일부를 포함한다.

[0056] "인간화" 항체는 인간 항체와 더 가깝게 일치하도록 (아미노산 서열에서) 변형된 비인간 항체를 지칭한다. 따라서, 인간화 항체는 키메라 항체의 한 가지 유형이다. 특정 구현예에서, 비인간 항체의 가변 영역의 항원 결합 잔기의 외부에 있는 아미노산 잔기가 변형된다. 특정 구현예에서, 인간화 항체는 인간 항체의 상보성 결정 영역

(CDR)의 전체 또는 일부를 원하는 항원 결합 특이성을 갖는 비인간 항체와 같은 또 다른 항체로부터의 CDR의 전체 또는 일부로 대체함으로써 제작된다. 특정 구현예에서, 인간화 항체는 CDR의 전체 또는 실질적으로 전체가 비인간 항체의 CDR에 상응하고, 프레임워크 영역 (FR)의 전체 또는 실질적으로 전체가 인간 항체의 FR과 상응하는 가변 영역을 포함한다. 이러한 특정 구현예에서, 인간화 항체는 인간 항체의 불변 영역 (Fc)을 추가로 포함한다.

[0057] 용어 "유효 용량" 또는 "유효량"은 환자에서의 증상의 감소를 야기하거나 또는 원하는 생물학적 결과를 야기하는 제제, 예컨대, 항체의 양을 지칭한다. 특정 구현예에서, 유효 용량 또는 유효량은 질환 또는 병태의 증상을 치료하거나 감소시키는데 충분하다.

[0058] **상세한 설명**

[0059] 공생 미생물총의 조작에 의한 암의 치료 및/또는 예방 방법이 본원에 제공된다. 특히, 하나 이상의 병용치료를 용이하게 하기 위해 대상에서의 미생물총 (예컨대, 장내 미생물총)의 양, 신원, 존재, 및/또는 비율이 조작된다.

[0060] 고형 종양의 T 세포 침윤은 호의적인 환자 결과와 관련되지만, 개체 간의 다양한 내인성 면역 반응의 근간이 되는 기전은 잘 알려져 있지 않다. 미생물 조성물이 자발적인 항-종양 면역에 미치는 잠재적 효과를 시험하기 위해 본원에 기재된 구현예의 개발 동안 실험을 수행하였다. B16 흑색종 성장을 뚜렷한 공생 미생물총을 갖는 C57BL/6 마우스에서 비교하였다. 마우스의 2개의 집단은 강한 자발적인 항-종양 면역 대 약한 자발적인 항-종양 면역을 나타내었다. 이 표현형 차이는 공동 사육 또는 배설물 전달 후에 제거되었다. 16S rRNA 시퀀싱은 *비피도박테리움*이 항-종양 효과와 관련되었음을 확인하였다. 종양-보유 마우스에서 단독 또는 전신 αPD-L1과 조합된 *비피도박테리움*의 경구 투여는 $CD8^+$ T 세포-의존적 방식으로 종양 제어를 현저히 개선하였다. 기계적으로, 상기 효과는 증강된 수지상 세포 기능에 의해 매개되어, 더 강력한 항원-특이적 $CD8^+$ T 세포 프라이밍 및 종양 미세환경에서 활성화된 T 세포의 현저히 증가된 축적을 야기하였다. 이러한 데이터는, 예를 들어, 암 치료제로서 공생 미생물을 조작하는 이점을 입증한다.

[0061] **일**부 구현예에서, 암 및/또는 종양의 재발의 치료 또는 예방에서의 내인성 면역 반응, 면역요법, 화학치료제, 또는 다른 치료 (예컨대, 수술, 방사선 등)의 효과는 대상 내의 조건 (예컨대, 종양 미세환경)에 따라 달라진다. 특히, 대상 내의 미생물총의 신원 또는 특징 (예컨대, 농도 또는 수준)은 암 치료 (예컨대, 일반적으로 또는 특정 치료)의 효과 및/또는 암에 대한 대상 자신의 면역 반응의 효과에 영향을 미친다.

[0062] 일부 구현예에서, 대상에서의 하나 이상의 미생물 (예컨대, 하나 이상의 유형의 박테리아)의 존재 또는 증가된 수준은 암/종양 성장, 확산 (예컨대, 악성), 및/또는 치료/면역 반응의 회피를 강화시킨다. 일부 구현예에서, 대상에서의 하나 이상의 미생물 (예컨대, 하나 이상의 유형의 박테리아)의 존재 또는 증가된 수준은 치료 (예컨대, 면역요법, 화학요법 등) 및/또는 암 및/또는 종양 세포에 대한 대상의 내인성 면역 반응을 억제한다. 일부 구현예에서, 대상에서의 하나 이상의 미생물 (예컨대, 하나 이상의 유형의 박테리아)의 부존재 및/또는 감소된 수준은 암/종양 성장, 확산, 및/또는 치료/면역 반응의 회피를 강화시킨다. 일부 구현예에서, 대상에서의 하나 이상의 미생물 (예컨대, 하나 이상의 유형의 박테리아)의 부존재 및/또는 감소된 수준은 치료 (예컨대, 면역요법, 화학요법 등) 및/또는 암 및/또는 종양 세포에 대한 대상의 내인성 면역 반응을 억제한다.

[0063] 일부 구현예에서, 대상에서의 하나 이상의 미생물 (예컨대, 하나 이상의 유형의 박테리아)의 존재 또는 증가된 수준은 암/종양 성장, 확산, 및/또는 치료/면역 반응의 회피를 저해한다. 일부 구현예에서, 대상에서의 하나 이상의 미생물 (예컨대, 하나 이상의 유형의 박테리아)의 존재 또는 증가된 수준은 치료 (예컨대, 면역요법, 화학요법 등) 및/또는 암 및/또는 종양 세포에 대한 대상의 내인성 면역 반응을 촉진한다. 일부 구현예에서, 대상에서의 하나 이상의 미생물 (예컨대, 하나 이상의 유형의 박테리아)의 부존재 및/또는 감소된 수준은 암/종양 성장, 확산, 및/또는 치료/면역 반응의 회피를 저해한다. 일부 구현예에서, 대상에서의 하나 이상의 미생물 (예컨대, 하나 이상의 유형의 박테리아)의 부존재 및/또는 감소된 수준은 치료 (예컨대, 면역요법, 화학요법 등) 및/또는 암 및/또는 종양 세포에 대한 대상의 내인성 면역 반응을 촉진한다.

[0064] 일부 구현예에서, 대상에서의 유익한 미생물 (예컨대, 암 치료를 촉진하는 미생물)의 존재는 암의 치료에 도움이 되는 환경 또는 미세환경 (예컨대, 대사체)을 생성하고/하거나 암/종양 성장을 억제한다. 일부 구현예에서, 대상에서의 유해한 미생물 (예컨대, 암/종양 성장을 촉진하고 치료를 방지하는 미생물)의 존재는 암의 치료에 도움이 되는 환경 또는 미세환경 (예컨대, 대사체)을 생성하고/하거나 암/종양 성장을 억제한다.

[0065] 본원에 기재된 구현예의 개발 동안 수행된 실험은 대상에서의 미생물총의 수준 및/또는 신원의 조절이 대상 내의 암/종양의 치료를 촉진하고, 내인성 면역 반응을 향상시키고, 면역 회피 또는 내인성 면역 반응의 치료에 대한 다른 억제 기전을 감소시키고/시키거나, 대상의 암 결과를 개선한다는 것을 입증한다. 미생물총 수준 및/또는 신원의 조절은 하나 이상의 유형의 유익한 미생물 (예컨대, 암 치료를 촉진하는 미생물)의 성장을 장려하거나 촉진하는 것, 하나 이상의 유형의 유해한 미생물 (예컨대, 암/종양 성장을 촉진하고/하거나 치료를 방지하는 미생물)의 성장을 저해하거나 억제하는 것, 하나 이상의 유형의 유익한 미생물 (예컨대, 암 치료를 촉진하는 미생물)을 대상에게 투여하는 것, 및/또는 이의 조합을 포함할 수 있다. 본원의 범주 내의 구현예는 하나 이상의 미생물을 도입하기 위한 기전 (예컨대, 배설물 이식, 프로바이오틱 투여 등), 유익한 미생물의 성장을 장려하기 위한 기전 (예컨대, 대상 내의 환경을 유익한 미생물을 위한 성장 조건 쪽으로 치우치게 하는 제제를 투여하는 것), 유해한 미생물의 성장을 저해하거나 억제하기 위한 기전 (예컨대, 대상 내의 환경을 유해한 미생물을 위한 성장 조건 밖으로 치우치게 하는 제제를 투여하는 것, 항미생물제(들)의 투여 등), 및 이의 조합에 의해 제한되지 않는다.

[0066] 일부 구현예에서, 공생 미생물총 (예컨대, 장내 미생물총)의 존재, 양, 또는 상대적 비율의 조작에 의해 암을 치료 또는 예방하기 위한 방법이 제공된다. 일부 구현예에서, 대상 내의 특정 박테리아, 진균, 및/또는 고세균의 존재, 양, 또는 상대적 비율이 조작된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 피르미쿠테스 (Firmicutes), 박테로이데테스 (Bacteroidetes), 악티노박테리아 (Actinobacteria), 및/또는 프로테오박테리아 (Proteobacteria) 계통 (phyla)으로부터의 하나 이상의 박테리아의 존재, 양, 또는 상대적 비율이 조작된다. 일부 구현예에서, 박테로이데스, 클로스트리듐, Fuso박테리움, 유박테리움, 루미노코커스, 펩토코커스, 펩토스트렙토코커스, 비피도박테리움, 리케넬라, 알리스티페스, 마리닐라빌리아, 아내로스티페스, 에셰리키아, 및/또는 락토바실러스 속에 속하는 하나 이상의 박테리아의 존재, 양, 또는 상대적 비율이 조작된다. 일부 구현예에서, 칸디다, 사카로마이세스, 아스퍼질러스, 및/또는 페니실리움 속에 속하는 하나 이상의 진균의 존재, 양, 또는 상대적 비율이 조작된다.

[0067] 일부 구현예에서, 하나 이상의 공생 미생물의 존재 및/또는 수준은 암으로 고통받고 있고, 증가된 암 위험성에 있고/있거나, 암 치료를 받고 있는 대상에서 조작된다. 예시적인 공생 미생물은 하기를 포함한다: 락토코커스 (예컨대, 락토코커스 크레모리스 및 락토코커스 락티스), 락토바실러스 (예컨대, 락토바실러스 아시도필러스, 락토바실러스 카세이, 락토바실러스 케피리, 락토바실러스 비피더스, 락토바실러스 브레비스, 락토바실러스 헬베티쿠스, 락토바실러스 파라카세이, 락토바실러스 람노수스, 락토바실러스 살리바리우스, 락토바실러스 쿠르바투스, 락토바실러스 불가리커스, 락토바실러스 사케이, 락토바실러스 루테리, 락토바실러스 페르멘툼, 락토바실러스 파르시미니스, 락토바실러스 락티스, 락토바실러스 델브루엑키, 락토바실러스 플란타룸, 락토바실러스 파라플란타룸, 락토바실러스 크리스파투스, 락토바실러스 가세리, 락토바실러스 존소니 및 락토바실러스 젠세니), 루코노스톡, 카르노박테리움, 엔테로코커스, 프로피오니박테리움, 페디오코커스, 비피도박테리움 (예컨대, 비피도박테리움 락티스, 비피도박테리움 비피둠, 비피도박테리움 롱검, 비피도박테리움 아니말리스, 비피도박테리움 브레베, 비피도박테리움 인펀티스, 비피도박테리움 카테눌라툼, 비피도박테리움 슈도카테눌라툼, 비피도박테리움 아돌레센티스, 비피도박테리움안굴라툼 등),스트렙토코커스 (예컨대, 스트렙토코커스 써모필레스, 스트렙토코커스 살리바리우스, 스트렙토코커스 오랄리스, 스트렙토코커스 우베리스, 스트렙토코커스 라투스 등); 에셰리키아 콜리, 바실러스 코아귤란스, 바실러스 란시, 효모 (예컨대, 사카로마이세스 세레비지애, 사카로마이세스 보울라르디 등); 및 이의 조합.

[0068] 일부 구현예에서, 미생물의 하나 이상의 종, 속, 및/또는 유형이 투여되고/되거나 이의 성장이 촉진된다. 일부 구현예에서, 미생물의 하나 이상의 종, 속, 및/또는 유형의 성장이 억제된다. 일부 구현예에서, 미생물의 하나 이상의 종, 속, 및/또는 유형이 투여되고/되거나이의 성장이 촉진되며; 미생물의 하나 이상의 다른 종, 속, 및/또는 유형의 성장이 억제된다.

[0069] 일부 구현예에서, 하나 이상의 유익한 미생물 (예컨대, 암/종양 성장 또는 확산을 억제하고, 암/종양 치료 등을 향상시키는 미생물)의 수준 또는 존재는 이러한 미생물을 대상에게 투여함으로써 조절된다.

[0070] 일부 구현예에서, 미생물총-조절은 대상에게/대상에 의한 투여를 위해 제조된 프로바이오틱 조성물을 이용한다. 프로바이오틱 조성물은 프로바이오틱의 투여 (예컨대, 경구, 직장, 흡입 등)가 유익한 미생물이 대상에 살도록 제형화된 하나 이상의 유익한 미생물 (예컨대, 박테리아)을 포함한다.

[0071] 일부 구현예에서, 프로바이오틱 조성물은 대상에게 투여하기 위해 조합되고/되거나 제형화된 배양된 미생물을 포함한다. 일부 구현예에서, 프로바이오틱스는 공지된 속, 종 등 및/또는 공지된 농도 (cfu)의 미생물을 함유한

다. 프로바이오틱 조성물은 약제학적-유형 조성물의 형태 (예컨대, 캡슐, 정제, 액체, 에어로졸 등) 또는 식품 보충제의 형태일 수 있다.

[0072] 일부 구현예에서, 프로바이오틱 미생물 (예컨대, 박테리아)은 대상에게 전달하기 위한 약제학적으로 허용가능한 조성물로 제형화된다. 일부 구현예에서, 프로바이오틱스는 고체 또는 반고체 제형에 적합한 약제학적으로 허용가능한 담체와 함께 제형화된다. 일부 구현예에서, 프로바이오틱 미생물은 액체 또는 겔 제형에 적합한 약제학적으로 허용가능한 담체와 함께 제형화된다. 프로바이오틱 제형은 장관 전달, 예컨대, 경구 전달, 또는 좌제로서의 전달을 위해 제형화될 수 있지만, 또한 비경구 전달, 예컨대, 질 전달, 흡입 전달 (예컨대, 경구 전달, 비강 전달, 및 폐내 전달) 등을 위해 제형화될 수 있다.

[0073] 본원에 기재된 구현예에서 사용되는 프로바이오틱 조성물은 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 담체와 함께 다양한 경구 투여 투여 형태로 제형화될 수 있다. 약제학적으로 허용가능한 담체는 고체 또는 액체일 수 있다. 고체 형태 제제는 분말, 정제, 환제, 캡슐, 카세트, 좌제, 및 분산가능한 과립을 포함한다. 고체 담체는 또한 희석제, 풍미제, 가용화제, 윤활제, 현탁화제, 결합제, 보존제, 정제 붕해제, 또는 캡슐화 물질로서 작용할 수 있는 하나 이상의 물질일 수 있다. 분말에서, 담체는 프로바이오틱 미생물과의 혼합물인 미분된 고체이다. 정제에서, 미생물은 필요한 결합능을 갖는 담체와 적합한 비율로 혼합되고 원하는 모양 및 크기로 압축된다. 적합한 담체는 탄산 마그네슘, 스테아린산 마그네슘, 탈크, 당, 락토스, 펙틴, 덱스트린, 전분, 젤라틴, 트라가칸트, 메틸셀룰로오스, 나트륨 카복시메틸셀룰로오스, 저융점 왁스, 코코아 버터 등이다. 경구 투여에 적합한 다른 형태는 액체 형태 제제, 예컨대 유화액, 시럽, 엘릭서르, 수용액, 수성 현탁액, 또는 사용하기 전에 액체 형태 제제로 빠르게 전환될 것으로 의도되는 고체 형태 제제를 포함한다. 수성 현탁액은 점성 물질, 예컨대 천연 또는 합성 검, 수지, 메틸셀룰로오스, 나트륨 카복시메틸셀룰로오스, 및 다른 널리 공지된 현탁화제를 갖는 물에 프로바이오틱 미생물을 분산시킴으로써 제조될 수 있다.

[0074] 프로바이오틱 조성물 (예컨대, 미생물 (예컨대, 박테리아))은 좌제로서 투여를 위해 제형화될 수 있다. 저융점 왁스, 예컨대 지방산 글리세라이드 또는 코코아 버터의 혼합물을 먼저 용융시키고 프로바이오틱 미생물을, 예를 들어, 교반에 의해 균질하게 분산한다. 그리고 나서 용융된 균질한 혼합물을 편리한 크기의 주형에 붓고, 냉각시키고, 고화시킨다.

[0075] 프로바이오틱 조성물 (예컨대, 미생물 (예컨대, 박테리아))은 질 투여용으로 제형화될 수 있다. 페서리, 탐폰, 크림, 겔, 페이스트, 폼 또는 스프레이는, 당해분야에서 적절한 것으로 알려진 상기 담체와 같은 박테리아 이외의 제제를 함유할 수 있다.

[0076] 일부 구현예에서, 프로바이오틱 조성물 (예컨대, 미생물 (예컨대, 박테리아))은 흡입 전달용으로 제형화될 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "에어로졸"은 가압하에 추진제 가스에 의해 치료 적용 부위로 운반되는 매우 미세한 액체 또는 고체 입자를 지칭하는 것으로서 그의 종래 의미로 사용된다. 본원에 사용된 바와 같이 용어 "호흡 조직으로 전달하기 위한 액체 제형" 등은 유동성 액체 형태의 약제학적으로 허용가능한 담체와 함께 프로바이오틱 미생물을 포함하는 조성물을 기술한다. 이러한 제형은, 호흡 조직에 전달하기 위해 사용될 때, 일반적으로 용액, 예컨대 수용액, 에탄올 용액, 수성/에탄올 용액, 식염수 용액 및 콜로이드성 현탁액이다.

[0077] 약제학적-유형 제형보다는, 프로바이오틱 조성물은 식품 첨가물 및/또는 식품으로서 제형화될 수 있고 다양한 식품 및 음료 내에 포함될 수 있다. 적합한 식품 및 음료는, 비제한적으로, 요구르트, 아이스크림, 치즈, 구운 제품, 예컨대 빵, 비스킷 및 케이크, 유제품 및 유제품 대체 식품, 대두 기반 식품, 곡물 기반 식품, 전분 기반 식품, 과자류 제품, 식용유 조성물, 스프레드, 아침식사용 시리얼, 유아용 조제유, 쥬스, 파워 드링크 등을 포함한다.

[0078] 일부 구현예에서, 프로바이오틱 조성물은 하기 양으로 투여 시간 (예컨대, < 1분, <1시간, <2시간, <4시간, <6시간, <12시간, <24시간 등) 동안 투여된다 (예컨대, 프로바이오틱 조성물 또는 미생물총 이식을 통해): 원하는 치료 이익을 제공하는데 충분한 양 (예컨대, 단일 용량으로서, 다른 용량과 조합하여, 병용 투여된 치료제와 조합하여, 등). 일부 구현예에서, 투여 기간 동안 투여된 프로바이오틱 조성물의 용량은 공생 미생물 제제(들)의 약 10 내지 약 1×10^{14} 집락 형성 단위 (예컨대, 10 cfu, 100 cfu, 10^{13} cfu, 10^{13} cfu, 10^{13} cfu, 10^{13} cfu, 10^{13} cfu, 10^{13} cfu, 10^{13} cfu, 10^{13} cfu, 10^{13} cfu, 10^{13} cfu, 10^{13} cfu, 10^{13} cfu, 또는 이들 사이의 임의의 적합한 범위 (예컨대, 약 10^{2} cfu 내지 약 10^{13} cfu, 약 1×10^{4} 내지 약 1×10^{11} cfu, 약 1×10^{6} 내지 약 1×10^{9} cfu, 약 1×10^{10} 내지 약 1×10^{12} cf 등) 등)이다.

[0079] 일부 구현예에서, 프로바이오틱 조성물의 미생물 구성은 하나 이상의 유익한 미생물 (예컨대, 박테리아)로 이루어지거나 본질적으로 이루어진다. 일부 구현예에서, 프로바이오틱 조성물의 미생물 구성은 하기로 이루어지거나 또는 본질적으로 이루어진다: 미생물의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 또는 이들 사이의 임의의 범위 (예컨대, 1-4, 5-10, 8-20 등)의 균주 및/또는 종. 일부 구현예에서, 50개 미만의 미생물 균주 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 또는 이들 사이의 임의의 범위 (예컨대, 1-4, 5-10, 8-20 등)가 하기 중 적어도 50% (예컨대, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99.5%, 99.9%, 99.99%)이다: 프로바이오틱 조성물의 미생물 집단 (예컨대, 중량, cfu 등). 예를 들어, 일부 구현예에서, *비피도박테리움의* 단일 종 또는 균주는 집락 형성 단위에 의해 측정된 바와 같이, 특정 프로바이오틱 조성물의 미생물 집단 (집락 형성 단위에 의해 측정됨) 중 적어도 95%이다. 또 다른 예로서, 일부 구현예에서, *비피도박테리움의* 단일 종 또는 균주는 적어도 40%이며, *락토바실러스* 속으로부터의 박테리아는 질량에 의해 측정된 바와 같이, 특정 프로바이오틱 조성물의 미생물 집단 중 적어도 50%이다. 이들 예는 비제한적이다.

[0080] *일*부 구현예에서, 대상 (예컨대, 암으로 고통받고 있는 대상, 암 성장을 촉진하는 미생물총을 갖는 대상, 암 치료 (예컨대, 면역요법에 의한)의 회피를 촉진하는 미생물총을 갖는 대상 등)에서의 미생물총은 유리한 특징을 갖는 대상 (예컨대, 암이 없는 대상, 암 성장을 억제하는 미생물총을 갖는 대상, 암의 치료 (예컨대, 면역요법에 의한)를 촉진하는 미생물총을 갖는 대상 등)으로부터의 미생물총을 수령자 대상 내로 이식함으로써 조절된다.

[0081] 일부 구현예에서, 공여자 미생물총은 공여자 대상 신체의 원하는 영역 (예컨대, 결장, 구강, 질 등)으로부터 미생물총을 샘플링하여 수득된다. 특정 구현예에서, 배설물 (예컨대, 100 g - 500 g)은 공여자로부터 수득된다. 상기 물질은 차후의 제조 단계 (예컨대, 희석, 혼합, 산소처리, 여과, 보충 (예컨대, 프리바이오틱스로, 성장 배지로, 등), 시험 (예컨대, 병원균 또는 유해한 미생물을 위한) 등)을 거치거나 거치지 않고 수령자 대상에게 투여될 수 있다. 공여자 미생물총 (예컨대, 배설물)은 보존하지 않고 투여될 수 있거나 (예컨대, 하기 이내에 투여됨: 12시간 (예컨대, <6시간, <4시간, <2시간, <1시간 등)) 또는, 예를 들어 하기에 앞서 지연시키기 위해 보존 (예컨대, 냉동, 동결 건조 등)될 수 있다 (예컨대, 1일, 2일, 1주, 1개월 이상): 대상에게 전달하기 전.

[0082] 일부 구현예에서, 공여자 미생물총은 계속하여 하나 이상의 성분이 제거된다. 예를 들어, 유해한 미생물의 기생충은 제거되거나 사멸될 수 있다. 공여자 샘플 내의 오염물질을 제거될 수 있다. 일부 구현예에서, 공여자 미생물총은 하나 이상의 특정 미생물이 농축된다 (예컨대, 2배, 3배, 4배, 10배, 20배 이상의 농축). 일부 구현예에서, 공여자 미생물총은 집단 내의 미생물 중 적어도 1%가 원하는 유익한 미생물이 되도록 농축된다 (예컨대, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 이상). 일부 구현예에서, 공여자 미생물총은 하나 이상의 배양된 유익한 미생물이 첨가된다.

[0083] 특정 구현예에서, 이식된 미생물총은 비제한적으로 관장 (enema), 결장경 (colonoscope), 코위관 (nasogastric) 또는 코십이지장관 (nasoduodenal tube), 세척 (lavage) 또는 관개 (irrigation), 또는 경구 (예컨대, 캡슐의 형태로)를 포함하는, 임의의 적합한 전달 기전에 의해 수령자 대상에게 투여될 수 있다.

[0084] 일부 구현예에서, 공생 미생물 제제 또는 미생물 제제의 집단은 하기 양으로 투여 시간 (예컨대, < 1분, <1시간, <2시간, <4시간, <6시간, <12시간, <24시간 등) 동안 투여된다 (예컨대, 프로바이오틱 조성물 또는 미생물총 이식을 통해): 원하는 치료 이익을 제공하는데 충분한 양 (예컨대, 단일 용량으로서, 다른 용량과 조합하여, 병용 투여된 치료제와 조합하여, 등). 일부 구현예에서, 투여 시간 동안 투여된 공생 미생물 제제(들)의 용량은 공생 미생물 제제(들)의 약 10 내지 약 1×10^{14} 집락 형성 단위 (cfu)의 농도 (예컨대, 10 cfu, 100 cfu, 10^{13} cfu, 10^{13} cfu, 10^{13} cfu, 10^{13} cfu, 10^{13} cfu, 10^{13} cfu, 10^{13} cfu, 10^{13} cfu, 10^{13} cfu, 10^{13} cfu, 10^{13} cfu, 또는 이들 사이의 임의의 적합한 범위 (예컨대, 약 10^{2} cfu 내지 약 10^{13} cfu, 약 1×10^{4} 내지 약 1×10^{11} cfu, 약 1×10^{6} 내지 약 1×10^{9} cfu, 약 1×10^{10} 내지 약 1×10^{12} cf 등) 등)이다.

[0085] 상기 용량은 1일 동안 임의의 시간에 투여되는 단일 단위 용량으로 투여될 수 있다. 대안적으로, 부하 용량은 하루의 단일 시간에 또는 하루의 2개 이상의 별개의 시간에 투여되는 둘 이상의 용량으로 투여될 수 있다.

[0086] 다수의 투여 기간 동안, 미리 정해진 시간에 또는 치료의 결과에 기초하여 초기 용량에서 더 높은 용량으로 점점 줄어들 수 있다 (또는 초기 용량에서 더 높은 용량으로 증가될 수 있다). 적절한 투여량은, 예를 들어, 개별 대상의 연령, 체중, 병태 또는 질환, 질환의 중증도 등에 따라 달라질 것이다.

[0087] 비제한적인 예로서 (미생물의 신원 뿐만 아니라 용량의 측면 모두에서), 일부 구현예에서, *비피도박테리움*의 하나 이상의 균주는 매일 3개의 캡슐을 통해 투여되고, 각각의 캡슐은 1 x 10^9 cfu의 *비피도박테리움*을 함유한다. 대안적으로, 다른 구현예에서 *비피도박테리움*의 하나 이상의 균주는 1 x 10^{12} cfu의 박테리아를 함유하는 하나의 캡슐의 투여량으로 매일 투여된다. 임의의 다른 투여량 (예컨대, cfu), 용량 (예컨대, 1일, 1주당 횟수 등), 및 미생물(들)의 신원 (예컨대, 본원에 기재된 범위 내)은 본원의 범위에 속한다.

[0088] 일부 구현예에서, 프로바이오틱 조성물을 위한 미생물은 배양으로부터 수득된다. 일부 구현예에서, 유익한 미생물의 균주는 미생물의 생산 (예컨대, 규모로), 제형, 전달, 또는 생물학적 효과 중 하나 이상을 향상시키도록 유전적으로 조작된다. 일부 구현예에서, 미생물은 대상 내에서 미생물을 추적하거나, 또는 미생물이 대상 미생물총 내로 통합되었음의 확인하는 검출가능한 마커를 발현하도록 조작된다. 일부 구현예에서, 미생물은 다른 약물의 암 치료제 (예컨대, 화학치료제, 면역치료제, 항체 등), 항염증제를 발현하도록 조작된다.

[0089] 일부 구현예에서, 하나 이상의 프리바이오틱스 (prebiotics)는 독립적 치료로서 (예컨대, 유익한 미생물의 수준을 증가시키기 위해) 또는 본원에 기재된 다른 치료와 함께 대상에게 투여된다. 프리바이오틱스는 *락토바실러스* 및/또는 *비피도박테리움*과 같은 공생 미생물의 생체내 성장 속도 또는 활성을 증가시키는 제제이다. 일부 구현예에서, 프리바이오틱스는 가용성 섬유 공급원이다. 일부 구현예에서, 프리바이오틱스가 대상에게 투여 (예컨대, 공급)될 때, 이들은 대상의 소화 효소에 의해 소화되지 않거나 완전히 소화되지 않지만, 오히려 대상의 장 건강을 지원하고 유익한 미생물을 위한 에너지원을 제공하고 이의 성장을 향상시킨다. 프리바이오틱스는, 예를 들어, 자연적으로 발생하는 레시틴 및/또는 올레산을 포함하고, 이는, 예를 들어 하기에 기재되어 있다: U.S. 특허 번호 8,449,878호, 이는 그 전체가 참고로 본원에 포함됨.

[0090] 일부 구현예에서, 하나 이상의 유해한 미생물 (예컨대, 암/종양 성장 또는 확산을 촉진하고, 암/종양 치료를 억제하는 등의 미생물)의 수준 또는 존재는, 예를 들어 대상에게 하나 이상의 항미생물제를 투여함으로써 또는 유해한 미생물의 성장을 꺼리도록 대상 내의 상태를 조절함으로써 조절된다. 일부 구현예에서, 항미생물제가 투여된다.

[0091] 일부 구현예에서, 항미생물제는 항생제이다. 일부 구현예에서 사용될 수 있는 예시적인 항생제는, 비제한적으로 하기를 포함한다: 아미카신 (amikacin), 겐타미신 (gentamicin), 카나마이신 (kanamycin), 네오마이신 (neomycin), 네틸미신 (netilmicin), 스트렙토마이신 (streptomycin), 토브라마이신 (tobramycin), 파로마이신 (paromycin), 겔다마이신 (geldanamycin), 헤르비마이신 (herbimycin), 로라카르베프(loracarbef), 에르타페넴 (ertapenem), 도리페넴 (doripenem), 이미페넴 (imipenem), 메로페넴 (meropenem), 세파크로르 (cefaclor), 세파만돌 (cefamandole), 세포톡식 (cefotoxin), 세프로질 (cefprozil), 세푸록심 (cefuroxime), 세픽심 (cefixime), 세프디니르 (cefdinir), 세프디토렌 (cefditoren), 세포독심 (cefpodoxime), 세프타지딤 (ceftazidime), 세프티부텐 (ceftibuten), 세프티족심 (ceftizoxime), 세프트리악손 (ceftriaxone), 세페핌 (cefepime), 세프토비르프롤 (ceftobirprole), 반코마이신 (vancomycin), 아지트로마이신 (azithromycin), 클라리트로마이신 (clarithromycin), 디리트로마이신 (dirithromycin), 에리트로마이신 (erythromycin), 록시트로마이신 (roxithromycin), 트롤레안도마이신 (troleandomycin), 텔리트로마이신 (telithromycin), 스펙틴노마이신 (spectinomycin), 아즈트레오남 (aztreonam), 아목실린 (amoxicillin), 암피실린 (ampicillin), 아조실링 (azociling), 카르베니실린 (carbenicillin), 클록사실린 (cloxacillin), 디클록사실린 (dicloxacillin), 플루클록사시실린 (flucloxacillin), 메즈로실린 (mezlocillin), 메티실린 (methicillin), 나프실린 (nafcillin), 옥사실린 (oxacillin), 페페라실린 (piperacillin), 티카르실린 (ticarcillin), 바시트라신 (bacitracin), 콜리스틴 (colistin), 폴리믹신 B (polymyxin B), 시프로플록사신 (ciprofloxacin), 클라불라닉산 (clavulanic acid), 에녹사신 (enoxacin), 가티클록사신 (gatifloxacin), 레보플록사신 (levofloxacin), 로메플록사신 (lomefloxacin), 목시플록사신 (moxifloxacin), 논플록사신 (nonfloxacin), 오플록사신 (ofloxacin), 트로바플록사신 (trovafloxacin), 그레파플록사신 (grepafloxacin), 스파르플록사신 (sparfloxacin), AL-15469A, AL-38905, OP-145, 아페니드 (afenide), 프론토실 (prontosil), 설파세타미드 (sulfacetamide), 설파메티아졸 (sulfamethiazole), 설판아미드(sulfonamide), 설파살라진 (sulfasalazine), 설피속사졸 (sulfisoxazole), 트리메토프림 (trimethoprim), 코트리목사졸 (cotrimoxazole), 데메클로사이클린 (demeclocycline), 독시사이클린 (doxycycline), 미노사이클린 (minocycline), 옥시테트라사이클린 (oxytetracycline), 테트라사이클린 (tetraycline), 리네졸리드 (linezolid), 아르소게바누벰 클로람페니콜 (arsogebanubem chloramphenicol), 클린다마이신 (clindamycin), 린코마이신 (lincomycin), 에탐부톨 (ethambutol), 포스포마이신 (fosfomycin), 푸시딕산 (fusidic acid), 푸라졸리돈 (furazolidone), 이소니아지드 (isoniazid), 리네졸리드 (linezolid), 메

트로니다졸 (metronidazole), 무피로신 (mupirocin), 니트로푸란토인 (nitrofurantoin), 리팜피신 (rifampicin), 탐페니콜 (thamphenicol), 티니다졸 (tinidazole), 아목실린+클라불라닉산 (amoxicillin+clavulanic acid), 막시민 H5 (Maximin H5), 데름시딘 (Dermcidin), 세크로핀스 (Cecropins), 안드로핀 (andropin), 모리신 (moricin), 세라토톡신 (ceratotoxin), 멜리틴 (melittin), 마가이닌 (Magainin), 데르마셉틴 (dermaseptin), 봄비닌 (bombinin), 브레비닌-1 (brevinin-1), 에스쿨렌틴 (esculentin) 및 부포린 II (buforin II), CAP 18, LL37 , 아배신 (abaecin), 아피대신 (apidaecin), 프로페닌 (prophenin), 인돌리시딘 (indolicidin), 브레비닌 (brevinin), 프로테그린 (protegrin), 타키플레신 (tachyplesin), 데펜신 (defensin), 드로소마이신 (drosomycin), 알라메티신 (alamethicin), 펙시가난 (pexiganan) 또는 MSI-78, MSI-843, MSI-594, 폴리페무신 (polyphemusin), 콜리신 (colicin), 피오신 (pyocin), 클레비신 (klebicin), 서브틸린 (subtilin), 에피데르민 (epidermin), 헤르비콜라신 (herbicolacin), 브레비신 (brevican), 할로신 (halocin), 아그로신 (agrocin), 알베이신 (alveicin), 카르노신 (carnocin), 쿠르바티신 (curvaticin), 디베르신 (divercin), 엔테로신 (enterocin), 엔테롤리신 (enterolysin), 에르위니오신 (erwiniocin), 글리시네신 (glycinecin), 락토코신 (lactococin), 락티신 (lacticin), 루코신 (leucoccin), 메센테리신 (mesentericin), 페디오신 (pediocin), 플란타리신 (plantaricin), 사카신 (sakacin), 설폴로비신 (sulfolobicin), 비브리오신 (vibriocin), 와르네리난드 (warnerinand), 니신 (nisin), 또는 이의 염 또는 공결정, 또는 전구약물 또는 용매화물, 또는 이의 조합.

[0092] 일부 구현예에서, 항미생물제는 항진균 제제이다. 일부 구현예에서 사용될 수 있는 예시적인 항진균제는 비제한적으로 하기를 포함한다: 암롤핀 (amrolfine), 우테나핀 (utenafine), 나프티핀 (naftifine), 테르비나핀 (terbinafine), 플루시토신 (flucytosine), 플루코나졸 (fluconazole), 이트라코나졸 (itraconazole), 케토코나졸 (ketoconazole), 포사코나졸 (posaconazole), 라부코나졸 (ravuconazole), 보리코나졸 (voriconazole), 클로트리마졸 (clotrimazole), 에코나졸 (econazole), 미코나졸 (miconazole), 옥시코나졸 (oxiconazole), 술코나졸 (sulconazole), 테르코나졸 (terconazole), 티오코나졸 (tioconazole), 니코마이신 Z (nikkomycin Z), 카스포푼긴 (caspofungin), 미카푼긴 (micafungin), 아니둘라푼긴 (anidulafungin), 암포테리신 B, 리포좀 니스타틴 (liposomal nystastin), 피마리신 (pimaricin), 글리세오풀빈 (griseofulvin), 시클로피록스 올라민 (ciclopirox olamine), 할로프로긴 (haloprogin), 톨나프테이트 (tolnaftate), 운데실레네이트 (undecylenate), 클리오퀴놀 (clioquinol), 및 이의 조합.

[0093] 일부 구현예에서, 항미생물제는 항기생충제이다. 일부 구현예에서 사용될 수 있는 예시적인 항기생충제는, 비제한적으로: 아미트라즈 (amitraz), 아모스카네이트 (amoscanate), 아베르멕틴 (avermectin), 카르바독스 (carbadox), 디에틸카르바미진 (diethylcarbamazine), 디메트리다졸 (dimetridazole), 디미나젠 (diminazene), 이베르멕틴 (ivermectin), 마크로필라리시드 (microfilaricide), 말라티온 (malathion), 미타반 (mitaban), 옥삼니퀸 (oxamniquine), 페르메트린 (permethrin), 프라지콴텔 (praziquantel), 프란텔 파모에이트 (prantel pamoate), 셀라멕틴 (selamectin), 나트륨 스티보글루코네일 (sodium stibogluconate), 티아벤다졸 (thiabendazole), 및 이의 조합을 포함한다.

[0094] 일부 구현예에서, 유해한 미생물 수준을 감소시키기 위한 방법 및 조성물은 유익한 미생물 수준을 증가시키기 위한 방법 및 조성물과 병용 투여된다 (예컨대, 연속적으로, 동시에 등). 일부 구현예에서, 전체 미생물 수준을 감소시킴으로써 또는 특정 미생물 (예컨대, 유해한 미생물, 고밀도의 미생물 등)의 수준을 감소시킴으로써, 유익한 미생물의 집단은 더 효과적으로 조절 (예컨대, 증가)될 수 있다.

[0095] 일부 구현예에서, 암 치료를 촉진하거나 암 성장/확산을 억제하는 대상 내의 미생물총 집단을 발달시키기 위해, 항미생물제가 먼저 투여되어 대상 내의 미생물총을 제거하거나 감소시킨 다음, 본원에 기재된 방법 및 조성물을 사용하여 (예컨대, 유익한 미생물의 투여) 미생물총 집단이 재확립된다. 일부 구현예에서, 미생물 (예컨대, 박테리아) 집단을 감소시키는 항미생물제 (예컨대, 항생제)가 일반적으로 사용된다. 일부 구현예에서, 유해한 미생물을 표적화하는 항미생물제가 우선적으로 사용된다.

[0096] 일부 구현예에서, 미생물총 조성을 조절하는 것은 대상의 내인성 면역계가 암 세포 및 또는 종양 성장의 존재에 반응하도록 하는데 그 자체로 충분하다. 그러나, 다른 구현예에서, 미생물총 조성은 하나 이상의 다른 암 요법과 함께 조작된다. 일부 구현예에서, 미생물총 조성 (예컨대, 신원 및/또는 수준)의 조작은 하나 이상의 부가적인 암 치료와 독립적인 기전에 의해 암을 치료한다. 다른 구현예에서, 미생물총 조성의 조절은 암 치료를 촉진한다 (예컨대, 암 치료의 효과를 증가시킨다). 일부 구현예에서, 하나 이상의 암 치료는 미생물총 조성의 조절의 효과를 증가시킨다. 본원의 구현예는 달리 명확히 언급하지 않는 한 암 치료의 유형 (예컨대, 수술, 방사선,

면역요법, 화학치료제 등)에 제한되지 않는다.

[0097] 일부 구현예에서, 면역치료적 암 치료는, 예를 들어 CTLA-4 및 PD-1/PD-L1에 대한 단클론 항체 (mAb)를 사용한, 면역-억제 수용체의 차단을 포함한다 (Wolchok, J.D. 등 The New England Journal of Medicine 369, 122-133 (2013); Topalian, S.L. 등 Journal of clinical oncology 32, 1020-1030 (2014); Topalian, S.L. 등 The New England journal of medicine 366, 2443-2454 (2012); Hodi, F.S. 등 The New England journal of medicine 363, 711-723 (2010); 그 전체가 참고로 본원에 포함됨).

[0098] 일부 구현예에서, 면역요법은 면역 체크포인트 억제제 (immune checkpoint inhibitor)의 투여를 포함한다. 면역 체크포인트 억제는 광범위하게는 암 세포가 면역 반응을 예방하거나 하향조절하기 위해 생성할 수 있는 체크포인트를 억제하는 것을 지칭한다. 면역 체크포인트 단백질의 예는, 비제한적으로, CTLA4, PD-1, PD-L1, PD-L2, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, KIR, LAG3, TIM-3 또는 VISTA를 포함한다. 면역 체크포인트 억제제는 면역 체크포인트 단백질에 결합하여 이를 억제하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편일 수 있다. 면역 체크포인트 억제제의 예는, 비제한적으로, 니볼루맙, 펨브롤리주맙, 피딜리주맙, AMP-224, AMP-514, STI-A1110, TSR-042, RG-7446, BMS-936559, BMS-936558, MK-3475, CT Ol l, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0020718C, AUR-012 및 STI-A1010을 포함한다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 억제제는 주사 (예컨대, 정맥내, 종양내, 피하, 또는 림프절내로)를 통해 투여될 수 있지만, 또한 경구, 국소, 또는 에어로졸을 통해 투여될 수 있다.

[0099] 일부 구현예에서, 대상 내의 미생물총을 조절하기 위한 조성물 및/또는 방법은 암 세포, 종양, 종양 미세환경 등의 면역 침입을 극복한다. 일부 구현예에서, 유도된 면역-반응 처리된 세포/종양을 사용하기 위해 하나 이상의 부가적인 암 면역요법이 사용된다 (예컨대, 동시에 또는 연속적으로). 적합한 면역요법은, 비제한적으로 하기를 포함할 수 있다: 세포 기반 요법 (예컨대, 수지상 세포 또는 T 세포 요법 등), 단클론 항체 (mAb) 요법 (예컨대, 네이키드 (naked) mAb, 접합된 mAb), 사이토카인 요법 (예컨대, 인터페론, 인터루킨 등), 보조 치료 (예컨대, 폴리사카라이드-K) 등.

[0100] 본원에 개시된 조성물 및 방법에서 사용될 수 있는, 특히 면역요법 (비제한적임)에서 사용하기 위한 항체의 예는, 비제한적으로, 하기와 같은 항체를 포함한다: 트라스투주맙 (trastuzumab; 항-HER2/neu 항체); 페르투주맙 (Pertuzumab; 항-HER2 mAb); 세툭시맙 (cetuximab; 표피 성장 인자 수용체 EGFR에 대한 키메라 단클론 항체); 파니투무맙 (panitumumab; 항-EGFR 항체); 니모투주맙 (nimotuzumab; 항-EGFR 항체); 잘루투무맙 (Zalutumumab; 항-EGFR mAb); 네시투무맙 (Necitumumab; 항-EGFR mAb); MDX-210 (인간화 항-HER-2 이중특이적 항체); MDX-210 (인간화 항-HER-2 이중특이적 항체); MDX-447 (인간화 항-EGF 수용체 이중특이적 항체); 리툭시맙 (Rituximab; 키메라 쥣과/인간 항-CD20 mAb); 오비누투주맙 (Obinutuzumab; 항-CD20 mAb); 오파투무맙 (Ofatumumab; 항-CD20 mAb); 토시투무맙-1131 (Tositumumab-1131; 항-CD20 mAb); 이브리투모맙 티욱세탄 (Ibritumomab tiuxetan; 항-CD20 mAb); 베바시주맙 (Bevacizumab; 항-VEGF mAb); 라무시루맙 (Ramucirumab; 항-VEGFR2 mAb); 라니비주맙 (Ranibizumab; 항-VEGF mAb); 아플리베르셉트 (Aflibercept; IgG1 Fc에 융합된 VEGFR1 및 VEGFR2의 세포외 도메인); AMG386 (IgG1 Fc에 융합된 안지오포이에틴-1 및 -2 결합 펩타이드); 달로투주맙 (Dalotuzumab; 항-IGF-1R mAb); 겜투주맙 오조가미신 (Gemtuzumab ozogamicin; 항-CD33 mAb); 알렘투주맙 (Alemtuzumab; 항-Campath-1/CD52 mAb); 브렌툭시맙 베도틴 (Brentuximab vedotin; 항-CD30 mAb): 카투막소맙 (Catumaxomab; 상피 세포 부착 분자 및 CD3을 표적화하는 이중특이적 mAb); 납투모맙 (Naptumomab; 항-5T4 mAb); 기렌툭시맙 (Girentuximab; 항-탄산 탈수효소 ix); 또는 팔레투주맙 (Farletuzumab; 항-엽산 수용체). 다른 예는 파노렉스™ (Panorex™ (17-1A); 쥣과 단클론 항체); 파노렉스 (@(17-1A)) (키메라 쥣과 단클론 항체); BEC2 (GD 에피토프를 모방하는, 아미-이디오타입 (ami-idiotypic) mAb) (BCG와 함께); 온콜림 (Oncolym; Lym-1 단클론 항체); SMART M195 Ab, 인간화 13' 1 LYM-1 (Oncolym). 오바렉스 (Ovarex; B43.13, 항-이디오타입 마우스 mAb); 선암 상의 EGP40 (17-1A) 범암종 항원에 결합하는 3622W94 mAb; 제나팍스 (Zenapax; SMART 항-Tac (IL-2 수용체); SMART M195 Ab, 인간화 Ab, 인간화); NovoMAb-G2 (범암종 특이적 Ab); TNT (히스톤 항원에 대한 키메라 mAb); TNT (히스톤 항원에 대한 키메라 mAb); 신경교종b-H (단클론－인간화 Ab); GNI-250 Mab; EMD-72000 (키메라-EGF 길항제); LymphoCide (인간화 IL.L.2 항체); 및 MDX-260 이중특이적, 표적s GD-2, ANA Ab, SMART IDIO Ab, SMART ABL 364 Ab, 또는 ImmuRAIT-CEA.

[0101] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 미생물총 조절과의 병용요법으로서 이용되는 면역요법은 하기 중 하나 이상을 직접 또는 간접적으로 표적화한다: 조절성 T 세포, 골수성 억제자 세포, 또는 수지상 세포. 또 다른 측면에서, 면역요법은 하기 분자 중 하나를 특이적으로 표적화한다: CD4; CD25 (IL-2α 수용체; IL-2αR); 세포독성 T-림프구 항원-4 (CTLA-4; CD152); 인터루킨-10 (IL-10); 형질전환 성장 인자-베타 수용체 (TGF-βR); 형질전환 성장 인자-베타 (TGF-β); 프로그램화된 사멸-1 (PD-1); 프로그램화된 사멸-1 리간드 (PD-L1 또는 PD-L2); 핵 인

자-κB의 수용체 활성자 (RANK); 핵 인자-κB의 수용체 활성자 (RANK) 리간드 (RANKL); LAG-3; 글루코코르티코이드-유도 종양 괴사 인자 수용체 패밀리-관련 유전자 (GITR; TNFRSF18); 또는 인터루킨-4 수용체 (IL-4R). 일부 구현예에서, 면역요법은 표적화된 분자의 기능을 증가시키는 효능제로서 작용한다. 다른 구현예에서, 면역요법은 표적화된 분자의 기능을 억제하는 길항제이다.

[0102] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 미생물총 조절과의 병용요법으로서 이용되는 면역요법은, 특정 사이토카인, 사이토카인 수용체, 보조자극 분자, 보조억제 분자, 또는 면역계를 조절하는 면역조절 수용체 중 하나 이상을 직접 또는 간접적으로 표적화한다. 또 다른 측면에서, 하기 분자 중 하나는 미생물총 조절과의 병용치료에 의해 표적화된다: 종양 괴사 인자 (TNF) 수퍼패밀리; 종양 괴사 인자-α (TNF-α); 종양 괴사 인자 수용체 (TNFR) 수퍼패밀리; 인터루킨-12 (IL-12); IL-12 수용체; 4-1BB (CD137); 4-1BB 리간드 (4-1BBL; CD137L); OX40 (CD134; TNR4); OX40 리간드 (OX40L; CD40; CD40 리간드 (CD40L); CTLA-4; 프로그램화된 사멸-1 (PD-1); PD-1 리간드 I (PD-L1: B7-H1); 또는 PD-1 리간드 2 (PD-L2; B7-DC); B7 패밀리; B7-1 (CD80); B7-2 (CD86); B7-H3; B7-H4; GITR/AITR: GITRL/AITRL; BTLA; CD70; CD27; LIGHT; HVEM: 톨 유사 (Toll-like) 수용체 (TLR) (TLR 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10).

[0103] 일부 구현예에서, 대상에서 미생물총을 조절하기 위한 조성물 및/또는 방법은 하나 이상의 화학치료제 제제에 의한 치료에 대해 암 세포 및/또는 종양을 감작시킨다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 화학요법은 유도된 화학치료제 민감성을 이용하기 위해 미생물총 조절 (예컨대, 동시에 또는 연속적으로)에 추가적으로 사용된다. 다른 구현예에서, 하나 이상의 화학치료제는 미생물총 조절 및 화학요법 사이에 (공지된) 상승작용을 가지고 또는 없이, 미생물총 조절과의 병용요법으로서 제공된다.

[0104] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 조성물 및 방법 (예컨대, β-카테닌 억제제와 함께 병용 투여됨)에서 사용하는 데 적합한 예시적인 항암제는, 비제한적으로 하기를 포함한다: 1) 알칼로이드, 예컨대 미세소관 억제제 (예컨대, 빈크리스틴 (vincristine), 빈블라스틴 (vinblastine), 및 빈데신 (vindesine) 등), 미세소관 안정화제 (예컨대, 파클리탁셀 (paclitaxel; Taxol), 및 도세탁셀 (docetaxel) 등), 및 염색질 기능 억제제, 예컨대 에티포도필로톡신과 같은 토포이소머라제 억제제 (예컨대, 에토포사이드 (VP-16), 및 테니포시드 (teniposide; VM-26) 등), 및 토포이소머라제 I을 표적화하는 제제 (예컨대, 캄프토테신 (camptothecin) 및 이시리노테칸 (isirinotecan; CPT-11) 등); 2) 공유 DNA-결합제 (알킬화제), 예컨대 질소 머스타드 (nitrogen mustard) (예컨대, 메클로레타민 (mechlorethamine), 클로람부실 (chlorambucil), 사이클로포스파미드 (cyclophosphamide), 이포스파미드 (ifosphamide), 및 부설판 (busulfan; MYLERAN) 등), 니트로우레아 (nitrosourea) (예컨대, 카르무스틴 (carmustine), 로무스틴 (lomustine), 및 세무스틴 (semustine) 등), 및 다른 알킬화제 (예컨대, 다카르바진 (dacarbazine), 하이드록시메틸멜라민 (hydroxymethylmelamine), 티오테파 (thiotepa), 및 미토마이신 (mitomycin) 등); 3) 비공유 DNA-결합 제제 (항종양 항생제), 예컨대 핵산 억제제 (예컨대, 닥티노마이신 (dactinomycin; 악티노마이신 D (actinomycin D) 등), 안트라사이클린 (anthracycline) (예컨대, 다우노루비신 (daunorubicin) (닥티노마이신 (daunomycin), 및 세루비딘 (cerubidine)), 독소루비신 (doxorubicin; 아드리아마이신 (adriamycin)), 및 이다루비신 (idarubicin; 이다마이신 (idamycin)) 등), 안트라센디온 (anthracenedione; 예컨대, 안트라사이클린 유사체, 예컨대 미톡산트론 (mitoxantrone) 등), 블레오마이신 (bleomycin; BLENOXANE) 등, 및 플리카마이신 (plicamycin; 미트라마이신 (mithramycin)) 등; 4) 항대사물질, 예컨대 항엽산제 (예컨대, 메토트렉세이트 (methotrexate), FOLEX, 및 MEXATE 등), 퓨린 항대사물질 (예컨대, 6-머캅토퓨린 (6-mercaptopurine; 6-MP, PURINETHOL), 6-티오구아닌 (6-thioguanine; 6-TG), 아자티오프린 (azathioprine), 아시클로비르 (acyclovir), 간시클로비르 (ganciclovir), 클로로데옥시아데노신 (chlorodeoxyadenosine), 2-클로로데옥시아데노신 (2-chlorodeoxyadenosine; CdA), 및 2'-데옥시코포르마이신 (2'-deoxycoformycin (펜토스타틴 (pentostatin)) 등), 피리미딘 길항제 (예컨대, 플루오로피리미딘 (fluoropyrimidine; 예컨대, 5-플루오우라실 (ADRUCIL), 5-플루오로데옥시우리딘 (FdUrd) (floxuridine)) 등), 및 사이토신 아라비노시드 (cytosine arabinoside; 예컨대, CYTOSAR (ara-C) 및 플루다라빈 (fludarabine) 등); 5) 효소, 예컨대 L-아스파라기나제, 및 하이드록시우레아 등; 6) 호르몬, 예컨대 글루코코르티코이드, 항에스트로겐 (예컨대, 타목시펜 (tamoxifen) 등), 비스테로이드성 항안드로겐 (예컨대, 플루타미드 (flutamide) 등), 및 아로마타제 억제제 (예컨대, 아나스트로졸 (anastrozole; ARIMIDEX) 등); 7) 백금 화합물 (예컨대, 시스플라틴 (cisplatin) 및 카르보플라틴 (carboplatin) 등); 8) 단클론 항체 (예컨대, 항암 약물, 독소, 및/또는 방사성핵종 등과 접합됨; 중화 항체; 등); 9) 생물학적 반응 변형제 (예컨대, 인터페론 (예컨대, IFN-.알파. 등) 및 인터루킨 (예컨대, IL-2 등) 등); 10) 입양 면역요법 (adoptive immunotherapy); 11) 조혈 성장 인자; 12) 종양 세포 분화를 유도하는 제제 (예컨대, 올-트랜스-레티노산 등); 13) 유전자 요법 기술; 14) 안티센스 요법 기술; 15) 종양 백신; 16) 종양 전이에 대한 요법 (예컨대, 바티마스타트 (batimastat) 등); 17) 혈관신생

억제제; 18) 프로테오좀 억제제 (예컨대, VELCADE); 19) 아세틸화 및/또는 메틸화의 억제제 (예컨대, HDAC 억제제); 20) NF 카파 B의 조절제; 21) 세포 주기 조절의 억제제 (예컨대, CDK 억제제); 및 22) p53 단백질 기능의 조절제.

[0105] 일부 구현예에서, 본원의 조성물 및 방법은 암의 치료 및/또는 예방을 위한 다중 모드를 포함한다. 일부 구현예에서, 유익한 미생물은 유익한 미생물의 성장을 촉진하는 프리바이오틱스 및/또는 다른 제제와 함께 제공/투여된다 (예컨대, 프로바이오틱 조성물, 배설물 이식 등에 의해). 일부 구현예에서, 유익한 미생물은 유해한 미생물을 사멸시키거나 이의 성장을 억제하기 위한 항미생물제(들) (예컨대, 항생제)와 함께 제공/투여된다 (예컨대, 프로바이오틱 조성물, 배설물 이식 등에 의해). 일부 구현예에서, 유익한 미생물의 성장을 촉진하는 프리바이오틱스 및/또는 다른 제제는 유해한 미생물을 사멸시키거나 이의 성장을 억제하기 위한 항미생물제(들) (예컨대, 항생제)와 함께 제공/투여된다. 일부 구현예에서, 유익한 미생물, 유익한 미생물의 성장을 촉진하는 프리바이오틱스 및/또는 다른 제제, 및 유해한 미생물을 사멸시키거나 이의 성장을 억제하기 위한 항미생물제(들) (예컨대, 항생제)는 모두 병용 투여된다.

[0106] 일부 구현예에서, 병용 투여된 제제는 단일 용량 및/또는 조성물로 제형화된다. 일부 구현예에서, 병용 투여된 제제는 별개의 용량 및/또는 조성물에 존재한다. 별개의 용량 및/또는 조성물이 투여되는 일부 구현예에서, 용량 및/또는 조성물은 동시에, 연속적으로, 또는 기간 동안 떨어져 투여된다 (예컨대, <30분, 1시간, 2시간, 4시간, 6시간, 12시간, 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 1주 이상, 또는 이들 사이의 임의의 적합한 범위).

[0107] 일부 구현예에서, 유익한 미생물, 유익한 미생물의 성장을 촉진하는 프리바이오틱스 및/또는 다른 제제, 유해한 미생물을 사멸시키거나 이의 성장을 억제시키는 항미생물제(들) (예컨대, 항생제), 또는 상기 언급된 이의 조합 중 어느 것이 암의 치료와 함께 투여된다. 미생물총 자체의 조절이 암을 위한 치료를 제공하는 구현예에서, 적합한 병용치료는 면역요법, 화학요법, 수술 (예컨대, 종양 제거), 방사선 등을 포함한다. 미생물총의 조절이 특정 암 요법 (예컨대, 면역요법, 화학요법 등)에 대하여 대상 또는 종양 미세환경을 감작시키는 다른 구현예에서, 특정 암 요법이 투여된다 (예컨대, 선택적으로 대상이 조절에 의해 직접 감작되지 않는 하나 이상의 다른 암 요법에 부가적으로).

[0108] 일부 구현예에서, 미생물총 조절은 특정 암 또는 종양 세포 마커를 표적화하고/하거나 이에 결합하는 하나 이상의 부가적 요법과의 병용요법 (예컨대, 화학요법, 면역요법 등)으로서 제공된다. 이러한 마커는 비제한적으로, 표피 성장 인자 수용체 (EGFR, EGFR1, ErbB-1, HER1)를 포함하는 군으로부터 선택될 수 있다. ErbB-2 (HER2/neu), ErbB-3/HER3, ErbB-4/HER4, EGFR 리간드 패밀리; 인슐린-유사 성장 인자 수용체 (IGFR) 패밀리, IGF-결합 단백질 (IGFBP), IGFR 리간드 패밀리 (IGF-1R); 혈소판 유래 성장 인자 수용체 (PDGFR) 패밀리, PDGFR 리간드 패밀리; 섬유아세포 성장 인자 수용체 (FGFR) 패밀리, FGFR 리간드 패밀리, 혈관 내피 성장 인자 수용체 (VEGFR) 패밀리, VEGF 패밀리; HGF 수용체 패밀리: TRK 수용체 패밀리; 에프린 (EPH) 수용체 패밀리: AXL 수용체 패밀리; 백혈구 티로신 키나아제 (LTK) 수용체 패밀리; TIE 수용체 패밀리, 안지오포이에틴 1, 2; 수용체 티로신 키나아제-유사 고아 수용체 (ROR) 수용체 패밀리; 디스코이딘 (discoidin) 도메인 수용체 (DDR) 패밀리; RET 수용체 패밀리; KLG 수용체 패밀리; RYK 수용체 패밀리; MuSK 수용체 패밀리; 형질전환 성장 인자 알파 (TGF-α), TGF-α 수용체; 형질전환 성장 인자-베타 (TGF-β), TGF-β 수용체; 인터루킨 β 수용체 알파2 사슬 (IL13R알파2), 인터루킨-6 (IL-6), 1L-6 수용체, 인터루킨-4, IL-4 수용체, 사이토카인 수용체, 클래스 I (헤마토포이에틴 패밀리) 및 클래스 II (인터페론/1L-10 패밀리) 수용체, 종양 괴사 인자 (TNF) 패밀리, TNF-α, 종양 괴사 인자 (TNF) 수용체 수퍼패밀리 (TNTRSF), 사멸 수용체 패밀리, TRAIL-수용체; 암-고환 (CT) 항원, 혈통-특이적 항원, 분화 항원, 알파-악티닌-4, ARTC1, 브레이크포인트 클러스터 영역-아벨손 (Bcr-abl) 융합 제품, B-RAF, 카스파제-5 (CASP-5), 카스파제-8 (CASP-8), 베타-카테닌 (CTNNB1), 세포 분열 주기 27 (CDC27), 사이클린-의존적 키나아제 4 (CDK4), CDKN2A, COA-1, dek-can 융합 단백질, EFTUD-2, 신장 인자 2 (ELF2), Ets 변이 유전자 6/급성 골수성 백혈병 1 유전자 ETS (ETC6-AML1) 융합 단백질, 피브로넥틴 (FN), GPNMB, 저밀도 지질 수용체/GDP-L 푸코스: 베타-D갈락토스 2-알파-푸코실트랜스퍼라제 (LDLR/FUT) 융합 단백질, HLA-A2, MLA-A11, 열 충격 단백질 70-2 돌연변이 (HSP70-2M), KIAA0205, MART2, 흑색종 유비퀴터스 돌연변이된 1, 2, 3 (MUM-1, 2, 3), 전립선 산 포스파타제 (PAP), 네오-PAP, 미오신 클래스 1, NFYC, OGT, OS-9, pml-RAR알파 융합 단백질, PRDX5, PTPRK, K-ras (KRAS2), N-ras (NRAS), HRAS, RBAF600, SIRT12, SNRPD1, SYT-SSX1 또는 -SSX2 융합 단백질, 트리오세포스페이트 이소머라제, BAGE, BAGE-1, BAGE-2, 3, 4, 5, GAGE-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, GnT-V (비정상적 N-아세틸 글루코사미닐 트랜스퍼라제 V, MGAT5), HERV-K MEL, KK-LC, KM-HN-1, LAGE, LAGE-1, 흑색종 상의 CTL-인식 항원 (CAMEL), MAGE-A1 (MAGE-1). MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-AS, MAGE-A6, MAGE-A8, MAGE-A9, MAGE-A10.MAGE-A11, MAGE-A12, MAGE-3, MAGE-B1, MAGE-B2, MAGE-

B5.MAGE-B6, MAGE-C1, MAGE-C2, 무신 1 (MUC1), MART-1/Melan-A (MLANA), gp100, gp100/Pme117 (S1LV), 티로시나제 (TYR), TRP-1, HAGE, NA-88, NY-ESO-1, NY-ESO-1/LAGE-2, SAGE, Sp17.SSX-1, 2, 3, 4, TRP2-1NT2, 암-배아 항원 (CEA), 칼리크레인 4 (Kallikrein 4), 맘마글로빈-A (mammaglobin-A), OA1, 전립선 특이적 항원 (PSA), 전립선 특이적 막 항원, TRP-1/, 75.TRP-2 아디포필린 (adipophilin), 흑색종에서 부재하는 인터페론 유도성 단백질 2 (AIM-2). BING-4, CPSF, 사이클린 D1, 상피 세포 부착 분자 (Ep-CAM), EpbA3, 섬유아세포 성장 인자-5 (FGF-5), 당단백질 250 (gp250intestinal carboxyl esterase (iCE), 알파-태아 단백질 (AFP), M-CSF, mdm-2, MUCI, p53 (TP53), PBF, PRAME, PSMA, R연령-1, RNF43, RU2AS, SOX10, STEAP1, 수르비빈 (BIRCS), 인간 텔로머라제 역전사효소 (hTERT), 텔로머라제, 윌름스 종양 유전자 (WT1), SYCP1, BRDT, SPANX, XAGE, ADAM2, PAGE-5, LIP1, CTAGE-1, CSAGE, MMA1, CAGE, BORIS, HOM-TES-85, AF15q14, HCA66I, LDHC, MORC, SGY-1, SPO11, TPX1, NY-SAR-35, FTHLI7, NXF2 TDRD1, TEX 15, FATE, TPTE, 면역글로불린 이디오타입, 벤스-존스 (Bence-Jones) 단백질, 에스트로겐 수용체 (ER), 안드로겐 수용체 (AR), CD40, CD30, CD20, CD19, CD33, CD4, CD25, CD3, 암 항원 72-4 (CA 72-4), 암 항원 15-3 (CA 15-3), 암 항원 27-29 (CA 27-29), 암 항원 125 (CA 125), 암 항원 19-9 (CA 19-9), 베타-인간 융모성 생식선 자극 호르몬, 1-2 마이크로글로불린, 편평 세포 암종 항원, 뉴런-특이적 에놀라제, 열 충격 단백질 gp96.GM2, 사르그라모스팀 (sargramostim), CTLA-4, 707 알라닌 프롤린 (707-AP), T 세포에 의해 인식되는 선암종 항원 4 (ART-4), 암배발생 항원 콥타이드-1 (CAP-1), 칼슘-활성화된 클로라이드 채널-2 (CLCA2), 사이클로필린 B (Cyp-B), 인간 인환 종양-2 (human signet ring tumor-2; HST-2) 등

[0109] 본원에 기재된 조성물 및 방법으로 치료될 수 있는 암의 비제한적인 예는 비제한적으로 하기를 포함한다: 방광, 혈액, 뼈, 골수, 뇌, 유방, 결장, 식도, 위장, 잇몸, 머리, 신장, 간, 폐, 비인두, 목, 난소, 전립선, 피부, 위, 고환, 혀, 또는 자궁으로부터의 암 세포. 또한, 암은 구체적으로 다음의 조직학적 유형일 수 있으나, 이들에 제한되는 것은 아니다: 악성 신생물 (neoplasm, malignant); 암종 (carcinoma); 미분화 암종 (carcinoma, undifferentiated); 거대 및 방추 세포 암종 (giant and spindle cell carcinoma); 소세포 암종 (small cell carcinoma); 유두상 암종 (papillary carcinoma); 편평 세포 암종 (squamous cell carcinoma); 림프상피 암종 (lymphoepithelial carcinoma); 기저 세포 암종 (basal cell carcinoma); 모기질 암종 (pilomatrix carcinoma); 전이 세포 암종 (transitional cell carcinoma); 유도 전이 세포 암종 (papillary transitional cell carcinoma); 선암종 (adenocarcinoma); 악성 가스트린종 (gastrinoma, malignant); 담관암종 (cholangiocarcinoma); 간세포 암종 (hepatocellular carcinoma); 조합된 간세포 암종 및 담관암종 (combined hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma); 기둥 선암종 (trabecular adenocarcinoma); 선낭 암종 (adenoid cystic carcinoma); 선종 폴립 (adenomatous polyp)에서의 선암종; 가족성 대장 폴립증 (familial polyposis coli) 선암종; 고체 암종 (solid carcinoma); 악성 유암종 (carcinoid tumor); 기관지-폐포 선암종 (branchiolo-alveolar adenocarcinoma); 유두상 선암종 (papillary adenocarcinoma); 혐색소성 암종 (chromophobe carcinoma); 호산성 암종 (acidophil carcinoma); 호산성 선암종 (oxyphilic adenocarcinoma); 호염기성 암종 (basophil carcinoma); 투명 세포 선암종 (clear cell adenocarcinoma); 과립 세포 암종 (granular cell carcinoma); 여포성 선암종 (follicular adenocarcinoma); 유두상 및 여포성 선암종 (papillary and follicular adenocarcinoma); 비피낭 경화성 암종 (nonencapsulating sclerosing carcinoma); 부신 피질 암종 (adrenal cortical carcinoma); 자궁내막 암종 (endometroid carcinoma); 피부 부속물 암종 (skin appendage carcinoma); 아포크린 선암종 (apocrine adenocarcinoma); 피지 선암종 (sebaceous adenocarcinoma); 귀지 선암종 (ceruminous adenocarcinoma); 점막표피모양 암종 (mucoepidermoid carcinoma); 낭선암종 (cystadenocarcinoma); 유두상 낭선암종 (papillary cystadenocarcinoma); 유두상 장액 낭선암종 (papillary serous cystadenocarcinoma); 점액 낭선암종 (mucinous cystadenocarcinoma); 점액 선암종 (mucinous adenocarcinoma); 반지 세포 암종 (signet ring cell carcinoma); 침윤성 유관 암종 (infiltrating duct carcinoma); 수질 암종 (medullary carcinoma); 소엽 암종 (lobular carcinoma); 염증성 암종 (inflammatory carcinoma); 유선 파제트병 (paget's disease, mammary); 선방 세포 암종 (acinar cell carcinoma); 선편평 암종 (adenosquamous carcinoma); 편평 상피화생을 갖는 선암종 (adenocarcinoma w/squamous metaplasia); 악성 흉선종 (thymoma, malignant); 악성 난소 기질 종양 (ovarian stromal tumor, malignant); 악성 포막종 (thecoma, malignant); 악성 과립막 세포 종양(granulosa cell tumor, malignant); 및 악성 남성모세포종 (roblastoma); 세르톨리 세포 암종 (sertoli cell carcinoma); 악성 레이딕 세포 종양 (leydig cell tumor, malignant); 악성 지질 세포 종양 (lipid cell tumor, malignant); 악성 부신경절종 (paraganglioma, malignant); 악성 유방외 부신경절종 (extra-mammary paraganglioma, malignant); 갈색세포종 (pheochromocytoma); 사수맥관육종 (glomangiosarcoma); 악성 흑색종 (malignant melanoma); 무색소성 흑색종

(amelanotic melanoma); 표재 확장성 흑색종 (superficial spreading melanoma); 거대 색소 모반의 악성 흑색종 (malig melanoma in giant pigmented nevus); 상피양 세포 흑색종 (epithelioid cell melanoma); 악성 청색 모반 (blue nevus, malignant); 육종 (sarcoma); 섬유육종 (fibrosarcoma); 악성 섬유성 조직구증 (fibrous histiocytoma, malignant); 점액육종 (myxosarcoma); 지방육종 (liposarcoma); 평활근육종 (leiomyosarcoma); 횡문근육종 (rhabdomyosarcoma); 배아성 횡문근육종 (embryonal rhabdomyosarcoma); 폐포성 횡문근육종 (alveolar rhabdomyosarcoma); 기질 육종 (stromal sarcoma); 악성 혼합 종양 (mixed tumor, malignant); 뮬러 혼합 종양 (mullerian mixed tumor); 신장아세포종 (nephroblastoma); 간아세포종 (hepatoblastoma); 암육종 (carcinosarcoma); 악성 간엽종 (mesenchymoma, malignant); 악성 브레너 종양 (brenner tumor, malignant); 악성 엽상 종양 (phyllodes tumor, malignant); 활막 육종 (synovial sarcoma); 악성 중피종 (mesothelioma, malignant); 미분화세포종 (dysgerminoma); 배아 암종 (embryonal carcinoma); 악성 기형종 (teratoma, malignant); 악성 난소 갑상선종 (struma ovarii, malignant); 융모막암종 (choriocarcinoma); 악성 중신종 (mesonephroma, malignant); 혈관육종 (hemangiosarcoma); 악성 혈관내피종 (hemangioendothelioma, malignant); 카포시 육종 (kaposi's sarcoma); 악성 혈관주위세포종 (hemangiopericytoma, malignant); 림프관육종 (lymphangiosarcoma); 골육종 (osteosarcoma); 골막 골육종 (juxtacortical osteosarcoma); 연골육종 (chondrosarcoma); 악성 연골아세포종 (chondroblastoma, malignant); 간엽성 연골육종 (mesenchymal chondrosarcoma); 골 거대 세포 종양 (giant cell tumor of bone); 유잉 육종 (ewing's sarcoma); 악성 치원 종양 (odontogenic tumor, malignant); 사기질아세포 치아육종 (ameloblastic odontosarcoma); 악성 사기질아세포종 (ameloblastoma, malignant); 사기질아세포 섬유육종 (ameloblastic fibrosarcoma); 악성 송과체종 (pinealoma, malignant); 척삭종 (chordoma); 악성 신경교종 (glioma, malignant); 뇌실막세포종 (ependymoma); 성상세포종 (astrocytoma); 원형질성 성상세포종 (protoplasmic astrocytoma); 원섬유성 성상세포종 (fibrillary astrocytoma); 성상아세포종 (astroblastoma); 교아종 (glioblastoma); 희소돌기아교세포종 (oligodendroglioma); 희소돌기아교아세포종 (oligodendroblastoma); 원시 신경외배엽 종양 (primitive neuroectodermal); 소뇌 육종 (cerebellar sarcoma); 신경절신경아세포종 (ganglioneuroblastoma); 신경아세포종 (neuroblastoma); 망막아세포종 (retinoblastoma); 후신경원성 종양 (olfactory neurogenic tumor); 악성 수막종 (meningioma, malignant); 신경섬유육종 (neurofibrosarcoma); 악성 신경초종 (neurilemmoma, malignant); 악성 과립 세포 종양 (granular cell tumor, malignant); 악성 림프종 (malignant lymphoma); 호지킨병 (Hodgkin's disease); 호지킨 림프종 (Hodgkin's lymphoma); 부육아종 (paragranuloma); 소 림프구성 악성 림프종 (malignant lymphoma, small lymphocytic); 대세포, 미만성, 악성 림프종 (malignant lymphoma, large cell, diffuse); 여포상 악성 림프종 (malignant lymphoma, follicular); 균상식육종 (mycosis fungoides); 기타 명시된 비-호지킨 림프종; 악성 조직구증 (malignant histiocytosis); 다발성 골수종 (multiple myeloma); 비만 세포 육종 (mast cell sarcoma); 면역증식성 소장 질환 (immunoproliferative small intestinal disease); 백혈병 (leukemia); 림프성 백혈병 (lymphoid leukemia); 형질 세포 백혈병 (plasma cell leukemia); 적백혈병 (erythroleukemia); 림프육종 세포 백혈병 (lymphosarcoma cell leukemia); 골수성 백혈병 (myeloid leukemia); 호염기성 백혈병 (basophilic leukemia); 호산구성 백혈병 (eosinophilic leukemia); 단핵구 백혈병 (monocytic leukemia); 비만 세포 백혈병 (mast cell leukemia); 거대아구성 백혈병 (megakaryoblastic leukemia); 골수성 육종 (myeloid sarcoma); 및 모발상 세포 백혈병 (hairy cell leukemia). 일부 구현예에서, 암은 흑색종 (예컨대, 전이성 악성 흑색종), 신장암 (예컨대, 투명 세포 암종), 전립선암 (예컨대, 호르몬 무반응성 전립선 선암종), 췌장암 (예컨대, 선암종), 유방암, 결장암, 담낭암, 폐암 (예컨대, 비소 세포 폐암), 식도암, 두경부의 편평 세포 암종, 간암, 난소암, 자궁경부암, 갑상선암, 교아종, 신경교종, 백혈병, 림프종, 및 다른 신생물성 악성 종양이다. 일부 구현예에서, 암은 고형 종양 암이다.

[0110] 일부 구현예에서, 본원에 제공된 방법은 백혈병의 치료 및/또는 예방에 관한 것이다. 용어 "백혈병"은 조혈 기관/시스템의 광범위하게 진행되는 악성 질환을 의미하며, 일반적으로 혈액 및 골수에서 백혈구 및 이의 전구체의 왜곡된 증식 및 발달을 특징으로 한다. 백혈병 질환의 비제한적인 예는, 급성 비림프구성 백혈병 (acute nonlymphocytic leukemia), 만성 림프구성 백혈병 (chronic lymphocytic leukemia), 급성 과립구성 백혈병 (acute granulocytic leukemia), 만성 과립구성 백혈병 (chronic granulocytic leukemia), 급성 전골수성 백혈병 (acute promyelocytic leukemia), 성인 T-세포 백혈병 (adult T-cell leukemia), 무백혈병성 백혈병 (aleukemic leukemia), 백혈구병성 백혈병 (leukocythemic leukemia), 호염기성 백혈병 (basophilic leukemia), 아세포 백혈병 (blast cell leukemia), 소 백혈병 (bovine leukemia), 만성 골수성 백혈병 (chronic myelocytic leukemia), 피부 백혈병 (leukemia cutis), 배아 백혈병 (embryonal leukemia), 호산구성 백혈병 (eosinophilic leukemia), 그로스 백혈병 (Gross' leukemia), 리더 세포 백혈병 (Rieder cell

leukemia), 쉴링 백혈병 (Schilling's leukemia), 줄기세포 백혈병 (stem cell leukemia), 아백혈병성 백혈병 (subleukemic leukemia), 미분화 세포 백혈병 (undifferentiated cell leukemia), 모양세포 백혈병 (hairy-cell leukemia), 성혈세포성 백혈병 (hemoblastic leukemia), 혈구아세포성 백혈병 (hemocytoblastic leukemia), 조직구성 백혈병 (histiocytic leukemia), 줄기세포 백혈병 (stem cell leukemia), 급성 단구성 백혈병 (acute monocytic leukemia), 백혈구 감소성 백혈병 (leukopenic leukemia), 림프구성 백혈병 (lymphatic leukemia), 림프아세포 백혈병 (lymphoblastic leukemia), 림프모구 백혈병 (lymphocytic leukemia), 림프행성 백혈병 (lymphogenous leukemia), 림프구성 백혈병 (lymphoid leukemia), 림프육종 세포 백혈병 (lymphosarcoma cell leukemia), 비만세포 백혈병 (mast cell leukemia), 거대핵세포 백혈병 (megakaryocytic leukemia), 미세골수아구성 백혈병 (micromyeloblastic leukemia), 단구성 백혈병 (monocytic leukemia), 골수아구 백혈병 (myeloblastic leukemia), 골수성 백혈병 (myelocytic leukemia), 골수 과립구성 백혈병 (myeloid granulocytic leukemia), 골수단구성 백혈병 (myelomonocytic leukemia), 네겔리 백혈병 (Naegeli leukemia), 형질세포 백혈병 (plasma cell leukemia), 형질구성 백혈병 (plasmacytic leukemia), 및 전골수성 백혈병 (promyelocytic leukemia)을 포함한다.

[0111] 일부 구현예에서, 본원에 제공된 방법은 암종의 치료 및/또는 예방에 관한 것이다. 용어 "암종"은 주변 조직을 침투하고/하거나 생리학적 및 비생리학적 세포 사멸 신호를 저항하고 전이를 야기하는 경향이 있는 상피 세포로 구성된 악성 성장을 지칭한다. 암종의 비제한적인 예시적인 유형은, 선방 암종 (acinar carcinoma), 선포 암종 (acinous carcinoma), 선양낭성 암종 (adenocystic carcinoma, adenoid cystic carcinoma), 선암종 (carcinoma adenomatosum), 부신 피질의 암종 (carcinoma of adrenal cortex), 폐포성 암종 (alveolar carcinoma, alveolar cell carcinoma, basal cell carcinoma), 폐포 세포 암종 (alveolar cell carcinoma), 기저 세포 암종 (basal cell carcinoma), 기저세포양 암종 (carcinoma basocellulare, basaloid carcinoma), 바닥편평세포 세포 암종 (basosquamous cell carcinoma), 기관지폐포 암종 (bronchioalveolar carcinoma), 기관지 암종 (bronchiolar carcinoma), 기관지원성 암종 (bronchogenic carcinoma), 대뇌양 암종 (cerebriform carcinoma), 담관세포 암종 (cholangiocellular carcinoma), 융모막 암종 (chorionic carcinoma), 콜로이드 암종 (colloid carcinoma), 면포암종 (comedo carcinoma), 자궁체 암종 (corpus carcinoma), 사상 암종 (cribriform carcinoma), 흉부 갑옷 암종 (carcinoma en cuirasse), 피부 암종 (carcinoma cutaneum), 원주상 암종 (cylindrical carcinoma), 원주상 세포 암종 (cylindrical cell carcinoma), 유관 암종 (duct carcinoma), 듀럼 암종 (carcinoma durum), 배아 암종 (embryonal carcinoma), 뇌양 암종 (encephaloid carcinoma), 유포피 암종 (epiennoid carcinoma), 상피 선양 암종 (carcinoma epitheliale adenoids), 외성장 암종 (exophytic carcinoma), 궤양외 암종 (carcinoma ex ulcere), 섬유성 암종 (carcinoma fibrosum), 젤라틴 모양 암종 (gelatiniform carcinoma), 젤라틴성 암종 (gelatinous carcinoma), 거대 세포 암종 (giant cell carcinoma), 반지 세포 암종 (signet-ring cell carcinoma), 단순 암종 (carcinoma simplex), 소세포 암종 (small-cell carcinoma), 솔라노이드 암종 (solanoid carcinoma), 구상 세포 암종 (spheroidal cell carcinoma), 방추 세포 암종 (spindle cell carcinoma), 해면질 암종 (carcinoma spongiosum), 편평 암종 (squamous carcinoma), 편평 세포 암종 (squamous cell carcinoma), 스트링 암종 (string carcinoma), 모세혈관확장성 암종 (carcinoma telangiectaticum, carcinoma telangiectodes), 이행 세포 암종 (transitional cell carcinoma), 결절성 암종 (carcinoma tuberosum, tuberous carcinoma), 우췌상 암종 (verrucous carcinoma), 융모상 암종 (carcinoma villosum), 거대세포 암종 (carcinoma gigantocellulare), 샘 암종 (glandular carcinoma), 과립막 세포 암종 (granulosa cell carcinoma), 털-기질 암종 (hair-matrix carcinoma), 간세포양 암종 (hematoid carcinoma), 간세포 암종 (hepatocellular carcinoma), 허슬 세포 암종 (Hurthle cell carcinoma), 초자 암종 (hyaline carcinoma), 하이퍼네프로이드 암종 (hypernephroid carcinoma), 유아성 배아 암종 (infantile embryonal carcinoma), 상피내 암종 (carcinoma in situ, intraepidermal carcinoma), 크롬페쳐 암종 (Krompecher's carcinoma), 컬키츠키-세포 암종 (Kulchitzky-cell carcinoma), 거대 세포 암종 (large-cell carcinoma), 렌즈모양 암종 (lenticular carcinoma, carcinoma lenticulare), 지방성 암종 (lipomatous carcinoma), 림프상피 암종 (lymphoepithelial carcinoma), 수양 암종 (carcinoma medullare), 수질 암종 (medullary carcinoma), 멜라닌성 암종 (melanotic carcinoma), 피부연성 암종 (carcinoma molle), 점액 암종 (mucinous carcinoma, carcinoma muciparum), 점액세포 암종 (carcinoma mucocellulare), 점액표피양 암종 (mucoepidermoid carcinoma), 점막 암종 (carcinoma mucosum, mucous carcinoma), 점액종성 암종 (carcinoma myxomatodes), 비인두 암종 (naspharyngeal carcinoma), 연맥세포 암종 (oat cell carcinoma), 화골성 암종 (carcinoma ossificans), 유골 암종 (osteoid carcinoma), 유두상 암종 (papillary carcinoma), 문맥주위 암종 (periportal carcinoma), 전침윤 암종 (preinvasive carcinoma), 가시 세포 암종 (prickle cell

carcinoma), 풀모양 암종 (pultaceous carcinoma), 신장의 신장 세포 암종 (renal cell carcinoma of kidney), 예비 세포 암종 (reserve cell carcinoma), 육종성 암종 (carcinoma sarcomatodes), 슈나이더 암종 (schneiderian carcinoma), 경성 암종 (scirrhous carcinoma), 음낭 암종 (carcinoma scroti)을 포함한다.

[0112] 일부 구현예에서, 본원에 제공된 방법은 육종의 치료 및/또는 예방에 관한 것이다. 용어 "육종"은 일반적으로 배아 결합 조직과 같은 물질로 구성되는 종양을 지칭하며, 이는 일반적으로 소섬유상의 비균질하거나 균질한 물질에 삽입되는 밀집 세포로 구성된다. 육종은, 비제한적으로, 연골육종 (chondrosarcoma), 섬유육종 (fibrosarcoma), 림프육종 (lymphosarcoma), 흑색육종 (melanosarcoma), 점액육종 (myxosarcoma), 골육종 (osteosarcoma), 자궁내막 육종 (endometrial sarcoma), 간질 육종 (stromal sarcoma), 유잉 육종 (Ewing' s sarcoma), 근막 육종 (fascial sarcoma), 섬유아세포 육종 (fibroblastic sarcoma), 거대 세포 육종 (giant cell sarcoma), 아베메티 육종 (Abemethy's sarcoma), 지방조직 육종 (adipose sarcoma), 지방육종 (liposarcoma), 포상연부 육종 (alveolar soft part sarcoma), 법랑아 육종 (ameloblastic sarcoma), 포도상형 육종 (botryoid sarcoma), 녹색종 육종 (chloroma sarcoma), 융모막 암종 (chorio carcinoma), 배아 육종 (embryonal sarcoma), 윌름 종양 육종 (Wilms' tumor sarcoma), 과립구성 육종 (granulocytic sarcoma), 호지킨 육종 (Hodgkin's sarcoma), 특발성 다발성 색소출혈성 육종 (idiopathic multiple pigmented hemorrhagic sarcoma), B 세포의 면역아세포성 육종 (immunoblastic sarcoma of B cells), 림프종 (lymphoma), T-세포의 면역아세포성 육종 (immunoblastic sarcoma of T-cells), 젠센 육종 (Jensen's sarcoma), 카포시 육종 (Kaposi's sarcoma), 쿠퍼 세포 육종 (Kupffer cell sarcoma), 혈관육종 (angiosarcoma), 백혈구육종 (leukosarcoma), 악성 간엽 육종 (malignant mesenchymoma sarcoma), 방골성 육종 (parosteal sarcoma), 망상세포 육종 (reticulocytic sarcoma), 라우스 육종 (Rous sarcoma), 혈청세포 육종 (serocystic sarcoma), 활막 육종 (synovial sarcoma), 및 모세혈관확장성 육종 (telangiectaltic sarcoma)을 포함한다.

[0113] 본원에 기재된 방법을 사용하여 치료되고/되거나 예방될 수 있는 추가의 예시적인 종양은 호지킨병 (Hodgkin's Disease), 비호지킨 림프종 (Non-Hodgkin's Lymphoma), 다발성 골수종 (multiple myeloma), 신경아세포종 (neuroblastoma), 유방암 (breast cancer), 난소암 (ovarian cancer), 폐암 (lung cancer), 횡문근육종 (rhabdomyosarcoma), 원발성 혈소판감소증 (primary thrombocytosis), 원발성 마크로글로불린혈증 (primary macroglobulinemia), 소세포 폐 종양 (small-cell lung tumors), 원발성 뇌 종양(primary brain tumors), 위암 (stomach cancer), 결장암 (colon cancer), 악성 췌장 인슐린혈증 (malignant pancreatic insulanoma), 악성 유암종 (malignant carcinoid), 악성전구 피부 병변 (premalignant skin lesions), 고환암 (testicular cancer), 림프종 (lymphomas), 갑상선암 (thyroid cancer), 신경아세포종 (neuroblastoma), 식도암 (esophageal cancer), 비뇨생식기암 (genitourinary tract cancer), 악성 고칼슘혈증 (hypercalcemia), 자궁경부암 (cervical cancer), 자궁내막암 (endometrial cancer), 및 부신피질암 (adrenal cortical cancer)을 포함한다.

[0114] 일부 구현예에서, 치료되고/되거나 예방되는 암은 흑색종이다. 용어 "흑색종"은 피부 및 다른 기관의 멜라닌세포 시스템에서 발생하는 종양을 의미한다. 흑색종의 비제한적인 예는 하딩-파세이 흑색종 (Harding-Passey melanoma), 소아 흑색종 (juvenile melanoma), 악성 흑색점 흑색종 (lentigo maligna melanoma), 악성 흑색종 (malignant melanoma), 선단 흑자성 흑색종 (acral-lentiginous melanoma), 무멜라닌성 흑색종 (amelanotic melanoma), 양성 소아 흑색종 (benign juvenile melanoma), 클라우드만 흑색종 (Cloudman's melanoma), S91 흑색종 (S91 melanoma), 결절성 흑색종 (nodular melanoma), 손톱밑 흑색종 (subungual melanoma), 및 표재 확장성 흑색종 (superficial spreading melanoma)이다.

[0115] 본원에 기재된 방법을 사용하여 치료되고/되거나 예방될 수 있는 종양의 특정 카테고리는 림프구증식성 장애, 유방암, 난소암, 전립선암, 자궁경부암, 자궁내막암, 골암, 간암, 위암, 결장암, 췌장암, 갑상선의 암, 두경부암, 중추 신경계의 암, 말초 신경계의 암, 피부암, 신장암, 뿐만 아니라 상기 모두의 전이를 포함한다. 종양의 특정 유형은 간세포 암종 (hepatocellular carcinoma), 간암(hepatoma), 간아세포종 (hepatoblastoma), 횡문근육종 (rhabdomyosarcoma), 식도 암종 (esophageal carcinoma), 갑상선 암종 (thyroid carcinoma), 신경절아세포종 (ganglioblastoma), 섬유육종 (fibrosarcoma), 점액육종 (myxosarcoma), 지방육종 (liposarcoma), 연골육종 (chondrosarcoma), 골육종 (osteogenic sarcoma), 척삭종 (chordoma), 혈관육종 (angiosarcoma), 내피육종 (endotheliosarcoma), 유잉 종양 (Ewing's tumor), 평활근육종 (leiomyosarcoma), 라브도텔리오사르코마 (rhabdotheliosarcoma), 침윤성 유관 암종 (invasive ductal carcinoma), 유두상 선암종 (papillary adenocarcinoma), 흑색종 (melanoma), 폐 편평 세포 암종 (pulmonary squamous cell carcinoma), 기저 세포 암종 (basal cell carcinoma), 선암종 (adenocarcinoma)(잘 분화된, 중간 정도로 분화된, 저조하게 분화된 또는

미분화된), 기관지폐포 암종 (bronchioloalveolar carcinoma), 신장 세포 암종 (renal cell carcinoma), 부신종 (hypernephroma), 부신양 선암종 (hypernephroid adenocarcinoma), 담관 암종 (bile duct carcinoma), 융모막암종 (choriocarcinoma), 정상피종 (seminoma), 배아 암종 (embryonal carcinoma), 윌름 종양 (Wilms' tumor), 고환 종양 (testicular tumor), 소세포, 비소 및 거대 세포 폐 암종을 포함하는 폐 암종 (lung carcinoma), 방광 암종 (bladder carcinoma), 신경교종 (glioma), 성상세포종 (astrocytoma), 수모세포종 (medulloblastoma), 두개인두종 (craniopharyngioma), 뇌실막세포종 (ependymoma), 송과체종 (pinealoma), 망막아세포종 (retinoblastoma), 신경아세포종 (neuroblastoma), 결장 암종 (colon carcinoma), 직장 암종 (rectal carcinoma), 하기를 포함하는 백혈병 및 림프종의 모든 유형을 포함하는 조혈 악성종양 (hematopoietic malignancy): 급성 골수성 백혈병 (acute myelogenous leukemia), 급성 골수성 백혈병 (acute myelocytic leukemia), 급성 림프구성 백혈병 (acute lymphocytic leukemia), 만성 골수성 백혈병 (chronic myelogenous leukemia), 만성 림프구성 백혈병 (chronic lymphocytic leukemia), 비만 세포 백혈병 (mast cell leukemia), 다발성 골수종 (multiple myeloma), 골수성 림프종 (myeloid lymphoma), 호지킨 림프종 (Hodgkin' s lymphoma), 비-호지킨 림프종 (non-Hodgkin' s lymphoma).

[0116] 특정 구현예에서 예방되고/되거나 치료되는 암은 또한 전암성 병변 (precancerous lesion), 예컨대 광선각화증 (actinic keratosis, solar keratosis), 기태 (moles, dysplastic nevi), 화학선 구각염 (acitinic chelitis, farmer's lip), 피각 (cutaneous horns), 바렛 식도 (Barrett's esophagus), 위축성 위염 (atrophic gastritis), 선천성 이상각화증 (dyskeratosis congenital), 철결핍성 연하곤란 (sideropenic dysphagia), 편평태선(lichen planus), 구강 점막하 섬유증 (oral submucous fibrosis), 광선 (일광) 탄력 섬유증 (actinic (solar) elastosis) 및 자궁경부 이형성증 (cervical dysplasia)을 포함한다.

[0117] 일부 구현예에서 예방되고/되거나 치료되는 암은, 예컨대 내배엽 (endodermal), 외배엽 (ectodermal) 또는 간엽 (mesenchymal) 기원의 비암성 또는 양성 종양, 예컨대, 비제한적으로 담관종 (cholangioma), 결장 폴립 (colonic polyp), 선종 (adenoma), 유두종 (papilloma), 낭선종 (cystadenoma), 간 세포 선종 (liver cell adenoma), 포상기태 (hydatidiform mole), 신세뇨관 선종 (renal tubular adenoma), 편평 세포 유두종 (squamous cell papilloma), 위 폴립 (gastric polyp), 혈관종 (hemangioma), 골종 (osteoma), 연골종 (chondroma), 지방종 (lipoma), 섬유종 (fibroma), 림프관종 (lymphangioma), 평활근종 (leiomyoma), 횡문근종 (rhabdomyoma), 성상세포종 (astrocytoma), 모반 (nevus), 수막종 (meningioma), 및 신경절신경종 (ganglioneuroma)을 포함한다.

[0118] 본원에 기재된 일부 구현예는 면역치료 접근법에 반응하지 않는 종양의 치료에 특히 유용하다. 일부 구현예에서, 이러한 종양은 T 세포에 대해 비반응성이다 (또는 감소된 반응을 갖는다) (예컨대, 하기의 침투를 막기 위해: 하나 이상의 T 세포 유형 (예컨대, $CD8^+$ T 세포) 또는 항원 제시 세포 (예컨대, 수지상 세포 (예컨대, $CD103^+$DC 등) 등). 일부 구현예에서, 본원에 기재된 조성물 및 방법은 T 세포가 종양-관련 항원에 대해 적절하게 프라이밍되지 않은 암의 치료에 사용된다.

[0119] 일부 구현예에서, 대상으로부터의 샘플 (예컨대, 세포, 조직, 세포의 집단, 종양, 혈액, 소변, 타액 등)을 암, 면역 회피, 암-촉진 미세환경, 악성종양-촉진 미세환경 등의 하나 이상의 바이오마커에 대해 시험하기 위한 방법이 제공된다. 이러한 바이오마커는 핵산, 소분자, 단백질, 펩타이드 등을 포함할 수 있고, 임의의 적합한 분석 기술을 사용하여 검출될 수 있다. 일부 구현예에서, 암 세포 또는 종양에 의한 면역 반응 또는 면역요법의 회피를 직접 또는 간접적으로 검출하는 DNA-, RNA-, 소분자, 및/또는 단백질 기반 진단 방법이 본원에 제공된다. 본 발명은 또한 이러한 진단 목적을 위한 조성물, 시약, 및 키트를 제공한다.

[0120] 일부 구현예에서, 바이오마커는 하기에서 검출된다: 핵산 (예컨대, RNA) 수준.예를 들어, 샘플에서의 바이오마커 핵산 (예컨대, mRNA)의 존재 또는 양이 결정된다 (예컨대, 바이오마커 발현의 존재 또는 수준을 결정하기 위해). 바이오마커 핵산 (예컨대, RNA, 증폭된 cDNA 등)은 비제한적으로 핵산 시퀀싱, 핵산 혼성화, 핵산 증폭 (예컨대, by PCR, RT-PCR, qPCR 등), 마이크로어레이, 서던 및 노던 블롯팅, 시퀀싱 등을 포함하는, 본 기술분야의 통상의 기술을 가진 자에게 알려진 다양한 핵산 기술을 사용하여 검출/정량될 수 있다. 비증폭된 또는 증폭된 핵산은 임의의 편리한 방식에 의해 검출될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 핵산은 검출가능하게 표지된 프로브를 이용한 혼성화 및 생성된 혼성화물의 측정에 의해 검출된다. 핵산 검출 시약은 표지되거나 (예컨대, 형광으로) 또는 표지되지 않을 수 있고, 용액 중에서 자유롭거나 고정화될 수 있다 (예컨대, 비드, 웰, 표면, 칩 등의 상에).

[0121] 일부 구현예에서, 바이오마커는 단백질 수준에서 검출된다. 예를 들어, 샘플에서의 바이오마커 단백질의 존재

또는 양이 결정된다 (예컨대, 바이오마커 발현 또는 국소화의 존재 또는 수준을 결정하기 위해). 일부 구현예에서 바이오마커 단백질의 검출 및/또는 정량을 위한 시약이 제공된다. 적합한 시약은 일차 항체 (예컨대, 바이오마커에 결합하는), 이차 항체 (예컨대, 일차 항체에 결합하는), 항체 단편, 압타머 등을 포함한다. 단백질 검출 시약은 표지되거나 (예컨대, 형광으로) 또는 표지되지 않을 수 있고, 액상에서 자유롭거나 고정화될 수 있다 (예컨대, 비드, 웰, 표면, 칩 등의 상에).

[0122] 일부 구현예에서, 예를 들어, 본원에 기재된 프로바이오틱 또는 미생물총 이식 조성물을 포함하는 키트가 제공된다. 키트는 지시, 암 치료제, 다른 프로바이오틱스, 대상의 미생물총 내로의 미생물의 통합을 향상시키는 제제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0123] 실험

[0124] 실시예 1

[0125] 물질 및 방법:

[0126] 동물 및 종양 모델: C57BL/6 마우스를 잭슨 실험실 또는 타코닉 (Taconic) 농장으로부터 수득하였다. 6-8주령 암컷 마우스를 사용하였다. C57BL/6-유래 흑색종 세포주 B16.F10.SIY (본원에서 B16.SIY로 지칭됨)를 생성하였다 (Blank 등 Cancer research 64, 1140-1145 (2004); 그 전체가 참고로 본원에 포함됨). 종양 성장 실험을 위해, 마우스에게 1×10^6 B16.SIY 종양 세포를 피하 주사하였다. 종양 크기를 종료점까지 매주 2회 측정하고, 종양 부피를 길이 × 폭^2 × 0.5로서 결정하였다. B16 모 종양 모델 실험을 위해, 마우스에게 1×10^6 B16.F10 종양 세포를 피하 주사하였다. 방광암 모델 실험을 위해, 마우스에게 $2x10^6$ MB49 세포를 피하 주사하였다. 모든 실험 동물 절차는 시카고 대학 동물 관리 및 사용 위원회 (IACUC)의 승인을 받았다.

[0127] IFN-γ ELISPOT 및 SIY 오량체 분석: ELISPOT 플레이트 (Millipore, MAIP S4510)를 정제된 αIFN-γ (BD)로 4℃에서 밤새 코팅하였다. 플레이트를 실온에서 2시간 동안 DMEM 중의 10%FBS로 차단시켰다. 전체 비장세포를 웰당 10^6 세포로 도말하고 SIY 펩타이드로 37 ℃에서 밤새 자극시켰다. 스팟을 BD 마우스 IFN-γ 키트를 사용하여 현상시키고 (Cat.No.552569), 스팟의 수를 면역스팟 시리즈 3 분석기 (Immunospot Series 3 Analyzer)를 사용하여 측정하고 면역스팟 (ImmunoSpot) 소프트웨어 (Cellular Technology)를 사용하여 분석하였다. 오량체 염색을 위해, 세포를 SIYRYYGL (SIY) 펩타이드와 복합체화되거나 대조군 SIINFEKL 펩타이드와 복합체화된 쥣과 H-2K^{b}로 구성된 PE-MHC 클래스 I 오량체 (Proimmune)로 표지하고, CD3-AX700 (Ebioscience, 17A2), CD8-PacBlue (Biolegend, 53-6.7), CD4-APC (Pharmingen, RM4-5), CD62L-PECy7 (Ebioscience, MEL-14), CD44-FITC (BD, IM7) 및 Fixable Viability-ef780 (Ebioscience)로 염색하였다. 염색된 세포를 FACSDiva 소프트웨어 (BD)를 갖는 LSR II 세포측정기를 사용하여 분석하였다. 데이터 분석을 FlowJo 소프트웨어 (Tree Star)를 사용하여 수행하였다.

[0128] 배설물 전달 및 αPD-L1 mAb 면역요법: JAX 및 TAC-유래 마우스로부터의 배설물 펠렛을 시설에 도착하자마자 수집하고, 각 펠렛을 1 ml의 인산염 완충 식염수 (PBS)에 재현탁시켰다. 각 배설물 펠렛으로부터의 상층액 (위관영양법당 100μl)을 2마리의 수령 마우스의 경구 위관영양법에 사용하였다. 예방적 배설물 전달 실험을 위해, 마우스에게 종양 접종 전 2주 동안 매주 1회 JAX 또는 TAC 배설물 현탁액을 위관 투여하였다. 치료적 배설물 전달 실험을 위해, 마우스에게 종양 이식 7일 및 14일 후 위관투여하였다. 조합 요법 실험을 위해, 마우스에게 종양 이식 7, 10, 13 및 16일 후 100μl PBS 중의 100μg αPD-L1 mAb (BioXCell)를 추가적으로 복강내 주사하였다.

[0129] 미생물 DNA 분석: 박테리아 DNA를 PowerSoil®-htp 96 웰 토양 DNA 단리 키트를 사용하여 쥣과 배설물 펠렛으로부터 추출하였다 (MoBio cat.#12955-4). 16S rRNA 코딩 유전자의 V4-V5 영역을 증폭하고 (earthmicrobiome.org/emp-standard-protocols/; Earth Microbiome Project, 2011), 아르곤 국립 연구소에서 고처리 게놈 분석 코어에서 시퀀싱하였다. 미생물 생태학에 대한 정량적 통찰 (QIIME)을 사용하여 서열을 정리하고 분류하였고 (Caporaso 등 Bioinformatics 26, 266-267 (2010); 그 전체가 참고로 본원에 포함됨); 구체적으로, 오픈 참조 OTU 피킹 프로토콜을 Greengenes 데이터베이스 (05/13 배포)에 대해 97% 서열 동일성으로 사용하였다(McDonald 등 The ISME journal 6, 610-618 (2012); 그 전체가 참고로 본원에 포함됨). PYNAST를 서열을 정렬하는데 사용하였고 (Caporaso 등 Nat Meth 7, 335-336 (2010); 그 전체가 참고로 본원에 포함됨), RDP 분류기를 분류 할당에 사용하였다 (Wang 등 Appl Environ Microbiol 73, 5261-5267 (2007); 그 전체가 참고로 본원에 포함됨). 군집 구조를 가중치가 부여된 UniFrac 거리 및 가중치가 부여되지 않은 UniFrac 거리를 사용하

여 비교하였다 (Lozupone 등 Appl Environ Microbiol 71, 8228-8235 (2005); 그 전체가 참고로 본원에 포함됨). 배설물 군집 간의 박테리아 분류군의 발생의 차이를 결정하기 위해 G-시험을 수행하였다. 베타 다양성을 시각적으로 비교하기 위해 주요 좌표 분석 (PCoA) 배열을 생성하였고, QIIME에서 그룹내 유사성을 그룹간 유사성과 통계학적으로 비교하기 위해 유사성의 분석 (ANOSIM) 시험 통계를 수행하였다.

[0130] 박테리아 투여 및 열 불활성화: 동결건조된 비피도박테리움 종의 칵테일 (B. 비피둠, B. 롱검, B. 락티스 및 B. 브레베, Seeking Health)을 $5x10^9$ CFU/ml로 PBS에 재현탁시켰다. 각 마우스에게 종양 접종 7 및 14일 후 경구 위관영양법에 의해 200μl의 비피도박테리움 ($1x10^9$ CFU/마우스)을 투여하였다. 재수화된 비피도박테리아를 100°C에서 2시간 동안 끓임으로써 열 불활성화를 수행하였다. 열처리된 비피도박테리아 및 살아있는 비피도박테리아를 환원된 PBS에서 연속 희석하고, 혐기성 조건에서 환원된 클로스트리듐 배지 (RCM) 한천에 도말하였다. 이후, 플레이트를 3일 동안 혐기성 챔버에서 인큐베이션하여 사멸 효능을 시험하였다. 락토바실러스 무리누스를 MRS 배지에서 밤새 배양한 다음, 세척하고 PBS에 $5x10^{10}$ CFU/ml로 재현탁시켰다. 각 마우스에게 종양 접종 7일 및 14일 후 100μl의 박테리아 현탁액 ($5x10^9$ CFU/마우스)을 경구로 위관투여하였다.

[0131] CFSE-표지된 2C $CD8^+$ T 세포 입양 전달 (adoptive transfer): $CD8^+$ T 세포를 MACS CD8 T 세포 단리 키트를 사용하여 순수한 CD45.1/.2^+ 2C TCR Tg 마우스의 비장 및 림프절로부터 단리시키고 (Miltenyi, Cat No.130-095-236), 2.5 mM CFSE로 표지하고, JAX 또는 TAC로부터 유래된 CD45.2^+ C57BL/6 마우스 내로 주사하였다. 24시간 후, 마우스에게 $1x10^6$ B16.SIY 흑색종 세포를 피하로 접종하였다. 입양 T 세포 전달 7일 후, 비장 및 종양-배출 림프절을 수확하고, 브레펠딘 A (brefeldin A)의 존재하에 SIY 펩타이드로 생체외에서 재자극시켰다. 샘플을 Fixable Viability-ef780 (Ebioscience), CD45.1-PerCPCy5.5 (Ebioscience, E20), CD45.2-APC (Ebioscience, 104), CD3-AX700 (Ebioscience, 17A2), CD8-BV711 (Biolegend, 53-6.7), CD4-BV605 (Biolegend, RM4-5) 및 IFN-γ-PE (BD, XMG1.2)로 염색하였다. 세포내 IFN-γ 생산 및 CFSE 희석을 유세포분석법에 의해 게이트된 (gated) CD45.1/.2^+ 2C CD8+ T 세포에서 평가하였다.

[0132] 수지상 세포 분류 및 유전자 발현 프로파일링: TAC 마우스에게 2주 동안 매주 1회 비피도박테리움을 위관투여하였다. 비피도박테리움이 공급된 마우스, 새로 도착한 JAX 마우스, 및 새로 도착한 TAC 마우스에게 $5x10^6$ DRAQ5-표지된 B16.SIY 종양 세포를 양쪽 옆구리에 피하로 접종하였다. 종양 이식 40시간 후, 침윤성 면역 세포를 포함한 전체 종양을 콜라게나제 (Worthington)에서 소화시키고, 단일 세포 현탁액으로 여과시켰다. 각 그룹에서 5마리의 마우스로부터의 샘플을 모은 다음, Fixable Viability-ef506 (Ebioscience), CD45-AF488 (Bioloegend, 30-F11), CD3-ef450 (Ebioscience, 145-2C11), CD19-PB (Ebioscience, 1D3), I-A/I-E-PECy7 (Biolegend, M5/114.15.2), CD11c-PE (Ebioscience, N418) 및 CD11b-PerCpCy5.5 (BD, M1/70)로 염색하였다. 살아있는 $CD45^+CD3^-CD19^-MHCII^{hi}CD11c^+$ 수지상 세포를 FACSAriaIII (BD)을 사용하여 RLT 완충제 (Qiagen) 내로 직접 분류하고, 즉시 드라이아이스에 보관하였다. 총 RNA를 RNeasy® Micro 키트 (Qiagen)를 사용하여 단리하였다. 유전자 발현 프로파일링을 RNA를 시카고 대학의 기능 유전체학 시설에 제출하였다. RNA 무결성 및 농도를 아질런트 생물분석기 2100 (Agilent Bioanalyzer 2100)을 사용하여 평가하였고, 마이크로어레이 분석에 사용된 모든 RNA 샘플은 RNA 무결성 수 > 9.0을 가지고 있었다. 총 RNA를 Epicentre TargetAmp™ 2-Round Biotin-aRNA 증폭 키트 3.0 (TAB2R71024)을 사용하여 바이오티닐화된 cRNA로 가공하였다. cRNA를 Illumina 제공 프로토콜을 사용하여 Illumina MouseRef8v2 어레이에 혼성화시키고, Illumina HiScandmf 사용하여 스캔하였다. 이후, 변위치 (Quantile) 정규화되고 배경 차감된 값을 R을 사용하여 분석하였다. 발현 수치가 10 미만인 유전자는 분석에서 제거하였다. TAC 대비 JAX 샘플, 및 TAC 대비 BIF 샘플 간의 유전자 전사체 수준의 평균 배수 변화를 계산하고 두 비교에서 배수 변화가 1.5 초과인 유전자 (761개 유전자 전사체)를 경로 분석을 위해 Database for A, Visualization 및 Integrated Discovery (DAVID) v6.7 내로 입력하였다. 이후, 면역 기능이 유의하게 강화된 ($p<0.05$) 것으로 확인된 유전자를 R 소프트웨어를 사용하여 열지도에 플롯팅하였다.

[0133] 통계학적 분석: 종양 성장 곡선을 두 그룹의 비교를 위한 시닥 (Sidak)의 다중 비교 사후 검정, 또는 둘을 초과하는 그룹의 비교를 위한 터키 (Tukey)의 다중 비교 사후 검정을 갖는, 2원 ANOVA를 사용하여 분석하였다. 종양 성장 이외의 비교를 위해, 두 그룹을 비교할 때 만 휘트니 (Mann Whitney)의 비모수적 T-검정을 사용하였고, 둘을 초과하는 그룹을 비교할 때 터키의 다중 비교 사후검정을 갖는 1원 ANOVA를 사용하였다. $P<0.05$는 통계학적으로 유의한 것으로 간주하였고, 하기와 같이 표시되었다: *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001, ****p <

0.0001. 통계학적 분석은 GraphPad PRISM을 사용하여 수행하였다.

[0134] **실시예 2**

[0135] **결과**

[0136] 정상 미생물총의 특정 조성의 차이가 생체내에서 성장하는 종양에 대한 면역 반응에 영향을 미치는지 시험하기 위해 본 발명의 구현예의 개발 동안 실험을 수행하였다. 공생 미생물이 상이한 것으로 나타난 2개의 상이한 마우스 시설인 잭슨 실험실 (JAX) 및 타코닉 농장 (TAC)으로부터 유래된 유전적으로 유사한 C57BL/6 마우스에서 피하 B16.SIY 흑색종 성장이 관찰되었다 (Ivanov 등 Cell 139, 485-498 (2009); 이것은 본 명세서에 그 전체가 참고로 포함되어 있음y). JAX 및 TAC 마우스는 B16.SIY 흑색종 성장률에서 유의한 차이를 나타내었고, 종양은 TAC 마우스에서 더 공격적으로 성장한 것으로 나타났다 (도 1A). 이 차이가 면역 매개성인지 평가하기 위해, 종양 미세환경에서 종양 항원-특이적 T 세포 반응, 뿐만 아니라 T 세포 축적을 평가하였다. 실제로, 종양-특이적 T 세포 반응은 JAX 마우스에서 유의하게 더 높았고 (도 1B 및 1C), 크게 증가된 수의 종양-침윤성 T 세포가 관찰되었다 (도 1D). 이 차이가 공생 미생물총에 의해 매개될 수 있는지 여부를 다루는 것을 시작하기 위해, JAX 및 TAC 마우스를 종양 이식 전에 3주 동안 공동 사육하였다. 공동 사육은 두 마우스 집단 사이의 종양 성장 (도 1E) 및 면역 반응 (도 1F-H)의 차이를 제거한 것으로 나타났고, 이는 환경적 영향을 주장한다. 주목할만하게도, TAC 마우스는 공동사육시 JAX 표현형을 획득하는 것으로 보였는데, 이는 JAX 마우스가 개선된 항-종양 면역을 우세하게 촉진하는 공생 미생물에 의해 식민지화될 수 있음을 나타낸다.

[0137] 항-종양 면역을 조절하는데 있어서 공생 박테리아의 역할을 직접 시험하기 위해, JAX 배설물 현탁액 또는 대조군 TAC 배설물 현탁액을 종양 이식 전에 경구 위관영양법에 의해 TAC 수령체에게 전달하였다 (도 5A). 두드러지게도, TAC 수령자 내로의 JAX 배설물의 예방적 전달은 종양 성장을 지연시키고 (도 2A), 종양-특이적 $CD8^+$ T 세포의 유도 및 침윤을 향상시키는데 충분한 것으로 나타났으며 (도 2B-C 및 5B), 이는 미생물- 또는 미생물 제품 유래의 효과를 뒷받침한다. TAC 배설물의 JAX 수령자 내로의 상호 전달은 단지 최소한의 종양 성장률의 증가를 야기하였고, 항-종양 T 세포 반응을 유의하게 변경하지 않았다 (도 2A-C 및 도 5B).

[0138] 미생물 군집의 조작이 요법으로서 효과적일 수 있는지 여부를 시험하기 위해, 확립된 종양을 갖는 TAC 마우스에 JAX 배설물 단독 또는 PD-L1 (αPD-L1)을 표적화하는 항체와 조합된 JAX 배설물을 투여하였다. JAX 배설물 단독의 전달은 전신 αPD-L1 mAb 처리와 동일한 정도로, 증가된 종양-특이적 T 세포 반응 (도 2E) 및 항원-특이적 T 세포의 종양 내로의 침윤 (도 2F)을 수반한 유의하게 더 느린 종양 성장 (도 2D)을 야기하였다. JAX 배설물 전달 및 αPDL1 mAb 모두의 조합 치료는 종양 제어 (도 2D) 및 순환 종양 항원-특이적 T 세포 반응 (도 2E)을 개선한 반면, 종양 미세환경 내의 활성화된 T 세포의 축적에 대해서는 부가적인 효과가 거의 없었다 (도 2F). 이러한 결과와 일치하게도, αPD-L1 요법 단독은 TAC 마우스와 비교하여 JAX 마우스 마우스에서 유의하게 더 효과적이었고 (도 2G), 이는 개선된 항-종양 T 세포 반응과 유사하였다 (도 5C). 이러한 데이터는 공생 미생물 조성이 자발적인 항-종양 면역뿐만 아니라 αPD-L1 mAb를 이용한 면역요법에 대한 반응에 영향을 미칠 수 있다는 것을 나타낸다.

[0139] 예방적 항-종양 면역 반응과 관련된 특정 박테리아를 확인하기 위해, TAC 마우스, JAX 마우스, 및 JAX-공급 및 TAC-공급 TAC 마우스로부터 수득된 마우스 내의 배설물 박테리아 함량을 16S 리보좀 RNA (rRNA) miSeq Illumina 플랫폼을 사용하여 비교하였다. 전체적으로, TAC 마우스에서 933.9 ± 55.2 분류군이 확인되었고, JAX 마우스에서 653.4 ± 60 분류군이 확인되었는데, 이는 JAX로부터 수득된 마우스에서의 감소된 종 다양성을 입증한다. JAX 배설물을 경구 투여한 TAC 마우스는 JAX 마우스와 유사한 감소된 분류군 다양성 (706.6 ± 117.9, p=0.006)을 나타낸 반면, TAC 배설물이 투여된 TAC 마우스는 변경된 다양성을 나타내지 않았다 (895.7 ± 118, p=1, 도 3A). 주요 좌표 분석은 JAX 배설물을 받은 TAC 마우스로부터 분석된 배설물 샘플이 대조군 TAC 마우스로부터의 샘플과 별도로 공동 클러스터링되었고 JAX 마우스로부터 수득된 샘플과 더 유사하였고 (도 3B) 가짜 (sham) 및 JAX 배설물-접종된 JAX 마우스로부터 수득된 샘플과 유사해졌음을 밝혀내었다 (도 8A). 대조적으로, TAC 접종된 TAC 마우스는 가짜가 접종된 TAC 마우스에 비해 군집 다양성이 변하지 않았다 (p=0.4, ANOSIM). 유사성 분석은 JAX 배설물이 공급된 TAC 마우스가 TAC 배설물이 공급된 TAC 마우스 (p=0.008) 또는 TAC로부터 수득된 마우스 (p=0.002)보다 서로 더 유사하였음을 확인시켜 주었다. JAX 숙주 내로의 TAC 배설물의 상호 전달은 군집 다양성의 통계학적으로 유의한 변화를 야기하였으나 (p=0.003, ANOSIM), 미생물 이동 거리는 더 작았다 (도 8A).

[0140] 특정 박테리아 분류군의 비교 분석은 97개의 분류군이 TAC 마우스에 비해 JAX 마우스에서 유의하게 더 많았으며 (FDR<0.05) (도 8B), 51개의 분류군이 TAC-공급 TAC 마우스에 비해 JAX-공급 TAC 마우스에서 유의하게 증가하였

음을 보여주었다 ($p<0.05$). 이러한 두 비교 사이에 32개의 분류군만이 겹쳐서, 이들은 JAX 마우스 및 JAX-공급 TAC 마우스 모두에서 더 많았다. 유의한 연관성이 *비피도박테리움*에서 관찰되었는데, 이는 항-종양 T 세포 반응과의 양성 연관성을 나타내었고 JAX-공급 TAC 마우스에서 400배가 넘는 상대적 존재비를 증가시켰다 (도 8C). 이들 중 몇 가지 그룹에 속하는 구성원들은 가짜- 또는 TAC-접종된 TAC 마우스에 비해 JAX-공급된 TAC 마우스에서 유사하게 변화하였다 (도 8C). 이들은 *박테리오달레스 (Bacteroidales)* 목 (order)의 패밀리 S24-7로부터의 몇 가지 확인되지 않은 분류군, 하나의 할당되지 않은 분류군, 및 속-수준 확인을 갖는 4개의 분류군을 포함하였고, 이들 모두는 혐기성 그람 양성 박테리아이다. 이 중에서, 2개의 가장 유의하게 풍부한 분류군은 *비피도박테리움* 속에 속하며, 상위 *비피도박테리움* 분류군은 TAC 대비 JAX에서 200배 넘게 더 풍부하였고 ($p=0.001$), JAX-공급 마우스에서 유사하게 풍부하였지만 TAC-공급 TAC 마우스에서는 전혀 검출되지 않았다 ($p=0.01$) (도 3C). 비*피도박테리움* 속에 속하는 모든 조합된 분류군의 상대적 존재비의 비교는 유사한 결과를 생성하였다 (도 6A). 비피도박테리아 및 숙주 면역계 사이에 상호작용이 이전에 기재되었다는 것을 고려하면 (Lopez 등 International journal of food microbiology 138, 157-165 (2010); Ménard 등 Applied and Environmental Microbiology 74, 660-666 (2008); Dong 등 Early human development 86, 51-58 (2010); 그 전체가 참고로 본원에 포함됨), 이 속의 구성원이 JAX 마우스에서 관찰된 유익한 항-종양 면역 효과의 한 가지 근원을 나타내는 것으로 고려되었다.

[0141] 서열 수준에서, *비피도박테리움* 운영 분류 단위 OTU_681370은 JAX-공급 TAC 마우스에서 상대적 존재비의 가장 큰 증가 및 모든 순열에 대해 항-종양 T 세포 반응과의 가장 큰 연관성을 나타내었다 (도 8D). 이 박테리움은 *B. 브레베*, *B. 롱검* 및 *B. 아돌레센티스*와 가장 유사한 것으로 추가로 확인되었다 (99% 동일성). 비*피도박테리움* spp가 종양에 대한 예방적 면역을 증가시키는데 충분할 수 있는지 시험하기 위해, B. 브레베 및 B. 롱검을 포함한 비피도박테리움 종의 상업적으로 이용가능한 칵테일을 수득하였고, 이를 확립된 종양을 갖는 TAC 7 수령자에게 단독으로 또는 αPD-L1과 조합하여 경구 위관영양법에 의해 투여하였다. 배설물 박테리아 함량 분석은 비피도박테리움 접종에 대한 반응의 가장 유의한 변화가 OTU_681370에서 120배 증가와 함께 비피도박테리움 속 ($p=0.0009$, FDR=0.015, 비-모수적 t-검정)에서 일어났음을 밝혀내었는데 (도 9A), 이는 상업적인 접종원이 JAX 및 JAX-공급 TAC 마우스에서 확인된 분류군과 적어도 97% 동일한 박테리아를 함유하였음을 보여준다. *비피도박테리움*의 증가는 또한 정량적 PCR에 의해 검출될 수 있다 (도 9B).

[0142] *비피도박테리움*-처리된 마우스는 비-*비피도박테리움* 처리된 대응물과 비교하여 유의하게 개선된 종양 제어를 나타내었고 (도 8E), 이는 주변에서 종양-특이적 T 세포의 강력한 유도 (도 8F) 및 종양 내에서 항원-특이적 CD8+ T 세포의 증가된 축적 (도 8G 및 도 9C)을 수반하였다. 이러한 효과는 몇 주간 지속되었다 (도 9D-E).

[0143] *비피도박테리움* 공급의 치료적 효과는 CD8-고갈된 마우스에서 폐지되었는데 (도 10A), 이는 상기 기전이 직접적인 것이 아니라 오히려 숙주 항-종양 T 세포 반응을 통한다는 것을 시사한다. 경구 투여 전에 박테리아의 열 불활성화는 또한 종양 성장에 대한 치료 효과를 폐지하였고 종양-특이적 T 세포 반응을 기준선까지 감소시켰는데 (도 10B-D), 이는 항-종양 효과가 살아있는 박테리아를 필요로 한다는 것을 시사한다. 대안적인 전략으로서, ATCC로부터 수득된 *B. 브레베* 및 *B. 롱검* 균주의 치료 효과를 시험하였고, 이는 또한 유의하게 개선된 종양 제어를 나타내었다 (도 11A). B16 모 종양 세포 또는 MB49 방광암 세포가 접종된 TAC 마우스에게 *비피도박테리움*을 투여하는 것은 지연된 종양 성장을 야기하였다 (각각 도 11, B 및 C). JAX-공급 마우스에서 지나치게 많은 분류군에 속하지 않는 TAC 마우스에 *락토바실러스 무리누스* 를 경구 투여하는 것은 종양 성장 (도 11D) 또는 종양-특이적 T 세포 반응 (도 11E)에 영향을 미치지 않았는데, 이는 항-종양 면역의 조절이 투여된 특정 박테리아에 좌우된다는 것을 시사한다. 종합적으로, 이들 데이터는 생체내에서 항-종양 면역의 양성 조절자로서 *비피도박테리움*을 가리킨다.

[0144] *비피도박테리움*의 접종시, *비피도박테리움* 과 병행하여 종의 작은 집합이 변경되었지만 (ANOSIM, $p=0.003$, 도 12A), 이들은 대체로 JAX-배설물 투여에서 관찰된 변화와 유사하지 않았다. 조절 T 세포 구획에 대한 억제 효과를 나타낼 수 있는, 비피도박테리움 접종시 클로스트리디알레스 (Clostridiales) 목 뿐만 아니라 부티레이트-생산 종의 구성원의 감소가 관찰되었지만 (~2-10배), JAX 및 TAC 마우스로부터 단리된 종양 내의 $CD4^+$ $Foxp3^+$ T 세포의 빈도에서는 차이가 관찰되지 않았다 (도 12B). 따라서, *비피도박테리움* 은 주로 다른 박테리아의 존재비의 조절을 통해 작용하는 것 같지는 않다.

[0145] 다음으로 *비피도박테리움의* 이동이 장간막 림프절, 비장 또는 종양으로 일어나고 있는지 평가하였으나, *비피도박테리움* 은 *비피도박테리움*-위관투여된 종양-보유 마우스로부터 단리된 기관에서는 검출되지 않았다 (도 12C). 따라서, 관찰된 전신 면역학적 효과는 박테리아 이동과 독립적으로 발생한다고 결론내렸다.

[0146] *비피도박테리움 종*이 종양에 대한 예방적 면역을 증가시키는데 충분할 수 있는지 여부를 시험하기 위해, 7일 확립된 종양을 갖는 TAC 수령자에게, 단독으로 또는 αPD-L1과 조합하여, 4개의 *비피도박테리움* 종의 조합을 경구 위관영양법에 의해 투여하였다. *비피도박테리움*-처리된 마우스는 비-*비피도박테리움* 처리된 대응물 (도 3D)과 비교하여 유의하게 개선된 종양 제어를 나타내었고, 이는 주변에서 종양-특이적 T 세포의 강력한 유도 (도 3E) 및 종양 내에서 항원-특이적 $CD8^+$ T 세포의 현저하게 증가된 축적 (도 3F)을 수반하였다. 이 치료 효과는 CD8-고갈된 마우스에서 완전히 폐지되었으며 (도 3G), 이는 상기 기전이 직접적인 것이 아니라 오히려 숙주 항-종양 T 세포 반응을 통한다는 것을 주장한다. 경구 투여 전 박테리아의 열 불활성화는 또한 종양 성장에 대한 치료 효과를 폐지하였고, 종양-특이적 T 세포 반응을 기저선까지 감소시켰는데 (도 6B-D), 이는 항-종양 효과가 살아있는 박테리아를 필요로 한다는 것을 나타낸다. B16 모 종양 세포 또는 MB49 방광암 세포가 접종된 TAC 마우스에 *비피도박테리움*을 투여하는 것은 또한 지연된 종양 성장을 야기하였다 (도 6E-F). JAX 또는 JAX-공급 마우스에서 지나치게 많은 분류군에 속하지 않는 TAC 마우스에게 락토바실러스 무리누스를 경구 투여하는 것은 종양 성장 (도 6G) 또는 종양-특이적 T 세포 반응 (도 6H)에 효과가 없었는데, 이는 새로운 박테리아의 도입을 통한 공생 박테리아 군집의 조절 자체가 종양에 대한 면역을 유도하는 것이 아니라, 오히려 면역이 투여된 특정 박테리아에 좌우된다는 것을 나타낸다. 종합적으로, 데이터는 생체내에서 항-종양 면역의 양성 조절자로서 *비피도박테리움*을 확인한다.

[0147] JAX 및 TAC 마우스 사이의 T 세포 반응의 관찰된 차이의 근간이 되는 기전을 조사하기 위해, CFSE-표지된 SIY-특이적 2C TCR Tg T 세포를 종양-보유 마우스 내로 전달하고 그들의 증식 및 생체외에서 IFN-γ 생산의 획득을 시험하였다 (도 7A). JAX 마우스에서 종양에 노출된 $CD8^+$ SIY-특이적 2C TCR Tg T 세포는 TAC 마우스에서의 이들의 대응물과 비교하여 종양-배출 림프절에서 유사한 확장을 나타내었다 (도 7B). 그러나, 이들은 JAX 종양-보유 마우스의 종양 배출 림프절 및 비장 모두에서 현저하게 더 많은 IFN-γ를 생산하였는데 (도 4A 및 4B), 이는 JAX 환경에서 T 세포의 상류의 신호가 T 세포 효과기 기능의 획득을 향상시켰다는 것을 시사한다. 이러한 데이터는 숙주 수지상 세포 (DC)의 수준에서 T 세포의 상류의 면역 반응의 개선을 나타내었다. JAX, TAC 및 *비피도박테리움*-처리된 TAC 마우스로부터 단리된 초기 종양 침윤성 DC의 게놈 전반의 전사 프로파일링을 사용하였다 (도 13A). 전체적으로, 처리되지 않은 TAC 마우스로부터의 DC에 비해 JAX 및 비피도박테리움-처리된 TAC-유래의 DC 모두에서 ≥1.5배 상향조절된 761개의 유전자 전사체가 존재하였다 (도 4C). 경로 분석은 사이토카인-사이토카인 수용체 상호작용, T 세포 활성화, 및 상향조절된 유전자 중에서 유의하게 강화된 경로로서 단핵구 세포 증식의 양성 조절을 확인하였다 (도 4C 및 도 13B). 이들 많은 유전자는 하기와 관련된 것을 포함하는 항-종양 반응에 중요한 것으로 나타났다: $CD8^+$ T 세포 활성화 및 보조자극 (*H2-m2*(MHC-I), *Cd40*, *Cd70*, *Icam1*)) (Mackey 등 Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950) 161, 2094-2098 (1998); Scholer 등 Immunity 28, 258-270 (2008); Bak 등 Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950) 189, 1708-1716 (2012); 그 전체가 참고로 본원에 포함됨), DC 성숙 (*Relb, Ifngr2*) (Pan 등 Immunology letters 94, 141-151 (2004); Pettit 등 Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950) 159, 3681-3691 (1997); 그 전체가 참고로 본원에 포함됨), 항원 가공 및 교차 제시 (*Tapbp*, *Rab27a*, *Slc11a1*) (Compeer 등 Frontiers in Immunology 3, (2012); Jancic 등 Nature cell biology 9, 367-378 (2007); Stober 등 Infection and Immunity 75, 5059-5067 (2007); 그 전체가 참고로 본원에 포함됨), 종양 미세환경으로의 면역 세포의 케모카인-매개 동원 (*Cxcl9*, *Cx3cl1*, *Cxcr4*) (Kabashima 등 The American Journal of Pathology 171, 1249-1257 (2007); Nukiwa 등 European journal of immunology 36, 1019-1027 (2006); Zhang 등 New England Journal of Medicine 348, 203-213 (2003); 그 전체가 참고로 본원에 포함됨) 및 유형 I 인터페론 신호전달 (*Irf1*, *Ifnar2*, *Oas2*, *Ifi35*, *Ifitm1*) (Fuertes 등 The Journal of experimental medicine 208, 2005-2016 (2011); Woo 등 Immunity 41, 830-842 10.; 그 전체가 참고로 본원에 포함됨) (도 4D). 이러한 유전자의 발현은 또한 *시험관내 비피도박테리움*으로 자극된 쥣과 골수 유래의 DC에서 강하게 유도되었다. 종합할 때, 이러한 데이터는 공생 박테리아-유래 (예컨대, *비피도박테리움*-유래) 신호가 선천적 항원-제시 세포의 활성화를 조절하고, 이는 다시 종양 항원-특이적 $CD8^+$ T 세포의 개선된 활성화를 지지한다는 것을 나타낸다.

[0148] TAC, JAX 및 *비피도박테리움*-처리된 TAC 마우스로부터 단리된 DC의 기능적 차이가 생체내에서 관찰된 T 세포 프라이밍의 차이를 설명하는데 충분한지 여부를 시험하기 위해, 순수한 TAC, JAX, 및 *비피도박테리움*-처리된 TAC 마우스의 림프성 조직으로부터 DC를 정제하고, CFSE-표지된 $CD8^+$ SIY^-특이적 2C TCR Tg T 세포 증식 및 *시험관내에서* IFN-γ 생산의 획득을 유도하는 이들의 능력을 시험하였다. JAX 및 *비피도박테리움*-처리된 TAC 마우스로부터 정제된 DC는 순수한 TAC 마우스로부터 정제된 DC와 비교하여 더 낮은 항원 농도에서 2C T 세포 증식을 유

도하였다 (도 14, A 및 B). 또한, 모든 항원 농도에서, JAX-유래 DC는 증가된 수준의 T 세포 IFN-γ 생산을 유도하였다 (도 4E 및 도 14A). DC 단리 전에 TAC 마우스에게 *비피도박테리움*을 경구 투여시에 유사한 효과가 관찰되었다 (도 4E 및 도 14A). 종합할 때, 이러한 데이터는 공생 *비피도박테리움*-유래 신호가 정상 상태에서 DC의 활성화를 조절하고, 이는 다시 종양-특이적 $CD8^+$ T 세포의 개선된 효과기 기능을 지지한다는 것을 나타낸다.

[0149] 본원의 구현예의 개발 동안 수행된 실험은 항-종양 면역을 향상시키는데 있어서 공생 미생물총(예컨대, *비피도박테리움*)의 예기치 못한 역할을 입증한다: 이러한 데이터는 자발적인 항-종양 면역 및 PD-1/PD-L1 축을 표적화하는 항체의 치료 효과와 관련하여 대상간 이질성의 한 가지 근원이 내장 미생물의 특정 조성일 수 있으며, 이는 치료적 이익을 위해 조절될 수 있다는 아이디어를 뒷받침한다.

[0150] **참고문헌**

[0151] **일**부가 상기에 인용된, 하기 참고문헌은 그 전체가 참고로 본원에 포함되어 있다.

1. Hodi et al. The New England journal of medicine 363, 711-723 (2010).
2. Hamid et al. The New England journal of medicine 369, 134-144 (2013).
3. Tumeh et al. Nature 515, 568-571 (2014).
4. Spranger et al. Science translational medicine 5, 200ra116 (2013).
5. Ji et al. Cancer immunology, immunotherapy : CII 61, 1019-1031 (2012).
6. Gajewski et al. Cancer journal 16, 399-403 (2010).
7. Mazmanian et al. Cell 122, 107-118 (2005).
8. Round et al. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 107, 12204-12209 (2010).
9. Ivanov et al. Cell 139, 485-498 (2009).
10. Wu et al. Immunity 32, 815-827 (2010).
11. Goto et al. Immunity 40, 594-607 (2014).
12. Ganal et al. Immunity 37, 171-186 (2012).
13. Abt et al. Immunity 37, 158-170 (2012).
14. Iida et al. Science (New York, N.Y.) 342, 967-970 (2013).

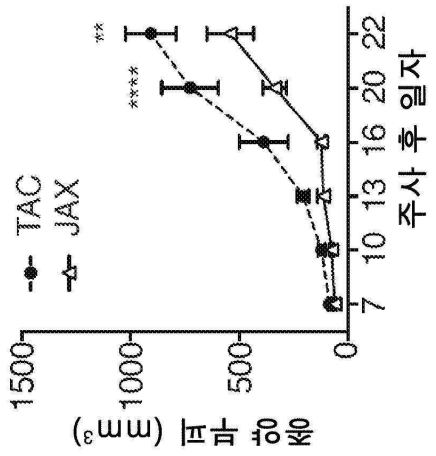
[0152]

15. Viaud et al. Science (New York, N.Y.) 342, 971-976 (2013).
16. Lopez et al. International journal of food microbiology 138, 157-165 (2010).
17. Ménard et al. Applied and Environmental Microbiology 74, 660-666 (2008).
18. Dong et al. Early human development 86, 51-58 (2010).
19. Mackey et al. Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950) 161, 2094-2098 (1998).
20. Scholer et al. Immunity 28, 258-270 (2008).
21. Bak et al. Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950) 189, 1708-1716 (2012).
22. Pan et al. Immunology letters 94, 141-151 (2004).
23. Pettit et al. Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950) 159, 3681-3691 (1997).
24. Compeer et al. Frontiers in Immunology 3, (2012).
25. Jancic et al. Nature cell biology 9, 367-378 (2007).
26. Stober et al. Infection and Immunity 75, 5059-5067 (2007).
27. Kabashima et al. The American Journal of Pathology 171, 1249-1257 (2007).
28. Nukiwa et al. European journal of immunology 36, 1019-1027 (2006).
29. Zhang et al. New England Journal of Medicine 348, 203-213 (2003).
30. Fuertes et al. The Journal of experimental medicine 208, 2005-2016 (2011).
31. Woo et al. Immunity 41, 830-842 10.
32. Blank et al. Cancer research 64, 1140-1145 (2004).
33. Caporaso et al. Bioinformatics 26, 266-267 (2010).
34. McDonald et al. The ISME journal 6, 610-618 (2012).
35. Caporaso et al. Nat Meth 7, 335-336 (2010).
36. Wang et al. Appl Environ Microbiol 73, 5261-5267 (2007).
37. Lozupone et al. Appl Environ Microbiol 71, 8228-8235 (2005).

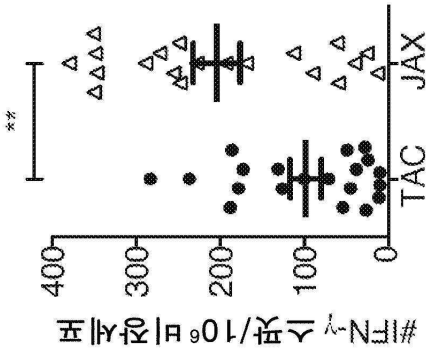
[0153]

도면

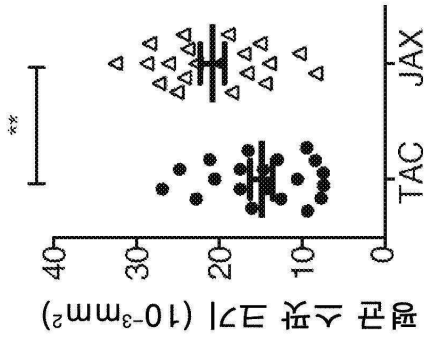
도면1a



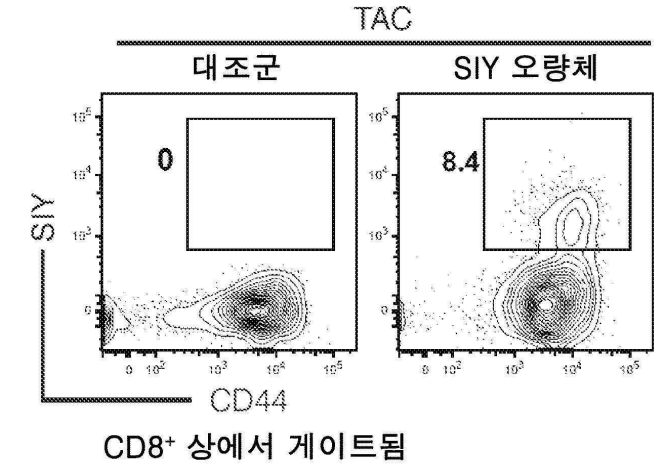
도면1b

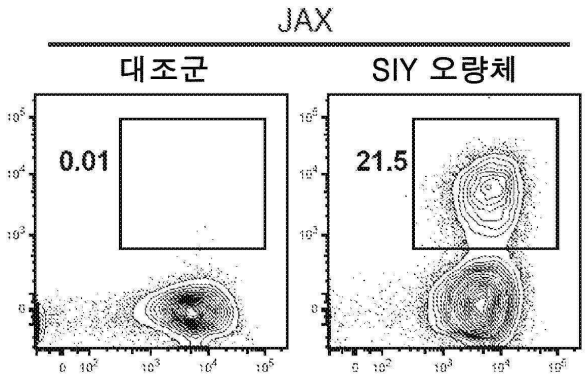

#IFN-γ 스팟/10⁶ 비장세포
400
300
200
100
0
TAC
JAX
**

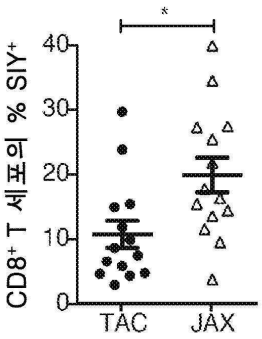
도면1c


평균 스팟 크기 (10⁻³mm²)
40
30
20
10
0
TAC
JAX
**

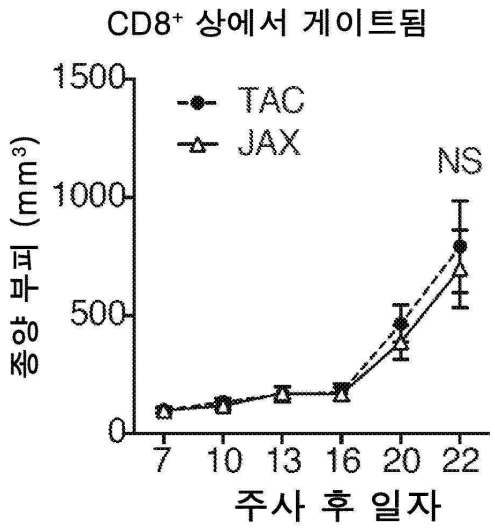
도면1d


TAC
대조군
SIY 오량체
0
8.4
SIY
CD44
CD8⁺ 상에서 게이트됨

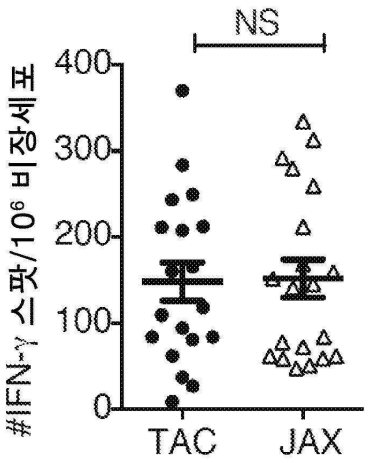

JAX
대조군
SIY 오량체
0.01
21.5


*
CD8⁺ T 세포의 % SIY⁺
40
30
20
10
0
TAC
JAX

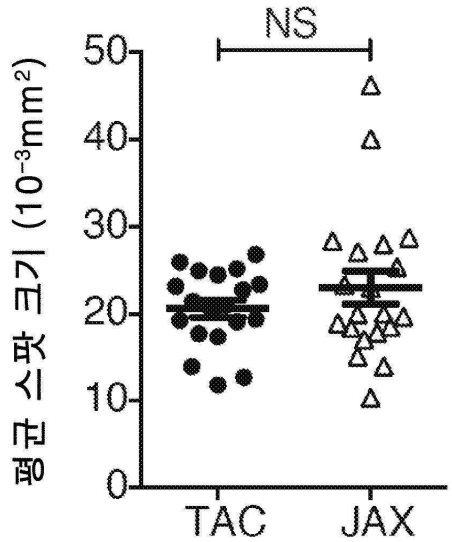
도면1e



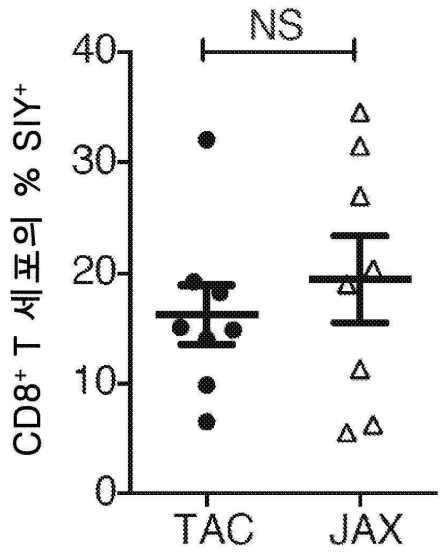
도면1f



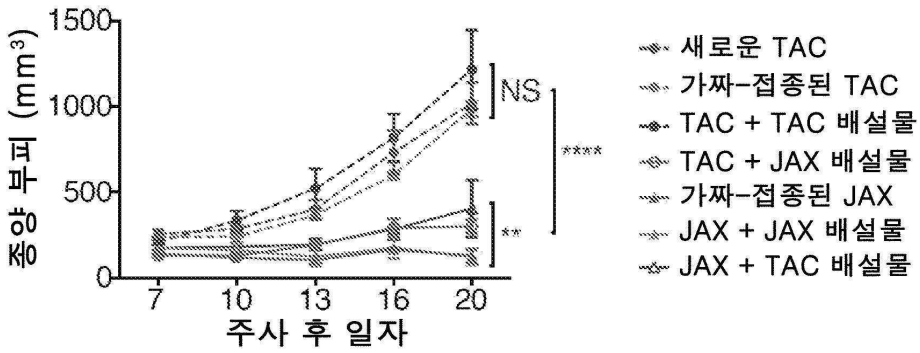
도면1g



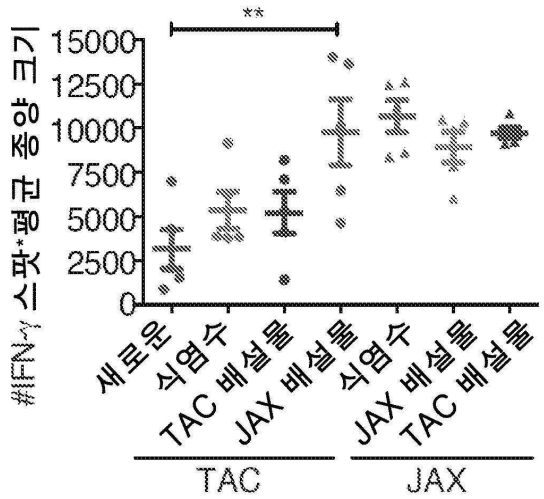
도면1h



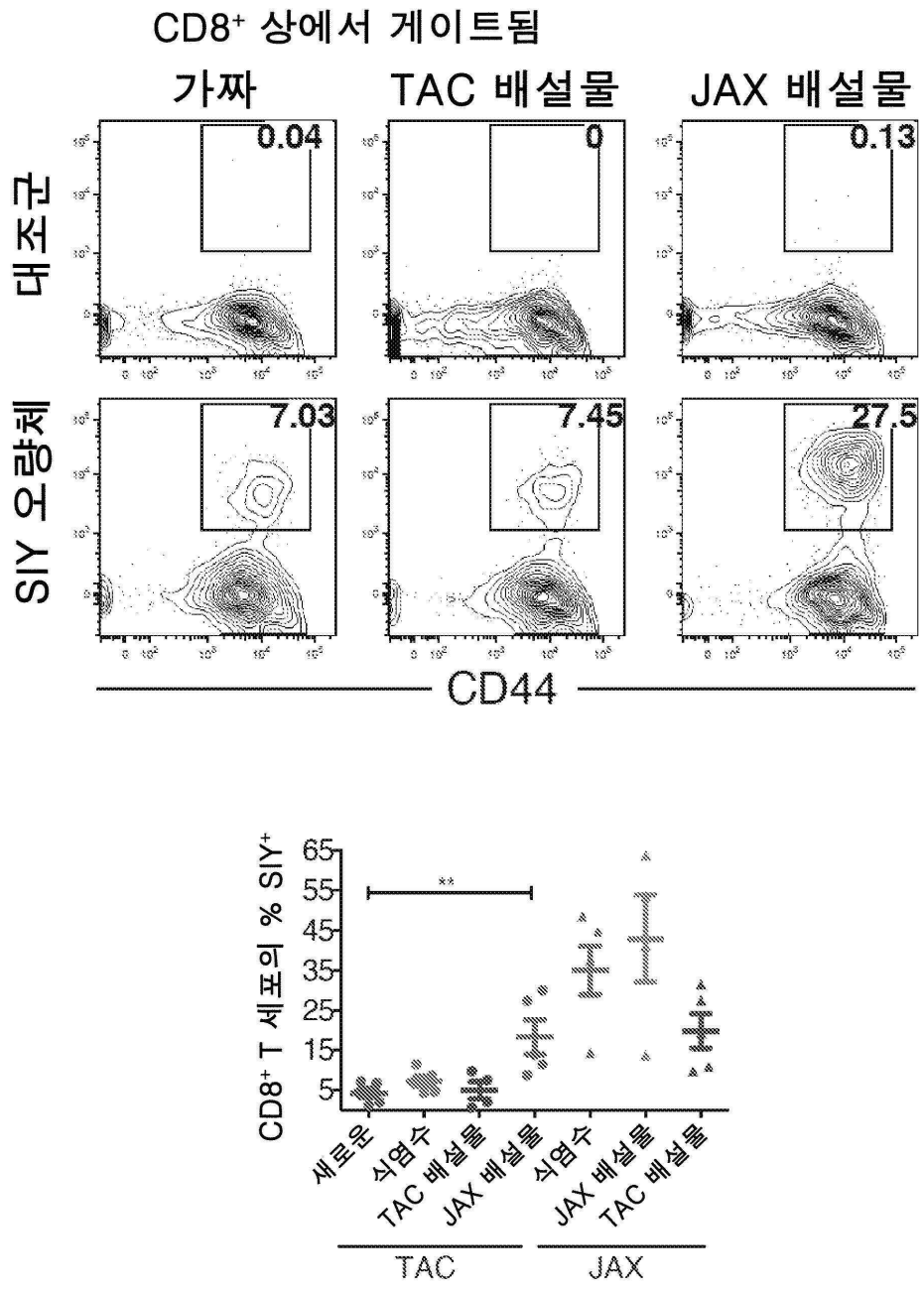
도면2a



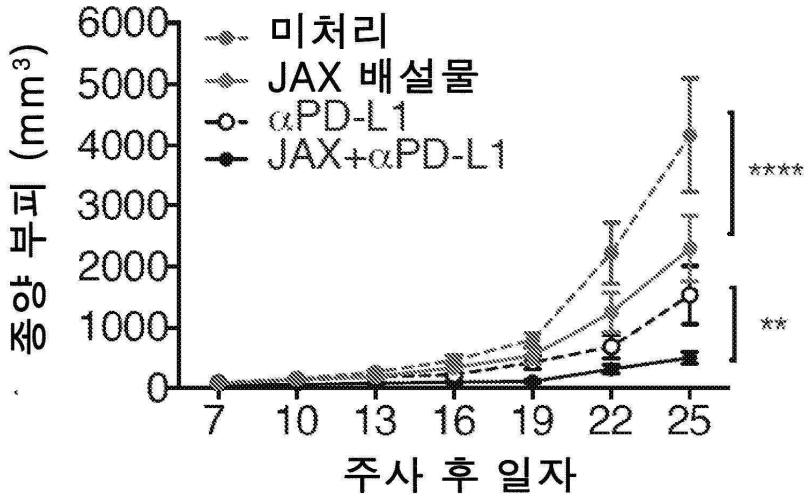
도면2b



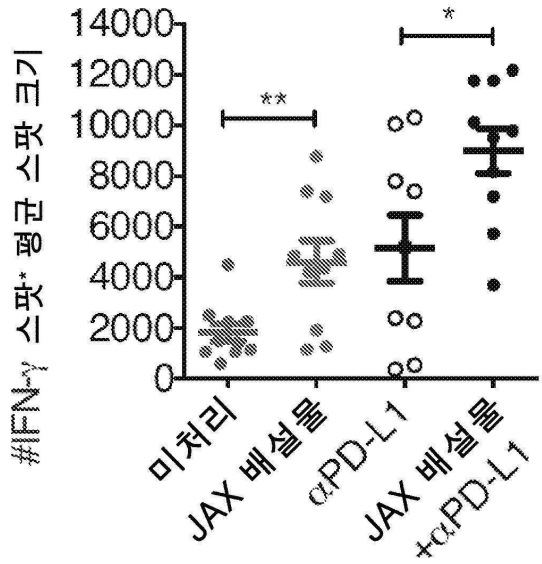
도면2c


CD8+ 상에서 게이트됨
가짜
TAC 배설물
JAX 배설물
대조군
SIY 오량체
0.04
0
0.13
7.03
7.45
27.5
CD44
CD8+ T 세포의 % SIY+
65
55
45
35
25
15
5
**
새로운
식염수
TAC 배설물
JAX 배설물
식염수
JAX 배설물
TAC 배설물
TAC
JAX

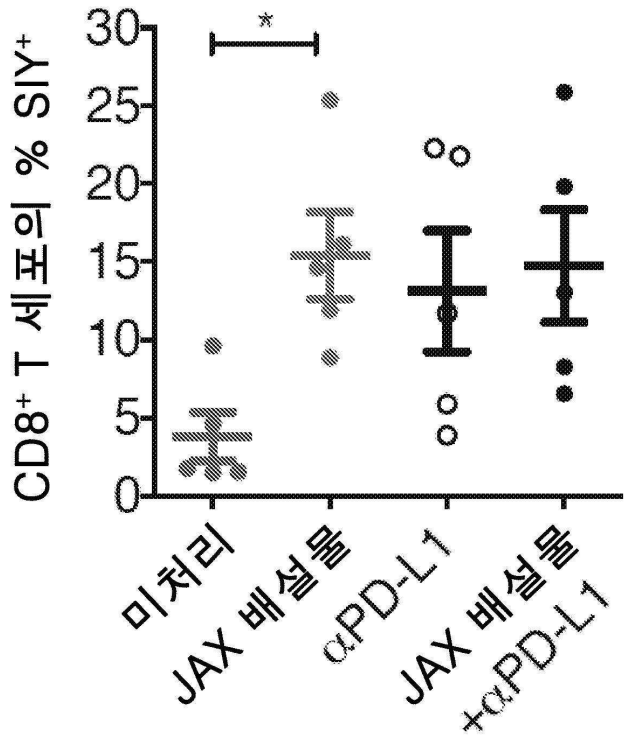
도면2d


6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
종양 부피 (mm³)
미처리
JAX 배설물
αPD-L1
JAX+αPD-L1
****
**
7
10
13
16
19
22
25
주사 후 일자

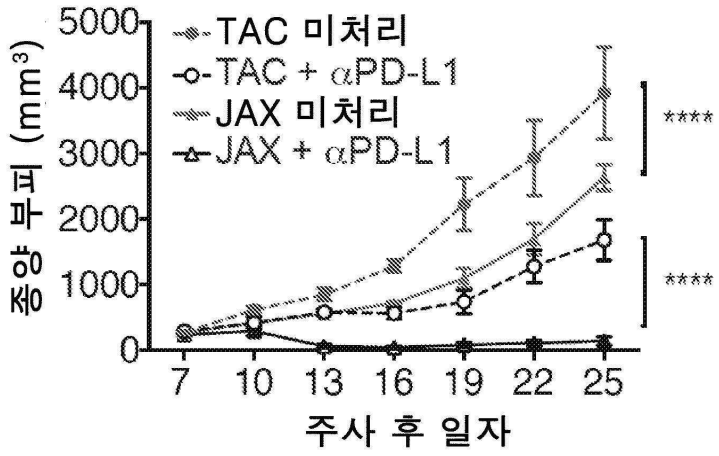
도면2e


14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
#IFN-γ 스팟* 평균 스팟 크기
**
*
미처리
JAX 배설물
αPD-L1
JAX 배설물
+αPD-L1

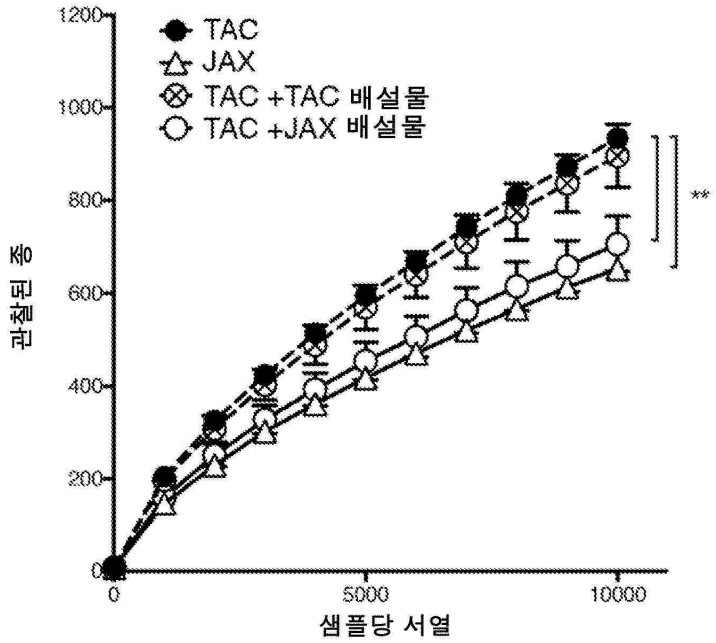
도면2f


CD8+ T 세포의 % SIY+
30
25
20
15
10
5
0
*
미처리
JAX 배설물
αPD-L1
JAX 배설물
+αPD-L1

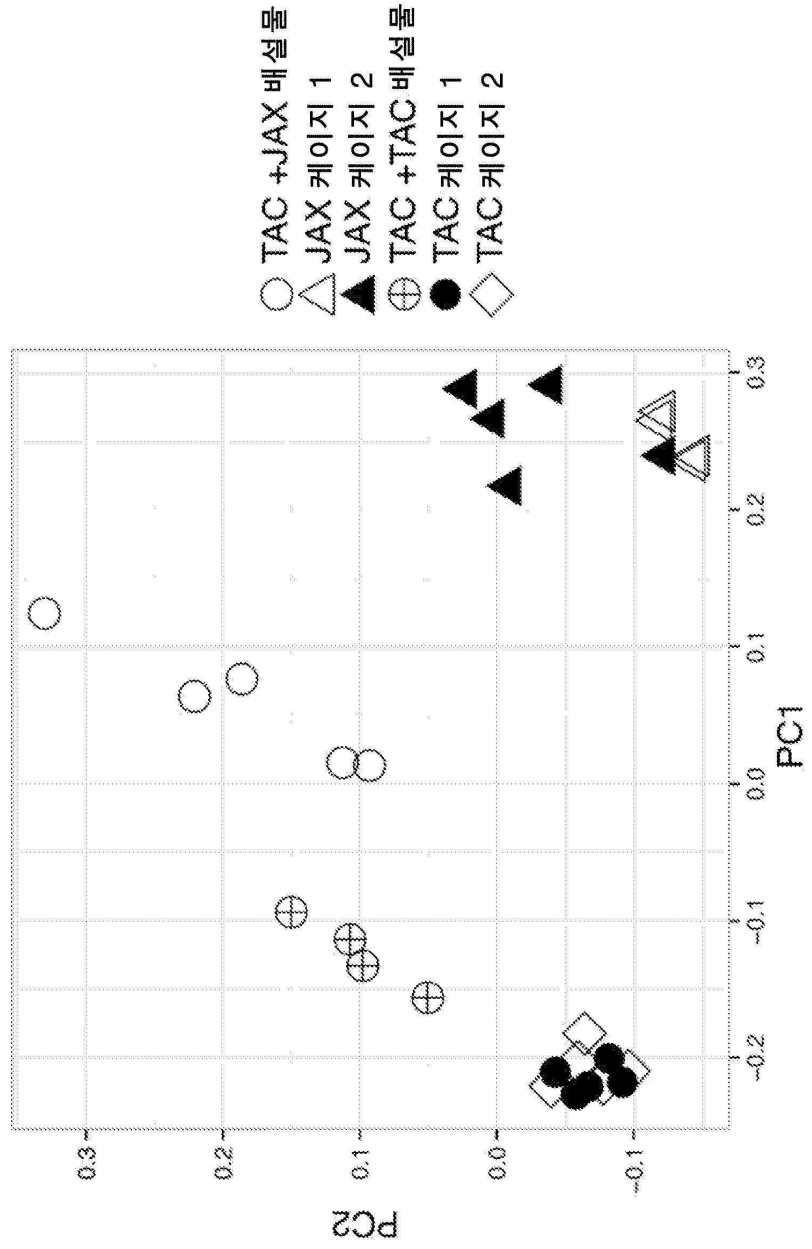
도면2g


종양 부피 (mm3)
5000
4000
3000
2000
1000
0
TAC 미처리
TAC + αPD-L1
JAX 미처리
JAX + αPD-L1
****
****
7
10
13
16
19
22
25
주사 후 일자

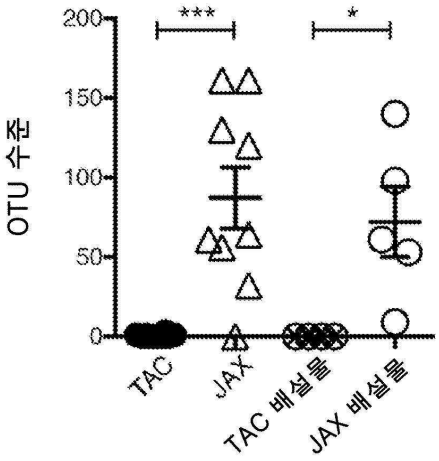
도면3a


TAC
JAX
TAC +TAC 배설물
TAC +JAX 배설물
1200
1000
800
600
400
200
0
0
5000
10000
관찰된 종
샘플당 서열
**

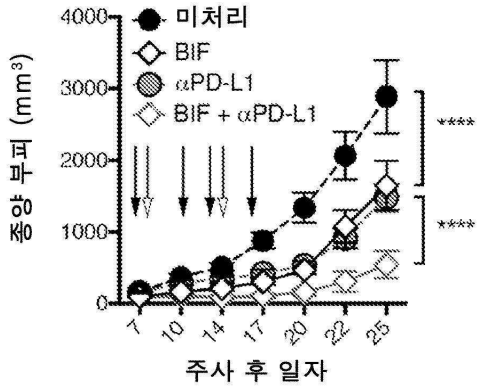
도면3b


TAC +JAX 배설물
JAX 케이지 1
JAX 케이지 2
TAC +TAC 배설물
TAC 케이지 1
TAC 케이지 2
PC1
PC2
0.3
0.2
0.1
0.0
-0.1
-0.2

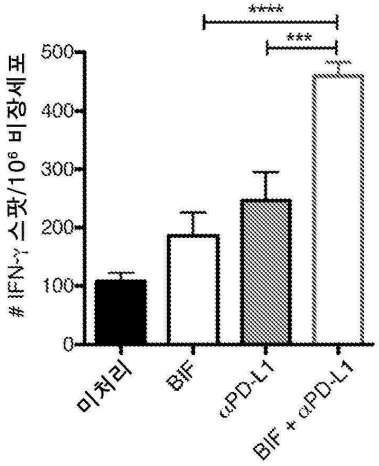
도면3c


OTU 수준
200
150
100
50
0
***
*
TAC
JAX
TAC 배설물
JAX 배설물

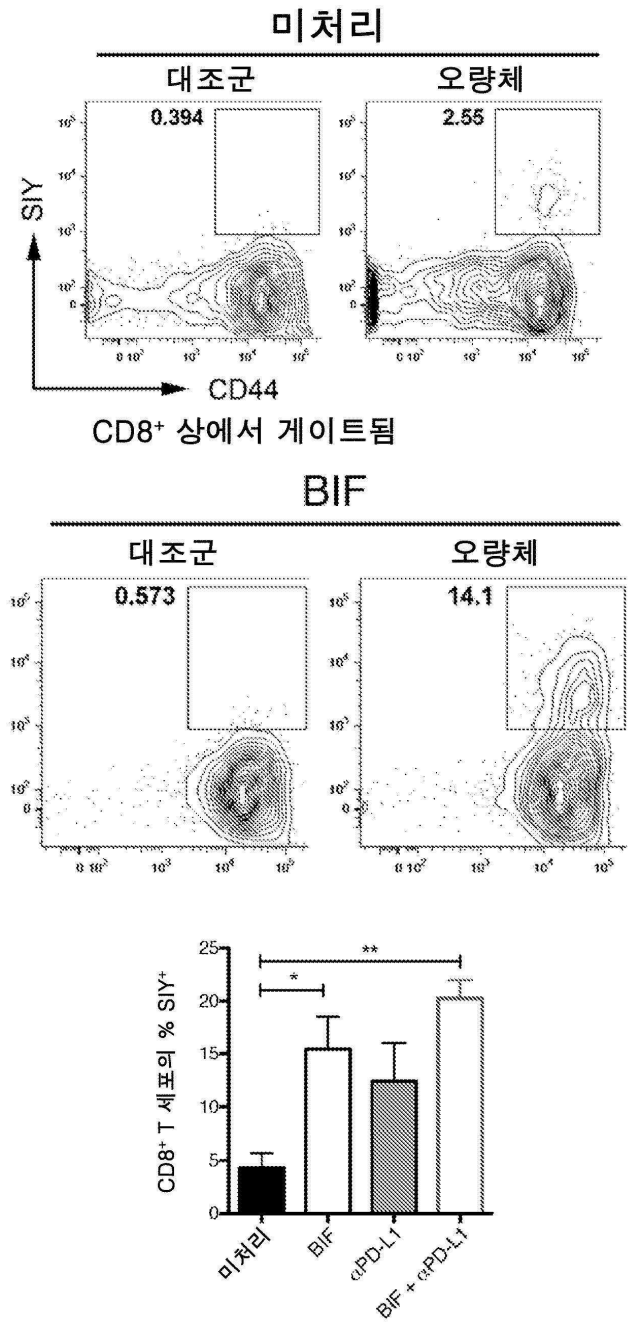
도면3d


4000
3000
2000
1000
0
종양 부피 (mm³)
미처리
BIF
αPD-L1
BIF + αPD-L1
****
****
7
10
14
17
20
22
25
주사 후 일자

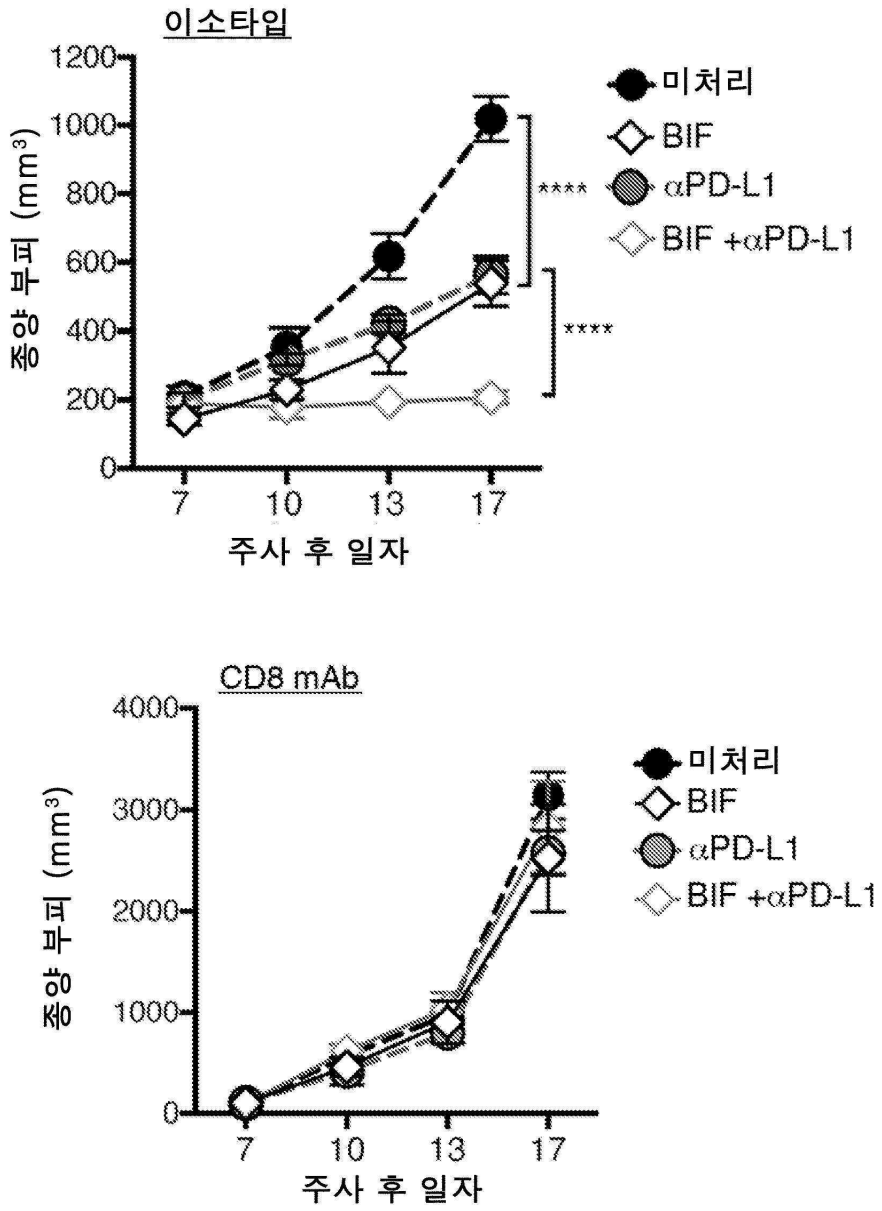
도면3e


****
***
500
400
300
200
100
0
IFN-γ 스팟/10⁶ 비장세포
미처리
BIF
αPD-L1
BIF + αPD-L1

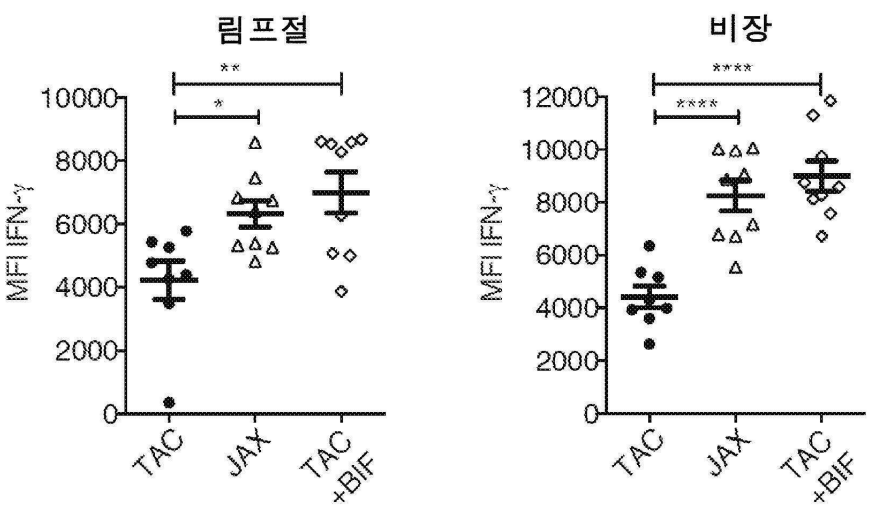
도면3f


미처리
대조군
오량체
0.394
2.55
SIY
CD44
CD8⁺ 상에서 게이트됨
BIF
대조군
오량체
0.573
14.1
CD8⁺ T 세포의 % SIY⁺
25
20
15
10
5
0
*
**
미처리
BIF
αPD-L1
BIF + αPD-L1

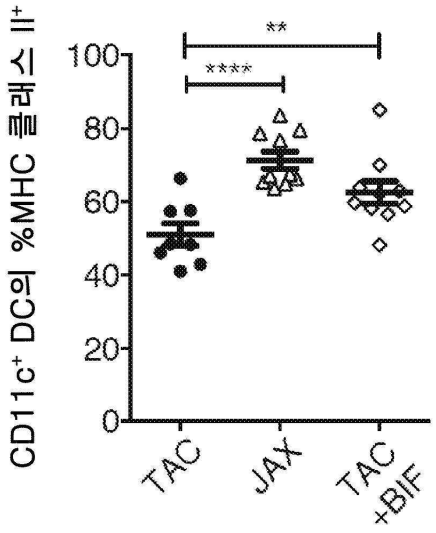
도면3g


이소타입
종양 부피 (mm³)
1200
1000
800
600
400
200
0
7
10
13
17
주사 후 일자
미처리
BIF
αPD-L1
BIF +αPD-L1
****
****
CD8 mAb
종양 부피 (mm³)
4000
3000
2000
1000
0
7
10
13
17
주사 후 일자
미처리
BIF
αPD-L1
BIF +αPD-L1

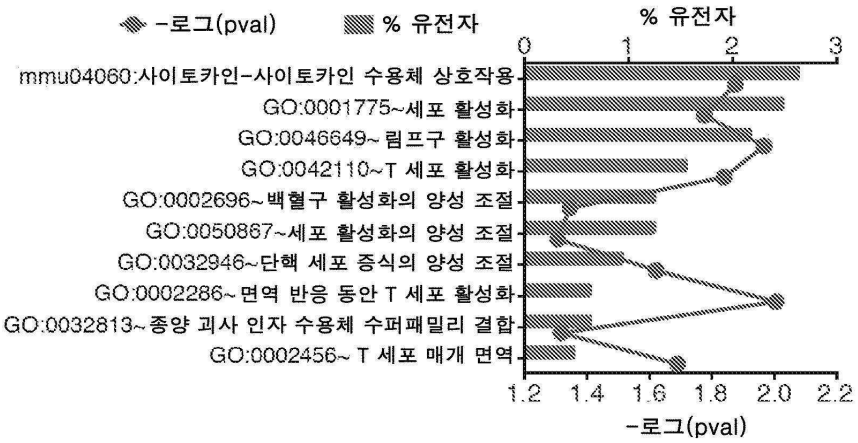
도면4a


림프절
MFI IFN-γ
10000
8000
6000
4000
2000
0
**
*
TAC
JAX
TAC +BIF
비장
MFI IFN-γ
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
****
****
TAC
JAX
TAC +BIF

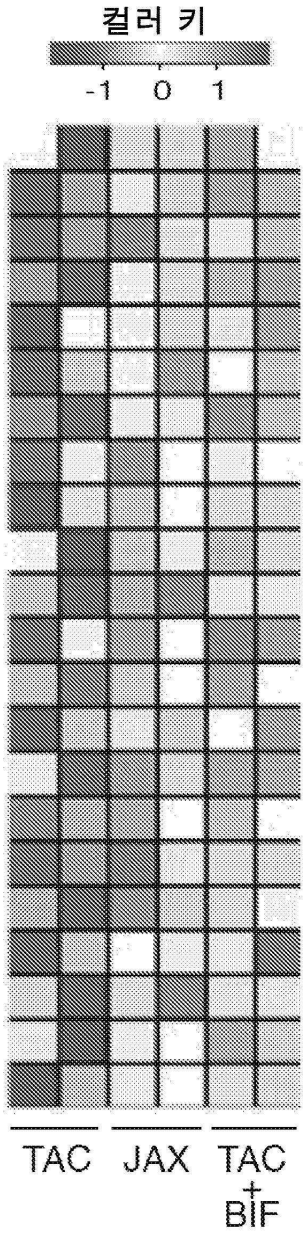
도면4b


CD11c+ DC의 %MHC 클래스 II+
100
80
60
40
20
0
**
****
TAC
JAX
TAC +BIF

도면4c

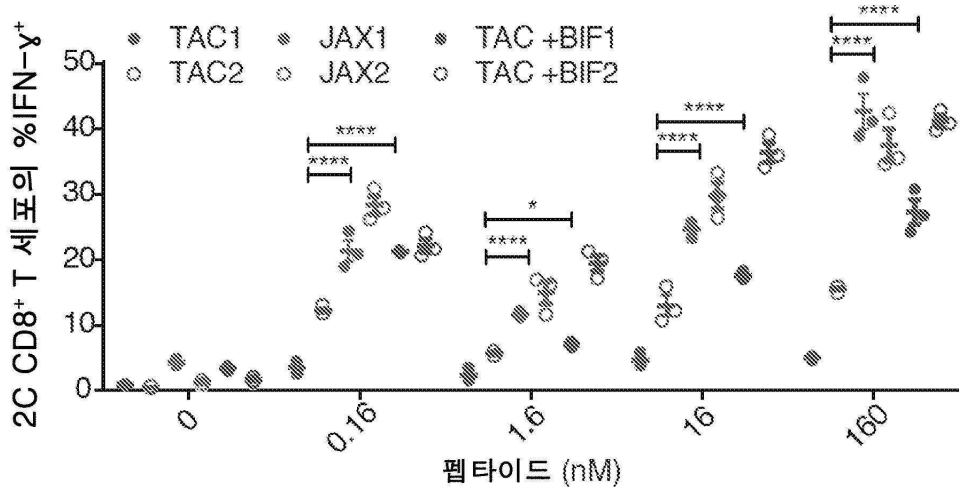

-로그(pval)
% 유전자
% 유전자
0
1
2
3
mmu04060:사이토카인-사이토카인 수용체 상호작용
GO:0001775~세포 활성화
GO:0046649~림프구 활성화
GO:0042110~T 세포 활성화
GO:0002696~백혈구 활성화의 양성 조절
GO:0050867~세포 활성화의 양성 조절
GO:0032946~단핵 세포 증식의 양성 조절
GO:0002286~면역 반응 동안 T 세포 활성화
GO:0032813~종양 괴사 인자 수용체 수퍼패밀리 결합
GO:0002456~T 세포 매개 면역
1.2
1.4
1.6
1.8
2.0
2.2
-로그(pval)

도면4d

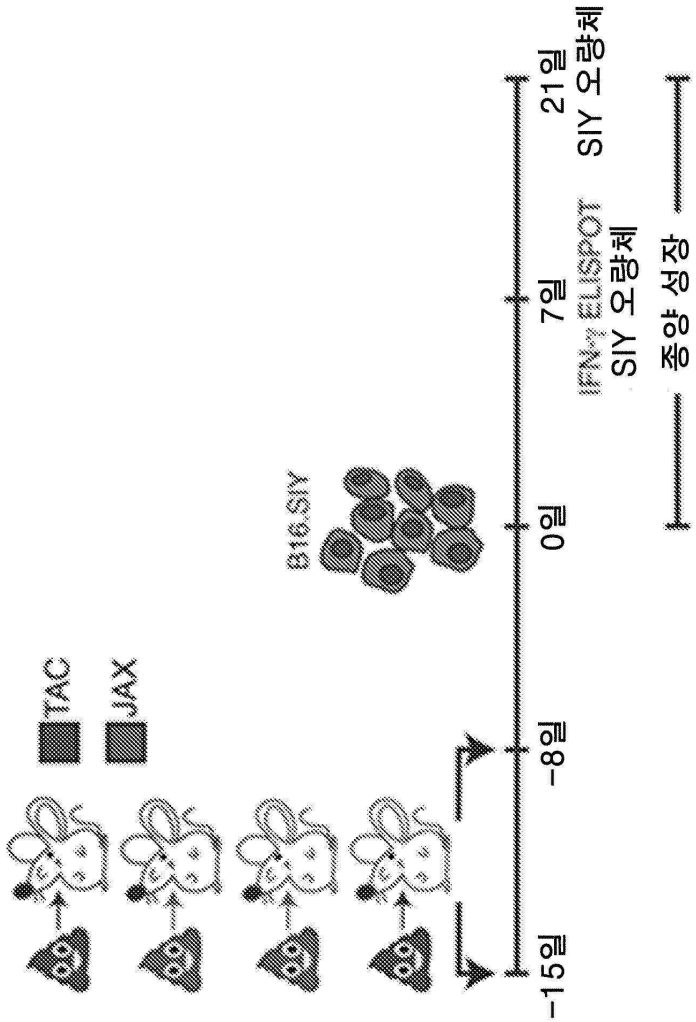


유전자	JAX/TAC	BIF/TAC
H2m2	2.18	6.99
Cd40	1.58	2.11
Cd70	9.67	4.33
Icam1	1.57	2.00
Tnfrsf18	1.51	1.68
Tnfsf14	2.05	1.70
Relb	1.79	2.54
Ifngr2	3.10	1.71
Tapbp	42.40	14.97
Rab27a	2.55	2.96
Slc11a1	3.46	1.79
Cxcl9	2.64	1.53
Cx3cl1	3.96	6.36
Cxcr4	2.20	2.41
Irf1	1.55	2.44
Ifnar2	2.70	2.33
Oas2	1.68	1.51
Ifi35	1.92	1.57
Ifitm1	2.82	5.00
Azi2	7.71	3.04
Ikbke	1.60	2.03
Ulk1	5.78	3.51

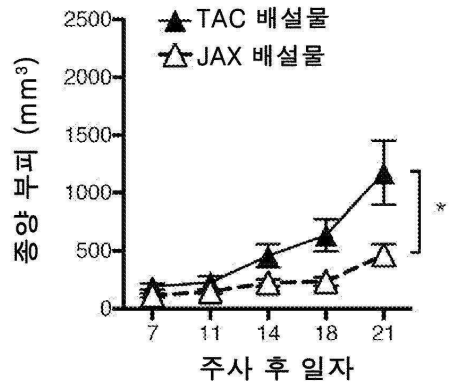
도면4e


TAC1
TAC2
JAX1
JAX2
TAC +BIF1
TAC +BIF2
2C CD8+ T 세포의 %IFN-γ+
50
40
30
20
10
0
0
0.16
1.6
16
160
펩타이드 (nM)
****
*

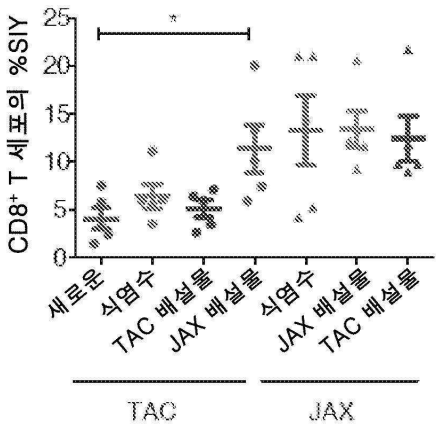
도면5a


TAC
JAX
B16.SIY
-15일
-8일
0일
7일
21일
IFN-γ ELISPOT
SIY 오량체
종양 성장
SIY 오량체

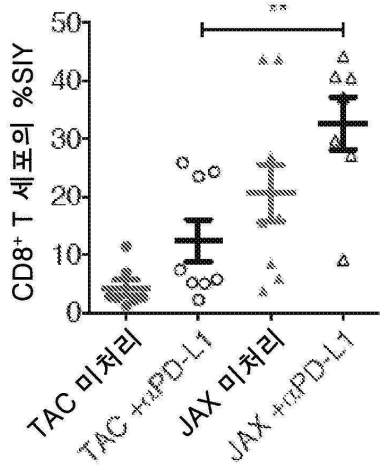
도면5b



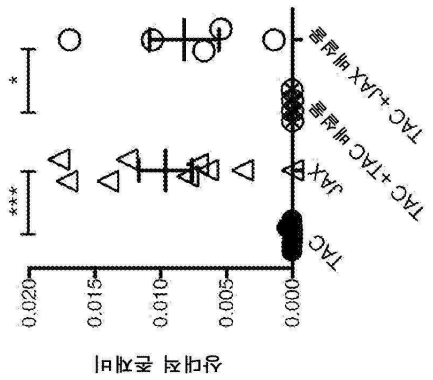
도면5c



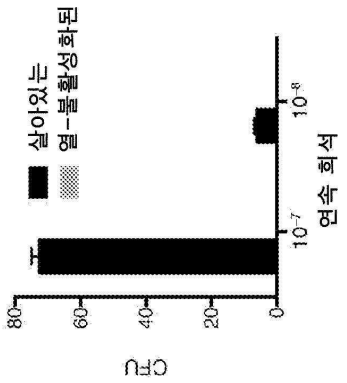
도면5d



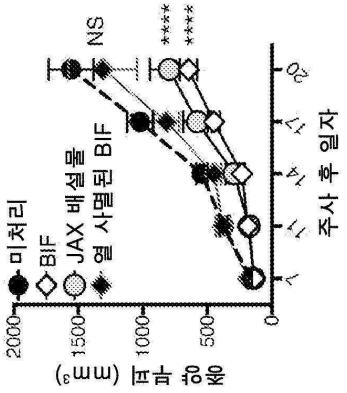
도면6a



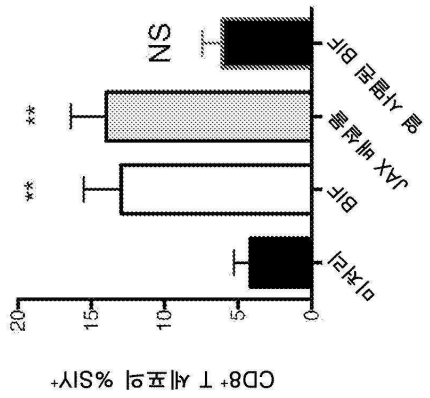
도면6b



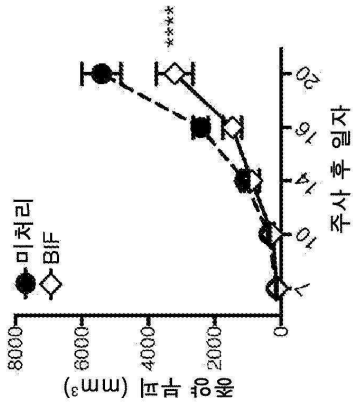
도면6c



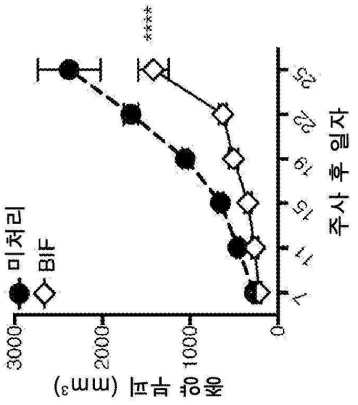
도면6d



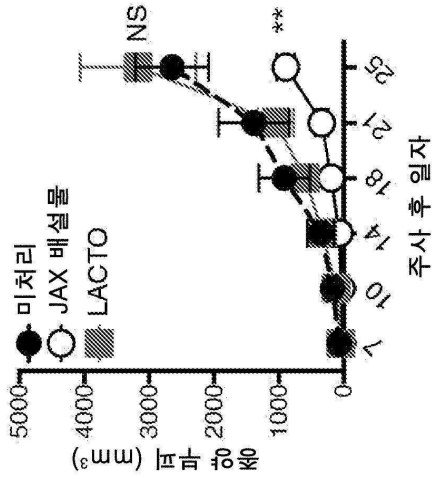
도면6e



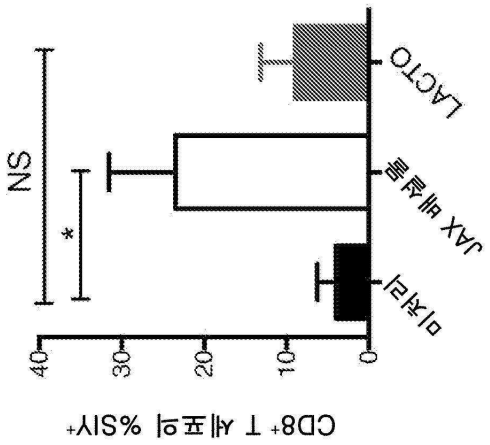
도면6f



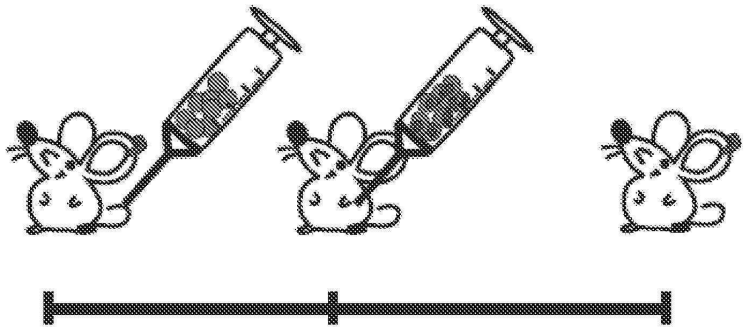
도면6g


종양 부피 (mm³)
5000
4000
3000
2000
1000
0
7
10
14
18
21
25
주사 후 일자
미처리
JAX 배설물
LACTO
NS
**

도면6h


CD8+ T 세포의 %SIY+
40
30
20
10
0
미처리
JAX 배설물
LACTO
NS
*

도면7a



0일

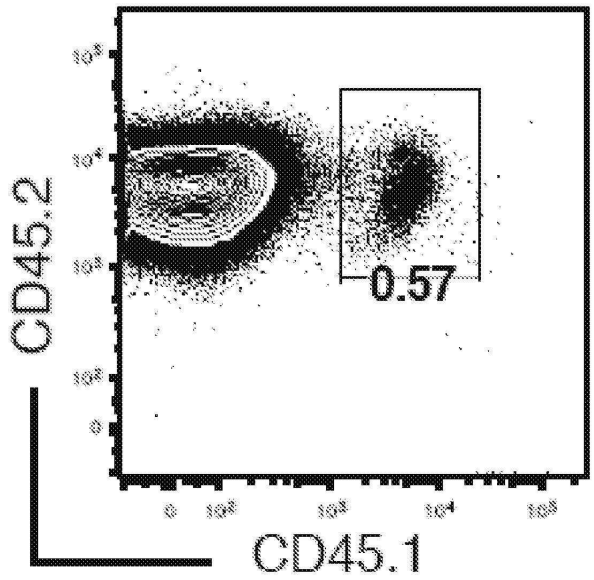
CFSE+
CD45.1/.2+ CD8+
세포의 전달

1일

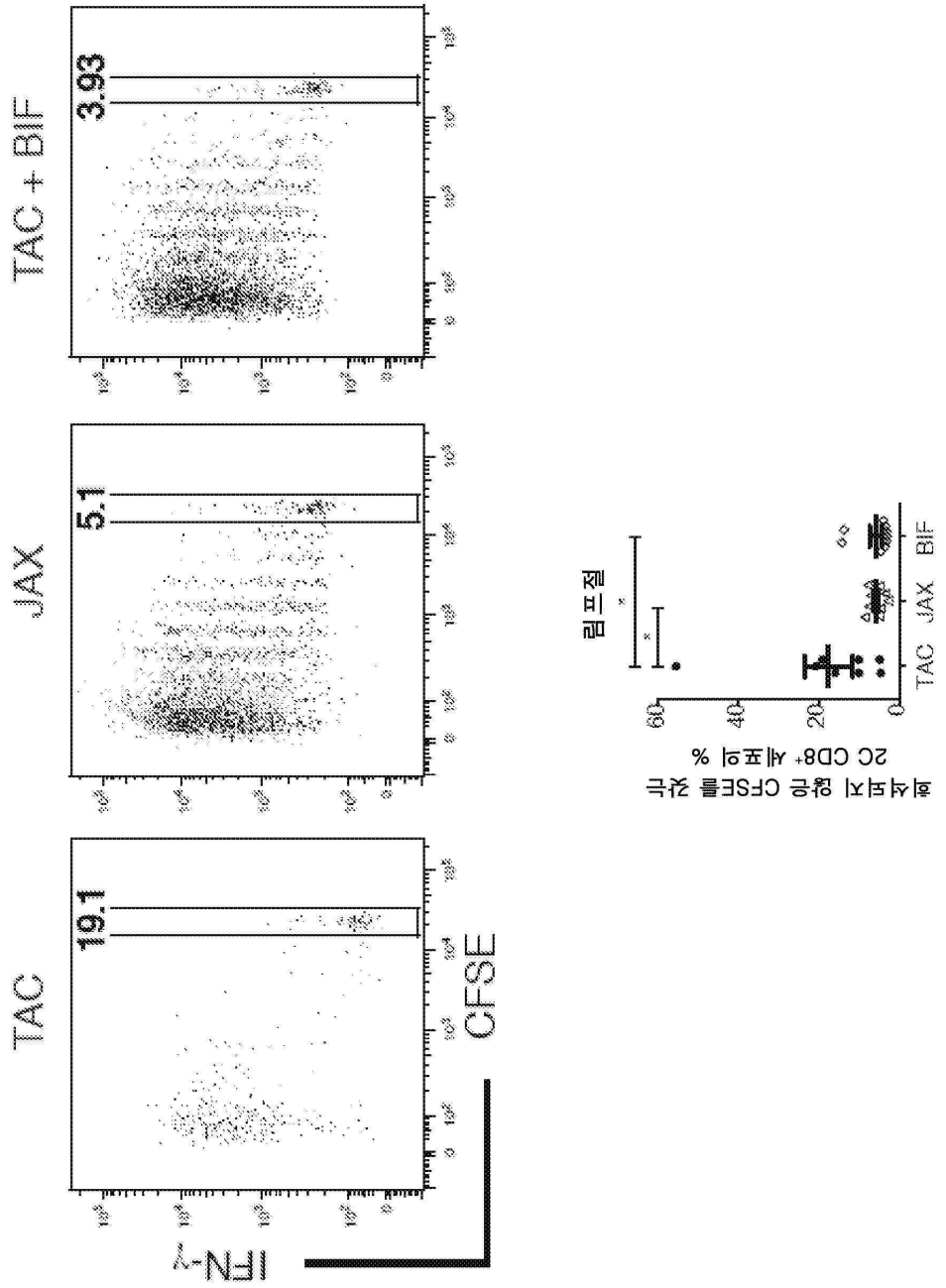
B16.SIY의
주사

7일

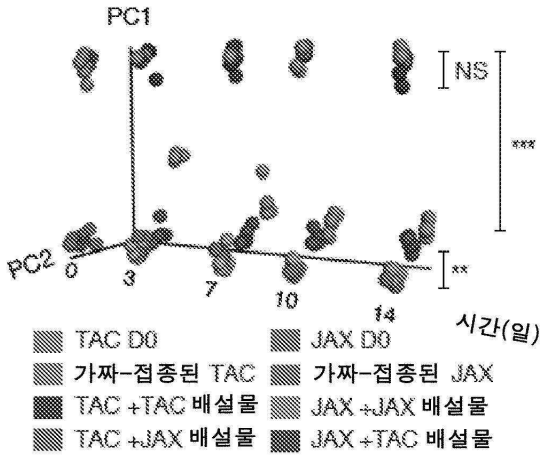
종양, TDLN 및
비장의
생체외 자극



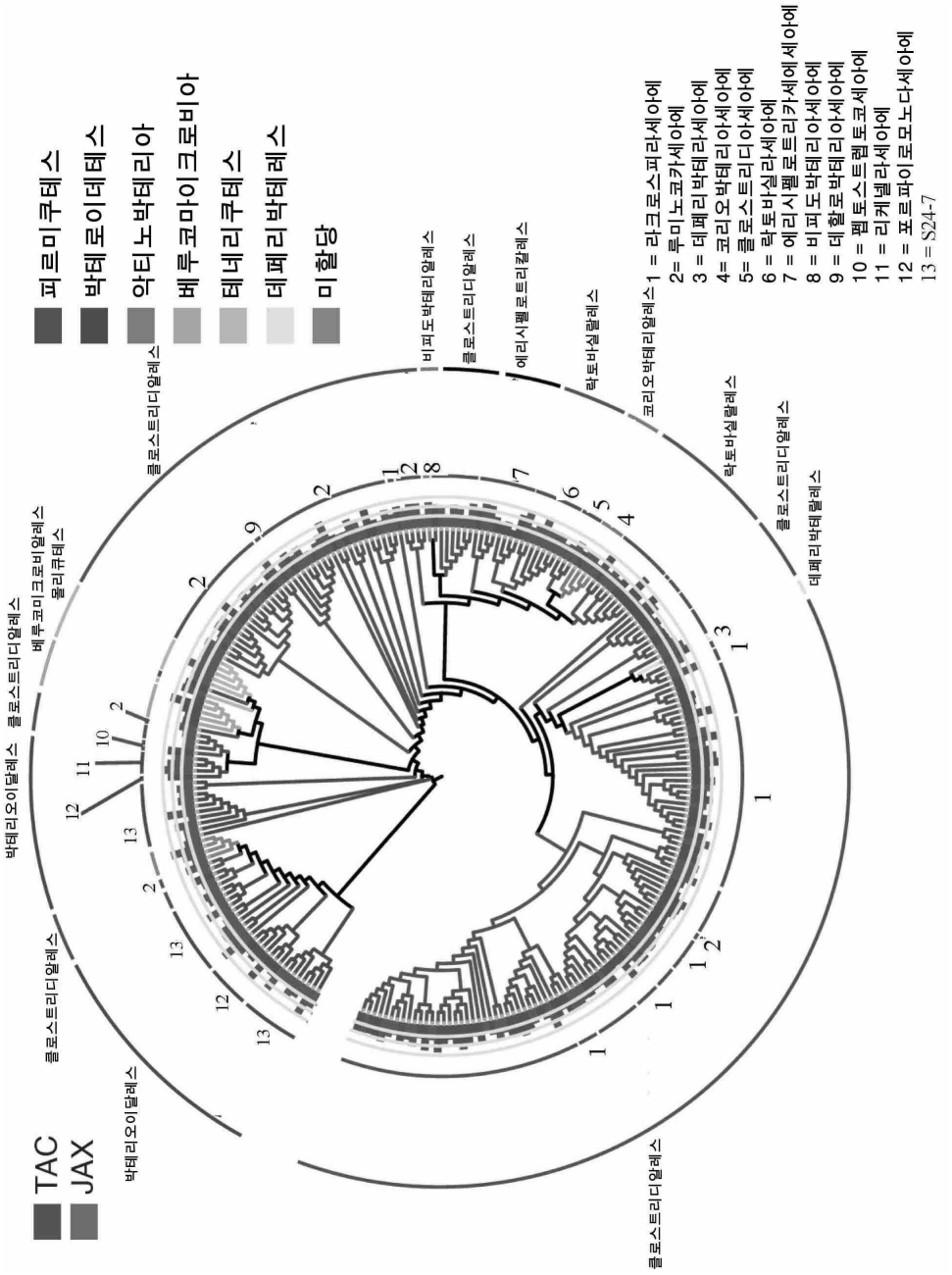
도면7b


TAC
JAX
TAC + BIF
19.1
5.1
3.93
IFN-γ
CFSE
림프절
회색되지 않은 CFSE를 갖는
2C CD8+ 세포의 %
60
40
20
0
TAC
JAX
BIF

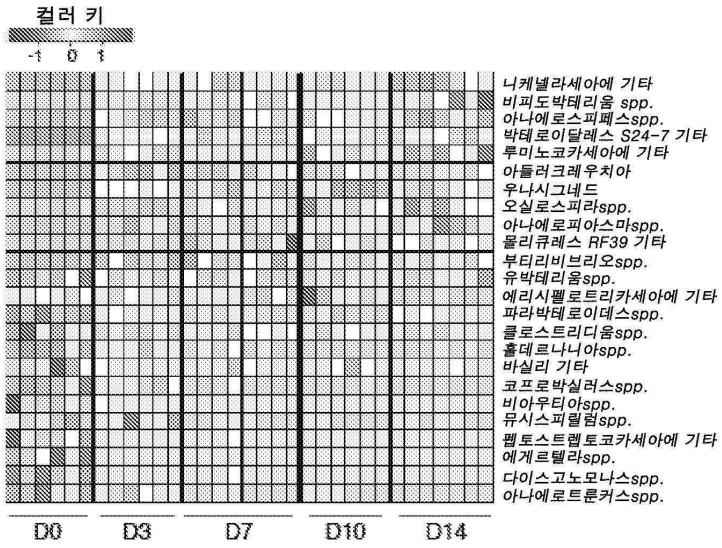
도면8a


PC1
PC2
NS
***
**
0
3
7
10
14
시간(일)
TAC D0
JAX D0
가짜-접종된 TAC
가짜-접종된 JAX
TAC +TAC 배설물
JAX +JAX 배설물
TAC +JAX 배설물
JAX +TAC 배설물

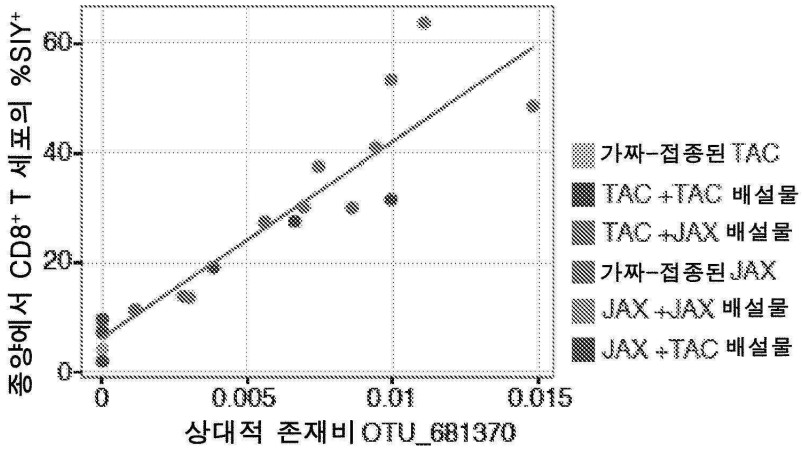
도면8b


피르미쿠테스
박테로이데테스
악티노박테리아
베루코마이크로비아
테네리쿠테스
데페리박테레스
미할당
TAC
JAX
박테리오이달레스
클로스트리디알레스
베루코미크로비알레스
올리큐테스
박테리오이달레스
클로스트리디알레스
비피도박테리알레스
클로스트리디알레스
에리시펠로트릭칼레스
락토바실랄레스
코리오박테리알레스1 = 라크로스피라세아에
2= 루미노코카세아에
3 = 데페리박테라세아에
4= 코리오박테리아세아에
5= 클로스트리디아세아에
6 = 락토바실라세아에
7 = 에리시펠로트리카세에세아에
8 = 비피도박테리아세아에
9 = 데할로박테리아세아에
10 = 펩토스트렙토코세아에
11 = 리케넬라세아에
12 = 포르파이로모노다세아에
13 = S24-7
락토바실랄레스
클로스트리디알레스
데페리박테랄레스
클로스트리디알레스

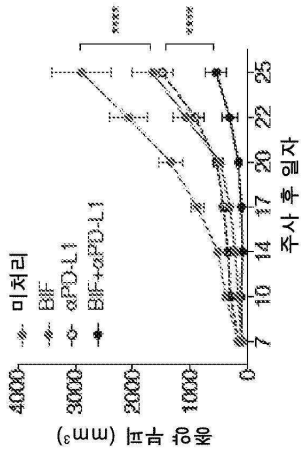
도면8c



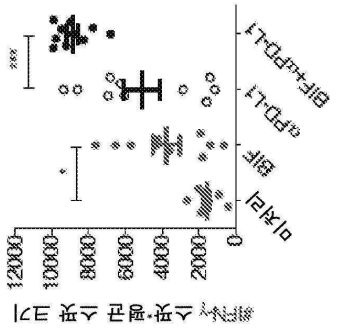
도면8d



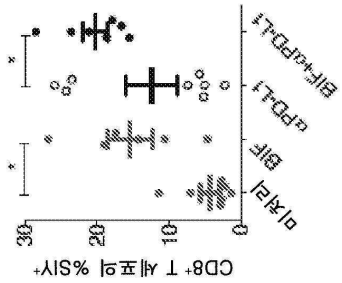
도면8e



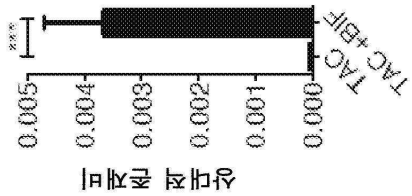
도면8f



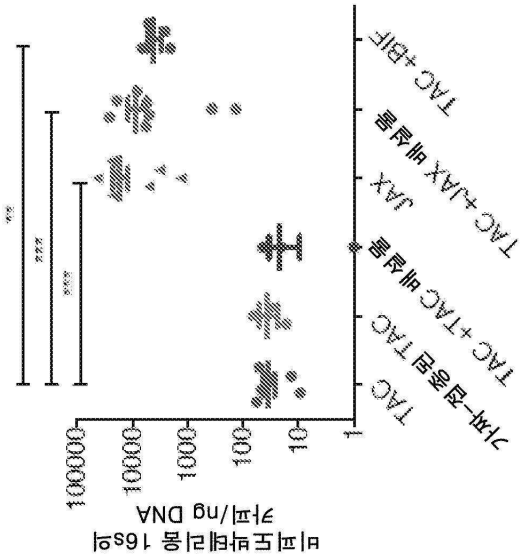
도면8g



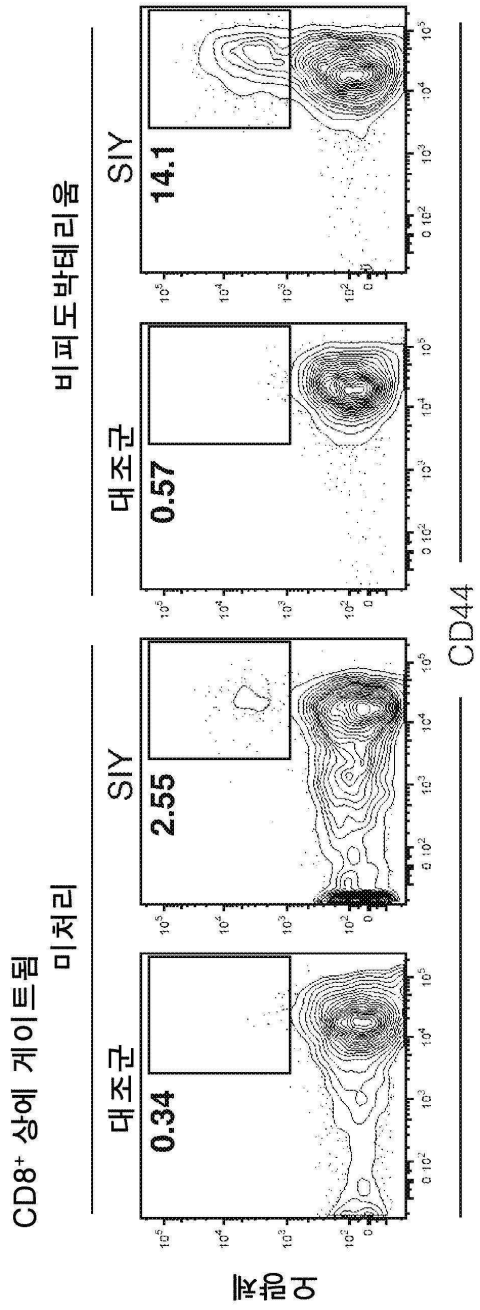
도면9a



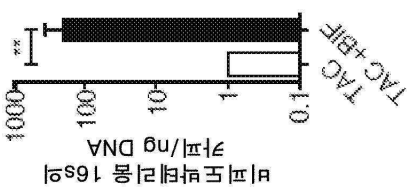
도면9b



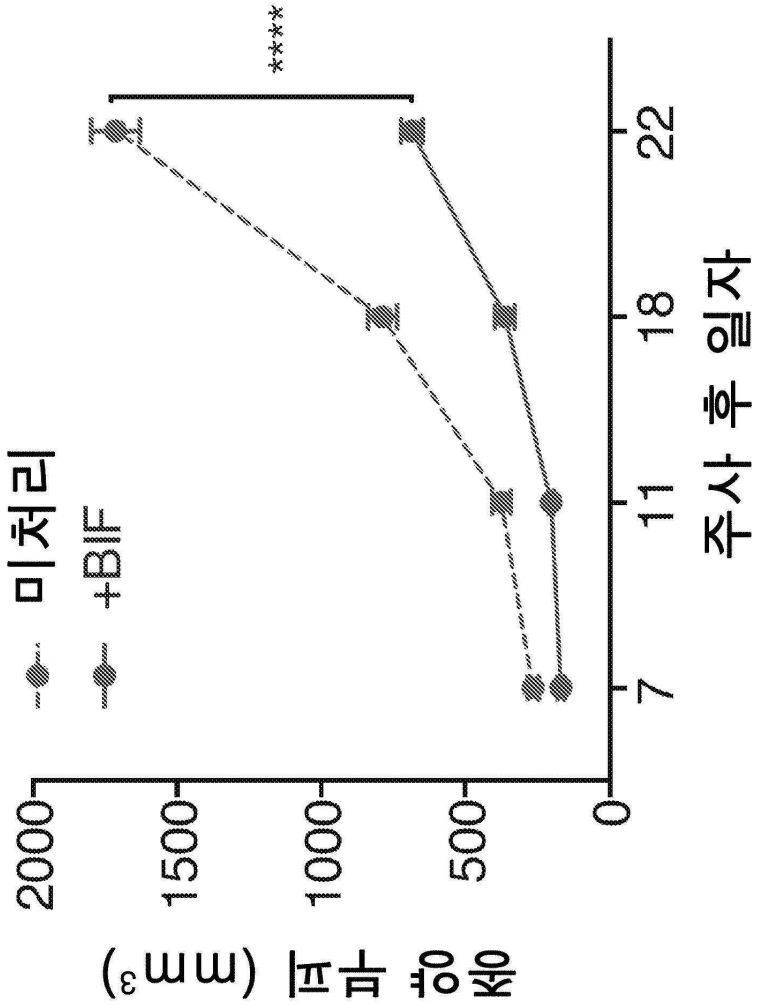
도면9c


오랑캐
CD8⁺ 상에 게이트됨
미처리
대조군
0.34
SIY
2.55
비피도박테리움
대조군
0.57
SIY
14.1
CD44

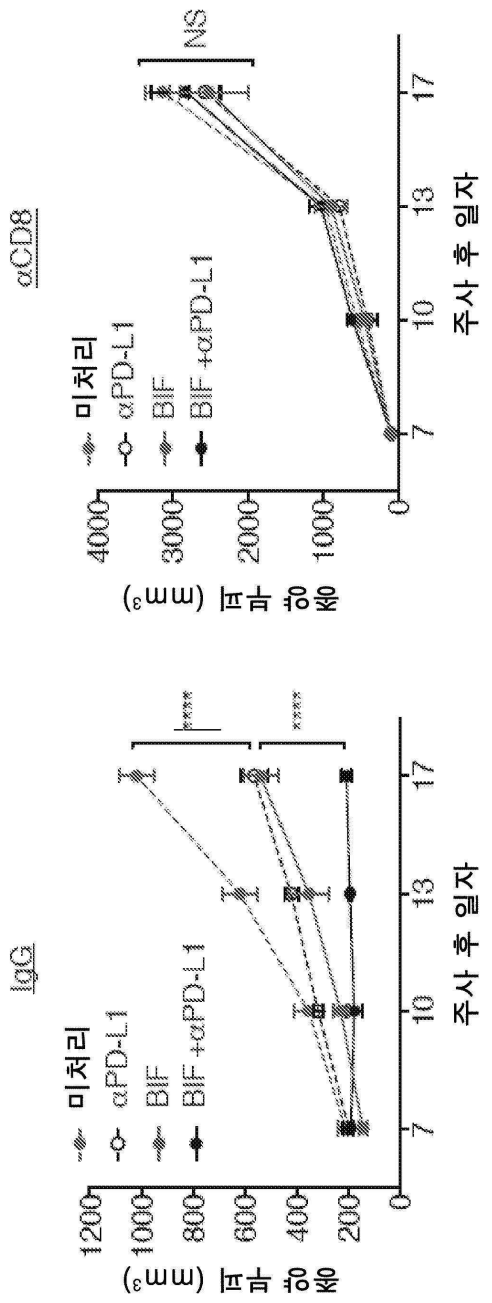
도면9d


비피도박테리움 16s의
카피/ng DNA
1000
100
10
1
0.1
**
TAC
TAC +BIF

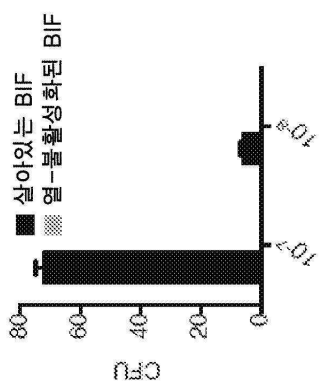
도면9e



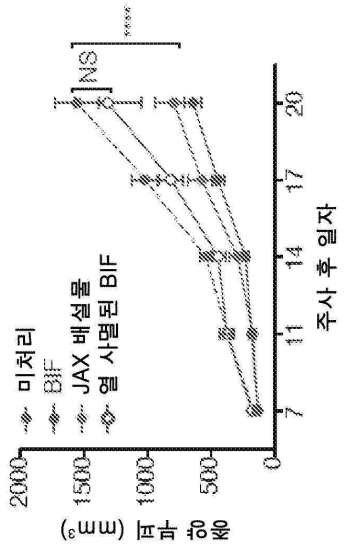
도면10a


αCD8
IgG
미처리
αPD-L1
BIF
BIF +αPD-L1
종양 부피 (mm³)
주사 후 일자
NS
****

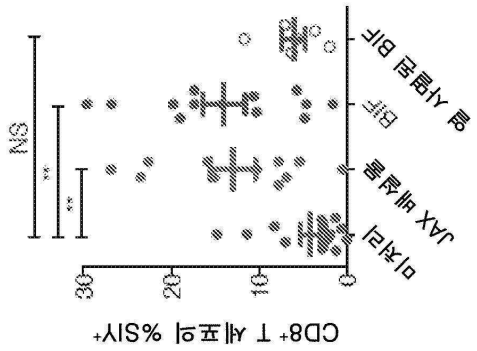
도면10b


살아있는 BIF
열-불활성화된 BIF
CFU

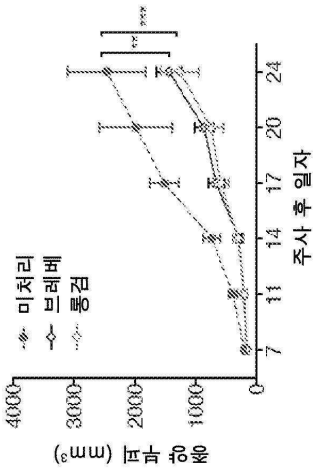
도면10c



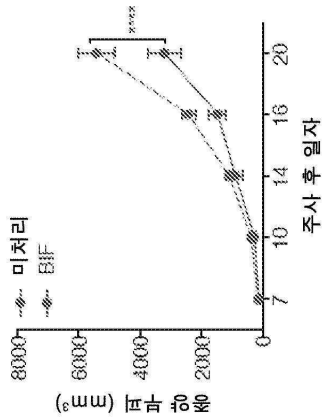
도면10d



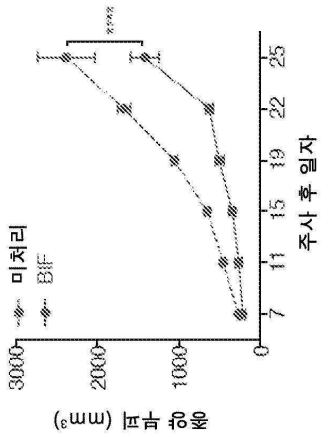
도면11a



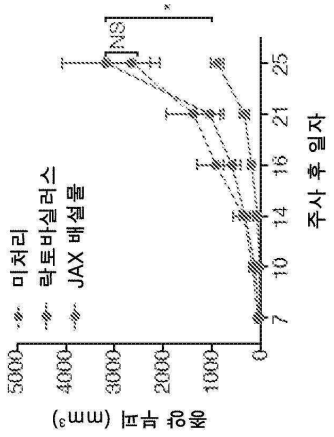
도면11b



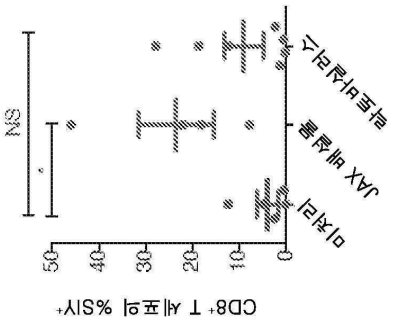
도면11c



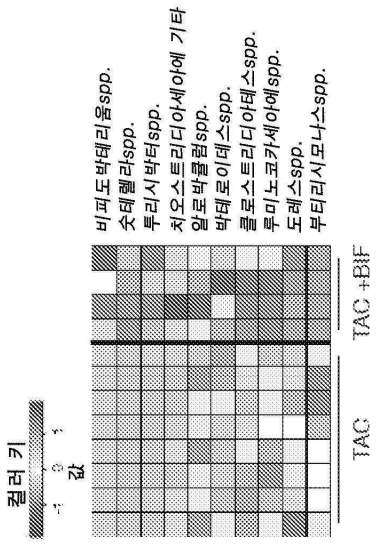
도면11d



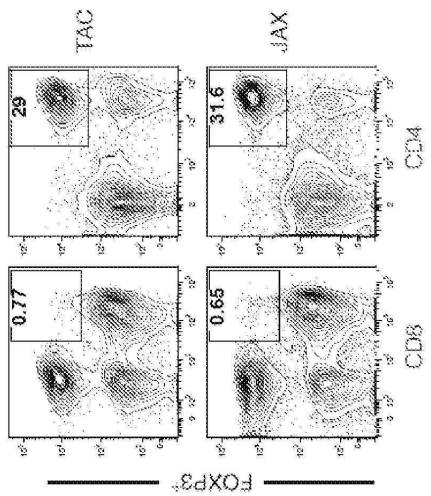
도면11e



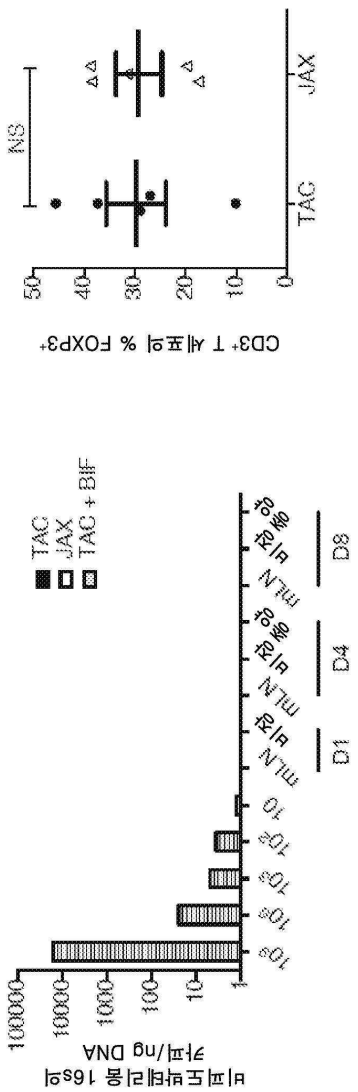
도면12a



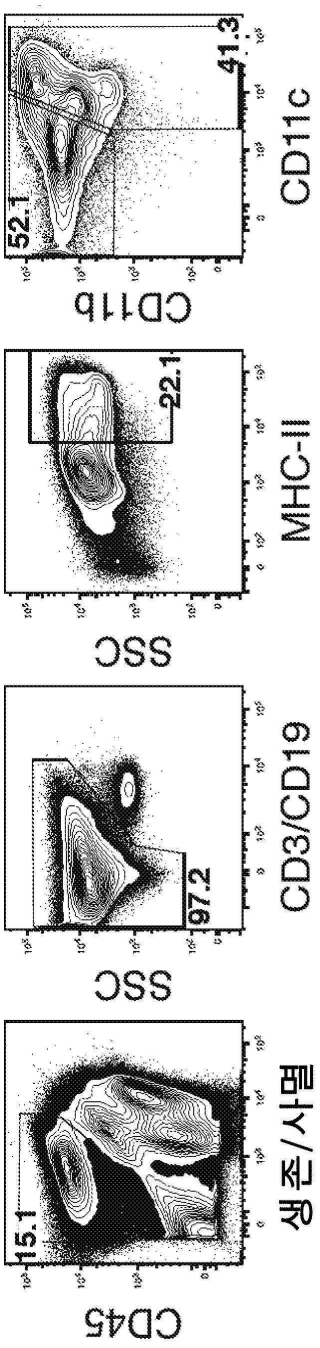
도면12b



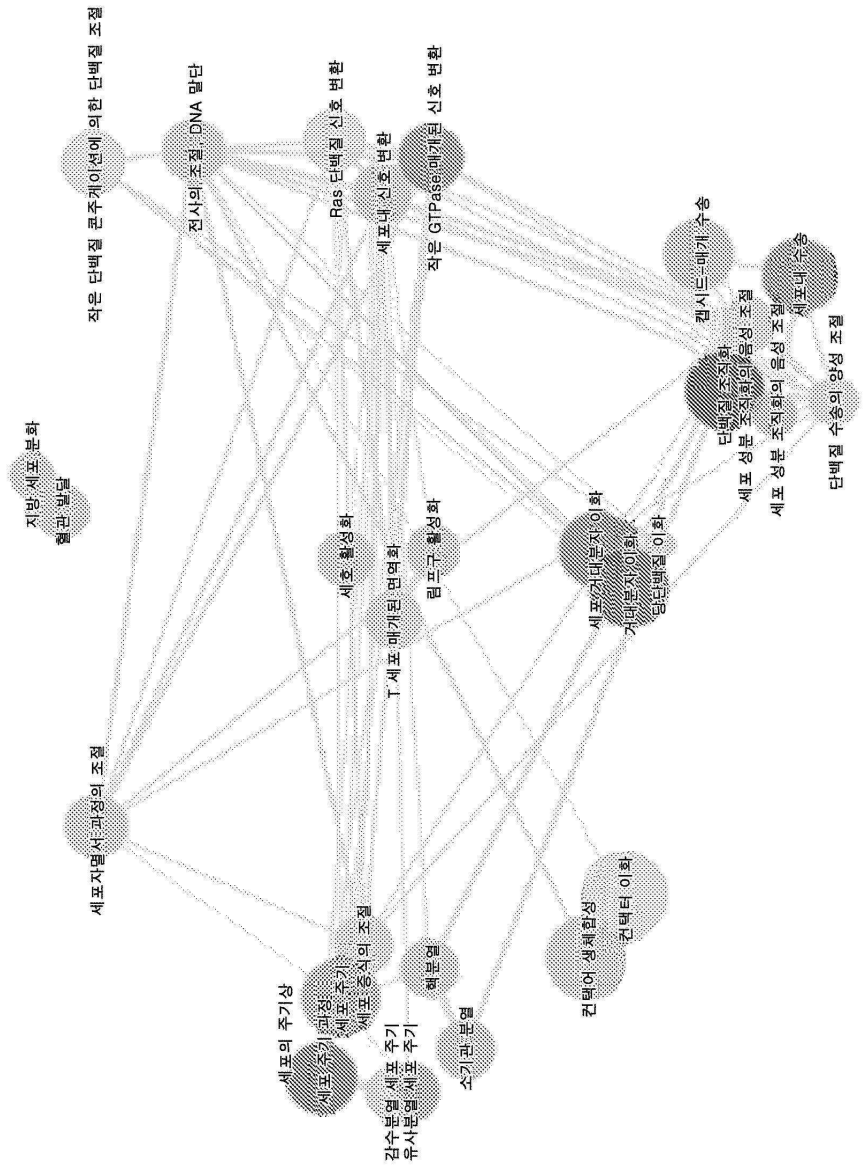
도면12c


CD3+ T 세포의 % FOXP3+
50
40
30
20
10
0
NS
TAC
JAX
비피도박테리움 16s의 카피/ng DNA
100000
10000
1000
100
10
1
TAC
JAX
TAC + BIF
D1
D4
D8

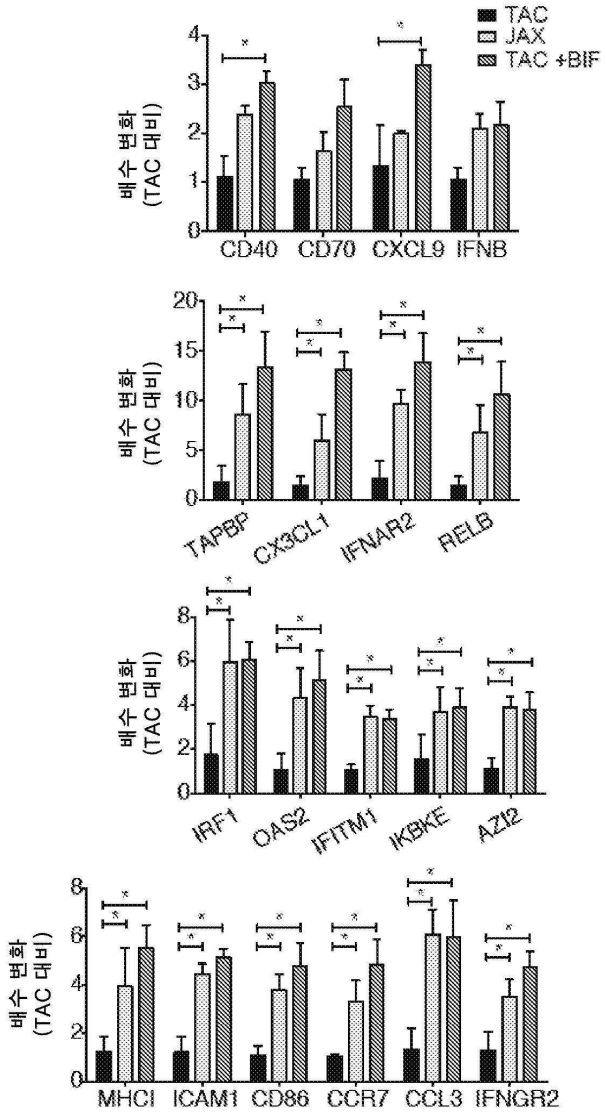
도면13a


생존/사멸
CD45
15.1
SSC
CD3/CD19
97.2
SSC
MHC-II
22.1
CD11b
CD11c
52.1
41.3

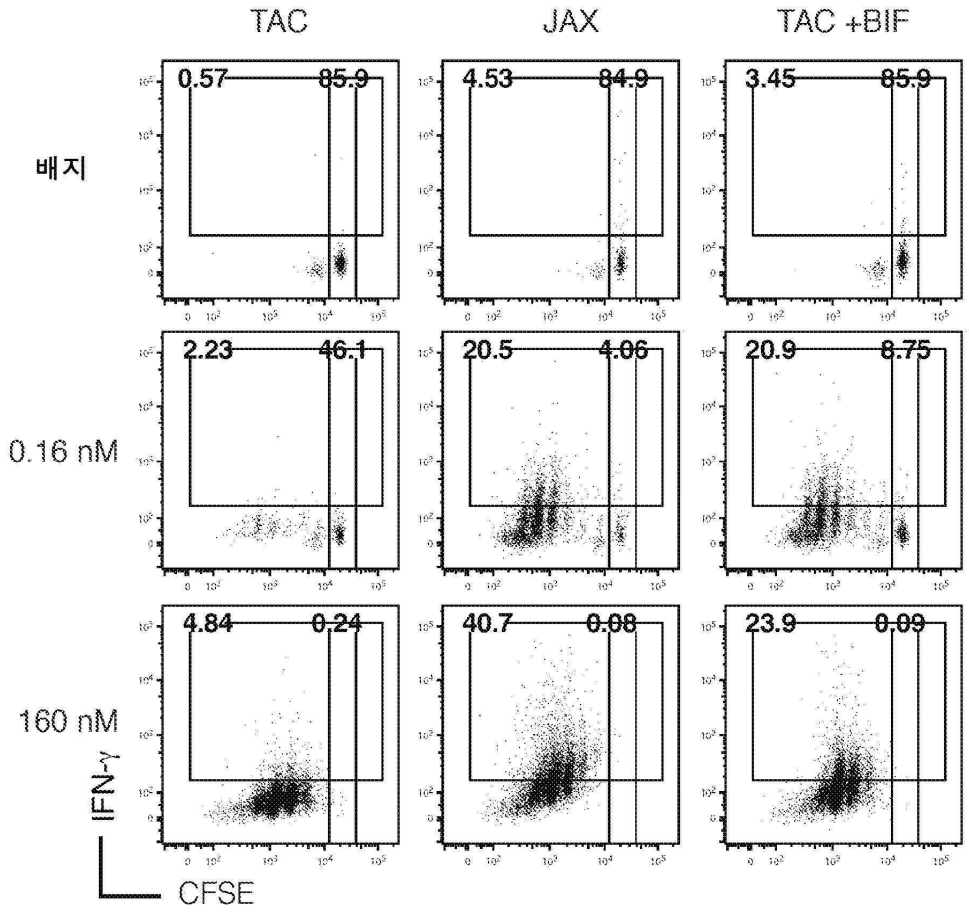
도면13b


작은 단백질 콘주게이션에 의한 단백질 조절
전사의 조절, DNA 말단
Ras 단백질 신호 변환
세포내 신호 변환
작은 GTPase매개된 신호 변환
캡시드-매개 수송
지방 세포 분화
혈관 발달
세포자멸사 과정의 조절
세포 증식의 조절
세포 주기 정지
세포 주기
세포의 주기상
감수분열 세포 주기
유사분열 세포 주기
T 세포 매개된 면역화
세포 활성화
림프구 활성화
소기관 분열
핵분열
세포/거대분자 이화
거대분자 이화
당단백질 이화
컨택틴 이화
컨택어 생체합성
단백질 조직화
세포 성분 조직화의 음성 조절
세포 성분 조직화의 음성 조절
세포내 수송
단백질 수송의 양성 조절

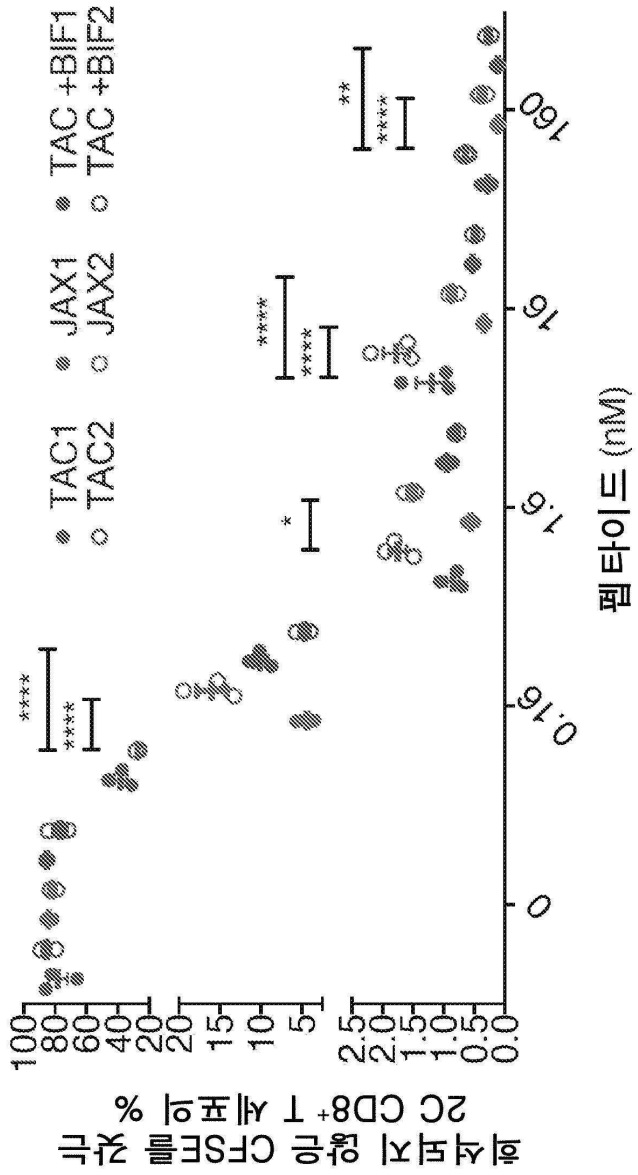
도면13c


TAC
JAX
TAC +BIF
배수 변화
(TAC 대비)
CD40
CD70
CXCL9
IFNB
TAPBP
CX3CL1
IFNAR2
RELB
IRF1
OAS2
IFITM1
IKBKE
AZI2
MHCI
ICAM1
CD86
CCR7
CCL3
IFNGR2

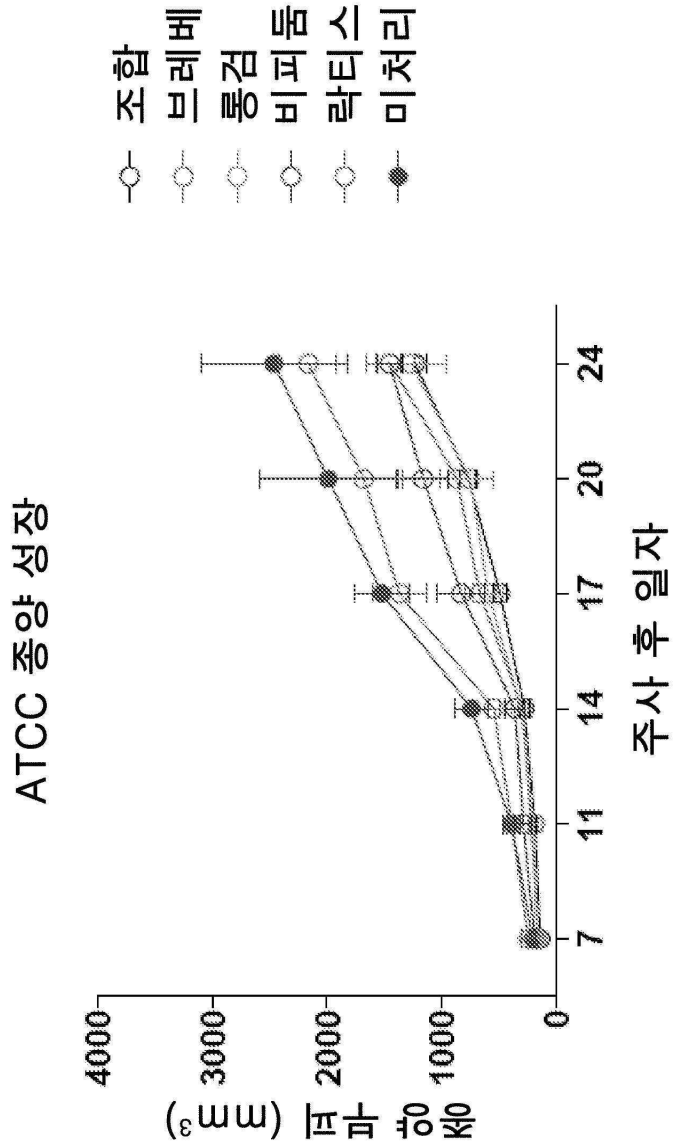
도면14a


TAC
JAX
TAC +BIF
배지
0.16 nM
160 nM
0.57
85.9
4.53
84.9
3.45
85.9
2.23
46.1
20.5
4.06
20.9
8.75
4.84
0.24
40.7
0.08
23.9
0.09
IFN-γ
CFSE

도면14b


희석되지 않은 CFSE를 갖는
2C CD8+ T 세포의 %
100
80
60
40
20
15
10
5
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0
0.16
1.6
16
160
펩타이드 (nM)
TAC1
TAC2
JAX1
JAX2
TAC +BIF1
TAC +BIF2
****
****
*
****
****
**

도면15


조합
브레베
롱검
비피둠
락티시
미처리
ATCC 종양 성장
종양 부피 (mm³)
0
1000
2000
3000
4000
7
11
14
17
20
24
주사 후 일자