



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0156808
(43) 공개일자 2023년11월14일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) A61K 31/454 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01) C07K 16/28 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 39/39558 (2013.01)
A61K 31/454 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2023-7037956(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2017년12월01일
심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2019-7019185
원출원일자(국제) 2017년12월01일
심사청구일자 2020년12월01일
- (85) 번역문제출일자 2023년11월02일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2017/064363
- (87) 국제공개번호 WO 2018/102786
국제공개일자 2018년06월07일
- (30) 우선권주장
62/429,740 2016년12월03일 미국(US)
(뒷면에 계속)
- (71) 출원인
주노 세리퓨티크스 인코퍼레이티드
미국 워싱턴 98109 시애틀 스위트 1200 텍스터 애비뉴 노스 400
- (72) 발명자
앨버슨, 티나
미국 워싱턴 98109-4703 시애틀 스위트 1200 텍스터 애비뉴 노스 400
- (74) 대리인
박장원

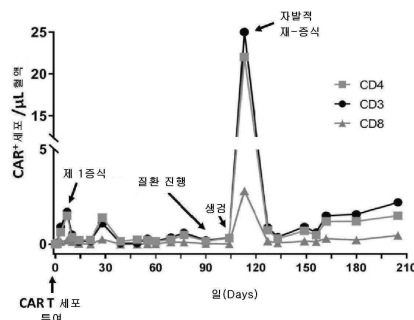
전체 청구항 수 : 총 63 항

(54) 발명의 명칭 CAR-T 세포의 조절 방법

(57) 요약

본 발명에서 제공되는 것은, T 세포 수용체 (TCR) 또는 키메라 항원 수용체 (CAR)와 같은 재조합 수용체로 조작된 세포를 생체 내에서 (in vivo) 조절하는 방법이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 방법은 상기 세포가 존재하거나 존재할 가능성이 있거나 존재하였거나 존재할 가능성이 있었던 대상체의 한 부위, 예컨대 종양을 포함하는 병변을 파괴하는 것 (disrupting)을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 파괴는 병변의 환경, 예컨대 종양의 미세환경을 변화시킨다. 일부 구현예에 있어서, 상기 파괴는 생검이다. 일부 측면에서, 상기 제공되는 방법은 상기 파괴를 수행한 후에, 상기 조작된 세포의 증식 증가 및, 경우에 따라서는, 보다 견고하고 지속적인 반응이라는 결과를 낳는다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)

A61P 35/02 (2018.01)

C07K 16/2827 (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

A61K 2039/545 (2013.01)

(30) 우선권주장

62/444,784 2017년01월10일 미국(US)

62/492,950 2017년05월01일 미국(US)

62/514,777 2017년06월02일 미국(US)

62/515,512 2017년06월05일 미국(US)

62/549,391 2017년08월23일 미국(US)

62/580,414 2017년11월01일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

질환 또는 질병 상태를 갖는 대상체에게 치료를 결과하는 것을 포함하는, 유전적으로 조작된 세포를 증식시키는 방법으로,

상기 치료는 병변이나 그 일부분에 대한 면역조절 제제의 투여, 방사선 조사 또는 물리적 또는 기계적 조작 중 하나 이상을 포함하고, 상기 대상체는 질환 또는 질병 상태를 치료하기 위하여 이전에 상기 유전적으로 조작된 세포의 투여를 받았으며,

상기 방법은 상기 대상체 내, 상기 병변 내, 및/또는 상기 대상체의 조직 또는 기관 또는 유액 내에서 상기 조작된 세포의 증식이라는 결과를 낳고, 및/또는 상기 병변, 조직 또는 기관 또는 유액 내 상기 조작된 세포의 수 증가라는 결과를 낳는 것인 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 방법은 유전적으로 조작된 세포의 후속 투여를 포함하지 않고 및/또는 상기 증식은 상기 유전적으로 조작된 세포의 그러한 후속 투여 없이 달성되는 것인 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 병변 또는 그의 일부분에서, 상기 조작된 세포는 존재하거나 존재할 가능성이 있거나 존재하였거나 존재할 가능성이 있었던 것인 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 병변은 종양인 것인 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 종양은 1차 또는 2차 종양인 것인 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 병변 골수 조직이거나 그를 포함하는 것인 방법.

청구항 7

제1항, 제2항 및 제4항 내지 제6항 중 어느 하나의 항에 있어서, 치료 시점에 또는 그 직전에, 상기 대상체는 상기 유전적으로 조작된 세포에 대한 반응 후에, 임의로 관해 후에 재발하였고, 및/또는 상기 유전적으로 조작된 세포의 투여에 반응하지 않았던 것인 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 대상체는, 상기 유전적으로 조작된 세포의 이전의 투여에 대하여 반응한 후 재발하였고 및/또는 그에 반응하지 않았던 것인 방법.

청구항 9

제1항 내지 제7항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 대상체는 상기 유전적으로 조작된 세포에 대하여 반응하였고, 상기 치료 전에, 후속하여 반응하기를 멈추었고 및/또는 재발한 것인 방법.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 유전적으로 조작된 세포는 상기 대상체에서 이전에 증식되었거나, 상기 치료 전에 증식되었던 것으로 관찰된 것인 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 치료 시점에 또는 그 직전에:

상기 대상체는 관해 상태에 있고;

혈액 내에서 검출 가능한 유전적으로 조작된 세포의 수는 감소되거나 검출 가능하지 않으며;

상기 대상체로부터의 혈액 또는 조직 또는 샘플, 임의로 혈액 내에서 검출 가능한 유전적으로 조작된 세포의 수는, 상기 유전적으로 조작된 세포의 투여 후 앞선 시점과 비교하여 감소되고; 및/또는

상기 대상체로부터의 혈액 또는 조직 또는 샘플, 임의로 혈액 내에서 검출 가능한 유전적으로 조작된 세포의 세포 수는, 상기 유전적으로 조작된 세포의 투여 개시 후 상기 대상체의 혈액에서 검출 가능한 또는 검출되는 상기 유전적으로 조작된 세포의 피크 또는 최대 수와 비교하여, 및/또는 상기 유전적으로 조작된 세포의 투여 다음 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 또는 14 또는 28 일 내 시점에서의 수준과 비교하여, 1.5-배, 2.0-배, 3.0-배, 4.0-배, 5.0-배, 10-배 또는 그 이상의 배수로 또는 그 이상으로 감소되는 것인 방법.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 치료는, 상기 유전적으로 조작된 세포의 투여 개시 후, 또는 상기 유전적으로 조작된 세포의 마지막 투여 후,

2 주, 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 1 년 또는 그 이상에,

약 2 주, 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 1 년 또는 그 이상에,

2 주, 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 1 년 또는 그 이상보다 더 후에,

약 2 주, 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 1 년 또는 그 이상보다 더 후에 수행되는 것인 방법.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 치료는, 상기 대상체의 생체 내에서 상기 유전적으로 조작된 T 세포의 활성 또는 기능을 직접적으로 또는 간접적으로 조절하는 것인 방법.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 치료는 면역조절 제제의 투여를 포함하는 것인 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 면역조절 제제는,

면역-억제 분자이거나 그를 포함하고,

면역 체크포인트 분자 또는 면역 체크포인트 경로의 구성원이거나 그를 포함하고, 및/또는

면역 체크포인트 분자 또는 경로의 조절자이거나 그를 포함하는 것인 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 면역 체크포인트 분자 또는 경로는,

PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA-4, LAG-3, TIM3, VISTA, 아데노신 수용체, CD73, CD39, 아데노신 2A 수용체 (A2AR) 또는 아데노신 또는 임의의 전술한 것들을 수반하는 경로이거나 그를 포함하는 것인 방법.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 면역조절 제제는,

BY55, MSB0010718C, 이필리무맙, 다클리주맙, 베바시주맙, 바실릭시맙, 이필리무맙, 니볼루맙, 펌브롤리주맙, MPDL3280A, 피딜리주맙, MK-3475, BMS-936559, 아테졸리주맙, 트레멜리주맙, IMP321, BMS-986016, LAG525, 우렐루맙, PF-05082566, TRX518, MK-4166, 다세투주맙, 루카투무맙, SEA-CD40, CP-870, CP-893, MEDI6469,

MEDI6383, MOXR0916, AMP-224, 아벨루맙, MEDI4736, PDR001, rHlgM12B7, 울로킵루맙, BKT140, Varlilumab, ARGX-110, MGA271, 리틸루맙, IPH2201, ARGX-115, 에막투주맙, CC-90002 및 MNRP1685A, 또는 그들의 항체-결합 단편인 것인 방법.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 면역조절 제제는 항-PD-L1 항체인 것인 방법.

청구항 19

제1항 내지 제23항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 항-PD-L1 항체는 MEDI14736, MDPL3280A, BMS-936559, LY3300054, 아테졸리주맙 또는 아벨루맙 또는 그들의 항원-결합 단편인 것인 방법.

청구항 20

제14항에 있어서, 상기 면역조절 제제는 탈리도마이드이거나 또는 탈리도마이드의 유도체 또는 유사체인 것인 방법.

청구항 21

제14항 또는 제20항에 있어서, 상기 면역조절 제제는,
레날리도마이드 또는 포말리도마이드, 아마도마이드,
레날리도마이드, 포말리도마이드, 아마도마이드의 입체이성질체 또는
그들의 약학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정체, 클라스레이트 또는 다형체인 것인 방법.

청구항 22

제14항, 제20항 및 제21항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 면역조절 제제는
레날리도마이드,
레날리도마이드의 입체이성질체 또는
그의 약학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정체, 클라스레이트 또는 다형체인 것인 방법.

청구항 23

제8항 내지 제22항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 재발 후이고 상기 치료 전에, 상기 대상체는 상기 질환 또는 질병 사태를 치료하기 위한 또는 상기 유전적으로 조작된 세포의 활성을 조절하기 위한 외인성이거나 재조합인 제제를 투여받지 않은 것인 방법.

청구항 24

제1항 내지 제14항 및 제23항 중 sjm 하나의 항에 있어서, 상기 치료는 방사선 조사를 포함하는 것인 방법.

청구항 25

제1항 내지 제14항 및 제23항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 치료는 상기 병변 또는 그 일부분에 대한 물리적 또는 기계적 조작을 포함하고, 임의로 상기 물리적 또는 기계적 조작은 상기 병변 또는 그 일부분의 부위를 침투하는 것 (penetrating)을 포함하는 것인 방법.

청구항 26

제25항에 있어서, 상기 물리적 또는 기계적 조작은 생검을 포함하는 것인 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 생검은 니들 또는 트로카로 수행되는 것인 방법.

청구항 28

제26항 또는 제27항에 있어서, 상기 생검은 절개 생검을 포함하는 것인 방법.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 방법은, 상기 치료의 직전 시점에서와 비교하여, 상기 유전적으로 조작된 세포의 증식, 또는 상기 유전적으로 조작된 세포의 수의 증가라는 결과를 낳는 것인 방법.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 유전적으로 조작된 세포의 증식은, 상기 치료 후, 24 시간, 48 시간, 96 시간, 7 일, 14 일 또는 28 일 내에 또는 약 24 시간, 48 시간, 96 시간, 7 일, 14 일 또는 28 일 내에 일어나는 것인 방법.

청구항 31

제1항 내지 제30항 중 어느 하나의 항에 있어서,

상기 증식은, 상기 치료 직전과 비교하여, 1.5-배, 2.0-배, 5.0-배, 10-배, 100-배, 200-배 또는 그 이상의, 또는 약 1.5-배, 2.0-배, 5.0-배, 10-배, 100-배, 200-배 또는 그 이상의, 혈액 내에서 검출 가능한 유전적으로 조작된 세포라는 결과를 낳거나; 또는

상기 증식은, 상기 치료 전에 혈액 내의 조작된 세포의 이전 피크 수준과 비교하여, 1.5-배, 2.0-배, 5.0-배, 10-배, 100-배, 200-배 또는 그 이상의, 또는 약 1.5-배, 2.0-배, 5.0-배, 10-배, 100-배, 200-배 또는 그 이상의, 혈액 내에서 검출 가능한 유전적으로 조작된 세포라는 결과를 낳는 것인 방법.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 치료 후 시점에서 혈액 내에서 검출 가능한 유전적으로 조작된 세포의 수는:

상기 치료 전 선행하는 시점에서 상기 유전적으로 조작된 세포의 수와 비교하여, 증가되고, 임의로 1.5-배, 2-배, 3-배, 4-배, 5-배, 10-배 또는 그 이상으로 증가되고;

상기 치료 전 상기 대상체의 혈액에서 검출 가능한 상기 유전적으로 조작된 세포의 피크 또는 최대 수보다, 1.5-배 2-배, 3-배, 4-배, 5-배, 10-배, 50-배, 100-배 이상 또는 그 이상이고;

그러한 세포의 최대 수준의 피크가 혈액에서 검출된 후의 시점에서 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0.5%, 0.2% 또는 0.1% 이상의 또는 약 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0.5%, 0.2% 또는 0.1% 이상의 상기 유전적으로 조작된 세포가 혈액에서 검출 가능한 것인 방법.

청구항 33

제1항 내지 제32항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 조작된 세포는 재조합 수용체를 발현하는 것인 방법.

청구항 34

제33항에 있어서, 상기 재조합 수용체는 상기 조작된 세포는, 상기 질환 또는 질병 상태와 관련된 또는 상기 병변 또는 그의 일부분의 세포에서 발현되는 항원에 특이적으로 결합하는 것인 방법.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 항원은 5T4, 8H9, avb6 인테그린, B7-H6, B 세포 성숙 항원 (BCMA), CA9, 암-고환 항원, 탄산 탈수 효소 9 (CAIX), CCL-1, CD19, CD20, CD22, CEA, 헤파티티스 B 표면 항원, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, CD44v6, CD44v7/8, CD123, CD138, CD171, 배암종 항원 (CEA), CE7, 사이클린, 사이클린 A2, c-Met, 듀얼 항원 (dual antigen), EGFR, 상피 당단백 2 (EPG-2), 상피 당단백 40 (EPG-40), EPHA2, 에프린B2, erb-B2, erb-B3, erb-B4, erbB 이량체, EGFR vIII, 에스트로젠 수용체, 태아 AchR, 엽산 수용체 알파, 엽산 결합 단백질 (FBP), FCRL5, FCRH5, 태아 아세틸콜린 수용체, G250/CAIX, GD2, GD3, gp100, Her2/neu (수용체 타 이로신 키나아제 erbB2), HMW-MAA, IL-22R-알파, IL-13 수용체 알파 2 (IL-13Ra2), 키나아제 삽입 도메인 수용체 (kdr), 카파 경쇄, 루이스 Y, L1-세포 부착 분자 (L1-CAM), 흑색종-관련 항원 (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-

A6, MART-1, 메소텔린, 쥐과 CMV, 뮤신 1 (MUC1), MUC16, NCAM, NKG2D, NKG2D 리간드, NY-ESO-1, O-아세틸화 GD2 (OGD2), 중앙태아성 항원, 흑색종 우선 발현 항원 (PRAME), PSCA, 프로게스테론 수용체, 서바이빈, ROR1, TAG72, tEGFR, VEGF 수용체, VEGF-R2, 윌름 종양 1 (WT-1), 병원체-특이적 항원 중으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 36

제1항 내지 제35항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 질환 또는 질병 상태는 종양 또는 암인 것인 방법.

청구항 37

제1항 내지 제36항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 질환 또는 질병 상태는 백혈병 또는 림프종인 것인 방법.

청구항 38

제1항 내지 제37항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 질환 또는 질병 상태는 B 세포 악성종양인 것인 방법.

청구항 39

제1항 내지 제38항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 질환 또는 질병 상태는 림프모구 백혈병 (ALL), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 골수성 백혈병 (CML), 비-호지킨 림프종 (NHL), 또는 미만성 대형-세포 림프종 (DLBCL), 또는 전술한 것들 중 임의의 것의 서브유형인 것인 방법.

청구항 40

제33항 내지 제39항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 재조합 수용체는 T 세포 수용체 또는 기능적 비-T 세포 수용체인 것인 방법.

청구항 41

제34항 내지 제40항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 재조합 수용체는 키메라 항원 수용체 (CAR)인 것인 방법.

청구항 42

제41항에 있어서, 상기 CAR은,
상기 항원에 특이적으로 결합하는 세포 외 항원-인식 도메인, 및
ITAM을 포함하는 세포 내 신호전달 도메인을 포함하는 것인 방법.

청구항 43

제34항 내지 제42항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 항원은 CD19인 것인 방법.

청구항 44

제42항 또는 제43항에 있어서, 상기 세포 내 신호전달 도메인은 CD3-제타 (CD3 ζ) 쉼의 세포 내 도메인을 포함하는 것인 방법.

청구항 45

제41항 내지 제44항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 CAR은 공자극 신호전달 영역을 더 포함하는 것인 방법.

청구항 46

제45항에 있어서, 상기 공자극 신호전달 도메인은 CD28 또는 4-1BB의 신호전달 도메인을 포함하는 것인 방법.

청구항 47

제1항 내지 제46항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 유전적으로 조작된 세포는 T 세포 또는 NK 세포를 포함하는 것인 방법.

청구항 48

제1항 내지 제46항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 유전적으로 조작된 세포는 T 세포이고, 상기 T 세포는 CD4+ 또는 CD8+ T 세포인 것인 방법.

청구항 49

제1항 내지 제48항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 유전적으로 조작된 T 세포로 이루어지는 세포의 요법은 대상체로부터 유래한 1차 세포를 포함하는 것인 방법.

청구항 50

제1항 내지 제49항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 유전적으로 조작된 세포로 이루어지는 세포는 상기 대상체에 자가조직성 (autologous)인 것인 방법.

청구항 51

제1항 내지 제49항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 유전적으로 조작된 세포로 이루어지는 세포는 상기 대상체에 동종이계성 (allogeneic)인 것인 방법.

청구항 52

제1항 내지 제51항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 대상체는 인간인 것인 방법.

청구항 53

제1항 내지 제52항 중 어느 하나의 항에 있어서, 이전에 투여된 상기 유전적으로 조작된 세포의 투여량은, 각각 포함하기로,

1×10^5 내지 5×10^8 개의, 또는 약 1×10^5 내지 5×10^8 개의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs) 수,

1×10^5 내지 1×10^8 개의, 또는 약 1×10^5 내지 1×10^8 개의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs) 수,

5×10^5 내지 1×10^7 개의, 또는 약 5×10^5 내지 1×10^7 개의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs) 수, 또는

1×10^6 내지 1×10^7 개의, 또는 약 1×10^6 내지 1×10^7 개의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs) 수인 것인 방법.

청구항 54

제1항 내지 제53항 중 어느 하나의 항에 있어서, 이전에 투여된 유전적으로 조작된 세포의 투여량은,

5×10^8 개 이하의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs),

1×10^8 개 이하의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs),

1×10^7 개 이하의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs),

0.5×10^7 개 이하의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs),

1×10^6 개 이하의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs),

0.5×10^6 개 이하의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs)인 것인 방법.

청구항 55

제1항 내지 제54항 중 어느 하나의 항에 있어서, 이전에 투여된 유전적으로 조작된 세포의 투여량은, 상기 대상체의 체중 kg당 각각 포함하기로

약 0.25×10^6 세포/kg 내지 5×10^6 세포/kg,

약 0.5×10^6 세포/kg 내지 3×10^6 세포/kg,

약 0.75×10^6 세포/kg 내지 2.5×10^6 세포/kg, 또는

약 1×10^6 세포/kg 내지 2×10^6 세포/kg 사이의 투여량을 포함하는 것인 방법.

청구항 56

제1항 내지 제55항 중 어느 하나의 항에 있어서, 유전적으로 조작된 세포의 투여량은,

상기 세포를 포함하는 단일 약학적 조성물로 투여되거나, 또는

상기 세포를 포함하는 복수 개의 조성물이 함께 투여되는 것인 방법.

청구항 57

제1항 내지 제56항 중 어느 하나의 항에 있어서,

투여되는 상기 유전적으로 조작된 세포는 분할 투여량 (split dose)이고,

상기 투여량의 세포는 3 일 이하의 기간에 걸쳐 상기 투여량의 세포를 총괄하여 포함하는 복수의 조성물로 투여되는 것인 방법.

청구항 58

제1항 내지 제57항 중 어느 하나의 항에 있어서,

상기 방법은 후속 치료를 결과하는 것을 포함하고,

상기 후속 치료는 병변 또는 그의 일부분에 대한 면역조절 제제의 투여, 방사선 조사, 또는 물리적 또는 기계적 조작 중 하나 이상의 포함하고,

임의로 상기 후속 치료는 상기 대상체가 선행 치료 후 반응한 다음 재발된 후에, 및/또는 상기 선행 치료 후 완전한 반응을 달성하지 못했던 후에 결과되는 것인 방법.

청구항 59

제58항에 있어서, 상기 대상체는 선행 치료 후 상기 유전적으로 조작된 세포에 반응했었고, 이어서 후속하는 반응을하기를 멈추었고 및/또는 후속하는 치료 전에 재발한 것인 방법.

청구항 60

제58항 또는 제59항에 있어서, 상기 유전적으로 조작된 세포는 상기 대상체 내에서 증식하였거나, 선행하는 치료 후 후속하는 치료 이전에 증식한 것인 방법.

청구항 61

제58항 내지 제60항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 후속하는 치료의 시점에 또는 그 직전에,

상기 대상체는 관해 상태에 있고;

혈액 내에서 검출 가능한 유전적으로 조작된 세포의 수는 감소되거나 검출 가능하지 않으며;

상기 대상체로부터의 혈액 또는 조직 또는 샘플, 임의로 혈액 내에서 검출 가능한 유전적으로 조작된 세포의 수는, 상기 선행하는 치료의 개시 후 앞선 시점과 비교하여 감소되고; 및/또는

상기 대상체로부터의 유액 또는 조직 또는 샘플, 임의로 혈액 내에서 검출 가능한 유전적으로 조작된 세포의 세포 수는, 상기 선행하는 치료의 개시 후 상기 대상체의 혈액에서 검출 가능한 또는 검출되는 상기 유전적으로 조작된 세포의 피크 또는 최대 수와 비교하여, 및/또는 상기 선행하는 치료의 개시 다음 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 또는 14 또는 28 일 내 시점에서의 수준과 비교하여, 1.5-배, 2.0-배, 3.0-배, 4.0-배, 5.0-배, 10-배 또는 그 이상의 배수로 또는 그 이상으로 감소되는 것인 방법.

청구항 62

제1항 내지 제61항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 유전적으로 조작된 세포는, 상기 유전적으로 조작된 세포가 상기 치료 없이 상기 대상체에게 투여되는 방법과 비교하여, 상기 대상체에서 증가된 또는 연장된 증식 및/또는 지속성을 나타내는 것인 방법.

청구항 63

제1항 내지 제62항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 방법은, 상기 유전적으로 조작된 세포가 상기 치료 없이 상기 대상체에게 투여되는 및/또는 상기 유전적으로 조작된 세포의 부재하에서 임의로 동일한 투여량이나 투여 일정으로 상기 치료가 결과되는 비교 가능한 방법으로 관찰될 감소와 비교하여, 종양 부담을 보다 큰 정도로 및/또는 더 긴 기간 동안 감소시키는 것인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

관련 출원에 대한 상호 참조

[0002]

[0001] 이 출원은, 그 내용이 전체로 참조로서 포함되는, 2016년 12월 3일자로 출원된 "METHODS FOR MODULATION OF GENETICALLY ENGINEERED CELLS"라는 표제의 미국 가출원 62/429,740, 2017년 1월 10일자로 출원된 "METHODS FOR MODULATION OF GENETICALLY ENGINEERED CELLS"라는 표제의 미국 가출원 62/444,784, 2017년 5월 1일자로 출원된 "METHODS FOR MODULATION OF GENETICALLY ENGINEERED CELLS"라는 표제의 미국 가출원 62/492,950, 2017년 6월 2일자로 출원된 "METHODS FOR MODULATION OF GENETICALLY ENGINEERED CELLS"라는 표제의 미국 가출원 62/514,777, 2017년 6월 5일자로 출원된 "METHODS FOR MODULATION OF GENETICALLY ENGINEERED CELLS"라는 표제의 미국 가출원 62/515,512, 2017년 8월 23일자로 출원된 "METHODS FOR MODULATION OF GENETICALLY ENGINEERED CELLS"라는 표제의 미국 가출원 62/549,391, 2017년 11월 1일자로 출원된 "METHODS FOR MODULATION OF GENETICALLY ENGINEERED CELLS"라는 표제의 미국 가출원 62/580,414로부터의 우선권을 주장한다.

[0003]

참조에 의한 서열 목록의 포함

[0004]

[0002] 이 출원은 전자적 형식의 서열 목록과 함께 출원된다. 상기 서열 목록은 2017년 11월 29일에 작성된 735042009140SeqList.txt라는 표제의 파일로서 제공되며, 그 크기는 34,855 KB이다. 상기 서열 목록 전자적 형식 내의 정보는 그 전체가 참조로서 포함된다.

[0005]

분야

[0006]

[0003] 본 발명은 일부 측면에 있어서, T 세포 수용체 (TCR) 또는 키메라 항원 수용체 (CAR)와 같은 재조합 수용체로 조작된 세포를 생체 내에서 (in vivo) 조절하는 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 방법은 상기 세포가 존재하거나 존재할 가능성이 있는 대상체의 한 부위 및/또는 종양과 같은 병변을 파괴하는 것 (disrupting) 및/또는 병변이나 그 일부분에 대한 물리적 또는 기계적 조작, 방사선 조사 또는 면역조절 제제의 투여 중 하나 이상을 포함하는 치료를 결과하는 것을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 파괴 및/또는 치료는 병변의 환경, 예컨대 종양의 미세환경을 변화시킨다. 일부 구현예에 있어서, 상기 파괴 및/또는 치료는 생검이다. 일부 측면에서, 상기 제공되는 방법은 상기 파괴 및/또는 치료를 수행한 후에, 상기 조작된 세포의 증식 증가 및, 경우에 따라서는, 보다 견고하고 지속적인 반응이라는 결과를 낳는다.

배경 기술

[0007]

[0004] 면역요법으로 다양한 전략이 있는데, 예를 들어, 유전적으로 조작된 항원 수용체, 예컨대 CAR와 같은, T 세포를 투여하는 것을 수반하는 입양 세포 치료법이 가능하다. 몇 가지 측면에서, 이용 가능한 방법이 완전히

만족스럽지 않을 수도 있다. 입양 세포 치료법을 위한 추가적인 전략에 대한 요구가 있는데, 예를 들어, 투여된 세포의 지속성, 활성 및/또는 증식과 반응을 강화하는 전략 및 세포를 조절하기 위한 전략이다. 이러한 요구를 충족시키는 방법이 제공된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

[0008] 요약

[0005] 본 발명에서 제공되는 것은, 유전적으로 조작된 세포를 증식시키는 방법으로, 상기 조작된 세포가 존재하거나 존재할 가능성이 있는 또는 존재하였거나 존재할 가능성이 있었던 대상체의 부위의 파괴를 결과하고 및/또는 병변이나 그 일부분에 대한 물리적 또는 기계적 조작, 방사선 조사 또는 면역조절 제제의 투여 중 하나 이상을 포함하는 치료를 결과하는 것을 들 수 있고, 상기 대상체는 질환 또는 질병 상태를 치료하기 위하여 이전에 유전적으로 조작된 세포의 투여를 받았으며, 상기 방법은 상기 대상체 내, 상기 부위 내, 및/또는 상기 대상체의 조직 또는 기관 또는 유액 내에서 상기 조작된 세포의 증식이라는 결과를 낳고, 및/또는 상기 부위, 조직 또는 기관 또는 유액 내 상기 조작된 세포의 수 증가라는 결과를 낳는 것이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 부위는 병변 또는 그 일부분이거나 그를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 병변은 종양이다. 특정 구현예에 있어서, 상기 종양은 1차 또는 2차 종양이다. 특정 구현예에 있어서, 상기 부위는 골수 조직이거나 그를 포함한다. 특정 구현예에 있어서, 상기 부위는 병변 또는 그 일부분이거나 그를 포함한다.

[0006] 이러한 임의의 구현예들 중 일부에서, 상기 파괴 및/또는 치료시 또는 그 직전에, 상기 대상체는 유전적으로 조작된 세포의 투여에 반응하여 관해된 다음에 재발한 대상체이다. 임의의 이러한 구현예들에 있어서, 상기 파괴 및/또는 치료시 또는 그 직전에: 상기 대상체는, 관해 상태에 있음; 혈중 검출가능한 조작된 세포의 수가 감소되거나 검출가능하지 않음; 상기 대상체로부터의 유액 또는 조직 또는 시료 중에, 필요에 따라 혈중에 검출가능한 조작된 세포의 수가 상기 조작된 세포의 투여 후 이전 시점에 비하여 감소됨; 및/또는 상기 대상체로부터의 유액 또는 조직 또는 시료 중에, 필요에 따라 혈중에 검출가능한 조작된 세포의 수가 상기 조작된 세포의 투여 개시 후 상기 대상체의 혈중에서 검출가능하거나 검출된 피크 또는 최대의 조작된 세포 수에 비하여 및/또는 상기 세포의 투여 다음에 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 또는 14 또는 28일 내 시점에서 수준에 비하여 1.5-배, 2.0-배, 3.0-배, 4.0-배, 5.0-배, 10-배 또는 그 이상의 배수로 감소하거나, 그 이상으로 감소한 대상체이다.

[0007] 이러한 임의의 구현예들 중 일부에서, 상기 파괴 및/또는 치료는 상기 유전적으로 조작된 세포의 투여 개시 후 또는 상기 유전적으로 조작된 세포의 최종 투여 후 2 주, 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 1 년 또는 이상의 시점에, 대략 그 시점에, 또는 그보다 더 후에, 또는 대략 그보다 더 후에 수행된다. 이러한 임의의 구현예들 중 일부에서, 상기 파괴 및/또는 치료는 면역조절 제제의 투여, 방사선 조사 또는 상기 부위 또는 병변에 대한 물리적 또는 기계적 조작 중 하나 이상을 포함한다.

[0008] 임의의 이러한 구현예들 중 일부에 있어서, 파괴 및/또는 치료는 면역조절 제제의 투여를 포함한다. 특정 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 면역-억제 분자이거나 그를 포함하고, 면역 체크포인트 분자 또는 면역 체크포인트 경로의 구성원이거나 이들을 포함하고, 및/또는 면역 체크포인트 분자 또는 경로의 조절자이거나 그를 포함한다. 특정 구현예에 있어서, 면역 체크포인트 분자 또는 경로는 PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA-4, LAG-3, TIM3, VISTA, 아데노신 수용체, CD73, CD39, 아데노신 2A 수용체 (A2AR) 또는 아데노신 또는 임의의 전술한 것들을 수반하는 경로이거나 그를 포함한다. 특정 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 탈리도마이드 또는 탈리도마이드의 유도체 또는 유사체이다. 특정 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 레날리도마이드 또는 포말리도마이드, 아바도마이드, 또는 레날리도마이드, 포말리도마이드, 아바도마이드의 입체 이성질체, 또는 그들의 약학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정체, 클라스레이트 (clathrate) 또는 다형체이다. 특정 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 레날리도마이드, 레날리도마이드의 입체 이성질체 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정체, 클라스레이트 또는 다형체이다.

[0009] 임의의 이러한 구현예들 중 일부에 있어서, 재발 이후 및 파괴 및/또는 치료 이전에, 대상체는 질환 또는 질병 상태를 치료하기 위하여 또는 조작된 세포의 활성을 조절하기 위하여 외인성 또는 재조합 제제를 투여

받지 않았다. 임의의 이러한 구현예들 중 일부에 있어서, 파괴 및/또는 치료는 방사선 조사를 포함한다. 임의의 이러한 구현예들 중 일부에 있어서, 파괴 및/또는 치료는 부위 또는 병변의 물리적 또는 기계적 조작을 포함하고, 필요에 따라 상기 부위 또는 병변에 대해 탐침하기 (probing), 찌르기 (poking) 또는 침투하기 (penetrating)를 포함한다. 임의의 이러한 구현예들 중 일부에 있어서, 물리적 또는 기계적 조작은 생검을 포함한다. 특정 구현예에 있어서, 생검은 니들 또는 트로카에 의하여 수행된다. 특정 구현예에 있어서, 생검은 절개 생검을 포함한다.

[0014] [0010] 임의의 이러한 구현예들 중 일부에 있어서, 상기 방법은 파괴 및/또는 치료 직전과 비교하여 유전적으로 조작된 세포의 증식 또는 상기 유전적으로 조작된 세포의 수의 증가를 결과한다. 특정 구현예에 있어서, 세포의 증식은 파괴 및/또는 치료 이후 24 시간, 48 시간, 96 시간, 7 일, 14 일 또는 28 일 이내에 또는 약 그 시간 이내에 일어난다. 특정 구현예에 있어서, 증식은 파괴 및/또는 치료 직전과 비교하여 1.5-배, 2.0-배, 5.0-배, 10-배, 100-배, 200-배 또는 더 많은 배수 이상, 또는 약 그 배수 이상의 혈액에서 검출 가능한 조작된 세포라는 결과를 낳거나; 또는 증식은 파괴 및/또는 치료 전에 혈액에서 조작된 세포의 이전 피크 수준과 비교하여 1.5-배, 2.0-배, 5.0-배, 10-배, 100-배, 200-배 또는 더 많은 배수 이상, 또는 약 그 배수 이상의 혈액에서 검출 가능한 조작된 세포라는 결과를 낳는다. 특정 구현예에 있어서, 파괴 및/또는 치료 이후 시각에 혈액에서 검출 가능한 조작된 세포의 수는: 파괴 및/또는 치료 이전의 전 시각의 조작된 세포의 수와 비교하여 증가된다 (예컨대, 1.5-배, 2-배, 3-배, 4-배, 5-배, 10-배 또는 그 이상으로 증가); 파괴 및/또는 치료 이전에 대상체의 혈액에서 검출 가능한 조작된 세포의 피크 또는 최대 수보다 1.5-배, 2-배, 3-배, 4-배, 5-배, 10-배, 50-배, 100-배 또는 그 이상; 조작된 세포의 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0.5%, 0.2% 또는 0.1% 이상 또는 약 그 % 이상이 그러한 세포의 최대 수준의 피크가 혈액에서 검출된 이후 시각에 혈액에서 검출 가능하다.

[0015] [0011] 임의의 그러한 구현예들 중 일부에 있어서, 조작된 세포는 질환 또는 장애와 관련된, 또는 그 환경이나 병변의 세포에서 발현되는 항원에 특이적으로 결합하는 재조합 수용체를 발현한다. 임의의 그러한 구현예들 중 일부에 있어서, 질환 또는 질병 상태는 종양 또는 암이다. 임의의 그러한 구현예들 중 일부에 있어서, 질환 또는 질병 상태는 백혈병 또는 림프종이다. 임의의 그러한 구현예들 중 일부에 있어서, 질환 또는 질병 상태는 비-H지킨 림프종 (NHL), 급성 림프모구 백혈병 (ALL) 또는 만성 림프구성 백혈병 (CLL)이다. 임의의 이러한 구현예들 중 일부에 있어서, 재조합 수용체는 T 세포 수용체 또는 기능적 비-T 세포 수용체이다. 임의의 이러한 구현예들 중 일부에 있어서, 재조합 수용체는 키메라 항원 수용체 (CAR)이다.

[0016] [0012] 일부 구현예에 있어서, CAR은 항원에 특이적으로 결합하는 세포 외 항원-인식 도메인 및 ITAM을 포함하는 세포 내 신호전달 도메인을 포함한다. 특정 구현예에 있어서, 항원은 CD19이다. 특정 구현예에 있어서, 세포 내 신호전달 도메인은 CD3-제타 (CD3ζ) 사슬의 세포 내 도메인을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, CAR은 보조 자극 신호전달 영역을 더 포함한다. 특정 구현예에 있어서, 보조자극 신호전달 도메인은 CD28 또는 4-1BB의 신호전달 도메인을 포함한다. 특정 구현예에 있어서, 조작된 세포는 CD4+ 또는 CD8+ T 세포이다. 임의의 그러한 구현예들 중 일부에 있어서, 조작된 세포는 대상체 자가조직성 (autologous)인 것이다.

[0017] [0013] 임의의 그러한 구현예들 중 일부에 있어서, 조작된 세포는 대상체에 대해 동종이계성 (allogeneic)이다. 임의의 이러한 구현예들 중 일부에 있어서, 투여되는 조작된 세포는, 대상체의 체중 kg당 약 0.25×10^6 세포 내지 5×10^6 세포/kg 사이, 대상체의 체중 kg당 약 0.5×10^6 세포 내지 3×10^6 세포/kg 사이, 대상체의 체중 kg당 약 0.75×10^6 세포 내지 2.5×10^6 세포/kg 사이 또는 대상체의 체중 kg당 약 1×10^6 세포 내지 1×10^6 세포/kg 사이로 각 포함된다. 임의의 이러한 구현예들 중 일부에 있어서, 조작된 세포는 상기 세포를 포함하는 단일 약학적 조성물로 투여된다. 임의의 이러한 구현예들 중 일부에 있어서, 투여되는 조작된 세포는 분할 투여량 (split dose)이며, 상기 투여량의 세포는 3 일 이하의 기간에 걸쳐 상기 투여량의 세포를 총괄하여 포함하는 복수의 조성물로 투여된다.

[0018] [0014] 본 발명에서는 대상체에게 치료 요법을 적용하는 것을 포함하는 치료 방법이 제공되고, 상기 대상체는 질환 또는 질병 상태를 치료하기 위해 이전에 유전적으로 조작된 세포를 투여받았고, 상기 방법은 대상체에서, 상기 대상체의 부위에서 및/또는 조직 또는 기관 또는 유액에서 상기 조작된 세포의 증식이라는 결과를 낳고 및/또는 상기 부위, 조직 또는 기관 또는 유액에서 상기 조작된 세포의 수 증가라는 결과를 낳는다.

[0019] [0015] 특정 구현예에 있어서, 치료 요법은 조작된 세포가 존재하거나, 존재하는 것이나 존재했을 것으로 의심되거나, 또는 존재할 가능성이 있는 대상체의 부위의 파괴를 포함하고, 및/또는 병변 또는 그의 일부분에 대한 하나 이상의 물리적 또는 기계적 조작, 방사선 조사 또는 면역조절 제제의 투여를 포함한다. 특정 구현예에 있

어서, 치료 요법 및/또는 방법은 유전적으로 조작된 세포의 후속 투여를 포함하지 않고 및/또는 이러한 후속 투여없이 증식은 달성된다. 일부 구현예에 있어서, 치료 요법은 준-치료적 투여량으로 투여되고 및/또는 유전적으로 조작된 세포의 증식을 통하여 그의 치료 효과를 이끌어 낸다. 특정 구현예에 있어서, 대상체는 유전적으로 조작된 세포의 이전 투여에 대한 반응 후에 재발하였고, 및/또는 이에 반응하지 않았다. 일부 구현예에 있어서, 대상체는 유전적으로 조작된 세포에 반응했었고 이어서 반응하기를 멈추었고 및/또는 재발하였다.

도면의 간단한 설명

[0021]

[0016] **도 1a**는 총체적 반응이 가장 우수한 것으로 그룹화된 대상체들에 대하여 주입 후 특정 시점에서 측정된 말초 혈액 중 CD3+/CAR+ T 세포의 수를 나타낸다.

[0017] **도 1b-1d**는 3 개월에 지속적 반응한 것으로 그룹화된 반응을 달성한 대상체들에 대하여 주입 후 특정 시점에서 측정된 말초 혈액에서 CD3+/CAR+ T 세포, CD4+/CAR+ T 및 CD8+/CAR+ T 세포 수준을 나타낸다.

[0018] **도 2a**는 특정 시점에서 측정된 화학적 난치 변형 DLBCL 대상체의 말초 혈액에서 CD3+/CAR+, CD4+/CAR+, CD8+/CAR+ T 세포의 수를 나타낸다. **도 2b**는 우측 후두부 영역의 피하 조직에서의 오른쪽 중간 두개와 (cranial fossa)의 두개 내 이상 및 광범위한 이상을 보여주는 전처리 측정 PET-CT 이미지를 나타낸다. **도 2c**는 항-CD19 CAR+ T 세포로 처리한 후 **도 2b**의 이상에 대한 해소를 나타낸 후처리 PET-CT 이미지이다. **도 2d**는 오른쪽 중간 두개와에서 균일하게 증가하는 질량을 보여주는 전처리 뇌 MRI (조영제 사용한 고해상도 T1-강조 이미지, 측정도)이다. **도 2e**는 증가하는 질량의 거의-완전한 (near-complete) 해소를 보여주는 치료 후 MRI 이미지이다. **도 2f**는 ¹⁸F-플루오로디옥시글리코오스의 다량 섭취와 관련된 오른쪽 후부 이종양 (posterior auricular tumor) 재발을 보여주는 측정 PET-CT 이미지이다. **도 2g**는 절개 생검 및 CAR+ T 세포의 재-증식 후 후부 이종양의 해소를 보여주는 PET-CT 이미지이다.

[0019] **도 3**은 대상체의 $\geq 20\%$ 에서 발생한 실험실 이상 및 치료-응급 부작용 사례 (TEAE)를 경험한 대상체의 백분율을 보여준다. *: 연구 치료와 무관하고 림프종의 진행으로 인한 다-기관 부전의 1급 5AE; †: 점진적 호흡 부전에 대한 기계 호흡을 거부하였지만 성장 인자 및 광범위한 항생제 및 항진균제에 대하여 호중구 감소적 (neutropenic)인 대상체에서 23일에 발생한, 조사자가 플루다라빈, 시클로 포스파마이드 및 CAR T 세포 요법과 관련되었다고 평가한, 미만성 폐포 손상의 1급 5 AE.

[0020] **도 4**는 CRS 및 신경 독성의 발병까지 관측된 시간을 보여주는 카플란 마이어 곡선 (Kaplan meier curve)이다.

[0021] **도 5a** 및 **도 5b**는, 치료된 대상체의 하위그룹 간의 반응 속도를 보여준다.

[0022] **도 6a** 및 **도 6b**는, 전체 및 핵심 코호트에서의 반응 지속 기간 (CR/PR, CR 또는 PR) 및 전체 생존율을 보여준다.

[0023] **도 7a**는 상이한 투여 수준의 치료-후 다양한 시점에서 말초 혈액 중의 CAR+ T 세포의 약물동력학을 보여준다.

[0024] **도 7b**는 반응체와 비반응체 간의 치료-후 다양한 시점에서 말초 혈액중의 CAR + T 세포의 약물동력학을 보여준다.

[0025] **도 7c**는 임의의 신경 독성을 발병하거나 발병하지 않은 대상체에서 치료-후 다양한 시점에서 말초 혈액 중의 CAR+ T 세포의 약물동력학을 보여준다.

[0026] **도 8**은 CAR+ T 세포의 투여 전에 대상체의 혈청 내에서 측정된 분석물 수준과 신경 독성 발병에 대한 상관관계를 보여준다.

[0027] **도 9**는, CAR-T-발현 CD4+ 및 CD8+ T 세포를 함유하는 항-CD19 세포 요법으로 치료된 NHL 대상체들의 전체 코호트 및 코어 코호트 내의 개별적인 대상체들에서, 무-진행 시간 (개월)을 플롯팅하고 총 최고 반응 및 반응 지속, 및 기간에 걸쳐 관찰된 개별적인 임상 결과를 나타낸 그래프를 보여준다. a: 별도로 명시된 경우를 제외하고, 1 개월에 BOR 획득한 환자들; b: 2 명의 환자에서 관찰된 림프종에 의한 CNS 관여에 대한 완전한 해소; c: 질병 진행에 따라 생검 후 재-확장된 1명의 환자.

상세한 설명

I. 입양 세포 요법에서 유전적으로 조작된 세포 조절

[0028] 생체 내에서 유전적으로 조작된 세포를 조절하는 방법, 예컨대 대상체에게 투여된 유전적으로 조작된 세포의 증폭, 증식 및/또는 활성화를 부양 (boosting), 증대 (augmenting), 증가 (increasing)시키는 방법이 본 발명에서 제공된다. 일부 구현예에 있어서, 상기 제공된 방법은, 대상체에게 유전적으로 조작된 세포, 예컨대 재조합 수용체-발현 세포 (예컨대 CAR+T 세포)를 투여한 후, 상기 조작된 세포가 존재하거나 존재할 가능성이 있는 상기 대상체의 부위, 예컨대 조직, 기관 매쓰 또는 병변 부위 또는 그의 한 영역 또는 일부분을 파괴, 예컨대 조작하는 것 및/또는 병변 또는 그 일부분에 대한 하나 이상의 물리적 또는 기계적 조작, 방사선 조사 또는 면역조절 제제의 투여 중 하나 이상을 포함하는 치료를 결과하는 것을 수반한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 부위 (예를 들어, 대상체의 조직, 기관, 매쓰 또는 병변 부위 또는 그의 한 영역 또는 일부분)은 유전적으로 조작된 세포에 의하여 인식되는 항원-발현 세포를 함유하는 것으로 알려지거나 의심된다. 특히, 대상체의 다른 부위 또는 영역에 비하여, 상기 표적 부위는 상기 대상체의 다른 부위에 대하여 또는 그와 비교하여 더 높거나 더 많은 농도나 양의 항원 또는 항원-특이적 세포들을 갖는 것으로 알려지거나 의심되는 부위이다.

[0029] 일부 구현예에 있어서, 치료 및/또는 파괴는 상기 부위의 환경을 변화시키는데, 예컨대 상기 병변의 환경, 예컨대 중앙 미세환경을 변화시킨다. 어떤 경우에는, 상기 변경은 유전적으로 조작된 T 세포의 활성을 직접적으로 또는 간접적으로 조절하기 위한 그러한 것이다. 일부 측면에 있어서, 상기 변경은 이전에 투여된 유전적으로 조작된 세포, 예컨대 재조합 수용체-발현 세포 (예를 들어, CAR+T 세포)의 생체 내 재활성화, 증폭 및/또는 증식을 촉진하기에 충분하다.

[0030] T 세포-기반 요법, 예컨대 입양 T 세포 요법 (대상 질환 또는 질병에 특이적인 키메라 수용체, 예컨대 키메라 항원 수용체 (CARs) 및/또는 다른 재조합 항원 수용체를 발현하는 세포 뿐 아니라 다른 입양 면역 세포를 투여하는 것을 포함하는 요법들 입양 T 세포 요법들을 포함함)은 암 및 기타 질병 및 장애의 치료에 효과적인 일 수 있다. 특정 상황상, 입양 세포 요법에 사용할 수 있는 접근법은 항상 완전히 만족스럽지는 않을 수 있다. 일부 상황에서, 최적 효능은 표적, 예컨대, 표적 항원을 인식하고 그를 표적하는, 대상체 내의 적절한 위치, 중앙, 및 그 환경으로 이동하고, 그곳으로 위치하고 성공적으로 진입하는 상기 투여된 세포의 능력에 달려있을 수 있다. 일부 상황에서, 최적의 효능은, 활성화되는, 증폭하는, 예컨대 세포독성 살상 및 사이토카인과 같은 다양한 인자들의 분비를 포함하는 다양한 효과기 기능을 작용, 지속, 예컨대 장기간 지속, 분화, 전이 또는 특정 표현형적 상태로의 재프로그래밍에 관여 (예컨대, 장기 기억, 덜 분화된, 및 효과기 상태), 질병의 국소적 미세환경에서 면역 억제 상태를 회피하거나 저감, 청소 (clearance) 다음에 효과적이고 강인한 재반응 (recall response) 및 표적 리간드 또는 항체에 대한 재노출을 제공, 및 고갈, 아네르기, 말초 내성, 말단 분화 및/또는 억제 상태로의 분화를 회피하거나 감소시키는 상기 투여된 세포의 능력에 달려있을 수 있다.

[0031] 일부 측면에서, 면역 요법, 예를 들어, T 세포 요법의 효능은 질환 또는 장애의 국소적 미세환경, 예를 들어 TME에 존재하는 면역 억제 활성 또는 인자에 의해 제한될 수 있다. 일부 측면에서, TME는 T 세포 요법을 위해 투여된 T 세포의 활성, 기능, 증식, 생존 및/또는 지속을 억제할 수 있는 인자 또는 조건을 함유하거나 생성한다.

[0032] 일부 구현예에 있어서, 조작된 세포의 노출 및 지속은 환자에게 투여 한 후에 감소되거나 내려간다. 그러나, 일부 경우, 재조합 수용체를 발현하는 투여 되는 세포에 대하여 대상체의 노출 증가는 (예를 들어, 세포 수 증가 또는 지속 시간 증가) 입양 세포 요법에서의 효능 및 치료 결과를 향상시킬 수 있다는 관찰이 있다. 다수의 임상 실험에서 다양한 CD19-발현 암을 가진 대상체들에 대해 상이한 CD19-표적화 CAR-발현 T 세포를 투여한 다음에 수행된 1차 분석은 CAR-발현 세포에의 더 많고 및/또는 더 긴 노출 정도와 치료 결과 사이의 상관 관계를 밝혀주었다. 이러한 결과는, 중증의 또는 상당한 중앙 부하를 가진 개체들에서의 환자 생존과 관해도 포함하였다. 일부 측면에서, 본 발명에서 제공되는 방법에 의해 관찰되는 안전성 프로파일은 제공되는 바 치료적 T 세포 조성물 및 질환 또는 질병 상태를 치료하기 위한 다른 요법, 예컨대 면역조절 제제, 예컨대 체크포인트 길항제를 포함하는 병용 요법에 대한 원치 않은 안전성 우려의 위험을 감소시킬 수 있다.

[0033] 유전적으로 조작된 T 세포를 투여받은 대상체에서, 병변을 파괴하고 및/또는 병변 또는 그의 일부분에 대한 물리적 또는 기계적 조작, 방사선 투여 또는 면역조절 제제의 투여 중 하나 이상을 포함하는 치료를 결과하는 것은, 심지어 상기 대상체가 재발한 이후에도 상기 대상체에서 상기 세포의 실질적인 증폭이라는 결과를 낳는다는 것이 본 발명에서 밝혀졌다. 본 발명에서는 세포가 존재하거나 존재할 가능성이 있는 대상체의 부위를 파괴, 예컨대 조작하고 및/또는 병변 또는 그의 일부분에 대한 물리적 또는 기계적 조작, 방사선 조사 또는 면

역조절 제제의 투여 중 하나 이상을 포함하는 치료를 결과하는 방법이 제공된다. 일부 구현예에 있어서, 상기 부위는 종양 또는 암과 같은 병변이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 병변에서 또는 그 근처에서, 예컨대 종양에서 또는 그 근처에서, 또는 상기 병변과 관련된 미세환경, 예컨대 종양 미세환경 (TME)에서 또는 그 근처에서 기계적 또는 물리적 변경에 의하여 수행될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 상기 파괴 및/또는 치료는 T 세포 또는 상기 병변 또는 상기 병변의 미세환경과 관련된 하나의 세포 또는 세포들의 활성을 조절할 수 있는 약리학적 제제 또는 치료적 제제, 예컨대 면역조절 제제 또는 기타 제제의 투여에 의하여 결과될 수 있다. 일부 경우에 있어서, 상기 약리학적 제제는 병변의 위치에 표적화되는 또는 상기 병변의 세포, 예컨대 상기 종양 미세환경의 세포에 특이적으로 결합하는 치료적 제제이다. 일부 구현예에 있어서, 기계적 파괴 또는 약리학적 제제, 예컨대 면역조절 제제의 투여에 의한 것과 같은 파괴 및/또는 치료는 상기 재조합 수용체-발현 T 세포, 예컨대 CAR+ T 세포의 투여 개시 후 1 주, 2 주, 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 1 년, 2 년 또는 그 이상보다 더 오래 또는 약 그 시간보다 더 오래 수행된다.

[0034] 일부 구현예에 있어서, 상기 파괴 및/또는 치료, 예컨대 약리학적 제제 또는 치료적 제제의 투여의 시점에 또는 그 직전에, 대상체는 치료 후 관해 다음에 재발하였다.

A. 병변

[0035] 제공되는 방법의 측면에 있어서, 조작된 세포가 존재하거나 존재할 가능성이 있거나 존재하였거나 존재할 가능성이 있었던 대상체의 부위는 병변이거나 병변의 일부분이다. 일부 측면에서, 상기 병변은 투여되는 재조합 수용체-발현 세포에 의해 인식되는 항원-발현 세포를 함유하는 것으로 알려지거나 의심되는 것이다. 제공되는 방법은 병변을 파괴하고 및/또는 대상체를 치료하여 유전적으로 조작된 세포를 생체내 조절하기 위하여 수행된다.

[0036] 일부 구현예에 있어서, 병변은 상처 또는 질병을 통해 손상된 기관 또는 조직의 임의의 부위를 포함한다. 특정 구현예에 있어서, 병변은 상처 또는 질병으로 인해 구조에 있어서 비정상적인 변화를 겪었고 및/또는 겪고 있는 기관 또는 조직의 임의의 부위이다. 일부 구현예에 있어서, 병변은 경계가 있고, 잘 구획되어 있다. 일부 구현예에 있어서, 병변은 비암성이다. 특정 구현예에 있어서, 병변은 비종양성이다. 특정 구현예에 있어서, 병변은 암성이거나 암성인 것으로 의심된다. 특정 구현예에 있어서, 병변은 종양이다.

[0037] 일부 구현예에 있어서, 상기 병변은 기관 또는 조직에서 발견되는 병변이다. 특정 구현예에 있어서, 상기 병변은 결합 조직, 근육 조직, 신경 조직 또는 상피 조직에 존재한다. 특정 구현예에 있어서, 상기 병변은 심장, 혈관계, 타액선, 식도, 위, 간, 담낭, 췌장, 소장, 결장, 직장, 시상 하부, 뇌하수체, 술방울샘, 갑상선, 부갑상선, 부신, 신장, 요관, 방광, 요도, 림프계, 피부, 근육, 뇌, 척수, 신경, 난소, 자궁, 고환, 전립선, 인두, 후두, 기관, 기관지, 폐, 횡격막, 뼈, 연골, 인대 또는 힘줄에 존재한다.

[0038] 특정 구현예에 있어서, 상기 병변은: 연조직의 병변, 예를 들어 Morel-Lavallee 병변, Bankart 병변, Perthes 병변, Stener 병변, 또는 SLAP 병변; 뼈 병변, 예를 들어, 비골화 섬유종, ALPSA 병변, 또는 Hill-Sachs 병변; 피부 병변, 예를 들어 멜라닌세포 모반, 구역성 병변 또는 오슬러 결절; 점액루성각피증, 흑색구진성피부병, 백혈병성피진, Janeway 병변, Kaposi 육종, 반문상모반, 만성홍터각화증; 위장 병변, 예를 들면, Dieulafoy 병변 또는 Cameron 병변; 내배엽 병변, 예컨대 멜라닌 세포 구강 병변, 자궁내막상피내종양; 기타 병변, 예컨대 Ghon 발소, 양성 림프상피 병변, 다발성 경화증 병변, 열대성 궤양 또는 헤르페스 생인손으로부터 선택된다.

[0039] 특정 구현예에 있어서, 상기 병변은 종양 또는 신생물이다. 특정 구현예에 있어서, 상기 종양은 양성이다. 특정 구현예에 있어서, 상기 종양은 전암성 또는 암성이거나, 암성 또는 전암성인 것으로 의심된다. 특정 구현예에 있어서, 상기 종양은 원발성 종양인데, 즉 상기 종양은 병변이 최초로 발병하거나 출현한 해부학적 위치에서 발견된다. 일부 구현예에 있어서, 상기 종양은 2차 종양인데, 예를 들어 체내의 다른 위치 내에 자리한 원발성 종양 내의 세포로부터 유래된 암성 종양이다.

[0040] 일부 구현예에 있어서, 병변은 B 세포 악성 종양 또는 혈액학적 악성 종양인 암 또는 증식성 질환과 관련되거나 그에 의하여 유발되거나, 또는 관련되거나 그에 의하여 유발되는 것으로 의심된다. 일부 구현예에 있어서, 상기 암 또는 증식성 질환은 급성 림프모구 백혈병 (ALL), 비-호지킨 림프종 (NHL) 또는 만성 림프구성 백혈병 (CLL)이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 암은 CLL이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 병변은 골수종, 림프종 또는 백혈병과 관련되거나 그에 의하여 유발되거나, 그와 관련되거나 그에 의하여 유발되는 것으로 의심된다. 일부 구현예에 있어서, 상기 병변은 비-호지킨 림프종 (NHL), 급성 림프모구 백혈병 (ALL), 만성 림프구성

백혈병 (CLL), 미만성 대형-세포 림프종 (DLBCL), 급성 골수성 백혈병 (AML) 또는 골수종, 예를 들어 다발성 골수종 (MM)과 관련되거나 그에 의하여 유발되거나, 그와 관련되거나 그에 의하여 유발되는 것으로 의심된다. 일부 구현예에 있어서, 상기 병변은 MM 또는 DBCBL과 관련되거나 그에 의하여 유발되거나, 그와 관련되거나 그에 의하여 유발되는 것으로 의심된다.

[0041] 특정 구현예에 있어서, 상기 병변은 비-혈액학적 암과 관련되거나 그에 의하여 유발되거나, 그와 관련되거나 그에 의하여 유발되는 것으로 의심되는데, 예컨대 상기 병변은 고형 종양이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 병변은 방광암, 폐암, 뇌암, 흑색종 (예: 소-세포 폐, 흑색종), 유방암, 자궁경부암, 난소암, 결장암, 췌장암, 자궁내막암, 식도암, 신장암, 간암, 전립선암, 피부암, 갑상선암 또는 자궁암과 관련되거나 그에 의하여 유발되거나, 그와 관련되거나 그에 의하여 유발되는 것으로 의심된다. 일부 구현예에 있어서, 상기 병변은 췌장암, 방광암, 대장암 (colorectal cancer), 유방암, 전립선암, 신장암, 간세포암, 폐암, 난소암, 자궁경부암, 췌장암, 직장암, 갑상선암, 자궁암, 위암, 식도암, 두경부암, 흑색종, 신경내분비암, CNS 암, 뇌종양, 골암 또는 연조직 육종과 관련되거나 그에 의하여 유발된다.

[0042] 특정 구현예에 있어서, 상기 병변은 하나 이상의 암 세포를 함유하거나 또는 함유하는 것으로 의심되는 종양이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 병변은 AIDS-관련 암, 유방암, 소화/위장관암, 항문암, 충수암, 담관암, 대장암 (colon cancer), 대장암 (colorectal cancer), 식도암, 담낭암, 도세포 종양, 췌장 신경내분비 종양, 간암, 췌장암, 직장암, 소장암, 위암, 내분비계암, 부신피질암, 부갑상선암, 갈색세포종, 뇌하수체 종양, 갑상선암, 안암, 안구내 흑색종, 망막모세포종, 방광암, 신장 (신장 세포) 암, 음경암, 전립선암, 이행 세포 신우 및 요관 암, 고환암, 요도암, Wilms 종양 또는 기타 소아 신장 종양, 생식세포암, 중추 신경계 암, 두개의 생식세포암, 고환외 생식세포암, 난소 생식세포암, 부인과 암, 자궁경부암, 자궁내막암, 임신성 용모성 종양, 난소 상피암, 자궁 육종, 질암, 외음부암, 두경부암, 하인두암, 후두암, 입술 및 구강암, 전이성 편평 경부암 (metastatic squamous neck cancer), 비인두암, 구강인두암, 부비동 및 비강암, 인두암, 침샘암, 인후암, 근골격계암, 골암, Ewing 육종, 위장관 기질 종양 (GIST), 골육종, 뼈의 악성 섬유성 조직 구종, 횡문근 육종, 연조직 육종, 자궁 육종, 신경학적 암, 뇌종양, 성상세포종, 뇌간 신경 교종, 중추 신경계 비정형 유기형/간상 종양, 중추 신경계 배아 종양, 중추 신경계 생식세포 종양, 두개인두종, 상피세포종, 수모세포종, 척수 종양, 천막상 원시신경외배엽종양 및 술방울샘모세포종, 신경모세포종, 호흡기암, 흉부암, 비-소세포 폐암, 소세포 폐암, 악성 증피종, 흉선종, 흉선암, 피부암, Kaposi 육종, 흑색종 또는 Merkel 세포암으로부터 유래되는 암 세포를 함유하거나 또는 함유하는 것으로 의심되는 종양이다.

B. 병변의 치료 및/또는 파괴

[0043] 치료를 결과하고 및/또는 병변, 예컨대 종양을 파괴하여 생체 내 유전적으로 조작된 세포를 조절하는 방법, 예컨대 대상체에게 투여되는 유전적으로 조작된 세포의 증폭을 부양, 증대 또는 증가시키는 방법이 본 발명에서 제공된다. 일부 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴는 기계적 파괴, 예컨대, 생검, 방사선 조사에 의한 치료 및/또는 파괴, 예컨대 외부 빔 조사, 및/또는 약리학적 파괴, 예컨대 면역조절 체제를 이용한 치료를 포함한다.

[0044] 일부 구현예에 있어서, 병변의 치료 및/또는 파괴는, 직접적으로 또는 간접적으로, 예컨대 상기 병변과 관련된 미세환경을 변경시킴으로써 재조합 수용체-발현 T 세포, 예를 들어, CAR+ T 세포와 같은 조작된 T 세포를 변경시키는 임의의 조작, 방법 또는 치료이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 조작, 방법 또는 치료는 기계적 파괴, 예컨대 생검이다. 특정 구현예에 있어서, 상기 조작, 방법 또는 치료는 상기 병변을 갖는 대상체에게 약리학적 체제를 투여하는 것이다. 특정 구현예에 있어서, 상기 조작, 방법 또는 치료는 상기 병변에 방사선 조사를 적용하는 것이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴는, 적어도 처음에 또는 즉시 상기 병변 내의 세포의 수를 감소시킨다.

[0045] 특정 구현예에 있어서, 병변의 치료 및/또는 파괴는 조작된 세포, 예컨대 CAR을 발현하는 세포가 존재하거나 존재할 가능성이 있는 대상체의 부위를 파괴하는 것을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 병변을 파괴하는 것은 유전적으로 조작된 세포가 한때 존재하였던 부위 또는 유전적으로 조작된 세포가 존재할 가능성이 있었던 부위를 파괴하는 것을 포함한다.

[0046] 특정 구현예에 있어서, 병변은 치료 및/또는 파괴되어 생체내 유전적으로 조작된 세포를 조절하는데, 상기 치료 및/또는 파괴는 상기 병변 또는 상기 병변과 관련된 미세환경, 예컨대 종양 미세환경 (TME)의 변경이거나 그를 결과한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 변경은 상기 미세환경의 적어도 하나의 요소의 변형, 변화, 치환 또는 변환을 포함할 수 있다. 특정 구현예에 있어서, 상기 변경은 상기 치료 및/또는 파괴가 수행되기 전 상

기 병변이나 미세환경과 비교하여 상기 병변 또는 미세환경의 변형, 변화, 치환 또는 변환을 말한다. 특정 구현예에 있어서, 상기 변경은 치료 및/또는 파괴를 받지 않았던 유사한 병변, 예컨대 동일한 유형, 예컨대 종양 유형의 병변, 또는 동일한 종양 유형의 미세환경과 비교하여 상기 병변 또는 미세환경의 변형, 변화, 치환 또는 변환을 말한다. 특정 구현예에 있어서, 상기 유사한 병변은 상이한 대상체 내의 것이다. 특정 구현예에 있어서, 상기 유사한 병변은 치료된 및/또는 파괴된 병변과 동일한 대상체 내의 것이다.

[0047] 일부 구현예에 있어서, 미세환경의 요소는, 병변 내 또는 병변 주위의 세포, 예컨대 암 세포, 비-병변 세포, 및 상기 미세환경 내에서 상기 세포들에 의하여 분비, 방출 및/또는 발현되는 분자들, 예컨대 신호전달 분자들을 포함한다. 비-병변 세포는 상기 병변의 세포가 아니지만 주변부에 또는 상기 병변 내에 함유되는 세포들을 포함할 수 있다. 비-병변 세포는 면역 세포, 섬유아세포, 지방세포, 혈관 내피 세포, 혈관주위세포 및 림프 내피 세포를 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 신호전달 분자는 사이토카인, 케모카인, 성장 인자 및 염증 및 매트릭스 리모델링 효소를 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0048] 특정 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴는 적어도 처음에 또는 일정 기간 동안, 병변의 미세환경 내에서 세포의 수 또는 적어도 하나의 세포 유형의 세포의 수를 감소시키는 조작, 방법 또는 치료이다. 특정 구현예에 있어서, 상기 병변은 종양이고, 상기 조작, 방법 또는 치료는 상기 병변 내 종양 세포의 수를 감소시킨다. 특정 구현예에 있어서, 상기 병변은 암성이고, 상기 조작, 방법 또는 치료는 상기 병변에서 암 세포의 수를 감소시킨다. 일부 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴는 상기 병변의 미세환경 내에 있는 비-병변 세포의 수를 감소시키는 조작, 방법 또는 치료이다. 상기 병변의 미세환경 내에서 발견되는 비-병변 세포는 상기 미세환경 내에 있는 면역 세포, 섬유아세포, 지방세포, 혈관 내피 세포, 혈관주위세포 및/또는 림프 내피 세포를 포함하지만 이에 한정되는 것은 아니다. 특정 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴는 상기 종양의 미세환경 내의 면역 세포, 섬유아세포, 지방세포, 혈관 내피 세포, 혈관주위세포 및/또는 림프 내피 세포의 수 증가라는 결과를 낳는 조작, 방법 또는 치료이다.

[0049] 특정 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴는, 적어도 처음에 또는 일정 기간 동안 상기 병변의 세포를 제거하거나 사멸시키는 조작, 방법 또는 치료이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 병변은 종양이고, 상기 조작, 방법 또는 치료는, 적어도 처음에 또는 일정 기간 동안 상기 병변 내 종양 세포를 사멸시키거나 제거한다. 특정 구현예에 있어서, 상기 병변은 암성이고, 상기 조작, 방법 또는 치료는 상기 병변 내 암 세포를 사멸시키거나 제거한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴는 상기 병변의 세포의 약 0.001% 이상, 약 0.01% 이상, 약 0.1% 이상, 약 1% 이상, 약 5% 이상, 약 10% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 약 98% 이상, 약 99% 이상, 또는 약 99.9% 이상 사멸시키거나 제거한다.

[0050] 특정 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴는 상기 병변의 미세환경 내 한 가지 유형 이상의 면역 세포의 수에 있어서 변경을 결과하는 조작, 방법 또는 치료이다. 미세환경에서 발견되는 면역 세포의 유형은 T 림프구, B 림프구, 자연 살해 세포 (NK 세포), 자연 살해 T 세포 (NKT 세포), 대식세포, 예를 들어 종양 관련 대식세포, 골수-유도된 억제 세포 (MDSC), 수지상 세포 및 호중구, 예를 들어 종양 관련 호중구 (TAN)을 포함하지만 이에 한정되는 것은 아니다. 특정 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴는 상기 병변의 미세환경 내 CD8+ 세포, 세포독성 기억 CD8+ T 세포 (CD8+CD45RO+), CD4+ T 헬퍼 1 (T_H1) 세포, CD4+ T 헬퍼 2 (T_H2) 세포, 자연 살해 세포 (NK 세포), 자연 살해 T 세포 (NKT 세포) 및/또는 $\gamma \delta$ T 림프구의 수를 증가시키는 조작, 방법 또는 치료이다. 특정 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴는 상기 병변의 미세환경에서 TH2 세포, CD4+ T 헬퍼 17 (T_H17) 세포, 면역억제 T 조절 세포 (Tregs), 조절 B 세포 (Bregs), B10 세포, 및/또는 종양-관련 대식 세포 (TAMs)의 수를 감소시키는 조작, 방법 또는 치료이다.

[0051] 일부 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴는 상기 병변 및/또는 상기 병변의 미세환경에 존재하는 하나 이상의 신호전달 분자의 수를 증가시키는 조작, 방법 또는 치료이다. 일부 구현예에 있어서, 신호전달 분자는 사이토카인, 케모카인, 성장 인자 및 염증 및 매트릭스 리모델링 효소를 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 특정 구현예에 있어서, 조작, 방법 또는 치료는 인터루킨-2 (IL-2), 인터루킨-17A (IL-17A), 인터루킨-17F (IL-17F), 인터루킨-21 (IL-21), 인터루킨 22 (IL-22) 및/또는 인터페론 감마 (IFN- γ)의 양을 증가시킨다. 일부 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴는 상기 병변에 및/또는 상기 병변의 미세환경에 존재하는 신호전달 분자의 양을 약 1% 이상, 약 5% 이상, 약 10% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약

70% 이상, 약 75% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 약 1-배 이상, 약 1.5 배 이상, 약 2-배 이상, 약 2.5-배 이상, 약 3-배 이상, 약 4-배 이상, 약 5-배 이상, 약 6-배 이상, 약 7-배 이상, 약 8-배 이상, 약 9-배 이상, 약 10-배 이상, 약 20-배 이상, 약 30-배 이상, 약 40 배 이상, 약 50-배 이상, 약 100-배 이상, 약 200-배 이상, 약 500-배 이상, 또는 약 1,000 배 이상으로 증가시키는 조작, 방법 또는 치료이다.

[0052] 일부 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴는 상기 병변에 및/또는 상기 병변의 미세환경에 존재하는 하나 이상의 신호전달 분자의 수를 감소시키는 조작, 방법 또는 치료이다. 특정 구현예에 있어서, 조작, 방법 또는 치료는 인터루킨-4 (IL-4), 인터루킨-5 (IL-5), 인터루킨-10 (IL-10), 인터루킨-13 (IL-13), 인터루킨-17A (IL-17A), 인터루킨-17F (IL-17F), 인터루킨-21 (IL-21), 인터루킨-22 (IL-22), 변환 성장 인자 β (TGF- β), 혈관 내피 성장 인자 (VEGF), 엔도텔린-1, 엔도텔린-2, 엔도텔린-3, 내피-단핵구-활성화 폴리펩타이드 II (EMAP2, AIMP1로도 알려짐), 간세포 성장 인자 (HGF), 섬유아세포 성장 인자 (FGF), 인슐린-유사 성장 인자 1 (IGF1), 인슐린-유사 성장 인자 2 (IGF2), TGF- β , C-X-C 모티프 케모카인 12 (CXCL12), 혈소판-유래 성장 인자 (PDGF), 매트릭스 메탈로프로테아제 (MMP) 및/또는 카텝신, 예컨대 Cathepsin L의 양을 감소시킨다. 일부 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴는 상기 병변 및/또는 상기 병변의 미세환경에서 신호전달 분자의 양을 약 1% 이상, 약 5% 이상, 약 10% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 약 98% 이상, 약 99% 이상, 약 99.9% 이상 또는 약 100% 감소시키는 조작, 방법 또는 치료이다.

1. 기계적 파괴

[0053] 일부 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴는, 예컨대 병변 실시 예에서, 치료 및/또는 파괴는 병변과 같은 영역의 물리적 또는 기계적 조작을 포함한다. 병변을 탐침하거나, 찌르거나 또는 침투함으로써, 상기 부위, 예컨대 상기 병변에 대하여 물리적 또는 기계적 조작을 수반한다. 일부 구현예에 있어서, 치료 및/또는 파괴는 상기 부위의 생검, 예컨대 상기 병변 (예컨대, 종양)의 생검에 의하여 수행된다. 일부 구현예에 있어서, 생검은 니들로 수행된다. 일부 구현예에 있어서, 상기 생검은 절개 생검이다.

[0054] 일부 구현예에 있어서, 상기 병변은 생검 방법을 이용하여 물리적으로 및/또는 기계적으로 파괴되어 생체 내 유전적으로 조작된 세포를 조절하는데, 예컨대 대상체에게 투여된 유전적으로 조작된 세포의 증폭을 부양, 증대 또는 증가시킨다. 일부 구현예에 있어서, 생검 방법은 미세 니들 흡인이며, 이로써 병변 내로 삽입될 수 있는 길고 얇은 니들 및 주사기가 병변으로부터 세포 및/또는 유액을 끌어내기 위해 사용된다. 특정 구현예에 있어서, 생검은 코어 니들 생검 (core needle biopsy)이며, 이로써 커팅 팁을 갖는 더 큰 니들이 병변으로부터 조직 칼럼을 제거하는데 사용된다. 특정 구현예에 있어서, 생검은 진공-보조 생검이고, 이로써 흡입 장치가 니들을 통해 추출되는 유액 및/또는 세포의 양을 증가시키는데 사용된다. 특정 구현예에 있어서, 생검은 화상-가이드 생검이며, 이로써 병변은 엑스레이, 초음파, CT 스캐닝, 또는 MRI 스캐닝을 포함하는 (그러나 이에 한정되지는 않는) 영상화 기술로 시각화되어 헬스 케어 제공자, 예를 들어, 의사로 하여금 병변을 시각화하고 종양에 생검 기구, 예를 들어, 니들을 가이드한다.

[0055] 특정 구현예에 있어서, 병변은 하나 이상의 생검 기구 (예를 들어, 니들)로 파괴되어 시험관 내에서 유전적으로 조작된 세포를 조절한다. 일부 구현예에 있어서, 생검 기구 코어 니들이다. 특정 구현예에 있어서, 생검 기구는 미세-니들 흡인을 위해 사용될 수 있는 니들이다. 특정 구현예에 있어서, 생검 기구는 트로카이다.

[0056] 특정 구현예에 있어서, 생검 기구는 코어 니들이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 코어 니들은 10 게이지, 11 게이지, 12 게이지, 13 게이지, 14 게이지, 15 게이지, 16 게이지, 17 게이지, 18 게이지, 19 게이지, 20 게이지, 21 게이지, 22 게이지, 23 게이지, 24 게이지, 25 게이지, 또는 26 게이지이다. 특정 구현예에 있어서, 상기 코어 니들은 10 게이지 내지 30 게이지 사이, 10 게이지 내지 24 게이지 사이, 또는 14 게이지 내지 20 게이지 사이이다. 특정 구현예에 있어서, 상기 니들은 약 10 cm, 약 11 cm, 약 12 cm, 약 13 cm, 약 14 cm, 약 15 cm, 약 16 cm, 약 17 cm, 약 18 cm, 약 19 cm, 약 20 cm, 약 21 cm, 약 22 cm, 약 23 cm, 약 24 cm, 약 25 cm, 약 26 cm, 약 27 cm, 약 28 cm, 약 29 cm, 약 30 cm, 약 31 cm, 또는 약 32 cm 길이이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 코어 니들은 약 5 cm 내지 약 30 cm, 약 10 cm 내지 약 25 cm, 또는 약 10 cm 내지 약 20 cm 사이의 길이이다. 특정 구현예에 있어서, 상기 코어 니들은 14 게이지와 20 게이지 사이이고, 길이가 약 10 cm 내지 20 cm 사이이다. 특정 구현예에 있어서, 상기 코어 니들은 일회용이다. 특정 구현예에 있어서, 상기 코어 니들은 재사용 가능하다.

[0057] 일부 구현예에 있어서, 병변은 미세-니들 흡인에 의하여 파괴된다. 특정 구현예에 있어서, 니들은 미세-니들이다. 일부 구현예에 있어서, 미세-니들 흡인을 위하여 이용될 수 있는 니들은 20 게이지, 21 게이지, 22 게이지, 23 게이지, 24 게이지, 25 게이지, 26 게이지, 27 게이지, 28 게이지, 29 게이지, 30 게이지, 31 게이지, 또는 32 게이지이다. 특정 구현예에 있어서, 니들은 20 게이지 내지 30 게이지, 22 게이지 내지 28 게이지, 20 게이지 내지 26 게이지, 또는 약 24 게이지 내지 약 28 게이지 사이이다. 특정 구현예에 있어서, 니들은 미세-니들 흡인용으로 사용될 수 있고 약 1 cm, 약 2 cm, 약 3 cm, 약 4 cm, 약 5 cm, 약 6 cm, 약 7 cm, 약 8 cm, 약 9 cm, 약 10 cm, 약 12 cm, 약 14 cm, 약 16 cm, 약 18 cm, 또는 약 20 cm 길이이다. 일부 구현예에 있어서, 니들은 미세 니들 흡인용으로 사용될 수 있고 약 1 cm 내지 약 10 cm, 약 5 cm 내지 약 10 cm, 또는 약 1 cm 내지 약 5 cm 사이이다. 특정 구현예에 있어서, 니들은 미세-니들 흡인에 사용될 수 있고 22 게이지 내지 28 게이지 사이이고, 1 cm 내지 10 cm 사이의 길이이다.

[0057] 일부 구현예에 있어서, 병변은 미세-니들 흡인에 의하여 파괴된다. 특정 구현예에 있어서, 상기 니들은 미세-니들이다. 일부 구현예에 있어서, 미세-니들 흡인을 위하여 사용될 수 있는 니들은 20 게이지, 21 게이지, 22 게이지, 23 게이지, 24 게이지, 25 게이지, 26 게이지, 27 게이지, 28 게이지, 29 게이지, 30 게이지, 31 게이지, 또는 32 게이지이다. 특정 구현예에 있어서, 상기 니들은 20 게이지 내지 30 게이지, 22 게이지 내지 28 게이지, 20 게이지 내지 26 게이지, 또는 약 24 게이지 내지 약 28 게이지 사이이다. 특정 구현예에 있어서, 미세-니들 흡인을 위하여 사용될 수 있는 니들은 약 1 cm, 약 2 cm, 약 3 cm, 약 4 cm, 약 5 cm, 약 6 cm, 약 7 cm, 약 8 cm, 약 9 cm, 약 10 cm, 약 12 cm, 약 14 cm, 약 16 cm, 약 18 cm, or 약 20 cm 길이이다. 일부 구현예에 있어서, 미세-니들 흡인을 위하여 사용될 수 있는 니들은 약 1 cm 내지 약 10 cm, 약 5 cm 내지 약 10 cm, 또는 약 1 cm 내지 약 5 cm 사이이다. 특정 구현예에 있어서, 상기 니들은 미세-니들 흡인을 위하여 사용될 수 있고, 22 게이지 내지 28 게이지 사이이고 1 cm 내지 10 cm 사이 길이이다.

[0058] 일부 구현예에 있어서, 병변은 트로카로 또는 트로카의 도움으로 파괴되어 생체내 유전적으로 조작된 세포를 조절한다. 트로카는 일반적으로 복강경 수술 기술에 사용되어, 예를 들어 체강, 예를 들어 복강에 대한 접근을 획득하고 확보한다. 통상적인 트로카는, 예를 들어 썰, 날카로운 트로카, 카놀라 및 상기 트로카가 일단 복벽을 관통하였을 때 기관을 보호하기 위한 안전 실드를 포함할 수 있다. 안전 실드는 일반적으로 트로카 팁이 카놀라에 삽입될 때 스프링으로 장착되고 활성화되는 기계 장치로 설계된다. 트로카의 팁은 안전 실드로 보호된다. 트로카가 복벽의 층을 통하여 통과함에 따라, 안전 실드는 수축되어 트로카의 날카로운 팁이 노출된다. 장치가 최종적으로 복부 조직의 마지막 층에 침투하고 복부의 열린 공간에 들어가기 직전에, 안전 실드는 전방으로 이동하여 트로카 팁을 다시 덮는다.

[0059] 트로카의 예는 블레이드 트로카 (bladed trocars)를 포함하는데, 이는 블레이드 팁 (bladed tip)과 블런트 (blunt) 트로카를 포함한다. 가장 일반적으로 사용되는 블레이드 트로카 팁의 유형은 3-면 피라미드 설계인데, 이는 조직, 예컨대 복벽 조직을 통해 슬라이스 할 수 있는 예리한 3 개의 에지를 이용하여 조직 내 진입을 용이하게 한다. 블레이드 트로카는 또한 하이브리드 팁을 갖는 트로카를 포함한다. 하이브리드 팁은 보다 작은 앞쪽의 선형 블레이드를 가져서, 그 후 트로카의 블런트 요소에 의하여 확장되는 절개를 형성한다. 블런트 트로카는 블레이드 팁 없이 공동으로 들어가도록 설계된다. 블런트 트로카는 방사상으로 확장하는 트로카를 포함하는데, 이는 예를 들어 메스와 같은 다른 기구로 일단 작은 절개가 이루어지면 조직에 들어가도록 설계된다. 일부 구현예에 있어서, 병변은 블레이드 트로카로 또는 트로카의 도움으로 파괴된다. 특정 구현예에 있어서, 상기 병변은 블런트 트로카로, 또는 그의 도움으로 파괴된다.

[0060] 일부 구현예에 있어서, 병변은 약 1 mm, 약 2 mm, 약 3 mm, 약 4 mm, 약 5 mm, 약 6 mm, 약 7 mm, 약 8 mm, 약 9 mm, 약 10 mm, 약 11 mm, 약 12 mm, 약 13 mm, 약 14 mm, 약 15 mm, 약 16 mm, 약 17 mm, 약 18 mm, 약 19 mm, 또는 약 20 mm 직경이거나 그 이상인 트로카로 파괴된다. 특정 구현예에 있어서, 트로카는 약 1 mm 내지 약 20 mm, 약 1 mm 내지 약 15 mm, 약 5 mm 내지 약 15 mm, 약 10 mm 내지 약 15 mm, 또는 약 5 mm 내지 약 12 mm 사이의 직경을 갖는다. 특정 구현예에 있어서, 트로카는 약 5 mm 내지 약 12 mm 사이의 직경을 갖는다.

[0061] 특정 구현예에 있어서, 병변은 펀치 생검 (punch biopsy)으로 파괴되어 생체내에서 조작된 세포를 조절한다. 일부 구현예에 있어서, 펀치 생검은 원통형 코어 조직 샘플, 예를 들어 피부 샘플을 수집하기 위해 조직을 통해 아래로 회전할 수 있는 원형 블레이드로 수행된다. 특정 구현예에 있어서, 펀치는 약 0.1 mm, 약 0.5 mm, 약 1 mm, 약 2 mm, 약 3 mm, 약 4 mm, 약 5 mm, 약 6 mm, 약 7 mm, 약 8 mm, 약 9 mm, 약 10 mm, 약 11 mm, 약 12 mm, 약 13 mm, 약 14 mm, 약 15 mm, 약 16 mm, 약 17 mm, 약 18 mm, 약 19 mm, 또는 약 20 mm 직경 또는 그 이상의 직경을 갖는다. 특정 구현예에 있어서, 상기 펀치는 약 1 mm 내지 약 8 mm 사이의 직경을 갖는다.

다.

[0062] 일부 구현예에 있어서, 병변은 절제 생검 (excisional biopsy)으로 파괴된다. 특정 구현예에 있어서, 절제 생검은 병변의 전부 또는 대부분의 제거를 포함한다. 특정 구현예에 있어서, 절제 생검은 병변의 약 90% 이상, 약 95% 이상, 약 98% 이상, 약 99% 이상, 약 99.5% 이상, 약 99.9% 이상, 또는 약 100% 제거를 포함한다.

[0063] 특정 구현예에 있어서, 병변은 절개 생검 (incisional biopsy)으로 파괴된다. 특정 구현예에 있어서, 절개 생검은 병변의 적어도 일부의 제거를 포함한다. 특정 구현예에 있어서, 절개 생검은 약 0.01% 이상, 약 0.1% 이상, 약 1% 이상, 약 5% 이상, 약 10% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90%, 또는 약 95% 이상의 제거를 포함한다. 특정 구현예에 있어서, 절개 생검은 약 50% 미만, 약 40% 미만, 약 30% 미만, 약 20% 미만, 약 10% 미만, 약 5% 미만, 약 1% 미만, 약 0.5% 미만, 또는 약 0.1% 미만의 제거를 포함한다.

[0064] 일부 구현예에 있어서, 병변은 외과용 도구, 예를 들어 트로카, 나이프 또는 니들로 병변을 찌르고 (poking), 찌르고 (prodding), 절단하고 (cutting), 찢고 (lacerating), 쪼개고 (cleaving), 열고 (opening), 틈을 내고 (nicking), 깎고 (shaving), 및/또는 절편화 (sectioning) 함으로써 파괴된다. 특정 구현예에 있어서, 병변에 대한 상기 찌르기, 찌르기, 절단하기, 찢기, 쪼개기, 열기, 틈 내기, 깎기 및/또는 절편화하기는 상기 병변에 대한 상처를 결과한다. 예컨대, 일부 구현예에 있어서, 상기 상처는 천자 (puncture), 천공 (piercing), 절편 (slice), 슬릿 (slit), 또는 열상 (tear)을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 병변을 파괴하는 것은 약 0.001 mm, 약 0.01 mm, 약 0.1 mm, 약 0.2 mm, 약 0.3 mm, 약 0.4 mm, 약 0.5 mm, 약 0.6 mm, 약 0.7 mm, 약 0.8 mm, 약 0.9 mm, 약 1 mm, 약 1.1 mm, 약 1.2 mm, 약 1.3 mm, 약 1.4 mm, 약 1.5 mm, 약 1.6 mm, 약 1.7 mm, 약 1.8 mm, 약 1.9 mm, 약 2 mm, 약 2.5 mm, 약 3 mm, 약 4 mm, 약 5 mm, 약 6 mm, 약 7 mm, 약 8 mm, 약 9 mm, 약 1 cm, 약 2 cm, 약 3 cm, 약 4 cm, 약 5 cm, 약 6 cm, 약 7 cm, 약 8 cm, 약 9 cm, 또는 약 10 cm의 또는 그 미만인 천자, 천공, 절편, 슬릿 또는 열상을 포함하는 병변의 상처를 결과한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 천자, 천공, 절편, 슬릿 또는 열상은 약 10 cm이거나 그보다 크다. 특정 구현예에 있어서, 상기 병변은 외과적 도구를 이용하여 상기 병변을 찌르기, 찌르기, 절단하기, 찢기, 쪼개기, 열기, 틈 내기, 깎기 및/또는 절편화하기에 의하여 파괴되고, 상기 병변에 약 0.001 mm 내지 약 0.1 mm, 약 0.1 mm 내지 약 1 mm, 약 1 mm 내지 약 1 cm, 또는 약 1 cm 내지 약 10 cm 사이의 천자, 천공, 절편, 슬릿 또는 열상을 결과한다.

[0065] 일부 구현예에 있어서, 기계적 파괴는 병변의 온도를 변경함으로써 수행되며, 예를 들어 열 요법 (thermotherapy)이다. 특정 구현예에 있어서, 기계적 파괴는 동결절제 (cryoablation) 요법이다. 특정 구현예에 있어서, 기계적 파괴는 고열 요법이다.

[0066] 특정 구현예에 있어서, 병변은 동결절제 요법으로 파괴된다. 동결절제 요법은 신생물 매쓰의 동결을 포함하며, 세포 내 및 세포 외 얼음 결정의 침전; 세포 막, 단백질 및 세포소기관의 파괴; 및 고삼투압 환경의 유도를 이끌어 내고, 그로 인하여 세포 사멸을 일으킨다. 동결절제 요법에 유용한 방법 및 장치는 문헌 [Murphy et al, Sent. Urol. Oncol. 79:133-140 (2001)] 및 미국 특허 6,383,181, 6,383,180, 5,993,444, 5,654,279, 5,437,673, 및 5,147,355에 개시되어 있다.

[0067] 특정 구현예에 있어서, 병변은 고열 요법으로 파괴된다. 고열 요법은 일반적으로 신생물 매쓰의 온도를 약 42°C 내지 약 44°C의 범위까지 올리는 것을 포함한다. 병변의 온도는 이 범위 이상으로 더 상승할 수 있으나, 그러한 온도는 치료되는 병변 내에서 세포 사멸의 증가는 일으키지 않으면서 주위의 건강한 조직에 대한 상처를 증가시킬 수 있다. 종양은, 당업자에게 공지된 임의의 수단에 의해 고열 요법으로 가열될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 병변은 마이크로웨이브, 고강도 집속 초음파, 강자성 씨모씨드 (ferromagnetic thermoseed), 국부적 전류 필드, 적외선 방사선, 습식 또는 건식 고주파 절제, 레이저 광 응고, 레이저 간질성 열 요법 (laser interstitial thermic therapy) 및 전기소작에 의해 가열될 수 있다. 마이크로웨이브 및 전파는 도파관 어플리케이터, 혼, 나선형, 전류 시트 및 컴팩트 어플리케이터에 의해 생성될 수 있다.

[0068] 병변, 예를 들어, 종양의 온도를 높이기 위한 다른 방법, 장치 및 조성물은 문헌 [Wust et al, Lancet Oncol. 3:487-97 (2002)] 및 미국 특허 6,470,217, 6,379,347, 6,165,440, 6,163,726, 6,099,554, 6,009,351, 5,776,175, 5,707,401, 5,658,234, 5,620,479, 5,549,639, 및 5,523,058에 개시되어 있다.

2. 방사선 조사에 의한 치료 및/또는 파괴

[0069] 특정 구현예에 있어서, 병변은 방사선 조사, 또는 방사선 요법으로 치료 및/또는 파괴되어, 생체 내에서 유전적으로 조작된 세포를 조절한다. 특정 구현예에 있어서, 방사선 요법은 고-에너지 방사선을 사용하여 병변, 예를 들어 종양을 수축시키고, 병변 내의 세포, 예를 들어, 암세포를 살상한다. 일부 구현예에 있어서, 병변은 이온화 방사선, 즉 충분한 에너지를 갖는 입자 또는 광자를 포함하거나 이온화 (전자의 획득 또는 손실)를 생성하기 위한 핵 상호 작용을 통하여 충분한 에너지를 생성할 수 있는 방사선으로 치료 및/또는 파괴된다. 일부 구현예에 있어서, 병변은 X 선, 감마선, 하전된 입자, 예컨대 전자, 또는 암 치료에 사용될 수 있는 임의의 다른 유형의 방사선에 병변을 노출시킴으로써 치료 및/또는 파괴된다.

[0070] 방사선 요법은 암 및/또는 관련 질환을 치료하기 위한 치료적 방사선의 임의의 원을 포함할 수 있는데, 예컨대 이온화 방사선 요법, 근접 요법, 밀봉원 방사선 요법, 전신 방사성 동위원소 요법, 비밀봉원 방사선 요법, 방사성 핵종 요법, 외부 빔 방사선 요법 (external beam radiation therapy), 방사선 절제 (radiation surgery), 하전-입자 방사선 요법 (charged-particle radiotherapy), 중성자 방사선 요법, X-선 요법, 감마-선 요법, 및 코발트 요법을 들 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0071] 특정 구현예에 있어서, 상기 병변은 외부 방사선 요법 (EBT)으로 치료 및/또는 파괴되며, 여기서 이온화 방사선의 외부 공급원은 병변을 포함하는 대상체의 신체 영역에 적용된다. 일부 구현예에 있어서, EBT는 피부 상에 존재하는 병변을 치료 및/또는 파괴시키기 위하여 상용 전압 (즉, 표면)의 방사선 빔을 포함한다. 특정 구현예에 있어서, 메가 전압, 예를 들어 깊은 방사선 빔을 포함하는 EBT가 내부 병변, 예를 들어 방광, 장, 전립선, 폐 또는 뇌의 병변을 치료하는데 사용된다. 특정 구현예에 있어서, EBT로 병변을 치료 및/또는 파괴하는 것은 X 선, 감마선, 전자빔, 양성자 빔 또는 이온화된 핵 빔을 병변에 전달하는 것을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 병변은 선형 가속기, 시준기, 코발트 기계, 표면 방사선 요법 (SRT) 기기, 상용 전압 X 선 기기로 수행되는 EBT에 의해 치료 및/또는 파괴된다.

[0072] 일부 구현예에 있어서, 병변은 내부 방사선 요법, 즉 근접 요법으로 치료 및/또는 파괴된다. 특정 구현예에 있어서, 근접 요법은 병변 부위에 또는 그 근처에 방사선원을 적용하는 것을 포함한다. 특정 구현예에 있어서, 근접 요법은 방사선원이 작은 펠렛, 씨드, 와이어, 튜브 및/또는 용기에 함유되어 바로 병변 내 또는 그 옆에 위치하는 질간 방사선을 포함한다. 특정 구현예에 있어서, 근접 요법은 강내 방사능 (intracavitary radiation)을 포함하는데, 여기서 방사능 활성 물질의 용기는 신체의 공동, 예를 들어, 흉부 공동 또는 대장에 위치된다. 일부 구현예에 있어서, 초음파, X-선 및/또는 CT 스캔이 방사성원의 자리잡기를 보조하기 위해 사용된다.

[0073] 일부 구현예에 있어서, 병변은 영구적 근접 요법으로 치료 및/또는 파괴되는데, 이는 작은 용기, 예를 들어 대략 쌀알 하나 크기의 용기를 병변에 위치시키는 것을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 용기는 수 주 또는 수 개월의 기간 동안 방사선을 방출하고, 방사선이 모두 소모된 후 제자리에 남아있게 된다.

[0074] 특정 구현예에 있어서, 병변은, 치료되는 부위에, 치료 후 제거되는 실린더, 중공 니들, 튜브 (카테터) 및/또는 유체-충전 벌룬을 위치시키는 것을 포함하는 일시적 근접 요법으로 치료 및/또는 파괴된다. 일부 구현예에 있어서, 방사능 물질은 단시간 동안 이들 용기에 위치된 후 제거된다. 일부 구현예에 있어서, 일시적 근접 요법은 고 선량률 (high-dose rate)(HDR) 근접 요법일 수 있으며, 여기서 방사선원은 바로 병변 위치 또는 그 근처에서 한 번에 수 분 동안 제 위치에 놓인 다음 제거된다. 이 과정은 최대 1 주일 동안 하루에 두 번 또는 몇 주 동안 일주일에 한 번씩 반복될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 일시적 근접 요법은 저선량률 (low dose rate)(LDR) 근접 요법이며, 여기서 방사선원은 제거되기까지 최대 7 일 동안 제 위치에 유지된다.

[0075] 일부 구현예에 있어서, 병변은 전신 방사선 요법에 의해 치료 및/또는 파괴된다. 일부 구현예에 있어서, 전신 방사선 요법은, 병변의 세포를 살상하기 위해 혈액을 통해 이동하는 방사성 요오드와 같은 방사성 물질을 투여하는 것을 포함한다. 방사성 핵종 요법에서 투여될 수 있는 대표적인 방사성 동위원소로는 인-32, 이트륨-90, 디스프로슘-165, 인듐-111, 스트론튬-89, 사마륨-153, 레늄-186, 요오드-131, 요오드-125, 루테튬-177 및 비스무트-213을 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 이들 방사성 동위원소는 모두 표적 특이성을 제공하는 생체 분자와 연결될 수 있지만, 요오드-131, 인듐-111, 인-32, 사마륨-153 및 레늄-186은 그러한 결합없이 전신 투여될 수 있다. 당업자는 신생물에 존재하는 세포-표면 분자에 기초하여 방사성 핵종 요법을 위한 특정 신생물을 표적화 하는데 사용하기 위한 특정 생체 분자를 선택할 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 방사능 입자는 병변의 세포에 결합하는 모노클로날 항체 또는 이의 활성 단편 또는 변이체에 결합된다. 방사성 약제의 예로는 이브리투모맵 티옥세탄, 이트륨-90 또는 인듐-111 둘 중 하나에 결합되는 항-CD20 모노클로날 항체; 및 토시투모맵, 요오드-131에 결합되는 항-CD20 모노클로날 항체를 들 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

3. 약학적 치료 및/또는 파괴

[0076] 일부 구현예에 있어서, 병변은, 대상체에게 제제를 투여함으로써 치료 및/또는 파괴되어 생체 내에서 유전적으로 조작된 세포를 조절하는데, 예를 들어 대상체에게 투여된 유전적으로 조작된 세포의 증식을 부양, 증대 또는 증가시킨다. 특정 구현예에 있어서, 제제는 약학적 제제이다. 일부 구현예에 있어서, 제제는 치료 제제이다. 일부 구현예에 있어서, 제제는 면역조절 제제이다. 특정 구현예에 있어서, 제제는 화학요법 제제이다.

[0077] 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제와 같은 제제는 분자 또는 상기 분자와 관련된 신호전달 경로의 기능을 억제 또는 차단할 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 상기 분자는 면역 세포 상에서 발현되거나 면역 시냅스의 일부인데, 예컨대 T 세포 또는 항원 제시 세포 또는 면역 반응과 관련된 다른 세포 상에서 발현된다. 일부 이러한 측면에 있어서, 상기 분자는 면역 억제 분자이거나 상기 분자는 면역 체크포인트 분자이다. 일부 구현예에 있어서, 면역 체크포인트 분자 또는 경로는 PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA-4, LAG-3, TIM3, VISTA, 아데노신 2A 수용체 (A2AR) 또는 아데노신 또는 전술한 것들 중 임의의 것을 포함하는 경로이다.

[0078] 일부 구현예에 있어서, 화학요법 제제는 항체이거나 항체를 포함하는데, 이는 항체 단편, 단일-쇄 항체, 다중 특이적 항체 또는 면역결핍제일 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 항체는 면역 체크포인트 분자 또는 그의 리간드 또는 수용체에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에 있어서, 항체는 면역 체크포인트 분자와 그의 리간드 또는 수용체 사이의 상호 작용을 차단 또는 손상시킬 수 있다.

[0079] 일부 구현예에 있어서, 병변은 대상체에게 면역조절 제제를 투여함으로써 치료 및/또는 파괴되어 생체 내에서 유전적으로 조작된 세포를 조절한다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 면역 체크포인트 경로의 요소를 차단, 억제 또는 중화한다. 면역계는 자기-내성을 유지하고 면역 반응을 조절하는 데 관련된 다수의 억제 경로를 갖는다. 종양은 특정한 면역-체크포인트 경로를 면역 저항의 주요 메커니즘으로 사용할 수 있는데, 특히 종양 항원에 특이적인 T 세포에 대하여, 예컨대 CAR-발현 세포와 같은 조작된 세포이다 (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12: 252-264). 많은 그러한 면역 체크포인트는 리간드-수용체 상호 작용에 의해 시작되기 때문에, 그 리간드 및/또는 그들의 수용체에 대한 항체에 의해 쉽게 차단될 수 있다. 대부분의 항암제와 달리, 체크 포인트 억제제는 반드시 종양 세포를 직접 표적으로 삼지는 않지만, 면역계의 내인성 항종양 활성을 증가시키기 위해 림프구 수용체 또는 이들의 리간드를 오히려 표적으로 삼는다.

[0080] 특정 구현예에 있어서, 병변은 면역 체크포인트 억제제를 대상체에게 투여함으로써 치료 및/또는 파괴된다. 일부 구현예에 있어서, 면역 체크포인트 억제제는 하나 이상의 체크포인트 단백질을 전부 또는 부분적으로 감소, 억제, 방해 또는 조절하는 분자이다. 일부 구현예에 있어서, 체크포인트 단백질은 T-세포 활성화 또는 기능을 조절하고 및/또는 T-세포 반응과 관련된 공-자극 또는 억제의 상호 작용에 관한 임의의 단백질이다. 면역 체크포인트 단백질은 생체 면역 반응의 자기-내성과 기간 및 크기를 조절하고 유지한다. 면역 체크포인트 억제제는 면역계의 억제 경로의 활성 또는 기능을 차단, 억제 또는 감소시키는 임의의 제제를 포함한다. 이러한 억제제는 면역 체크포인트 수용체, 리간드 및/또는 수용체-리간드 상호 작용에 결합 및 그를 방해 또는 억제하는, 작은 분자 억제제나 항체, 또는 그의 항원 결합 단편을 포함할 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 특정 수용체의 조절, 강화 및/또는 자극은 면역 체크포인트 경로 요소를 극복할 수 있다. 방해, 억제, 조절, 강화 및/또는 자극을 위하여 표적화될 수 있는 예시적인 면역 체크포인트 분자는 PD-1 (CD279), PD-L1 (CD274, B7-H1), PDL2 (CD273, B7-DC), CTLA-4, LAG-3 (CD223), TIM-3, 4-1BB (CD137), 4-1BBL (CD137L), GITR (TNFRSF18, AITR), CD40, OX40 (CD134, TNFRSF4), CXCR2, 종양 관련 항원 (TAA), B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, GAL9, B7H3, B7H4, VISTA, KIR, 2B4 (CD2 패밀리에 속하고, 모든 NK, $\gamma \delta$, 및 기억 CD8+ ($\alpha \beta$) T 세포 상에서 발현된다), CD160 (BY55라고도 불림), CGEN-15049, CEACAM (예컨대, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5), TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 또는 CD270), KIR, A2aR, MHC 클래스 I, MHC 클래스 II, GAL9, 아데노신, 및 전환 성장 인자 수용체 (TGFR; 예컨대, TGFR 베타)를 들 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다. 면역 체크포인트 억제제는 상기 분자들 중 임의의 것 하나 이상의 활성에 결합 및 그를 차단 또는 억제 및/또는 증가 또는 자극하는 항체, 또는 그의 항원 결합 단편, 또는 기타 결합 단백질을 포함한다.

[0081] 예시적인 면역 체크포인트 억제제는 트레멜리무맵 (CTLA-4 차단 항체, 티실리무맵으로도 알려짐, CP-675,206), 항-OX40, PD-L1 모노클로날 항체 (항-B7-H1; MEDI4736, 두르발루맵으로도 불림), MK-3475 (PD-1 블록커), 니볼루맵 (항-PD-L1 항체), CT-011 (항-PD-1 항체), BY55 모노클로날 항체, AMP224 (항-PD-L1 항체), BMS-936559 (항-PD-L1 항체), MPLDL3280A (항-PD-L1 항체), MSB0010718C (항-PD-L1 항체) 및 이필리무맵 (항-CTLA-4 항체, Yervoy®로도 알려짐, MDX-010 및 MDX-101)을 포함한다. 면역조절 항체의 예시는 다클리주맵

(Zenapax), 베바시주맵 (AVASTIN®), 바실릭시맵, 이플리무맵, 니볼루맵, 펌브롤리주맵, MPDL3280A, 피딜리주맵 (CT-011), MK-3475, BMS-936559, MPDL3280A (아케줄리주맵), tremelimumab, IMP321, BMS-986016, LAG525, 우렐루맵, PF-05082566, TRX518, MK-4166, 다세투주맵 (SGN-40), 루카투무맵 (HCD122), SEA-CD40, CP-870, CP-893, MEDI6469, MEDI6383, MOXR0916, AMP-224, MSB0010718C (아벨루맵), MEDI4736 (두르발루맵), PDR001, rHlgM12B7, 울로셉루맵, BKT140, 발리루맵 (CDX-1127), ARGX-110, MGA271, 릴릴루맵(BMS-986015, IPH2101), IPH2201, ARGX-115, 에막투주맵, CC-90002 및 MNRP1685A 또는 그 항체-결합 단편을 들 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다. 다른 예시적인 면역조절제는, 예컨대 아푸투주맵 (ROCHE®에서 구득가능); 페그필그라스티민 (NEULASTA®); 레날리도마이드 (CC-5013, REVELIMID®); 탈리도마이드 (THALOMID®), 악티미드 (CC4047); 및 IRX-2 (IRX Therapeutics로부터 구득 가능한, 인간 사이토카인, 예컨대 인터루킨 1, 인터루킨 2 및 인터페론 감마, CAS 951209-71-5의 혼합물)을 들 수 있다.

[0082] 일부 구현예에 있어서, 병변은 프로그램드 세포 사멸 1 (PD-1)에 결합 및/또는 억제하는 면역조절 제제를 대상체에게 투여함으로써 치료 및/또는 파괴된다. PD-1은 B 세포, NK 세포 및 T 세포에서 발현되는 면역 체크포인트 단백질이다 (Shinohara et al., 1995, Genomics 23:704-6; Blank et al., 2007, Cancer Immunol Immunother 56:739-45; Finger et al., 1997, Gene 197:177-87; Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264). PD-1의 주요 역할은 자가 면역을 제한 할 뿐만 아니라, 감염에 반응하는 염증화 중에 말초 조직에서 T 세포의 활성을 제한하는 것이다. PD-1 발현은 활성화된 T 세포에서 유도되고, PD-1의 그의 내인성 리간드 중 하나에 대한 결합은 자극성 키나아제를 억제함으로써 T-세포 활성화를 억제하는 작용을 한다. 또한, PD-1은 TCR "정지 신호"를 억제하는 작용을 한다. PD-1은 Treg 세포 상에서 높게 발현되며 리간드의 존재하에서 그들의 증식을 증가시킬 수 있다 (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12: 252-264). 항-PD 1 항체는 흑색종, 비소 세포 폐암, 방광암, 전립선암, 대장암, 두경부암, 삼중-음성 유방암, 백혈병, 림프종 및 신세포 암의 치료에 사용되어 왔다 (Topalian et al., 2012, N Engl J Med 366:2443-54; Lipson et al., 2013, Clin Cancer Res 19:462-8; Berger et al., 2008, Clin Cancer Res 14:3044-51; Gildener-Leapman et al., 2013, Oral Oncol 49:1089-96; Menzies & Long, 2013, Ther Adv Med Oncol 5:278-85). 일부 구현예에 있어서, 병변은, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 대상체에게 투여함으로써 치료 및/또는 파괴된다. 예시적인 항-PD-1 항체는 니볼루맵 (Opdivo, BMS), 펌브롤리주맵 (Keytruda, Merck), 피딜리주맵 (CT-011, Cure Tech), 람브롤리주맵 (MK-3475, Merck), 및 AMP-224 (Merck)를 포함하고, 니볼루맵 (Opdivo로도 칭함, BMS-936558 또는 MDX1106; Bristol-Myers Squibb)은 PD-1을 특이적으로 차단하는 완전 인간 IgG4 모노클로날 항체이다. 니볼루맵 (클론 5C4) 및 PD-1에 특이적으로 결합하는 기타 인간 모노클로날 항체는 US 8,008,449 및 WO 2006/0121168에 기재되어 있다. 피딜리주맵 (CT-011, Cure Tech)는 PD-1에 결합하는 인간화 IgG1k 모노클로날 항체이다. 피딜리주맵 및 기타 인간화 항-PD-1 모노클로날 항체가 WO2009/101611에 기술되어 있다. 펌브롤리주맵 (이전에는 람브롤리주맵으로 알려졌으며, Keytruda, MK03475; MERCK,라고도 불림)은 PD-1에 결합하는 인간화 IgG4 모노클로날 항체이다. 펌브롤리주맵 및 기타 인간화 항-PD-1 항체는 US 8,354,509 및 국제 특허 출원 공개 WO2009/114335에 기재되어 있다. 다른 항-PD-1 항체는, 다른 것 중에서도, AMP 514 (Amplimmune)를 포함하며, 예를 들어 US 8,609,089, US 2010028330, US 20120114649 및/또는 US 20150210769에 기재된 항 PD-1 항체이다. AMP-224 (B7-DCIg; Amplimmune; 예를 들어 WO2010/027827 및 WO2011/066342에 기재되어 있음)는 PD-1 및 B7-H1 사이의 상호 작용을 차단하는 PD-L2 Fc 융합 용해성 수용체이다.

[0083] 특정 구현예에 있어서, 병변은 PD-L1 (CD274 및 B7-H1로도 알려짐) 및/또는 PD-L2 (또한, CD273 및 B7-DC로도 알려짐)에 결합하고 및/또는 이를 억제하는 면역조절 제제를 대상체에게 투여함으로써 치료 및/또는 파괴된다. PD-L1 및 PD-L2는, 활성화된 T 세포, B 세포, 골수 세포, 대식세포 및 일부 유형의 종양 세포에서 발견되는, PD-1의 리간드이다. 항-종양 요법은 항-PD-L1 항체에 초점을 맞춘다. PD-1과 PD-L1의 복합체는 CD8+ T 세포의 증식을 억제하고 면역 반응을 감소시킨다 (Topalian et al., 2012, N Engl J Med 366:2443-54; Brahmer et al., 2012, N Eng J Med 366:2455-65). 항-PD-L1 항체는 비소세포 폐암, 흑색종, 대장암, 신세포 암, 췌장암, 위암, 난소암, 유방암 및 혈액학적 악성 종양의 치료에 사용되어 왔다 (Brahmer et al., 2012, N Eng J Med 366:2455-65; Ott et al., 2013, Clin Cancer Res 19:5300-9; Radvanyi et al., 2013, Clin Cancer Res 19:5541; Menzies & Long, 2013, Ther Adv Med Oncol 5:278-85; Berger et al., 2008, Clin Cancer Res 14:13044-51). 특정 구현예에 있어서, 병변은 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 대상체에게 투여함으로써 치료 및/또는 파괴된다. 예시적인 항-PD-L1 항체는 MDX-1105 (Medarex), MEDI4736 (두르발루맵, Medimmune), MPDL3280A (Genentech), BMS-935559 (Bristol-Myers Squibb) 및 MSB0010718C를 포함한다.

[0084] 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 항-PD-L1 항체이다. 항-PD-L1 항체의 예로는 PD-L1에 결합하고 PD-1과 리간드의 상호 작용을 억제하는 인간 모노클로날 항체인 MEDI4736 (두르발루맵, Medimmune)이 있다 (미

국 특허 8,779,108 참조). 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 PD-L1에 결합하는 인간 Fc 최적화된 IgG1 모노클로날 항체인 MDPL3280A (Genentech/Roche)이다. PD-L1에 대한 MDPL3280A 및 다른 인간 모노클로날 항체는 미국 특허 7,943,743 및 미국 공개 특허 공보 20120039906에 기재되어 있다. 다른 항-PD-L1 결합 제제는 YW243.55.S70 (WO2010/077634 참조), MDX-1105 (BMS-936559로도 칭해지고, 예컨대 WO2007/005874에 기재되는 항-PD-L1 결합 제제), LY3300054 (US2017/0058033 참조), 아테졸리주맙 (미국 특허 8,217,149 참조) 및 아벨루맙 (미국 특허 9,624,298)을 포함한다.

[0085] 특정 구현예에 있어서, 병변은, CD152로도 알려진, 세포 독성 T-림프구-관련 항원 (CTLA-4)의 억제제를 투여함으로써 치료 및/또는 파괴된다. CTLA-4는 T-세포 활성화를 조절하는 기능을 하는 공-억제 분자이다. CTLA-4는 T-세포 상에서만 배타적으로 발현되는 면역글로불린 슈퍼패밀리의 구성원이다. CTLA-4는 T-세포 활성화를 억제하는 작용을 하며, 헬퍼 T-세포 활성을 억제하고 조절 T-세포 면역 억제 활성을 증가시키는 것으로 보고된다. CTLA-4의 정확한 작용 메커니즘은 연구 중에 있지만, 이것은 CD80 및 CD86에 결합함에 있어서 CD28을 압도할 뿐 아니라, T 세포에 억제 신호를 적극적으로 전달함으로써 T 세포 활성화를 억제한다는 것이 제안되었다 (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264). 항-CTLA-4 항체는 흑색종, 전립선암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암의 치료에 대한 임상 시험에서 사용되어 왔다 (Robert & Ghiringhelli, 2009, Oncologist 14:848-61; Ott et al., 2013, Clin Cancer Res 19:5300; Weber, 2007, Oncologist 12:864-72; Wada et al., 2013, J Transl Med 11:89). 항-CTLA-4의 중요한 특징은 항-종양 효과의 동력학으로서, 생리학적 반응에 필요한 초기 치료 후 최대 6 개월의 지체 기간을 갖는다. 어떤 경우에는, 치료 시작 후, 감소가 보이기 전에 종양은 실제로 크기가 증가 할 수 있다 (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264). 특정 구현예에 있어서, 병변은 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 대상체에게 투여함으로써 치료 및/또는 파괴된다. 예시적인 항-CTLA-4 항체는 이필리무맙 (Bristol-Myers Squibb) 및 트레멜리무맙(Pfizer)을 포함한다. 이필리무맙은 전이성 흑색종 치료에 대하여 최근 FDA 승인을 받았다 (Wada et al., 2013, J Transl Med 11:89).

[0086] 특정 구현예에 있어서, 병변은, CD223으로도 알려진 림프구 활성화 유전자-3 (LAG-3)에 결합 및/또는 그를 억제하는 면역조절 제제를 투여함으로써 치료 및/또는 파괴된다. LAG-3는 림프구 활성화의 저해와 관련된 면역 체크포인트 단백질이고 경우에 따라 림프구 아네르기의 유도과 관련된다. LAG-3는 B 세포, NK 세포 및 수지상 세포를 비롯한 면역계의 다양한 세포 상에서 발현된다. LAG-3는 MHC 클래스 II 수용체에 대한 천연 리간드인데, 이는 강력한 면역-억제 활성을 지닌 것들을 비롯하여 흑색종-침윤 T 세포 상에서 실질적으로 발현된다. 특정 구현예에 있어서, 병변은 항-LAG-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 대상체에게 투여함으로써 치료 및/또는 파괴된다. 예시적인 항-LAG-3 항체는 LAG-3를 표적으로 하는 모노클로날 항체인 BMS-986016 (Bristol-Myers Squibb)을 포함한다. IMP701 (Immutep)은 길항제 LAG-3 항체이며 IMP731 (Immutep 및 GlaxoSmithKline)은 고갈성 (depleting) LAG-3 항체이다. 다른 LAG-3 억제제는 MHC 클래스 II 분자에 결합하고 항원 제시 세포 (APC)를 활성화시키는, LAG-3의 가용성 부분 및 Ig의 재조합 융합 단백질인 IMP321 (Immutep)을 포함한다. 다른 항체는 예를 들어 WO2010/019570 및 US 2015/0259420에 기재되어 있다.

[0087] 일부 구현예에 있어서, 병변은 T-세포 면역 글로불린 도메인 및 뮤신 도메인-3 (TIM-3)에 결합 및/또는 이를 억제하는 면역조절 제제를 투여함으로써 치료 및/또는 파괴된다. 활성화된 Th1 세포에서 최초로 확인된 TIM-3은 면역 반응의 음성 조절자인 것으로 나타났다. TIM-3의 차단은 T-세포 매개 항-종양 면역을 촉진하고 다양한 범주의 마우스 종양 모델에서 항-종양 활성을 갖는다. TIM-3 차단과, TSR-042, 항-CD137 항체 및 기타와 같은 다른 면역치료 제제의 조합은 항-종양 효과를 증가시키는데 있어서 부가적 또는 시너지적일 수 있다. TIM-3 발현은 흑색종, NSCLC 및 신장암을 비롯한 다수의 상이한 종양 유형과 관련되어 있으며, 더하여, 종양 내 TIM-3의 발현은 NSCLC, 자궁 경부암, 및 위암을 비롯한 광범위한 종양 유형에 걸쳐 열악한 예후와 관련된 것으로 나타났다. TIM-3의 차단은 또한 많은 만성 바이러스성 질환에 대한 면역 증진을 촉진하는데도 중요하다. TIM-3는 또한, 존재한다면, 이들 중 어느 것이 항-종양 반응의 조절과 관련이 있는지는 현재 명확하지 않지만, 갈락틴-9, 포스포티딜세린 및 HMGB1을 포함하는 다수의 리간드와 상호 작용하는 것으로 나타났다. 일부 구현예에 있어서, TIM-3를 표적으로 하는 항체, 항체 단편, 소분자 또는 펩타이드 억제제는 TIM-3의 IgV 도메인에 결합하여 그의 리간드와의 상호 작용을 억제할 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 병변은 TIM-3에 결합 및/또는 그를 억제하는 항체 또는 그의 항원 결합 단편, 또는 펩타이드를 투여함으로써 치료 및/또는 파괴된다. TIM-3를 억제하는 예시적인 항체 및 펩타이드는 US 2015/0218274, WO2013/006490 및 US 2010/0247521에 기재되어 있다. 다른 항-TIM-3 항체는 인간화된 버전의 RMT3-23 (Ngiow et al., 2011, Cancer Res, 71: 3540-3551) 및 클론 8B.2C12 (Monney et al., 2002, Nature, 415: 536 -541)을 포함한다. TIM-3 및 PD-1을 억제하는 이중-특이적 항체는 US 2013/0156774에 기재되어 있다.

[0088] 일부 구현예에 있어서, 병변은 CEACAM 억제제 (예를 들어, CEACAM-1, CEACAM-3 및/또는 CEACAM-5 억제제)를 대상체에게 투여함으로써 치료 및/또는 파괴된다. 특정 구현예에 있어서, CEACAM의 억제제는 항-CEACAM 항체 또는 그의 항원 결합 단편 또는 변이체이다. 예시적인 항-CEACAM-1 항체는 WO 2010/125571, WO 2013/082366 WO 2014/059251 및 WO 2014/022332에 기재되어 있는데, 예를 들어, US 2004/0047858, US 7,132,255 및 WO 99/052552에 기재되는 바, 예컨대 모노클로날 항체 34B1, 26H7 및 5F4; 또는 그들의 재조합 형태이다. 일부 구현예에 있어서, 항-CEACAM 항체는 예를 들어 문헌 [Zheng et al. PLoS One. (2011) 6(6): e21146)]에 기재된 바와 같이 CEACAM-5와 결합하거나, 예컨대 WO 2013/054331 및 US 2014/0271618에 기재된 바와 같이 CEACAM-1 및 CEACAM-5와 교차 반응한다.

[0089] 특정 구현예에 있어서, 병변은 CD137로도 알려진 4-1BB에 결합 및/또는 이를 억제하는 면역조절 제제를 투여함으로써 치료 및/또는 파괴된다. 4-1BB는 TNFR 슈퍼패밀리에 속하는 막통과 당단백질이다. 4-1BB 수용체는 활성화된 T 세포 및 B 세포 및 단핵구 상에 존재한다. 일부 구현예에 있어서, 항-4-1BB 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 병변을 치료 및/또는 파괴하기 위해 대상체에게 투여된다. 예시적인 항-4-1BB 항체는 잠재적 면역 자극 및 항신생물 활성을 갖는 우렐루맵 (BMS-663513)이다.

[0090] 일부 구현예에 있어서, 병변은 탈리도마이드의 구조적 또는 기능적 유사체 또는 유도체 및/또는 E3 유비퀴틴 리가아제의 억제제인 면역조절 제제를 투여함으로써 치료 및/또는 파괴된다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 세레블론 (CRBN)에 결합한다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 CRBN E3 유비퀴틴-리가아제 복합체에 결합한다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 CRBN 및 CRBN E3 유비퀴틴-리가아제 복합체에 결합한다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 CRBN의 단백질 또는 유전자 발현을 상향 조절한다. 일부 측면에서, CRBN은 CRL4^{CRBN} E3 유비퀴틴 리가아제의 기질 아답터이며, 효소의 특이성을 조절한다. 일부 구현예에 있어서, CRB 또는 CRBN E3 유비퀴틴 리가아제 복합체에의 결합은 E3 유비퀴틴 리가아제 활성을 억제한다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 IKZF1 (Ikaros) 및 IKZF3 (Aiolos)의 유비퀴틴화를 유도하고 및/또는 IKZF1 (Ikaros) 및 IKZF3 (Aiolos)의 분해를 유도한다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 CRL4^{CRBN} E3 유비퀴틴 리가아제에 의한 카제인 키나아제 1A1 (CK1α)의 유비퀴틴화를 유도한다. 일부 구현예에 있어서, CK1α의 유비퀴틴화는 CK1α 분해를 결과한다.

[0091] 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 Ikaros (IKZF1) 전사 인자의 억제제이다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 Ikaros의 유비퀴틴화를 증가시킨다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 Ikaros의 분해를 증가시킨다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 Ikaros의 단백질 또는 유전자 발현을 하향 조절한다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제의 투여는 Ikaros 단백질 수준의 감소를 일으킨다.

[0092] 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 Aiolos (IKZF3) 전사 인자의 억제제이다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 Aiolos의 유비퀴틴화를 증가시킨다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 Aiolos의 분해를 증가시킨다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 Aiolos의 단백질 또는 유전자 발현을 하향 조절한다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제의 투여는 Aiolos 단백질 수준의 감소를 일으킨다.

[0093] 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 Ikaros (IKZF1) 및 Aiolos (IKZF3) 전사 인자 양자 모두의 억제제이다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 Ikaros 및 Aiolos 양자 모두의 유비퀴틴화를 증가시킨다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 Ikaros 및 Aiolos 양자 모두의 분해를 증가시킨다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 Ikaros 및 Aiolos 양자 모두의 단백질 또는 유전자 발현을 하향 조절한다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제의 투여는 Ikaros의 단백질 수준 및 Aiolos의 단백질 수준 양자 모두의 감소를 일으킨다.

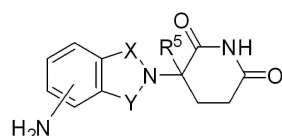
[0094] 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 선택적 사이토카인 억제 약물 (SelCID)이다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 포스포디에스테라아제-4 (PDE4)의 활성을 억제한다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 CDC25 포스파타아제의 효소 활성을 억제한다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 CDC25 포스파타아제의 세포 내 트래피킹 (intracellular trafficking)을 변경시킨다.

[0095] 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 탈리도마이드 (2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1H-이소인돌-1,3(2H)-디온) 또는 탈리도마이드의 유사체 또는 유도체이다. 특정 구현예에 있어서, 탈리도마이드 유도체는 유사한 생물학적 활성을 갖는 탈리도마이드의 구조적 변이체를 포함한다. 예시적인 탈리도마이드 유도체는 레날리도마이드 (REVLIMUNOMODULATORY COMPOUNDTM; Celgene Corporation), 포말리도마이드 (ACTIMMUNOMODULATORY

COMPOUNDTM 또는 POMALYSTTM로도 알려짐; Celgene Corporation), CC-1088, CDC-501 및 CDC-801, 미국 특허 5,712,291; 7,320,991; 및 8,716,315; U.S. 출원 2016/0313300; 및 PCT 공개 WO 2002/068414 및 WO 2008/154252에 개시된 화합물을 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0096] 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 본 발명에 참조로서 포함되는 미국 특허 5,635,517에 기재되는 바와 같이 벤조 고리에서 아미노로 치환되는 1-옥소- 및 1,3-디옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)이소인돌린이다.

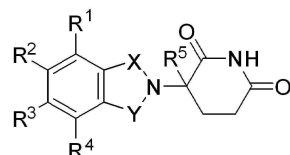
[0097] 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 다음의 화학식의 화합물 또는 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로서:



여기서, X 및 Y 중 하나는 -C(O)-이고 X 및 Y 중 다른 하나는 -C(O)-이거나 -CH₂-이고, R⁵는 수소 또는 저급 알킬이다. 일부 구현예에 있어서, X는 -C(O)-이고 Y는 -CH₂-이다. 일부 구현예에 있어서, X 및 Y 양자 모두는 -C(O)-이다. 일부 구현예에 있어서, R⁵는 수소이다. 다른 구현예에 있어서, R⁵는 메틸이다.

[0098] 일부 구현예에 있어서, 면역조절 화합물은 치환된 2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)프탈 면역조절 화합물 및 치환된 2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소이소인돌 부류에 속하는 화합물인데, 예컨대 각각 참조로서 본 발명에 포함되는 미국 특허 6,281,230; 6,316,471; 6,335,349; 및 6,476,052, 및 국제 특허 출원 PCT/US97/13375 (국제 공개 WO 98/03502)에 개시된 것들이다.

[0099] 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 다음의 화학식의 화합물 또는 이들의 약학적으로 허용 가능한 염으로서:



여기서,

X 및 Y 중 하나는 -C(O)-이고 X 및 Y 중 다른 하나는 -C(O)- 또는 -CH₂-이고;

(1) R¹, R², R³, 및 R⁴ 각각은 독립적으로 할로, 1 내지 4개 탄소 원자의 알킬, 또는 1 내지 4개 탄소 원자의 알콕시, 또는

(2) R¹, R³, R⁴, 및 R⁵ 중 하나는 -NHR^a이고, 나머지 R¹, R², R³, 및 R⁴는 수소이고, 여기서 R^a는 수소 또는 1 내지 8개 탄소 원자의 알킬이고;

R⁵는 수소 또는 1 내지 8개 탄소 원자의 알킬, 벤질, 또는 할로이고;

단, X 및 Y이 -C(O)-이고,

(i) 각각의 R¹, R², R³, 및 R⁴가 플루오로; 또는

(ii) R¹, R², R³, 및 R⁴ 중 하나가 아미노이면,

R⁵는 수소 외 다른 것이다.

[0100] 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 각각 참조로서 본 발명에 포함되는 미국 특허 7,091,353, 미국 특허 공개 2003/0045552, 및 국제 출원 PCT/US01/50401 (국제 공개 WO02/059106)에 기재되어 있는 이소인돌-면역조절 화합물 부류에 속하는 화합물이다. 예컨대, 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 [2-(2,6-디옥소-피

페리딘-3-일)-1,3-디옥소-2,3-디하이드로-1H-이소인돌-4-일메틸]-아마이드; (2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-1,3-디옥소-2,3-디하이드로-1H-이소인돌-4-일메틸)-카르복산 tert-부틸 에스테르; 4-(아미노메틸)-2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-이소인돌린-1,3-디온; N-(2-(2,6-디옥소-피페리딘-3-일)-1,3-디옥소-2,3-디하이드로-1H-이소인돌-4-일메틸)-아세트아마이드; N-((2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일)메틸)시클로프로필-카복사마이드; 2-클로로-N-((2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일)메틸)아세트아마이드; N-(2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일)-3-피리딜카복사마이드; 3-{1-옥소-4-(벤질아미노)이소인돌린-2-일}피페리딘-2,6-디온; 2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-4-(벤질아미노)이소인돌린-1,3-디온; N-((2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일)메틸)프로판아마이드; N-((2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일)메틸)-3-피리딜카복사마이드; N-((2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일)메틸)헵탄아마이드; N-((2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일)메틸)-2-푸릴카복사마이드; {N-(2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일)카바모일}메틸 아세테이트; N-(2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일)펜탄아마이드; N-(2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일)-2-티에닐카복사마이드; N-((2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일)메틸)(부틸아미노)카복사마이드; N-((2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일)메틸)(옥틸아미노)카복사마이드; 또는 N-((2-(2,6-디옥소(3-피페리딘))-1,3-디옥소이소인돌린-4-일)메틸)(벤질아미노)카복사마이드이다.

[0101] 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 각각이 참조로서 본 발명에 포함되는 미국 특허 출원 공개 2002/0045643, 국제 공개 WO 98/54170, 및 미국 특허 6,395,754에 개시되는 이소인돌-면역조절 화합물 부류에 속하는 화합물이다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 참조로서 본 발명에 포함되는 미국 특허 5,798,368에 개시되는 테트라 치환된 2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일)-1-옥소이소인돌린이다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 참조로서 본 발명에 포함되는 미국 특허 6,403,613에 개시되는 1-옥소 및 1,3-디옥소-2-(2,6-디옥소피페리딘-3-일) 이소인돌린이다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 양자 모두 참조로서 본 발명에 포함되는 미국 특허 6,380,239 및 미국 특허 7,244,759에 기재되는 바와 같이 인돌린 고리의 4- 또는 5-위치에서 치환된 1-옥소 또는 1,3-디옥소이소인돌린이다.

[0102] 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 2-(4-아미노-1-옥소-1,3-디하이드로-이소인돌-2-일)-4-카바모일-부티르산 또는 4-(4-아미노-1-옥소-1,3-디하이드로-이소인돌-2-일)-4-카바모일-부티르산이다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 4-카바모일-4-{4-[(퓨란-2-일-메틸)-아미노]-1,3-디옥소-1,3-디하이드로-이소인돌-2-일}-부티르산, 4-카바모일-2-{4-[(퓨란-2-일-메틸)-아미노]-1,3-디옥소-1,3-디하이드로-이소인돌-2-일}-부티르산, 2-{4-[(퓨란-2-일-메틸)-아미노]-1,3-디옥소-1,3-디하이드로-이소인돌-2-일}-4-페닐카바모일-부티르산, 또는 2-{4-[(퓨란-2-일-메틸)-아미노]-1,3-디옥소-1,3-디하이드로-이소인돌-2-일}-글루타르산이다.

[0103] 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 참조로서 본 발명에 포함되는 미국 특허 6,458,810에 기재되는 바와 같은 2-위치에서 2,6-디옥소-3-하이드록시피페리딘-5-일로 치환되는 이소인돌린-1-온 또는 이소인돌린-1,3-디온이다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 화합물은 3-(5-아미노-2-메틸-4-옥소-4H-퀴나졸린-3-일)-피페리딘-2,6-디온, 또는 그의 거울상 이성질체 또는 거울상 이성질체의 혼합물; 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정체, 클라스레이트 또는 다형체이다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 화합물은 3-[4-(4-모르폴린-4-일메틸)-벤질옥시]-1-옥소-1,3-디하이드로-이소인돌-2-일]-피페리딘-2,6-디온이다.

[0104] 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 [Oshima, K. *et al.*, *Nihon Rinsho.*, 72(6):1130-5 (2014)]; [Millrine, D. *et al.*, *Trends Mol Med.*, 23(4):348-364 (2017)]; 및 [Collins, *et al.*, *Biochem J.*, 474(7):1127-1147 (2017)]에 기재되는 바와 같다.

[0105] 일부 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 레날리도마이드, 포말리도마이드, 아바도마이드, 레날리도마이드, 포말리도마이드, 아바도마이드의 입체 이성질체, 또는 이들의 약학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정체, 클라스레이트 또는 다형체이다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 화합물은 레날리도마이드, 레날리도마이드의 입체 이성질체 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정체, 클라스레이트 또는 다형체이다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 화합물은 레날리도마이드 또는 ((RS)-3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디하이드로-2H-이소인돌-2-일)피페리딘-2,6-디온)이다.

[0106] 특정 구현예에 있어서, 병변은 탈리도마이드 유도체인 레날리도마이드 ((RS)-3-(4-아미노-1-옥소-1,3-디하이드로-2H-이소인돌-2-일)피페리딘-2,6-디온)을 대상체에게 투여하는 것에 의하여 치료 및/또는 파괴된다. 레날리도마이드는 다발성 골수종, 결손 5q와 관련된 골수 이형성 증후군, 및 가장 최근에는 재발성/난치성 맨틀-

세포 림프종 (MCL)의 치료에 대하여 FDA 승인을 받았다. 레날리도마이드는 일반적으로 탈리도마이드의 합성 유도체이며, 현재 T 세포와 항원 제시 세포 (APC) 사이의 면역 시냅스 형성의 시행을 포함하여 다중 면역조절 효과를 갖는 것으로 이해된다. 예를 들어, 일부 경우에는, 레날리도마이드가 T 세포 반응을 조절하여 CD4+ 및 CD8+ T 세포에서 인터루킨 (IL)-2 생산을 증가시키고, Th2에서 Th1 로의 T 헬퍼 (Th) 반응의 이동을 유도하고, T 세포의 조절 하위세트 (Tregs)의 증폭을 억제하고, 여포성 림프종 및 만성 림프성 백혈병 (CLL)에서 면역학적 시냅스의 기능을 개선시킨다 (Otahal et al., Oncoimmunology (2016) 5(4):e1115940). 레날리도마이드는 또한 다발성 골수종 (MM) 환자에서 직접 종양세포파괴성 (tumoricidal)을 갖고 지지 세포, 예컨대 림프성 조직의 미세환경에서 발견되는 간호-유사 세포 (nurse-like cell)에 영향을 주어 CLL 종양 세포의 생존을 직접 및 간접적으로 조절한다. 레날리도마이드는 또한, CD3 결합 또는 수지상 세포-매개 활성화를 통해 T 세포의 활성화에 반응하여 T-세포 증식 및 인터페론- γ 생산을 증가시킬 수 있다. 또한, 레날리도마이드는 TNF- α , IL-1, IL-6, IL-12를 포함하는 전-염증성 사이토카인의 증식을 감소시키고 NK 세포 활성화 증가를 통해 항체-의존성 세포독성 (ADCC)을 증가시키는 것으로 여겨진다. 레날리도마이드는 또한 악성 B 세포가 CD80, CD86, HLA-DR, CD95 및 CD40과 같은 면역자극 분자를 높은 수준으로 발현하도록 유도할 수 있다 (Fecteau et al., Blood (2014) 124(10):1637-1644). 세레블론, E3 유비퀴틴 리가아제가 탈리도마이드-유도 기형 발생의 주요 표적으로 확인되었다 (Ito et al., T., (2010) Science 327: 1345-1350). 레날리도마이드는 또한 세레블론을 표적으로하고 이것이 G1 세포-주기 어레스트를 이끄는 p21의 발현을 증가시키면서 c-Myc 및 IRF4 발현의 감소를 유도한다는 것이 밝혀졌다 (Lopez-Girona et al., (2012) Leukemia 26: 2326 -2335).

[0107] 일부 구현예에 있어서, 병변은 아데노신 수준을 조절하고 및/또는 아데노신 경로 요소의 활성 또는 양을 조절하는 제제를 투여함으로써 치료 및/또는 파괴된다. 아데노신은 신체의 면역조절 제제로서 기능할 수 있다. 예를 들어, 아데노신 수용체 서브타입을 비-선택적으로 활성화시키는 아데노신 및 일부 아데노신 유사체는 염증성 산화 생성물의 호중구 생성을 감소시킨다 (Cronstein et al., Ann. N.Y. Acad. Sci. 451:291, 1985; Roberts et al., Biochem. J., 227:669, 1985; Schrier et al., J. Immunol. 137:3284, 1986; Cronstein et al., Clinical Immunol. Immunopath. 42:76, 1987). 일부 경우, 세포 외 아데노신 또는 아데노신 유사체의 농도는 특정 환경, 예를 들어, 종양 미세환경 (TME)에서 증가할 수 있다. 일부 경우, 아데노신 또는 아데노신 유사체 신호전달은 저산소증 또는 저산소증이나 그 조절에 관련된 인자, 예를 들어 저산소증 유도성 인자 (HIF)에 의존한다. 일부 구현예에 있어서, 아데노신 신호전달의 증가는 전-염증성 사이토카인 생산의 억제를 결과하는 세포 내 cAMP 및 cAMP-의존성 단백질 키나아제에서 증가할 수 있고, 면역억제 분자의 합성 및 Tregs의 발달을 유도할 수 있다 (Sitkovsky et al., Cancer Immunol Res (2014) 2(7):598-605). 일부 구현예에 있어서, 추가적인 제제는 아데노신, 아데노신 유사체 및/또는 아데노신 신호전달의 면역억제 효과를 감소 시키거나 역전시킬 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 추가의 제제는 저산소증-유발된 A2-아데노신성 T 세포 면역억제를 감소시키거나 역전시킬 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 추가적인 제제는 아데노신 수용체의 길항제, 세포 외 아데노신-분해 제제, CD39/CD73 외효소에 의한 아데노신 생성 억제제 및 저산소증-HIF-1 α 신호전달 억제제 중에서 선택된다. 일부 구현예에 있어서, 추가 제제는 아데노신 수용체 길항제 또는 작용제이다.

[0108] 특정 구현예에 있어서, 세포 외 아데노신을 억제 또는 감소시키는 제제를 대상체에게 투여하여 병변을 치료 및/또는 파괴한다. 일부 구현예에 있어서, 아데노신 수용체의 활성 및/또는 양을 억제하는 제제를 대상체에게 투여하여 병변을 치료 및/또는 파괴한다. 특정 구현예는 세포 외 아데노신의 억제제 (예컨대, 세포 외 아데노신의 형성, 분해, 비활성화, 및/또는 세포 외 아데노신 감소를 방해하는 제제) 및/또는 아데노신 수용체 억제제 (예컨대, 아데노신 수용체 길항제)에 기한 세포 외 아데노신 또는 아데노신 수용체의 억제 또는 감소가 면역 반응, 예컨대 대식세포, 호중구, 과립구, 수지상 세포, T- 및/또는 B 세포 매개 반응을 증진시킬 수 있다는 것을 고려한다. 또한, Gs 단백질 매개 cAMP 의존성 세포 내 경로의 억제제 및 아데노신 수용체-촉발 Gi 단백질 매개 세포 내 경로의 억제제 역시 급성 및 만성 염증을 증가시킬 수 있다.

[0109] 일부 구현예에 있어서, 아데노신 수용체 길항제가 대상체에게 투여되어 병변을 치료 및/또는 파괴한다. 특정 구현예에 있어서, 아데노신 수용체 길항제는 병변을 치료 및/또는 파괴하기 위해 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에 있어서, 아데노신 수용체 길항제는 A2a, A2b 및/또는 A3 길항제이다. A2a, A2b 및 A3 수용체는 면역 반응을 억제 또는 감소시킬 수 있으므로, 면역억제성 아데노신 수용체를 길항하면 면역 반응을 증가, 부양 또는 증진시킬 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 세포 외 아데노신의 생성을 억제하고 및/또는 아데노신 수용체를 통하여 아데노신-촉발되는 신호전달을 억제하는 제제를 대상체에게 투여하여 병변을 치료 및/또는 파괴한다. 일부 구현예에 있어서, 병변에 대한 면역 반응, 병변의 조직 염증 및 병변의 표적화된 조직 파괴는, 아데노신-생성 국소 조직 저산소증을 억제 또는 감소시킴으로써; 축적된 세포 외 아데노신을 분해 (또는 비활성화) 시킴으로써; 면역 세포 상의 아데노신 수용체의 발현을 방해 또는 감소시킴으로써; 및/또는 아데노신 수용체를 통한

아데노신 리간드에 의한 신호전달을 억제함으로써 증가될 수 있다.

[0110] 특정 구현예에 있어서, 아데노신 수용체 길항제는 병변을 치료 및/또는 파괴하기 위하여 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에 있어서, 상기 길항제는 A2a, A2b 또는 A3 수용체 길항제와 같은 소분자 아데노신 수용체 길항제이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 길항제는 A2a, A3b 및/또는 A3 아데노신 수용체에 결합하지만 Gi 단백질 의존성 세포 내 신호 전달 경로를 유발하지 않는 펩타이드 또는 펩타이드모방체 (peptidomimetic)이다. 이러한 길항제의 예는 미국 특허 5,565,566; 5,545,627, 5,981,524; 5,861,405; 6,066,642; 6,326,390; 5,670,501; 6,117,998; 6,232,297; 5,786,360; 5,424,297; 6,313,131, 5,504,090; 및 6,322,771에 기술되어 있다.

[0111] 일부 구현예에 있어서, A2 수용체 (A2R) 길항제는 병변을 치료 및/또는 파괴하기 위해 대상체에게 투여된다. 예시적인 A2R 길항제는 KW6002 (이스트라데필린), SCH58261, 카페인, 파라잔틴, 3,7-디메틸-1-프로파길잔틴 (DMPX), 8-(m-클로로스티릴) 카페인 (CSC), MSX-2, MSX-3, MSX-4, CGS-15943, ZM-241385, SCH-442416, 프릴라데난트, 비파데난트 (BII014), V2006, ST-1535, SYN-115, PSB-1115, ZM241365, FSPTP, 및 A2R 발현을 표적하는 억제성 핵산, 예컨대 siRNA 또는 shRNA, 또는 A2R을 표적하는 임의의 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다. 일부 구현예에 있어서, 추가의 제제는 예를 들어, [Ohta et al., Proc Natl Acad Sci U S A (2006) 103:13132-13137]; [Jin et al., Cancer Res. (2010) 70(6):2245-2255]; [Leone et al., Computational and Structural Biotechnology Journal (2015) 13:265-272]; [Beavis et al., Proc Natl Acad Sci U S A (2013) 110:14711-14716]; 및 [Pinna, A., Expert Opin Investig Drugs (2009) 18:1619-1631]; [Sitkovsky et al., Cancer Immunol Res (2014) 2(7):598-605]; US 8,080,554; US 8,716,301; US 20140056922; WO2008/147482; US 8,883,500; US 20140377240; WO02/055083; US 7,141,575; US 7,405,219; US 8,883,500; US 8,450,329 및 US 8,987,279에 기재되어 있는 A2R 길항제이다.

[0112] 특정 구현예에 있어서, 아데노신 수용체를 인코딩하는 mRNA에 특이적으로 결합하는 안티센스 분자, 억제성 핵산 분자 (예컨대, 작은 억제성 RNA (siRNA)) 또는 촉매 핵산 분자 (예컨대, 리보자임)인 아데노신 수용체 길항제는 병변을 치료 및/또는 파괴하기 위해 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에 있어서, 안티센스 분자, 억제성 핵산 분자 또는 촉매 핵산 분자는 A2a, A2b 또는 A3를 인코딩하는 핵산에 결합한다. 일부 구현예에 있어서, 안티센스 분자, 억제성 핵산 분자 또는 촉매 핵산은 아데노신 수용체 하류의 생화학적 경로를 표적한다. 예를 들어, 안티센스 분자 또는 촉매 핵산은 Gs 단백질- 또는 Gi 단백질-의존성 세포 내 경로에 관여하는 효소를 억제할 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 추가의 제제는 A2a, A2b 또는 A3와 같은 아데노신 수용체의 우성 음성 (dominant negative) 변이체 형태를 포함한다.

[0113] 일부 구현예에 있어서, 병변은 세포 외 아데노신을 억제하는 제제를 대상체에게 투여함으로써 치료 및/또는 파괴된다. 세포 외 아데노신을 억제하는 제제는 세포 외 아데노신을 비-기능성으로 만드는 (예를 들어, 세포 외 아데노신을 아데노신 수용체에 결합할 수 없고 및/또는 활성화할 수 없게 하는) 제제, 예컨대 세포 외 아데노신의 구조를 변형시키는 물질을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 추가의 제제는 세포 외 아데노신-생성 또는 아데노신-분해 효소, 이들의 변형된 형태 또는 이들의 조절제이다. 예를 들어, 일부 구현예에 있어서, 추가의 제제는 아데노신에 선택적으로 결합하고 파괴하여 아데노신 수용체를 통해 신호를 전달하고 염증을 종결시키는 내인성으로 형성된 아데노신의 능력을 제거하거나 감소시키는 효소 (예컨대, 아데노신 디아미나아제) 또는 다른 촉매 분자이다.

[0114] 특정 구현예에 있어서, 아데노신 디아미나아제 (ADA) 또는 이의 변형된 형태, 예를 들어, 재조합 ADA 및/또는 폴리에틸렌 글리콜-개질된 ADA (ADA-PEG)를 대상체에게 투여함으로써 병변을 치료 및/또는 파괴한다. 아데노신 디아미나아제는 세포 외 아데노신의 국소 조직 축적을 억제할 수 있다. ADA-PEG는 ADA SCID 환자의 치료에 사용되어 왔다 (Hershfield (1995) Hum Mutat. 5:107). 일부 구현예에 있어서, 세포 외 아데노신을 억제하는 제제가 대상체에게 투여된다. 이는 세포 외 아데노신의 형성을 방지 또는 감소, 및/또는 세포 외 아데노신의 축적을 방지 또는 감소시킴으로써 아데노신의 면역억제 효과를 제거하거나 실질적으로 감소시키는 제제를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 전-염증성 분자, 예컨대 핵 전사 인자의 조절자의 합성 및/또는 분비의 조절에 관여하는 효소 및 단백질을 특이적으로 억제하는 제제가 대상체에게 투여된다. 아데노신 수용체 발현의 억제 또는 Gs 단백질- 또는 Gi 단백질-의존성 세포 내 경로 또는 cAMP 의존성 세포 내 경로의 발현은 면역 반응의 증가/강화를 결과할 수 있다.

[0115] 일부 구현예에 있어서, 세포 외 아데노신을 생성 또는 생산하는 외효소를 표적하는 제제를 대상체에게 투여하여 병변을 치료 및/또는 파괴한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 제제는 세포 외 아데노신을 생성하기 위해 동시에 기능하는 CD39 및 CD73 외효소를 표적한다. CD39 (엑토뉴클레오사이드 트리포스페이트 디포스포하이드

드플라아제라고도 불림)는 세포의 ATP (또는 ADP)를 5'AMP로 전환한다. 이어서, CD73 (5' 뉴클레오타이다아제라고도 불림)은 5'AIMP를 아데노신으로 전환한다. CD39의 활성화는 NDP 키나아제 및 아데닐레이트 키나아제의 작용에 의해 가역적인 반면, CD73의 활성화는 비가역적이다. CD39 및 CD73은 내피 세포 및 Tregs를 비롯한 종양 간질 세포 및 많은 암세포에서 발현된다. 예를 들어, 내피 세포에서의 CD39 및 CD73의 발현은 종양 미세환경의 저산소성 상태 하에서 증가된다. 종양의 저산소증은 불충분한 혈액 공급 및 종양 혈관 조직의 파괴로부터 결과되며, 산소 전달을 손상시킨다 (Carroll and Ashcroft (2005), Expert. Rev. Mol. Med. 7 (6):1-16). 저산소증은 또한 아데노신을 AMP로 전환시켜 세포 외 아데노신 농도를 매우 높게 만드는 아데닐레이트 키나아제 (AK)를 억제한다. 따라서, 아데노신은 고형 종양 내 또는 그 주위의 종양 미세환경 (TME)에서 빈번하게 발생하는 조건인 저산소증에 반응하여 고농도로 방출된다. 일부 구현예에 있어서, 추가의 제제는 항-CD39 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 항-CD73 항체 또는 그의 항원 결합 단편 중 하나 이상, 예를 들어 MEDI9447 또는 TY/23, α - β -메틸렌-아데노신 디포스페이트 (ADP), ARL 67156, POM-3, IPH52이다 (예컨대, [Allard et al. Clin Cancer Res (2013) 19(20):5626-5635]; [Hausler et al., Am J Transl Res (2014) 6(2):129-139]; [Zhang, B., Cancer Res. (2010) 70(16):6407-6411] 참조).

[0116] 일부 구현예에 있어서, 화학요법 제제 (때로는 세포독성 제제로 지칭 됨)가 대상체에게 투여되어 병변을 치료 및/또는 파괴한다. 특정 구현예에 있어서, 상기 병변은 종양이다. 특정 구현예에 있어서, 상기 병변은 암성이다. 특정 구현예에 있어서, 화학요법 제제는 암과 같은 과증식성 장애의 치료, 예방 또는 개선에 효과적인 것으로 당업자에게 공지된 임의의 제제이다. 화학요법 제제는 소분자, 합성 약물, 펩타이드, 폴리펩타이드, 단백질, 핵산 (예를 들어, DNA 및 RNA 폴리뉴클레오타이드, 예컨대 안티센스 뉴클레오타이드 서열, 삼중 나선, 생물학적으로 활성인 단백질, 폴리펩타이드 또는 펩타이드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하나, 이에 한정되지는 않음), 항체, 합성 또는 천연 무기 분자, 모방 제제 및 합성 또는 천연 유기 분자를 포함하지만 이에 한정되지는 않는다. 특정 구현예에 있어서, 화학요법 약물은 알킬화제, 안트라사이클린, 세포 골격 파괴 물질 (탁산), 에포틸론, 히스톤 디아세틸라아제 억제제, 토포아이스오머라아제 억제제, 토포아이스오머라아제 II 억제제, 키나아제 억제제, 뉴클레오타이드 유사체 및 전구체 유사체, 펩타이드 항생제, 백금-계 제제 및 빈카 알칼로이드 및 유도체를 포함한다.

[0117] 특정 구현예에 있어서, 병변은 화학요법 제제를 투여함으로써 치료 및/또는 파괴되어 생체 내에서 유전적으로 조작된 세포를 조절한다. 화학요법 제제는 아바렐릭스, 알데스루킨, 알렘투주맙, 알리트레티노인, 알로푸리놀, 알트레타민, 아미포스틴, 아나스트로졸, 삼산화비소, 아스파라기나아제, BCG 라이브, 베바시주맙, 백사로틴, 블레오마이신, 보르테조미, 부술판, 칼루스테론, 캄프토테신, 카페시타빈, 카보플라틴, 카무스틴, 셀레코시브, 세록시맙, 클로람부실, 시나칼세트, 시스플라틴, 클라드리빈, 시클로포스파마이드, 시타라빈, 다카르바진, 닥티노마이신, 달베포에틴 알파, 다우노루비신, 데닐루킨 디프티톡스, 텍스라죽산, 도세탁셀, 독소루비신, 드로모스타놀론, 엘리엇 B 솔루션, 에피루비신, 에포에틴 알파, 에스트라무스틴, 에토포사이드, 이그제미스탄, 필그라스티미, 플로스유리딘, 플루다라빈, 플루오로우라실, 폴브스트란트, 켐시타빈, 켐투주맙 오조가마이신, 제피티닙, 고세렐린, 하이드록시우레아, 이브리투모맙 티옥세탄, 이다루비신, 이포스파마이드, 이마티닙, 인터페론 알파-2a, 인터페론 알파-2b, 이니로테칸, 레트로졸, 류코보린, 레바미솔, 로무스틴, 메클로레타민, 메제스트롤, 멜팔란, 머감토포린, 메스나, 메토크세이트, 메톡살렌, 메틸프레드니솔론, 미토마이신 C, 미토탄, 미토산트론, 난드롤론, 노펙투모맙, 오블리메센, 오프렐빈, 옥살리플라틴, 파클리탁셀, 파미드로네이트, 페가데마아제, 페가스파르가아제, 페그필그라스티미, 페메트렉세드, 펜토스타틴, 피포브로만, 플리카마인, 폴리페프록산, 포르피머, 프로카바진, 퀴나크린, 라스부리카아제, 리톡시맙, 사그라모스틴, 스트렙토조신, 탈크, 타모시펜, 탈세바, 테모졸로마이드, 테니포사이드, 테스토라톤, 티오구아닌, 티오테파, 토포테칸, 토레미펜, 토시투모맙, 트라스투주맙, 트레티노인, 우라실 무스타드, 발루비신, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 비노렐빈 및 졸레드로네이트를 포함할 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

C. 유전적으로 조작된 세포의 재-증식

[0118] 일부 구현예에 있어서, 제공되는 방법은 대상체에서 조작된 세포의 재-증식을 촉진하고, 이는, 일부 경우에, 치료 및/또는 파괴 전 초기의 피크 증식 수준을 훨씬 초과할 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 제공되는 방법은, 조작된 세포의 피크 수준이 감소했거나 검출할 수 없는 때에 유전적으로 조작된 T 세포의 증식 및/또는 지속을 조절한다. 일부 구현예에 있어서, 재-증식하도록 유도된 유전적으로 조작된 세포는 그것이 투여되는 대상체에서 더 우수한 효능을 나타낸다.

[0119] CAR+ T 세포를 모니터링하거나 검출하는 방법은 공지되어 있고 예시적인 방법들이 섹션 IV.C.에 개시된다. 일부 구현예에 있어서, 대상체에 투여한 후, 투여된 세포의 증식 정도 또는 세기를 검출하거나, 정량화할

수 있다. 예를 들어, 몇 가지 측면에서, 혈액 또는 혈청 또는 기관 또는 조직 (예를 들어, 질병 부위)에서 키메라 수용체 (예를 들어, CAR-발현 세포)를 발현하는 세포의 양을 평가하기 위해, 정량적 PCR(qPCR)을 사용한다. 몇 가지 측면에 있어서, DNA의 마이크로그램당 수용체, 예를 들어 CAR을 인코딩하는 DNA 또는 플라스미드의 복제물 또는, 예를 들어 혈액 또는 혈청 샘플의 마이크로리터당 또는 말초 혈액 단분자 세포 (PBMC) 또는 백혈구의 총 수당 수용체-발현, 예를 들어 CAR-발현 세포 또는 샘플의 마이크로리터당 T 세포의 수로서 증식, 예컨대 조작된 세포의 수를 정량화한다. 일부 구현예에 있어서, 일반적으로, 수용체에 특이적인 항체를 사용하여, 수용체를 발현하는 세포를 검출하는 유동세포계측 분석을 또한 수행할 수 있다. 또한, 세포 기반 분석을 사용하여, 질병 또는 질환의 세포와 결합할 수 있고/있거나, 이에 대한 반응, 예를 들어 세포독성 반응을 중화시킬 수 있고/있거나, 유도할 수 있거나, 수용체에 의해 인식되는 항원을 발현할 수 있는 세포와 같은 기능성 세포의 수 또는 백분율을 검출할 수 있다. 이러한 구현예 중 임의의 것에 있어서, 재조합 수용체와 결합된 또 다른 마커 (예를 들어, CAR-발현 세포)의 발현의 정도 또는 수준을 사용하여, 대상체에서 내인성 세포와 투여된 세포를 구별할 수 있다.

[0120] 일부 구현예에 있어서, 제공된 방법에 따라 병변을 파괴하는 것은, 예컨대 그들의 증식 및/또는 시간에 걸친 지속성을 촉진함으로써, 세포, 예를 들어, T 세포 기반 요법을 위해 투여된 T 세포에 대한 활성화, 재-증식 및/또는 대상체의 그에 대한 노출 증가를 촉진시킨다. 일부 구현예에 있어서, T 세포 요법은, T 세포 요법이 병변의 파괴 없이 대상체에게 투여되는 방법에 비하여, 대상체에서, 또는 그렇게 치료된 복수의 대상체들에서 평균적으로 증식 및/또는 지속성의 증가 또는 연장을 나타낸다. 일부 구현예에 있어서, 생체 내에서 병변을 파괴하는 것을 포함하는 상기 제공되는 방법은, 병변의 파괴 없이 T 세포만을 투여하는 것에 비하여, 대상체에서, 또는 그렇게 치료된 복수의 대상체들에서 평균적으로, 세포, 예를 들어, T 세포 기반 요법을 위해 투여된 T 세포에 대한 최대 노출, 총 노출 및/또는 노출 기간을 증가시킬 수 있다. 이러한 증가는 1.2-배, 1.5-배, 2.0-배, 3.0-배, 4.0-배, 5.0-배, 6.0-배, 7.0-배, 8.0-배, 9.0-배, 10.0-배, 20.0-배, 30.0-배, 40.0-배, 50.0-배 또는 그 이상이거나, 약 1.2-배, 1.5-배, 2.0-배, 3.0-배, 4.0-배, 5.0-배, 6.0-배, 7.0-배, 8.0-배, 9.0-배, 10.0-배, 20.0-배, 30.0-배, 40.0-배, 50.0-배 또는 그 이상이거나, 적어도 약 1.2-배, 1.5-배, 2.0-배, 3.0-배, 4.0-배, 5.0-배, 6.0-배, 7.0-배, 8.0-배, 9.0-배, 10.0-배, 20.0-배, 30.0-배, 40.0-배, 50.0-배 또는 그 이상이다.

[0121] 일부 구현예에 있어서, 제공되는 방법에 의해 달성되는 대상체의 투여된 세포에 대한 노출 증가 (예를 들어, 세포 수 또는 시간 경과에 따른 지속 시간 증가)는 면역요법, 예컨대 T 세포 요법의 효능 및 치료 결과를 개선시킨다. 일부 측면에서, 상기 방법은 재조합 수용체를 발현하는 세포, 예를 들어, CAR-발현 세포에 대한 보다 큰 노출 및/또는 더 긴 노출이, 다른 방법과 비교하여 치료 결과를 개선한다는 점에서 유리하다. 이러한 결과는 중증의 종양 부담을 가진 개체에서조차, 환자 생존 및 관해를 포함한다. 일부 측면에서, 대상체에서, 또는 그렇게 치료된 복수의 대상체들에서 평균적으로, 병변의 치료 및/또는 파괴 다음에 달성되는, 세포 투여의 증폭 및/또는 지속성의 증가 또는 연장은 대상체(들)에서의 종양 관련 결과상의 이점과 관련된다. 일부 구현예에 있어서, 상기 종양 관련 결과는 대상체(들)에서의 종양 부하의 감소 또는 골수 (blast marrow)의 감소를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 종양 부하는 상기 방법의 투여 후에 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 100%로, 또는 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 100% 이상으로, 또는 약 그 이상으로 감소된다. 일부 구현예에 있어서, 질병 부하, 종양 크기, 종양 체적, 종양 매스 및/또는 종양 부하 또는 벌크는, 병변을 파괴하는 것을 포함하지 않는 방법으로 치료된 대상체, 또는 평균적으로 그렇게 치료된 복수의 대상체들에 비하여, 세포의 투여 다음에 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 그 이상으로, 또는 약 그 이상으로 감소한다.

[0122] 일부 구현예에 있어서, 제공되는 방법은 대상체가 다른 요법에 내성을 갖거나 및/또는 재조합 수용체-발현 세포, 예컨대 CAR+ T 세포와 같은 조작된 세포의 투여 다음에 재발했음에도 불구하고, 대상체를 효과적으로 치료한다. 일부 구현예에 있어서 효과적인 치료를 평가하는 기준은 전체 반응 속도 (ORR), 완전한 반응 (CR), 반응 지속시간 (DOR), 무-진행 생존 (PFS) 및/또는 전체 생존 (OS)을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 방법 및 용도는 병변을 파괴하는 것을 포함하지 않는 방법과 비교하여, 대상체에서, 또는 그렇게 치료된 복수의 대상체들에서 평균적으로, 보다 내구력 있는 반응을 제공하거나 달성한다. 제공되는 방법 중 임의의 특정 구현예에 있어서, 반응, 예를 들어 ORR 또는 CR은, 상기 제공되는 방법에 따른 병변의 파괴 및/또는 약리학적 또는 치료적 제제의 투여 다음에 3 개월 이상, 6 개월 이상, 12 개월 이상, 18 개월 이상, 24 개월 이상, 30 개월 이상, 36 개월 이상 또는 그 이상 동안 지속된다.

II. 세포 요법 및 조작된 세포

[0123] 제공되는 치료 방법은 재조합 수용체를 발현하는 세포 및 그의 조성물을, 대상체, 예를 들어 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 세포는 조작된 수용체, 예를 들어 조작된 항원 수용체, 예를 들어 키메라 항원 수용체 (CAR) 또는 T 세포 수용체 (TCR)를 함유하거나 또는 함유하도록 조작된다. 상기 세포는, 그러한 세포들로 이루어지는 군 (population), 그러한 세포를 함유하고 및/또는 그러한 세포로 농축된 조성물, 예컨대 그 안에서 T 세포 또는 CD8+ 또는 CD4+ 세포와 같은 특정 유형의 세포가 농축되거나 또는 선택된 것을 포함한다. 조성물 중에는 입양 세포 치료와 같은 투여용의 약학적 조성물 및 제형이 있다.

[0124] 일부 구현예에 있어서, 세포는 유전 공학을 통해 도입되는 하나 이상의 핵산을 포함하고, 이에 의해 그러한 핵산의 재조합 또는 유전적으로 조작된 생성물을 발현한다. 일부 구현예에서, 유전자 전달은 우선 세포를 자극시킴으로써, 예컨대, 사이토카인 또는 활성화 마커의 발현에 의해 측정되는 바 증식, 생존 및/또는 활성화와 같은 반응을 유도하는 자극과 세포를 조합시킨 후, 활성화된 세포를 형질도입시키고, 임상 적용에 충분한 수로 배양 증식시킴으로써 달성된다.

[0125] 유전자 조작된 요소, 예를 들어 항원 수용체, 예를 들어 CAR의 도입을 위한 다양한 방법이 잘 공지되어 있으며, 제공되는 방법 및 조성물과 함께 사용될 수 있다. 예시적 방법은 바이러스, 예를 들어 레트로바이러스 또는 렌티바이러스, 형질도입, 전이인자, 및 전기전공을 통한 것을 포함하여, 수용체를 인코딩하는 핵산의 전달을 위한 것을 포함한다.

A. 재조합 수용체

[0126] 세포는 일반적으로 재조합 수용체, 예컨대 항원 수용체, 예컨대 기능적 비-TCR 항원 수용체, 예컨대 키메라 항원 수용체 (CAR) 및 다른 항원-결합 수용체, 예컨대 트랜스제닉 T 세포 수용체 (TCR)를 발현한다. 또한, 수용체 중에는 기타 키메라 수용체, 예컨대 키메라 자가항체 수용체 (CAAR)가 있다.

1. 키메라 항원 수용체 (CAR)

[0127] 일부 구현예에 있어서, 재조합 수용체는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, CAR은 특정 세포 유형의 표면에 발현되는 항원과 같은 특정 항원 (또는 마커 또는 리간드)에 특이적이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 항원은 폴리펩타이드이다. 일부 구현예에 있어서, 이는 탄수화물 또는 다른 분자이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 항원은 정상 세포 또는 비-표적화된 세포 또는 조직과 비교하여, 질환 또는 질병 상태의 세포, 예를 들어, 종양 또는 병원성 세포에서 선택적으로 발현되거나 과발현된다. 다른 구현예에 있어서, 항원은 정상 세포 상에서 발현되고 및/또는 조작된 세포 상에서 발현된다.

[0128] 특정 구현예에 있어서, 재조합 수용체, 예컨대 키메라 수용체는 세포 내 신호전달 영역을 함유하는데, 이는 세포질 신호전달 도메인 (세포 내 신호전달 도메인으로 불림), 예를 들어 T 세포에서 1차 활성화 신호를 유도할 수 있는 세포질 (세포 내) 영역, 예컨대 T 세포 수용체 (TCR) 요소의 세포질 신호전달 도메인 (예컨대, CD3-제타 (CD3ζ) 쌍의 제타쌍의 세포질 신호전달 도메인 또는 그의 기능적 변이체 또는 신호전달 부분)을 포함하고 및/또는 면역수용체 티로신계 활성화 모티프 (ITAM)를 포함한다.

[0129] 일부 구현예에 있어서, 키메라 수용체는 항원 (또는 리간드)에 특이적으로 결합하는 세포 외 결합 도메인을 더 함유한다. 일부 구현예에 있어서, 키메라 수용체는 항원에 특이적으로 결합하는 세포 외 항원-인식 도메인을 함유하는 CAR이다. 일부 구현예에 있어서, 항원 (또는 리간드)은 세포 표면에서 발현되는 단백질이다. 일부 구현예에 있어서, CAR은 TCR-유사 CAR이고 항원은 가공된 펩타이드 항원, 예컨대 TCR과 같이 주조직 적합성 복합체 (MHC) 분자의 관점에서 세포 표면상에서 인식되는 세포 내 단백질의 펩타이드 항원이다.

[0130] CAR을 포함하는 예시적인 항원 수용체 및 이러한 수용체를 조작하고 세포 내로 도입시키는 방법은, 예를 들어 국제 특허 출원 공개 번호 WO200014257, WO2013126726, WO2012/129514, WO2014031687, WO2013/166321, WO2013/071154, WO2013/123061, U.S. 특허 출원 공개 번호 US2002131960, US2013287748, US20130149337, U.S. 특허 번호: 6,451,995, 7,446,190, 8,252,592, , 8,339,645, 8,398,282, 7,446,179, 6,410,319, 7,070,995, 7,265,209, 7,354,762, 7,446,191, 8,324,353, 및 8,479,118, 및 유럽 특허 출원 번호 EP2537416에 개시된 것들 및/또는 [Sadelain et al., Cancer Discov. 2013 April; 3(4): 388-398]; [Davila et al. (2013) PLoS ONE 8(4): e61338]; [Turtle et al., Curr. Opin. Immunol., 2012 October; 24(5): 633-39]; [Wu et al., Cancer, 2012 March 18(2): 160-75]에 개시된 것들을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 수용체는 미국 특허 7,446,190에 기재된 바와 같은 CAR 및 국제 특허 출원 공개 WO/2014055668 A1에 기재된 것들을 포함한다. CAR의 예는 전술한 간행물, 예컨대 WO2014031687, US 8,339,645, US 7,446,179, US 2013/0149337, U.S. 특허 7,446,190, US 특허 8,389,282, [Kochenderfer et al., 2013, Nature Reviews Clinical Oncology, 10, 267-276 (2013)]; [Wang et

al. (2012) J. Immunother. 35(9): 689-701]; 및 [Brentjens et al., Sci Transl Med. 2013 5(177)] 중 어느 하나에 개시된 CAR을 포함한다. 또한, WO2014031687, US 8,339,645, US 7,446,179, US 2013/0149337, U.S. 특허 7,446,190, 및 US 특허 8,389,282 참조. CAR과 같은 키메라 수용체는 일반적으로 세포 외 항원 결합 도메인, 예컨대 항체 분자의 일부분, 일반적으로 항체의 가변 중쇄 (VH) 영역 및/또는 가변 경쇄 (VL) 영역, 예컨대 scFv 항체 단편을 포함한다.

[0131] 일부 구현예에 있어서, 수용체에 의해 표적화되는 항원은 폴리펩타이드이다. 일부 구현예에 있어서, 이는 탄수화물 또는 다른 분자이다. 일부 구현예에 있어서, 항원은, 정상 세포 또는 비-표적화된 세포 또는 조직과 비교하여, 질환 또는 질병 상태의 세포, 예를 들어, 종양 또는 병원성 세포 상에서 선택적으로 발현되거나 과발현된다. 다른 구현예에 있어서, 항원은 정상 세포 상에서 발현되고 및/또는 조작된 세포 상에서 발현된다.

[0132] 일부 구현예에 있어서, CAR은 특정 항원 (또는 마커 또는 리간드)에 대한 특이성을 가지고 구성되는데, 예컨대 입양 요법에 의하여 표적화되는 특정 세포 유형에서 발현되는 항원, 예컨대 암 마커 및/또는 완충 반응 (dampening response)을 유도하려는 목적의 항원, 예컨대 정상 세포 또는 비-질환 세포 유형 상에서 발현되는 항원이다. 따라서, CAR은 전형적으로 그의 세포 외 부분에 하나 이상의 항원 결합 분자, 예컨대 하나 이상의 항원-결합 단편, 도메인 또는 일부분, 또는 하나 이상의 항체 가변 도메인 및/또는 항체 분자를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, CAR은 항체 분자의 항원-결합 부분 또는 부분들을 포함하는데, 예컨대 모노클로날 항체 (mAb)의 가변 중쇄 (VH) 및 가변 경쇄 (VL)로부터 유래되는 단일-쇄 항원 단편 (scFv)이다.

[0133] 일부 구현예에 있어서, 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 항원 수용체와 같은 재조합 수용체의 일부로서 세포 상에서 발현된다. 항원 수용체 중에는 키메라 항원 수용체 (CAR)와 같은 기능성 비-TCR 항원 수용체가 있다. 일반적으로, 펩타이드-MHC 복합체에 대한 TCR-유사 특이성을 나타내는 항체 또는 항원 결합 단편을 함유하는 CAR은 또한 TCR-유사 CAR로 지칭될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, TCR-유사 CAR의 MHC-펩타이드 복합체에 특이적인 세포 외 항원 결합 도메인은 하나 이상의 세포 내 신호전달 요소와 연결되는데, 일부 측면에서 링커 및/또는 막 횡단 도메인(들)을 통해서이다. 일부 구현예에 있어서, 이러한 분자는 전형적으로 TCR과 같은 천연 항원 수용체를 통한 신호, 및 임의로, 공자극 수용체와 조합되는 이러한 수용체를 통한 신호를 모방하거나 이와 비슷할 수 있다.

[0134] 일부 구현예에 있어서, 재조합 수용체, 예컨대 키메라 수용체 (예컨대, CAR)는 항원 (또는 리간드)에 결합, 예컨대 특이적으로 결합하는 리간드-결합 도메인을 포함한다. 키메라 수용체에 의해 표적화되는 항원들 중에는, 입양 세포 요법을 통해 표적화될 질환, 질병 상태 또는 세포 유형의 관점에서 발현되는 것들이 있다. 질환 및 질병 상태 중에는, 증식성, 신생물성 및 악성 질환 및 장애가 있는데, 예컨대 암 및 종양, 예컨대 혈액학적 암, 면역계 암, 예컨대 림프종, 백혈병 및/또는 골수종, 예컨대 B, T 및 골수 백혈병, 림프종 및 다발성 골수종이다.

[0135] 일부 구현예에 있어서, 항원 (또는 리간드)은 폴리펩타이드이다. 일부 구현예에 있어서, 이는 탄수화물 또는 다른 분자이다. 일부 구현예에 있어서, 항원 (또는 리간드)는 정상 또는 비-표적화된 세포 또는 조직과 비교하여 질환 또는 질병 상태의 세포, 예를 들어, 종양 또는 병원성 세포에서 선택적으로 발현되거나 과발현된다.

[0136] 일부 구현예에 있어서, CAR은 세포의 표면 상에서 발현되는 항원, 예를 들어, 온전한 (intact) 항원을 특이적으로 인식하는 항체 또는 항원-결합 단편 (예컨대, scFv)을 함유한다.

[0137] 일부 구현예에 있어서, 수용체에 의해 표적화되는 항원은 희귀 티로신 키나아제 수용체 (orphan tyrosine kinase receptor) ROR1, tEGFR, Her2, L1-CAM, CD19, CD20, CD22, 메소텔린, CEA, 및 헤파티티스 B 표면 항원, 항-엽산 수용체, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, EGFR, EGP-2, EGP-4, EPHA2, ErbB2, 3, 또는 4, FBP, 태아 아세틸콜린 수용체 (fetal acetylcholine receptor), GD2, GD3, HMW-MAA, IL-22R-알파, IL-13R-알파2, kdr, 카파 경쇄, 루이스 Y, L1 세포 부착 분자, MAGE-A1, 메소텔린, MUC1, MUC16, PSCA, NKG2D 리간드, NY-ESO-1, MART-1, gp100, 종양태아성 항원, ROR1, TAG72, VEGF-R2, 암 배아 항원 (CEA), 전립선 특이 항원, PSMA, Her2/neu, 에스트로젠 수용체, 프로게스테론 수용체, 에프린B2, , CD123, c-Met, GD-2, 및 MAGE A3, CE7, 윌름 종양 1 (Wilms Tumor 1, WT-1), 사이클린, 예컨대 사이클린 A1 (CCNA1), G 단백질 결합 수용체 5D (GPCR5D), 및/또는 비오틴화 분자, 및/또는 HIV, HCV, HBV 또는 기타 병원체에 의하여 발현되는 분자이거나 이를 포함한다.

[0138] 특정 구현예에서, 조작된 세포는 항원에 결합하는 재조합 수용체 및/또는 CAR을 발현한다. 특정 구현예

에 있어서, 상기 항원은 $\alpha\text{v}\beta 6$ 인테그린 ($\alpha\text{v}\beta 6$ 인테그린), B 세포 성숙 항원 (BCMA), B7-H3, B7-H6, 탄산 탈수 효소 9 (CA9, 또한 CAIX 또는 G250으로도 알려짐), 암-고환 항원, 암/고환 항원 1B (CTAG, NY-ESO-1 및 LAGE-2로도 알려짐), 배암종 항원 (CEA), 사이클린, 사이클린 A2, C-C 모티프 케모카인 리간드 1 (CCL-1), CD19, CD20, CD22, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, CD44v6, CD44v7/8, CD123, CD138, CD171, 표피 성장 인자 단백질 (EGFR), 절단형 표피 성장 인자 단백질 (tEGFR), III 형 상피 성장 인자 수용체 돌연변이 (EGFR vIII), 상피 당단백 2 (EPG-2), 상피 당단백 40 (EPG-40), 에프린B2, 에프린 수용체 A2 (EPHa2), 에스트로겐 수용체, Fc 수용체 유사 5 (FCRL5, Fc 수용체 상동체 5 또는 FCRH5로도 알려짐), 태아 아세틸콜린 수용체 (태아 AchR), 엽산 결합 단백질 (FBP), 엽산 수용체 알파, 태아 아세틸콜린 수용체, 강글리오사이드 GD2, O-아세틸 화 GD2 (OGD2), 강글리오사이드 GD3, 당단백질 100 (gp100), Her2/neu (수용체 타이로신 키나아제 erbB2), Her3 (erbB-3), Her4 (erbB-4), erbB 이량체, 인간 고분자량-흑색종-관련 항원 (HMW-MAA), 헤파티티스 B 표면 항원, 인간 백혈구 항원 A1 (HLA-A1), 인간 백혈구 항원 A2 (HLA-A2), IL-22 수용체 알파 (IL-22Ra), IL-13 수용체 알파 2 (IL-13Ra2), 키나아제 삽입 도메인 수용체 (kdr), 카파 경쇄, L1 세포 부착 분자 (L1CAM), L1-CAM의 CE7 에피토프, 류신 리치 리퍼트 함유 8 패밀리 멤버 A (LRRC8A), 루이스 Y, 흑색종-관련 항원 (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, 메소텔린, c-Met, 쥐과 사이토메갈로바이러스 (CMV), 뮤신 1 (MUC1), MUC16, 자연 킬러 그룹 2 멤버 D (NKG2D) 리간드, 멜란 A (MART-1), 신경 세포 접착 분자 (NCAM), 종양태아성 항원, 흑색종 우선 발현 항원 (PRAME), 프로케스테론 수용체, 전립선 특이 항원, 전립선 줄기 세포 항원 (PSCA), 전립선 특이 막 항원 (PSMA), 수용체 타이로신 키나아제 유사 회귀 수용체 1 (ROR1), 서바이빈 (survivin), 영양막 당단백질 (TPBG, 5T4로도 알려짐), 종양-관련 당단백질 72 (TAG72), 혈관 내피 장 인자 수용체 (VEGFR), 혈관 내피 성장 인자 수용체 2 (VEGFR2), 윌름 종양 1 (WT-1), G 단백질 결합 수용체 5D (GPCR5D), 병원체-특이적 항원, 또는 보편적 태그 관련 항원, 및/또는 비오틴화 분자, 및/또는 HIV, HCV, HBV 또는 다른 병원체에 의해 발현되는 분자이다. 일부 구현예에 있어서, 수용체에 의해 표적화된 항원은 B 세포 악성종양과 관련된 항원을 포함하는데, 예컨대 다수의 공지된 B 세포 마커 중 어느 하나이다. 일부 구현예에 있어서, 항원은 CD20, CD19, CD22, ROR1, CD45, CD21, CD5, CD33, Ig카파, Ig람다, CD79a, CD79b 또는 CD30이거나 이를 포함한다.

[0139] 일부 구현예에 있어서, CAR은 병원체-특이적 또는 병원체-발현 항원과 결합한다. 일부 구현예에 있어서, CAR은 바이러스성 항원 (예 : HIV, HCV, HBV 등), 세균성 항원 및/또는 기생충 항원에 특이적이다.

[0140] 일부 구현예에 있어서, CAR은 TCR-유사 항체를 함유하는데, 예컨대 MHC-펩타이드 복합체로서 세포 표면 상에 제시되는 종양-관련 항원과 같은 세포 내 항원을 특이적으로 인식하는 항체 또는 항원-결합 단편 (예컨대, scFv)이다. 일부 구현예에 있어서, MHC-펩타이드 복합체를 인식하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 항원 수용체와 같은 제조물 수용체의 일부로서 세포 상에서 발현될 수 있다. 항원 수용체 중에는, 키메라 항원 수용체 (CAR)와 같은 기능성 비-TCR 항원 수용체가 있다. 일반적으로, 펩타이드-MHC 복합체에 대한 TCR-유사 특이성을 나타내는 항체 또는 항원-결합 단편을 함유하는 CAR은 또한 TCR-유사 CAR로 지칭될 수 있다.

[0141] "주조직 적합성 복합체 (major histocompatibility complex)" (MHC)에 대한 언급은, 일부 경우에 폴리펩타이드의 펩타이드 항원, 예컨대 세포의 기계적 장치에 의하여 가공되는 펩타이드 항원과 복합체화할 수 있는 다형성 펩타이드 결합 위치 또는 결합 홈을 함유하는 단백질, 일반적으로 당단백질을 말한다. 일부 경우, MHC 분자는 T 세포상의 항원 수용체, 예컨대 TCR 또는 TCR-유사 항체에 의하여 인식 가능한 형태로 항원을 제시하기 위해, 예컨대 펩타이드와의 복합체로서, 즉 MHC-펩타이드 복합체로서 세포 표면에 표시되거나 발현될 수 있다. 일반적으로, MHC 클래스 I 분자는 일부 경우 3 개의 α 도메인을 갖는 막에 존재하는 알파쇄 및 비-공유적으로 결합되는 $\beta 2$ 마이크로글로불린을 갖는 이종이량체이다. 일반적으로, MHC 클래스 II 분자는 통상 양자 모두 막에 존재하는 2 개의 막관통 당단백질인 α 및 β 로 구성된다. MHC 분자는 항원 결합 위치 또는 펩타이드를 결합하기 위한 위치 및 적절한 항원 수용체에 의한 인식에 필요한 서열을 함유하는 MHC의 유효 부분을 포함할 수 있다. 일부 구현예에 있어서, MHC 클래스 I 분자는 세포질에서 기원하는 펩타이드를, MHC-펩타이드 복합체가 T 세포에 의하여 인식되는, 예컨대 일반적으로 CD8+ T 세포에 의하여, 그러나 어떤 경우 CD4+ T 세포에 의해 인식되는 세포 표면으로 전달한다. 일부 구현예에 있어서, MHC 클래스 II 분자는 소포 시스템에서 기원하는 펩타이드를, 이들이 통상 CD4+ T 세포에 의해 인식되는 세포 표면으로 전달한다. 일반적으로, MHC 분자는 마우스에서 H-2으로 그리고 인간에서는 인간 백혈구 항원 (HLA)으로 총칭되는, 연결된 좌위 그룹에 의해 인코딩된다. 따라서, 통상 인간 MHC는 또한 인간 백혈구 항원 (HLA)으로 지칭될 수 있다.

[0142] 용어 "MHC-펩타이드 복합체" 또는 "펩타이드-MHC 복합체" 또는 이들의 변형은 예를 들어, 일반적으로 MHC 분자의 결합 홈 또는 틈에서 펩타이드의 비-공유 상호 작용에 의한, 펩타이드 항원과 MHC 분자의 복합체 또는 결합을 말한다. 일부 구현예에 있어서, MHC-펩타이드 복합체는 세포 표면에 존재하거나 표시된다. 일부 구

현에 있어서, MHC-펩타이드 복합체는 항원 수용체, 예컨대 TCR, TCR-유사 CAR 또는 이의 항원-결합 부분에 의해 특이적으로 인식될 수 있다.

[0143] 일부 구현예에 있어서, 폴리펩타이드의 펩타이드, 예컨대 펩타이드 항원 또는 에피토프는, 예컨대 항원 수용체에 의한 인식을 위하여, MHC 분자와 결합할 수 있다. 일반적으로, 펩타이드는 폴리펩타이드 또는 단백질과 같은 보다 긴 생물학적 분자의 단편으로부터 유래되거나 이에 기초한다. 일부 구현예에 있어서, 펩타이드는 전형적으로 약 8 내지 약 24 개의 길이이다. 일부 구현예에 있어서, 펩타이드는 MHC 클래스 II 복합체에서의 인식을 위해 9 내지 22 개의 아미노산 또는 약 그 정도의 길이를 갖는다. 일부 구현예에 있어서, 펩타이드는 MHC 클래스 I 복합체에서의 인식을 위해 8 내지 13 개의 아미노산 또는 약 그 정도의 길이를 갖는다. 일부 구현예에 있어서, MHC-펩타이드 복합체와 같은 MHC 분자의 관점에서 펩타이드의 인식에 따라, TCR 또는 TCR-유사 CAR과 같은 항원 수용체는 T 세포 반응, 예컨대 T 세포 증식, 사이토카인 생산, 세포독성 T 세포 반응 또는 다른 반응을 유도하는 T 세포에 대한 활성화 신호를 생성 또는 촉발한다.

[0144] 일부 구현예에 있어서, TCR-유사 항체 또는 항원-결합 부분은 공지되어 있거나 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다 (예를 들어, 미국 공개 출원 US 2002/0150914; US 2003/0223994; US 2004/0191260; US 2006/0034850; US 2007/00992530; US20090226474; US20090304679; 및 국제 PCT 공개 WO 03/068201 참조).

[0145] 일부 구현예에 있어서, MHC-펩타이드 복합체에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 특정 MHC-펩타이드 복합체를 함유하는 유효량의 면역원으로 숙주를 면역화함으로써 제조될 수 있다. 일부 경우, MHC-펩타이드 복합체의 펩타이드는 MHC에 결합할 수 있는 항원의 에피토프, 예를 들어, 종양 항원, 예를 들어 범용 종양 항원, 골수종 항원 또는 하기에 기술되는 다른 항원의 에피토프이다. 일부 구현예에 있어서, 면역 반응을 이끌어 내기 위해 그 후 유효량의 면역원을 숙주에게 투여하는데, 여기서 면역원은 MHC 분자의 결합 홈에서 펩타이드의 3-차원적 제시에 대한 면역 반응을 이끌어 내기에 충분한 시간 동안 그들의 3-차원적 형태를 유지한다. 그 후, 숙주로부터 수집된 혈청을 분석하여 MHC 분자의 결합 홈에서 상기 펩타이드의 3-차원적 제시를 인식하는 원하는 항체가 생성되는지를 결정한다. 일부 구현예에 있어서, 생성된 항체는 그 항체가 MHC 분자 단독, 관심 대상 펩타이드 단독 및 무관한 펩타이드와 MHC와의 복합체로부터 대상 MHC-펩타이드 복합체를 구별할 수 있음을 확인하기 위해 평가될 수 있다. 그 후, 원하는 항체는 분리될 수 있다.

[0146] 일부 구현예에 있어서, MHC-펩타이드 복합체에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 부분은 파지 항체 라이브러리와 같은 항체 라이브러리 디스플레이 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 돌연변이 Fab, scFv 또는 다른 항체 형태의 파지 디스플레이 라이브러리가 생성될 수 있으며, 여기서, 예를 들어 라이브러리 구성원은 CDR 또는 CDR들의 하나 이상의 잔기에서 돌연변이된다. 예컨대, 미국 공개 출원 US20020150914, US2014/0294841; 및 [Cohen CJ. *et al.* (2003) *J Mol. Recogn.* 16:324-332] 참조.

[0147] 본 발명에서 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되며, 폴리클로날 및 모노클로날 항체를 포함하고, 예컨대 온전한 항체 및 기능적 (항원-결합) 항체 단편, 예컨대 항원 결합 단편 (Fab), F(ab')₂ Fab' 단편, Fv 단편, 제조합 IgG (rIgG) 단편, 항원에 특이적으로 결합할 수 있는 가변 중쇄 (VH) 영역, 단일쇄 항체 단편, 예컨대 단일쇄 가변 단편 (scFv) 및 단일 도메인 항체 (예컨대, sdAb, sdFv, 나노바디) 단편이다. 상기 용어는 유전적으로 조작된 및/또는 달린 변형된 형태의 면역글로불린들, 예컨대 인트라바디, 펩티바디, 키메라 항체, 완전 인간 항체, 인간화 항체, 및 헤테로 컨주게이트 항체, 다중 특이적, 예컨대, 이중 특이적 항체, 디아바디, 트리아바디 및 테트라바디, 탠덤 디-scFv, 탠덤 트리-scFv이다. 달리 언급하지 않는 한, 용어 "항체"는 그의 기능적 항체 단편을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 상기 용어는 또한 온전한 또는 전장 항체를 포함하는데, 예컨대 IgG 및 그 서브 클래스, IgM, IgE, IgA 및 IgD를 포함하는 임의의 부류 또는 하위-부류의 항체이다.

[0148] 일부 구현예에 있어서, 항원-결합 단백질, 항체 및 그의 항원 결합 단편은 전장 항체의 항원을 특이적으로 인식한다. 일부 구현예에 있어서, 항체의 중쇄 및 경쇄는 전장일 수 있거나 항원-결합 부분 (Fab, F(ab')₂, Fv 또는 단일쇄 Fv 단편 (scFv))일 수 있다. 다른 구현예에 있어서, 항체 중쇄 불변 영역은 예컨대 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD 및 IgE로부터 선택되고, 특히 예컨대 IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4로부터 선택되며, 더욱 특히 IgG1 (예컨대, 인간 IgG1)이다. 또 다른 구현예에 있어서, 항체 경쇄 불변 영역은 예를 들어 카파 또는 람다로부터 선택되고, 특히 카파이다.

[0149] 제공되는 항체 중에는 항체 단편이 있다. "항체 단편"은 온전한 항체가 결합하는 항원에 결합하는 온전한 항체의 일부분을 포함하는 온전한 항체 이외의 분자를 말한다. 항체 단편의 예는 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; 디아바디; 선형 항체; 가변 중쇄 (V_H) 영역, 단일-쇄 항체 분자, 예컨대 scFv 및 단일 도메인 V_H 단일

항체; 및 항체 단편으로부터 형성되는 다중 특이적 항체를 포함한다. 특정 구현예에 있어서, 항체는 가변 중쇄 영역 및/또는 가변 경쇄 영역, 예컨대 scFv를 포함하는 단일-쇄 항체 단편이다.

[0150] 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항체와 항원의 결합에 관여하는 항체 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 말한다. 천연 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인 (각각 V_H 및 V_L)은 일반적으로 유사한 구조를 가지며, 각 도메인은 4 개의 보존된 구조 영역 (FR) 및 3 개의 CDR을 포함한다. 예컨대, [Kindt et al. Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007)] 참조. 단일 V_H 또는 V_L 도메인은 항원-결합 특이성을 부여하기에 충분할 수 있다. 또한, 특정 항원에 결합하는 항체는, 각각 상보적 V_L 또는 V_H 도메인의 라이브러리를 스크리닝하기 위해 항원에 결합하는 항체로부터의 V_H 또는 V_L 도메인을 사용하여 분리될 수 있다. 예컨대, [Portolano et al., J. Immunol. 150:880-887 (1993)]; [Clarkson et al., Nature 352:624-628 (1991)] 참조.

[0151] 단일-도메인 항체는 항체의 중쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부분 또는 경쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부분을 포함하는 항체 단편이다. 특정 구현예에 있어서, 단일-도메인 항체는 인간 단일 도메인 항체이다. 일부 구현예에 있어서, CAR은 항원에, 예를 들어 종양 세포 또는 암세포와 같은 표적화되는 질환의 세포의 암 마커 또는 표면 항원, 예를 들어 본 발명에서 기술되거나 공지된 표적 항원에 특이적으로 결합하는 항체 중쇄 도메인을 포함한다.

[0152] 항체 단편은 다양한 기술에 의해 제조될 수 있으며, 예컨대 온전한 항체의 단백질 분해성 소화 및 재조합 숙주 세포에 의한 생산이 포함되지만 이에 한정되는 것은 아니다. 일부 구현예에 있어서, 항체는 재조합적으로-생산된 단편인데, 예를 들어 자연적으로 존재하지 않는 배열을 포함하는 단편, 예컨대 펩타이드 링커와 같은 합성 링커에 의해 결합되는 2 개 이상의 항체 영역 또는 사슬을 갖는 것들, 및/또는 자연적으로-존재하는 온전한 항체의 효소 소화에 의해 생성될 수 없는 것들이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 항체 단편은 scFv이다.

[0153] "인간화된" 항체는 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 아미노산 잔기가 비-인간 CDR로부터 유래된 것이며, 모든 또는 실질적으로 모든 FR 아미노산 잔기가 인간 FR로부터 유래된 항체이다. 인간화 항체는 임의로 인간 항체로부터 유래된 항체 불변 영역의 적어도 일부분을 포함할 수 있다. 비-인간 항체의 "인간화된 형태"는 모태 비-인간 항체의 특이성 및 친화성을 유지하면서 통상 인간에 대한 면역원성을 감소시키기 위해 인간화를 거친 비-인간 항체의 변이체를 말한다. 일부 구현예에 있어서, 인간화 항체의 일부 FR 잔기는 예를 들어, 항체 특이성 또는 친화성을 회복 또는 개선시키기 위하여 비-인간 항체 (예를 들어, 그로부터 CDR 잔기가 유도된 항체)로부터의 상응하는 잔기로 치환된다.

[0154] 따라서, 일부 구현예에 있어서, TCR-유사 CAR을 포함하는 키메라 항원 수용체는 항체 또는 항체 단편을 함유하는 세포 외 부분을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 항체 또는 단편은 scFv를 포함한다. 일부 측면에서, 키메라 항원 수용체는 항체 또는 단편 및 세포 내 신호전달 영역을 함유하는 세포 외 부분을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 세포 내 신호전달 영역은 세포 내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 세포 내 신호전달 도메인은 1차 신호전달 도메인인, T 세포에서 1차 활성화 신호를 유도할 수 있는 신호전달 도메인, T 세포 수용체 (TCR) 요소의 신호전달 도메인 및/또는 면역수용체 타이로신-계 활성화 모티프 (ITAM)를 포함하는 신호전달 도메인이거나 이를 포함한다.

[0155] 일부 구현예에 있어서, 재조합 수용체, 예컨대 CAR의 항체 일부분을 포함하는, CAR과 같은 재조합 수용체는 면역글로불린 불변 영역의 적어도 일부분을 더 포함하는데, 예컨대 힌지 영역, 예컨대 IgG4 힌지 영역 및/또는 C_H1/C_L 및/또는 Fc 영역이다. 일부 구현예에 있어서, 그의 항체 일부분을 포함하는 CAR과 같은 재조합 수용체는 스페이서를 더 포함하는데, 이는 면역글로불린 불변 영역 또는 이들의 변이체 또는 변형된 버전의 적어도 일부분이거나 이를 포함할 수 있는데, 예컨대 힌지 영역, 예컨대 IgG4 힌지 영역 및/또는 C_H1/C_L 및/또는 Fc 영역이다. 일부 구현예에 있어서, 재조합 수용체는 스페이서 및/또는 힌지 영역을 더 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 불변 영역 또는 일부분은 인간 IgG의 것, 예컨대 IgG4 또는 IgG1의 것이다. 일부 측면에서, 불변 영역의 일부분은 항원-인식 요소, 예를 들어 scFv와, 막 횡단 도메인 사이의 스페이서 영역으로서 작용한다. 스페이서는, 스페이서가 없을 경우와 비교하여, 항원 결합 다음에 세포의 반응성 증가를 제공하는 길이의 것일 수 있다. 예시적 스페이서, 예컨대 힌지 영역은 국제 특허 출원 공개 번호 WO2014031687에 기재된 것들을 포함한다. 일부 예에서, 스페이서는 길이가 12 개 아미노산 길이거나 약 그 길이거나, 또는 12 개 아미노산 이하의 길이이다. 예시적인 스페이서는 적어도 약 10 내지 229 개의 아미노산, 약 10 내지 200 개의 아미노산, 약 10 내지 175 개의 아미노산, 약 10 내지 150 개의 아미노산, 약 10 내지 125 개의 아미노산, 약 10 내지 100 개의 아미노산, 약 10 내지 75 개의 아미노산, 약 10 내지 50 개의 아미노산, 약 10 내지 40 개의 아미노산, 약 10 내지

30 개의 아미노산, 약 10 내지 20 개의 아미노산 또는 약 10 내지 15 개의 아미노산을 갖는 것들을 포함하고, 상기 열거된 범위 중 어느 하나의 끝점 사이의 임의의 정수를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 스페이서 영역은 약 12 개 아미노산 또는 그 미만, 약 119 개 아미노산 또는 그 미만, 또는 약 229 개 아미노산 또는 그 미만을 갖는다. 예시적인 스페이서는 IgG4 힌지 단독, C_H2 및 C_H3 도메인에 연결된 IgG4 힌지, 또는 C_H3 도메인에 연결된 IgG4 힌지를 포함한다. 예시적인 스페이서는 [Hudecek *et al.* (2013) *Clin. Cancer Res.*, 19:3153], 국제 특허 출원 공개 번호 W02014031687, 미국 특허 8,822,647 또는 공개 출원 US2014/0271635에 개시된 것들을 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0156] 일부 구현예에 있어서, 불변 영역 또는 일부분은 IgG4 또는 IgG1과 같은 인간 IgG의 것이다. 일부 구현예에 있어서, 스페이서는 서열 ESKYGPPCPPCP (SEQ ID NO: 1에 기재)를 갖고, SEQ ID NO: 2에 기재된 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구현예에 있어서, 스페이서는 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열을 갖는다. 일부 구현예에 있어서, 스페이서는 SEQ ID NO: 4에 기재된 서열을 갖는다. 일부 구현예에 있어서, 불변 영역 또는 일부분은 IgD의 것이다. 일부 구현예에 있어서, 스페이서는 SEQ ID NO: 5에 기재된 서열을 갖는다. 일부 구현예에 있어서, 스페이서는 SEQ ID NO: 1, 3, 4 또는 5 중 어느 하나와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 또는 약 그 이상의 서열 상동성을 나타내는 아미노산 서열을 갖는다. 일부 구현예에 있어서, 스페이서는 SEQ ID NO: 26-34에 기재된 서열을 갖는다. 일부 구현예에 있어서, 스페이서는 SEQ ID NO: 26-34 중 어느 하나와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 또는 약 그 이상의 서열 상동성을 나타내는 아미노산 서열을 갖는다.

[0157] 일반적으로 항원 인식 도메인은 하나 이상의 세포 내 신호전달 요소와 연결되는데, CAR의 경우에, 예컨대 TCR 복합체와 같은 항원 수용체 복합체를 통하여 활성화를 모방하고 및/또는 다른 세포 표면 수용체를 통하여 신호를 전달하는 신호전달 요소이다. 따라서, 일부 구현예에 있어서, 항원-결합 성분 (예를 들어, 항체)은 하나 이상의 막횡단 및 세포 내 신호전달 도메인 또는 영역에 연결된다. 일부 구현예에 있어서, 막횡단 도메인은 세포 외 도메인에 융합된다. 한 구현예에 있어서, 수용체, 예를 들어 CAR의 도메인들 중 하나와 자연적으로 결합된 막횡단 도메인이 사용된다. 일부 경우에, 막횡단 도메인은 수용체 복합체의 다른 구성원과의 상호 작용을 최소화하기 위해, 동일한 또는 상이한 표면 막 단백질의 막횡단 도메인에 이러한 도메인이 결합하는 것을 회피하도록 선택되거나, 아미노산 치환에 의하여 변형된다.

[0158] 일부 구현예에 있어서, 막횡단 도메인은 천연원 또는 합성원으로부터 유도된다. 상기 유도원이 천연인 경우, 일부 측면에 있어서 상기 도메인은 임의의 막-결합 또는 막횡단 단백질로부터 유도된다. 막횡단 영역은 T 세포 수용체, CD28, CD3 엡실론, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154 및 CD16의 알파, 베타 또는 제타 채로부터 유래 된 것들을 포함한다 (즉, 적어도 그의 막횡단 영역을 포함). 또는, 일부 구현예에서 막횡단 도메인은 합성인 것이다. 일부 측면에서, 합성 막횡단 도메인은 주로 류신 및 발린과 같은 소수성 잔기를 포함한다. 일부 측면에서, 페닐알라닌, 트립토판 및 발린의 삼중체가 합성 막횡단 도메인의 각 말단에서 발견될 것이다. 일부 구현예에 있어서, 결합은 링커, 스페이서 및/또는 막횡단 도메인(들)에 의한다.

[0159] 세포 내 신호전달 도메인 또는 영역 중에는, 천연 항원 수용체를 통한 신호, 공자극 수용체와 조합된 상기 수용체를 통한 신호 및/또는 공자극 수용체만을 통한 신호를 모방하거나 이와 비슷한 것들이 있다. 일부 구현예에 있어서, 짧은 올리고- 또는 폴리펩타이드 링커, 예를 들어 길이가 2 내지 10 개 사이의 아미노산인 링커, 예컨대 글리신 및 세린을 함유하는 것, 예컨대 글리신-세린 이중체를 함유하는 링커가 존재하며, 막횡단 도메인과 CAR의 세포질 신호전달 도메인 또는 영역과의 연결을 형성한다.

[0160] 수용체, 예를 들어, CAR은 일반적으로 적어도 하나의 세포 내 신호전달 요소 또는 요소들을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 수용체는 T-세포 활성화 및 세포 독성을 매개하는 TCR CD3 채와 같은 TCR 복합체의 세포 내 요소, 예컨대 CD3 제타 채를 포함한다. 따라서, 일부 측면에서, 항원-결합 부분은 하나 이상의 세포 신호전달 모듈에 연결된다. 일부 구현예에 있어서, 세포 신호전달 모듈은 CD3 막횡단 도메인, CD3 세포 내 신호전달 도메인 및/또는 다른 CD 막횡단 도메인을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 수용체, 예를 들어, CAR은 Fc 수용체 γ , CD8, CD4, CD25 또는 CD16과 같은 하나 이상의 추가 분자의 일부분을 더 포함한다. 예를 들어, 일부 측면에서, CAR 또는 다른 키메라 수용체는, CD3-제타 (CD3- ζ) 또는 Fc 수용체 γ 와, CD8, CD4, CD25 또는 CD16 사이의 키메라 분자를 포함한다.

[0161] 일부 구현예에 있어서, CAR 또는 다른 키메라 수용체의 연결 (ligation)에 따라, 수용체의 세포질 도메인 또는 세포 내 신호전달 도메인 또는 영역은 면역 세포, 예컨대 CAR를 발현하도록 조작된 T 세포의 정상적인

효과자 기능 또는 반응 중 적어도 하나를 활성화시킨다. 예를 들어, 일부 관점에서는, CAR은 T 세포의 기능, 예컨대 세포 용해 활성 또는 T-헬퍼 활성, 예컨대 사이토카인 또는 다른 인자의 분비를 유도한다. 일부 구현예에 있어서, 항원 수용체 성분 또는 공자극 분자의 세포 내 신호전달 도메인의 절단된 부분 또는 영역은 온전한 면역자극 쇄를 대신하여 사용되는데, 예컨대 그것이 효과자 기능 신호를 전달하는 경우에 그러하다. 일부 구현예에 있어서, 세포 내 신호전달 도메인 또는 도메인들 또는 영역은 T 세포 수용체 (TCR)의 세포질 서열을 포함하고, 일부 측면에서는 천연의 상황에서 항원 수용체 결합 다음에 그러한 수용체와 협력하여 작용하고 신호 전달을 개시하는 공-수용체의 서열을 포함하며, 및/또는 이러한 분자의 임의의 유도체 또는 변이체 및/또는 동일한 기능적 능력을 갖는 임의의 합성 서열을 포함한다.

[0162] 천연 TCR의 관점에서, 완전한 활성화는 일반적으로 TCR을 통한 신호 전달뿐만 아니라 공자극 신호를 요구한다. 따라서, 일부 구현예에 있어서, 완전한 활성화를 촉진시키기 위해, 2차 또는 공-자극 신호를 발생시키는 위한 요소가 또한 CAR에 포함된다. 다른 구현예에 있어서, CAR은 공자극 신호를 생성하기 위한 요소를 포함하지 않는다. 일부 측면에서, 추가적인 CAR은 동일한 세포에서 발현되며, 2차 또는 공자극 신호를 생성하기 위한 요소를 제공한다.

[0163] 일부 측면에서, T 세포 활성화는 2 부류의 세포질 신호전달 서열에 의하여 매개되는 것으로 기술된다: TCR을 통해 항원-의존성 1차 활성화를 개시하는 것들 (1차 세포질 신호전달 서열), 및 항원-비의존성 방식으로 작용하여 2차 또는 공-자극 신호를 제공하는 것들 (2차 세포질 신호전달 서열). 일부 측면에서, CAR은 그러한 신호전달 요소들 중 하나 또는 양자 모두를 포함한다.

[0164] 일부 측면에서, CAR은 TCR 복합체의 1차 활성화를 조절하는 1차 세포질 신호전달 서열을 포함한다. 자극 방식으로 작용하는 1차 세포질 신호전달 서열은 면역수용체 타이로신-계 활성화 모티프 또는 ITAM으로 알려진 신호전달 모티프를 함유할 수 있다. 1차 세포질 신호전달 서열을 함유하는 ITAM의 예는 TCR 제타, FcR 감마, FcR 베타, CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD8, CD22, CD79a, CD79b 및 CD66d로부터 유래되는 것들을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, CAR의 세포질 신호전달 분자(들)은 세포질 신호 전달 도메인 또는 영역, 그들의 일부분, 또는 CD3 제타로부터 유래되는 서열을 함유한다.

[0165] 일부 구현예에 있어서, CAR은 공자극 수용체의 신호전달 도메인 또는 영역 및/또는 막횡단 일부분, 예컨대 CD28, 4-1BB, OX40, DAP10 및 ICOS를 포함한다. 일부 측면에서, 동일한 CAR은 활성화 및 공자극 요소 양자 모두를 포함한다.

[0166] 일부 구현예에 있어서, 활성화 도메인은 하나의 CAR 내에 포함되는 반면, 공자극 요소는 또 다른 항원을 인식하는 다른 CAR에 의해 제공된다. 일부 구현예에 있어서, CAR은, 양자가 동일한 세포 상에서 발현되는, 활성화 또는 자극 CAR, 공자극 CAR을 포함한다 (WO2014/055668 참조). 일부 측면에서, 세포는 하나 이상의 자극 또는 활성화 CAR 및/또는 공자극 CAR을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 세포는 억제성 CAR을 더 포함하는데 (iCARs, [Fedorov et al., Sci. Transl. Medicine, 5(215) (December, 2013)] 참조), 예컨대 그에 의하여 질병-표적 CAR을 통하여 전달된 활성화 신호가 상기 억제성 CAR의 그의 리간드와의 결합에 의하여 감소되거나 억제되어, 예컨대 오프-타겟 효과를 감소시키게 되는, 상기 질병 또는 질병 상태와 관련되고 및/또는 그에 특이적인 것 이외의 항원을 인식하는 CAR이다.

[0167] 특정 구현예에 있어서, 세포 내 신호전달 도메인은 CD3 (예컨대, CD3-제타) 세포 내 도메인에 연결되는 CD28 막횡단 및 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 세포 내 신호전달 도메인은 CD3 제타 세포 내 도메인에 연결되는, 키메라 CD28 및 CD137 (4-1BB, TNFRSF9) 공-자극 도메인을 포함한다.

[0168] 일부 구현예에 있어서, CAR은, 세포질 부분에서, 하나 이상의, 예를 들어 2 이상의 공자극 도메인 및 활성화 도메인, 예를 들어 1차 활성화 도메인을 포함한다. 예시적인 CAR은 CD3-제타, CD28 및 4-1BB의 세포 내 요소를 포함한다.

[0169] 일부 구현예에 있어서, CAR 또는 다른 항원 수용체는, 상기 수용체를 발현하는 세포의 형질도입 또는 조작을 확인하는데 사용할 수 있는 마커, 예컨대 세포 표면 마커를 더 포함하는데, 예컨대 세포 표면 수용체의 절단된 버전, 예컨대 절단형 EGFR (tEGFR)이다. 일부 측면에서, 상기 마커는 CD34, NGFR 또는 표피 성장 인자 수용체의 전부 또는 일부 (예컨대, 절단 형태)를 포함한다 (예컨대, tEGFR). 일부 구현예에 있어서, 상기 마커를 인코딩하는 핵산은 링커 서열, 예컨대 절단 가능한 링커 서열, 예를 들어 T2A를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드와 작동 가능하게 연결된다. 예를 들어, 마커 및 필요에 따라 링커 서열은 국제 특허 출원 공개 번호 WO2014031687에 개시된 임의의 것일 수 있다. 예를 들어, 상기 마커는 필요에 따라 T2A 절단 가능 링커 서열과

같은 링커 서열에 연결된, 절단된 EGFR (tEGFR)일 수 있다. 절단된 EGFR (예를 들어, tEGFR)에 대한 예시적인 폴리펩타이드는 SEQ ID NO: 7 또는 16에 제시되는 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 7 또는 16과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 또는 적어도 약 그 이상의 서열 상동성을 나타내는 아미노산 서열을 포함한다. T2A 링커 서열의 예시는 SEQ ID NO: 6 또는 17에 제시되는 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 6 또는 17과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 또는 적어도 약 그 이상의 서열 상동성을 나타내는 아미노산 서열을 포함한다.

[0170] 일부 구현예에 있어서, 마커는, T 세포 상에서 자연적으로 발견되지 않거나 또는 T 세포의 표면 상에서 자연적으로 발견되지 않는 분자, 예를 들어 세포 표면 단백질 또는 그의 일부분이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 분자는 비-자기 분자 (non-self molecule), 예를 들어 비-자기 단백질로서, 즉 그 세포가 입양되어 전이될 숙주의 면역계에 의해 "자기"로 인식되지 않는 것이다.

[0171] 일부 구현예에 있어서, 마커는, 어떠한 치료적 기능을 제공하지 않으며 및/또는 예를 들어, 조작된 세포를 성공적으로 선별하기 위한 유전자 조작의 마커로서 사용되는 것 외의 어떠한 효과를 발생시키지 않는다. 다른 구현예에 있어서, 마커는, 입양 전이 및 리간드와 접하였을 때 세포의 반응을 강화 및/또는 완충시키기 위한 공자극 또는 면역 체크 포인트 분자와 같이, 치료적 분자 또는 어떤 원하는 효과를 달리 작용하는 분자, 예컨대 생체 내에서 마주치게 될 세포에 대한 리간드일 수 있다.

[0172] 일부 경우, CAR은 제1, 제2 및/또는 제3 세대 CAR로 지칭된다. 일부 측면에서, 제1 세대 CAR은 항원 결합시 CD3-쇄 유도 신호를 단독으로 제공하는 것이고; 일부 측면에서, 제2-세대 CAR은 그러한 신호 및 공자극 신호를 제공하는 것으로서, 예컨대 CD28 또는 CD137과 같은 하나의 공자극 수용체로부터의 세포 내 신호전달 도메인을 포함하는 것이고; 일부 측면에서, 제3 세대 CAR은 상이한 공자극 수용체들의 복수의 공자극 도메인을 포함하는 것이다.

[0173] 일부 구현예에 있어서, 키메라 항원 수용체는 항체 또는 항체 단편을 함유하는 세포 외 부분을 포함한다. 일부 측면에서, 키메라 항원 수용체는 항체 또는 단편 및 세포 내 신호전달 도메인을 함유하는 세포 외 부분을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 항체 또는 단편은 scFv를 포함하고, 상기 세포 내 도메인은 ITAM을 함유한다. 일부 측면에서, 상기 세포 내 신호전달 도메인은 CD3-제타 (CD3 ζ) 쇄의 제타 쇄의 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 키메라 항원 수용체는 세포 외 도메인과 세포 내 신호전달 도메인을 연결하는 막횡단 도메인을 포함한다. 일부 측면에서, 상기 막횡단 도메인은 CD28의 막횡단 부분을 함유한다. 일부 구현예에 있어서, 키메라 항원 수용체는 T 세포 공자극 분자의 세포 내 도메인을 함유한다. 상기 세포 외 도메인 및 막횡단 도메인은 직접 또는 간접적으로 연결될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 세포 외 도메인 및 막횡단 도메인은 본 발명에 기재되는 임의의 것과 같은 스페이서에 의해 연결된다. 일부 구현예에 있어서, 수용체는 그 막횡단 도메인이 유래되는 분자의 세포 외 부분을 함유하는데, 예컨대 CD28 세포 외 부분이다. 일부 구현예에 있어서, 키메라 항원 수용체는, 예컨대 막횡단 도메인 및 세포 내 신호전달 도메인 사이에, T 세포 공자극 분자로부터 유래되는 세포 내 도메인 또는 이의 기능적 변이체를 함유한다. 일부 측면에서, 상기 T 세포 공자극 분자는 CD28 또는 41BB이다.

[0174] 일부 구현예에 있어서, scFv는 FMC63로부터 유래한다. FMC63은 인간 기원의 CD19를 발현하는 Nalm-1 및 -16 세포에 대하여 만들어진 마우스 모노클로날 IgG1 항체이다 (Ling, N. R., *et al.* (1987). *Leucocyte typing III*. 302). FMC63 항체는 SEQ ID NOS: 38 및 39로 각각 제시되는 CDRH1 및 H2, SEQ ID NOS: 40 또는 54로 제시되는 CDRH3 및 SEQ ID NOS: 35로 제시되는 CDRL1 및 SEQ ID NOS: 36 또는 55로 제시되는 CDRL2 및 SEQ ID NOS: 37 또는 56으로 제시되는 CDRL3를 포함한다. FMC63 항체는 SEQ ID NO: 41의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (V_H) 및 SEQ ID NO: 42의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (V_L)을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 svFv는 SEQ ID NO: 35로 제시되는 CDRL1, SEQ ID NO: 36 또는 55로 제시되는 CDRL2, 및 SEQ ID NO: 37 또는 56로 제시되는 CDRL3를 함유하는 가변 경쇄 및/또는 SEQ ID NO: 38로 제시되는 CDRH1, SEQ ID NO: 39로 제시되는 CDRH2, 및 SEQ ID NO: 40 또는 54로 제시되는 CDRH3를 함유하는 가변 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 scFv는 SEQ ID NO: 41로 제시되는 FMC63의 가변 중쇄 영역 및 SEQ ID NO: 42로 제시되는 FMC63의 가변 경쇄 영역을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 가변 중쇄 및 가변 경쇄는 링커에 의하여 연결된다. 일부 구현예에 있어서, 상기 링커는 SEQ ID NO: 24로 제시된다. 일부 구현예에 있어서, 상기 scFv는, 차례로, VH, 링커 및 VL을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 svFc는 SEQ ID NO: 25로 제시되는 뉴클레오타이드 서열 또는 SEQ ID NO: 25와 적어도 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%,

95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 또는 약 그 이상의 서열 상동성을 나타내는 서열에 의하여 인코딩된다. 일부 구현예에 있어서, 상기 scFv는 SEQ ID NO:43으로 제시되는 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 43과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%, 또는 약 그 이상의 서열 상동성을 나타내는 서열을 포함한다.

[0175] 일부 구현예에 있어서, scFv는 SJ25C1로부터 유래한다. SJ25C1은 인간 기원의 CD19를 발현하는 Nalm-1 및 -16 세포에 대하여 만들어진 마우스 모노클로날 IgG1 항체이다 (Ling, N. R., *et al.* (1987). *Leucocyte typing III*. 302). SJ25C1 항체는 SEQ ID NOS: 47-49로 각각 제시되는 CDRH1, H2 및 H3, SEQ ID NOS: 44-46으로 각각 제시되는 CDRL1, L2 및 L3를 포함한다. SJ25C1 항체는 SEQ ID NO: 50의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (V_H) 및 SEQ ID NO: 51의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (V_L)을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 svFv는 SEQ ID NO: 44로 제시되는 CDRL1, SEQ ID NO: 45로 제시되는 CDRL2, 및 SEQ ID NO: 46으로 제시되는 CDRL3를 함유하는 가변 경쇄 및/또는 SEQ ID NO: 47로 제시되는 CDRH1, SEQ ID NO: 48로 제시되는 CDRH2, 및 SEQ ID NO: 49로 제시되는 CDRH3를 함유하는 가변 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 scFv는 SEQ ID NO: 50로 제시되는 SJ25C1의 가변 중쇄 영역 및 SEQ ID NO: 51로 제시되는 SJ25C1의 가변 경쇄 영역을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 가변 중쇄 및 가변 경쇄는 링커에 의하여 연결된다. 일부 구현예에 있어서, 상기 링커는 SEQ ID NO: 52로 제시된다. 일부 구현예에 있어서, 상기 scFv는, 차례로, VH, 링커 및 VL을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 svFc는 SEQ ID NO: 53으로 제시되는 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 53과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%, 또는 약 그 이상의 서열 상동성을 나타내는 서열을 포함한다.

[0176] 예를 들어, 일부 구현예에 있어서, CAR은 항체, 예를 들어, 항체 단편, CD28 또는 이의 기능적 변이체의 막횡단 부분이거나 이를 함유하는 막횡단 도메인, 및 CD28의 신호전달 부분 또는 이의 기능적 변이체 및 CD3 제타의 신호전달 부분 또는 이의 기능적 변이체를 함유하는 세포 내 신호전달 도메인을 함유한다. 일부 구현예에 있어서, CAR은 항체, 예를 들어, 항체 단편, CD28 또는 이의 기능적 변이체의 막횡단 부분이거나 이를 함유하는 막횡단 도메인, 및 4-1BB의 신호전달 부분 또는 이의 기능적 변이체 및 CD3 제타의 신호전달 부분 또는 이의 기능적 변이체를 함유하는 세포 내 신호전달 도메인을 함유한다. 이러한 일부 구현예에 있어서, 수용체는 인간 Ig 분자와 같은 Ig 분자의 일부분, 예를 들어 Ig 힌지, 예컨대 IgG4 힌지를 함유하는 스페이서를 더 포함하고, 예컨대 힌지-온리 (hinge-only) 스페이서이다.

[0177] 일부 구현예에 있어서, 재조합 수용체, 예를 들어 CAR의 막횡단 도메인은 인간 CD28의 막횡단 도메인(예컨대, 수탁 번호 No. P01747.1) 또는 이의 변이체이거나 이를 포함하는데, 예컨대 SEQ ID NO: 8로 제시되는 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 8과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 또는 약 그 이상의 서열 상동성을 나타내는 아미노산 서열을 포함하는 막횡단 도메인이고; 일부 구현예에 있어서는, 상기 재조합 수용체의 막횡단-도메인 함유 부분은 SEQ ID NO: 9로 제시되는 아미노산 서열 또는 그와 적어도 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 또는 약 그 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열, 또는 예컨대 인간 CD28의 27-아미노산 막횡단 도메인을 포함한다.

[0178] 일부 구현예에 있어서, 키메라 항원 수용체는 T 세포 공자극 분자의 세포 내 도메인을 함유한다. 일부 측면에서, T 세포 공자극 분자는 CD28 또는 4-1BB이다.

[0179] 일부 구현예에 있어서, 재조합 수용체, 예를 들어, CAR의 세포 내 신호 전달 도메인 또는 영역, 또는 요소(들)은, 인간 CD28 단백질의 세포 내 공자극 신호전달 도메인 또는 영역 또는 이들의 기능적 변이체 또는 일부분을 함유하는데, 예컨대 천연 CD28의 186-187 위치에서 LL 내지 GG 치환을 갖는 도메인 또는 영역이다. 예를 들어, 일부 구현예에 있어서, 상기 세포 내 신호전달 도메인 또는 영역은 SEQ ID NO: 10 또는 11로 제시되는 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 10 또는 11과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 또는 약 그 이상의 서열 상동성을 나타내는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 상기 세포 내 도메인 또는 영역은 4-1BB (예컨대, 수탁 번호 No. Q07011.1)의 세포 내 공자극 신호전달 도메인 또는 영역 또는 이들의 기능적 변이체 또는 일부분을 포함하는데, 예컨대 SEQ ID NO: 12로 제시되는 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 12와 적어도 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 또는 약 그 이상의 서열 상동성을 나타내는 아미노산 서열 또는 예컨대 인간 4-1BB의 42-아미노산 세포질 도메인이다.

[0180] 일부 구현예에 있어서, 재조합 수용체, 예컨대 CAR의 세포 내 신호전달 도메인 또는 영역은 인간 CD3 쇠

와, 임의로 제타 자극 신호전달 도메인 또는 영역 또는 이의 기능적 변이체를 포함하는데, 예컨대 인간 CD3 ζ 의 이소형 3 (수탁 번호 No.: P20963.2)의 112 AA 세포질 도메인 또는 영역 또는 미국 특허 7,446,190 또는 미국 특허 8,911,993에 기술된 바와 같은 CD3 제타 신호전달 도메인 또는 영역이다. 예를 들어, 일부 구현예에 있어서, 상기 세포 내 신호전달 도메인 또는 영역은 SEQ ID NO: 13, 14 또는 15로 제시되는 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 13, 14 또는 15와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 또는 약 그 이상의 서열 상동성을 나타내는 아미노산 서열을 포함한다.

[0181] 일부 측면에서, 스페이서는 오로지 IgG의 힌지 영역만을 함유하는데, 예컨대 IgG4 또는 IgG1의 힌지 영역만, 예컨대 SEQ ID NO: 1로 제시되는 힌지 온리 스페이서이다. 다른 구현예에 있어서, 상기 Ig 힌지이거나 이를 함유하는데, 예컨대, 필요에 따라 C_H2 및/또는 C_H3 도메인과 연결된 IgG4-유래 힌지이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 스페이서는 Ig 힌지인데, 예컨대, SEQ ID NO: 4로 제시된 것과 같은 C_H2 및 C_H3 도메인과 연결된 IgG4 힌지이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 스페이서는 Ig 힌지인데, 예컨대 SEQ ID NO: 3으로 제시된 것과 같은 C_H3 도메인과만 연결된 IgG4 힌지이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 스페이서는 글리신-세린 풍부 서열 또는 유연 링커로 알려진 것과 같은 기타 유연 링커이거나 이를 포함한다.

[0182] 예를 들어, 일부 구현예에 있어서, CAR은 항체, 예컨대 항체 단편, 예컨대 scFv, 스페이서, 예컨대 면역 글로불린 분자의 일부분을 함유하는 스페이서, 예컨대 힌지 영역 및/또는 중쇄 분자의 하나 이상의 불변 영역, 예컨대 Ig-힌지 함유 스페이서, CD28-유래 막횡단 도메인의 전부 또는 일부분을 함유하는 막횡단 도메인, CD28-유래 세포 내 신호전달 도메인 및 CD3 제타 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, CAR은 항체 또는 단편, 예컨대 scFv, 스페이서, 예컨대 Ig-힌지 함유 스페이서 중 어느 하나, CD28-유래 막횡단 도메인, 4-1BB-유래 세포 내 신호전달 도메인, 및 CD3 제타-유래 신호전달 도메인을 포함한다.

[0183] 일부 구현예에 있어서, 그러한 CAR 컨스트럭트를 인코딩하는 핵산 분자는 T2A 리보솜 스킵 요소를 인코딩하는 서열 및/또는 tEGFR 서열, 예를 들어 CAR을 인코딩하는 서열의 하류 서열을 더 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 서열은 SEQ ID NO: 6 또는 17로 제시되는 T2A 리보솜 스킵 요소 또는 SEQ ID NO: 6 또는 17과 적어도 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 또는 약 그 이상의 서열 상동성을 나타내는 아미노산 서열을 인코딩한다. 일부 구현예에 있어서, 항원 수용체를 발현하는 T 세포 (예컨대, CAR)는 또한 비-면역원성 선별 에피토프로서 절단된 EGFR (EGFRt)를 발현하도록 생성될 수 있는데 (예를 들어, 동일한 컨스트럭트로부터 2 가지 단백질을 발현하기 위하여 T2A 리보솜 스위치에 의하여 분리되는 CAR 및 EGFRt를 인코딩하는 컨스트럭트를 도입함으로써), 이는 그 후 그러한 세포를 검출하는 마커로서 사용될 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 8,802,374 참조). 일부 구현예에 있어서, 상기 서열은 SEQ ID NO: 7 또는 16으로 제시되는 tEGFR 서열, 또는 SEQ ID NO: 7 또는 16과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 또는 약 그 이상의 서열 상동성을 나타내는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0184] 대상체에 투여된 세포에 의해 발현되는 CAR과 같은 재조합 수용체는 일반적으로, 치료되는 질환 또는 질병 상태 또는 그의 세포에서 발현되고, 그와 관련되고, 및/또는 그에 특이적인 분자를 인식하거나 또는 그에 특이적으로 결합한다. 분자, 예를 들어 항원에 특이적으로 결합하면, 수용체는 일반적으로 ITAM-도입 신호와 같은 면역자극 신호를 세포 내로 전달하여, 그로 인하여 질환 또는 질병 상태를 표적하는 면역 반응을 촉진시킨다. 예를 들어, 일부 구현예에 있어서, 상기 세포는 질환 또는 질병 상태의, 또는 질환 또는 질병 상태와 관련된 세포 또는 조직에 의해 발현되는 항원에 특이적으로 결합하는 CAR을 발현한다.

2. T 세포 수용체 (TCRs)

[0185] 일부 구현예에 있어서, 표적 폴리펩타이드, 예컨대 종양, 바이러스 또는 자가면역 단백질의 항원의 펩타이드 에피토프 또는 T 세포 에피토프를 인식하는 T 세포 수용체 (TCR) 또는 그의 항원-결합 일부분을 발현하는, T 세포와 같은 조작된 세포가 제공된다.

[0186] 일부 구현예에 있어서, "T 세포 수용체" 또는 "TCR"은 가변 α 및 β 쇄 (각각 TCR α 및 TCR β 로도 알려짐) 또는 가변 γ 및 δ 쇄 (또한 TCR α 및 TCR β 로도 알려짐), 또는 이들의 항원-결합 부분을 함유하고, MHC 분자에 결합된 펩타이드에 특이적으로 결합할 수 있는 분자이다. 일부 구현예에 있어서, TCR은 $\alpha\beta$ 형태이다. 통상, $\alpha\beta$ 와 $\gamma\delta$ 형태로 존재하는 TCR은 일반적으로 구조적으로 유사하지만, 이들을 발현하는 T 세포는 별개의 해부학적 위치 또는 기능을 가질 수 있다. TCR은 세포 표면상에서 또는 가용성 형태로 발견된다. 일반적으로, TCR은, 일반적으로 주조직 적합성 복합체 (MHC) 분자에 결합된 항원을 인식하는 역할을 하는 T 세

포 (또는 T 림프구)의 표면에서 발견된다.

[0187] 달리 언급하지 않는 한, 용어 "TCR"은 완전 TCR 뿐만 아니라 그의 항원-결합 부분 또는 항원-결합 단편을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 일부 구현예에 있어서, TCR은 온전한 또는 전장 TCR이고, 예컨대 $\alpha\beta$ 형태 또는 $\gamma\delta$ 형태의 TCR이다. 일부 구현예에 있어서, TCR은 전장 TCR 보다 짧지만 MHC 분자에서 결합된 특정 펩타이드에 결합하는 항원-결합 부분이고, 예컨대 MHC-펩타이드 복합체에 결합한다. 일부 경우, TCR의 항원-결합 부분 또는 단편은 전장 또는 온전한 TCR의 구조적 도메인의 일부분만을 함유하지만, 여전히 상기 전장 TCR이 결합하는 MHC-펩타이드 복합체와 같은 펩타이드 에피토프에 결합할 수 있다. 일부 경우, 항원-결합 부분은 특정 MHC-펩타이드 복합체에 결합하기 위한 결합 위치를 형성하기에 충분한, TCR의 가변 도메인, 예컨대 가변 α 채 및 가변 β 채를 함유한다. 일반적으로, TCR의 가변 채들은 펩타이드, MHC 및/또는 MHC-펩타이드 복합체의 인식에 관여하는 상보성 결정 영역을 함유한다.

[0188] 일부 구현예에 있어서, TCR의 가변 도메인은 초가변 루프 또는 상보성 결정 영역 (CDR)을 함유하는데, 이것이 일반적으로 항원 인식 및 결합 능력 및 특이성에 주로 기여한다. 일부 구현예에 있어서, TCR의 CDR 또는 그들의 조합은 주어진 TCR 분자의 항원-결합 위치의 전부 또는 실질적으로 전부를 형성한다. TCR 채의 가변 영역 내 다양한 CDR은 일반적으로 구조 영역 (FR)에 의해 분리되는데, 이는 CDR과 비교하여 TCR 분자 중에서 일반적으로 가변성이 덜 나타난다 (예를 들어, [Jores et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. U.S.A. 87:9138, 1990]; [Chothia et al., EMBO J. 7:3745, 1988] 참조; 또한 [Lefranc et al., Dev. Comp. Immunol. 27:55, 2003] 참조). 일부 구현예에 있어서, CDR3이 항원 결합 또는 특이성을 책임지는 주 CDR이거나, 또는 항원 인식을 위해 및/또는 펩타이드-MHC 복합체의 가공된 펩타이드 부분과 상호 작용하기 위하여 주어진 TCR 가변 영역상의 3 개의 CDR 중에서 가장 중요하다. 일부 상황에서, 알파 사슬의 CDR1은 특정 항원 펩타이드의 N-말단 부분과 상호 작용할 수 있다. 일부 상황에서, 베타 채의 CDR1은 펩타이드의 C-말단 부분과 상호 작용할 수 있다. 일부 상황에서, CDR2는 MHC-펩타이드 복합체의 MHC 부분과의 상호 작용 또는 그의 인식을 책임지는 주 CDR에 가장 크게 기여하거나 그러한 CDR이다. 일부 구현예에 있어서, β -채의 가변 영역은 추가적인 초변이 영역을 함유할 수 있는데 (CDR4 또는 HVR4), 이는 일반적으로 항원 인식이 아닌 초항원 (superantigen) 결합과 관련된다 (Kotb (1995) Clinical Microbiology Reviews, 8:411-426).

[0189] 일부 구현예에 있어서, TCR은 또한 불변 도메인, 막횡단 도메인 및/또는 짧은 세포질 꼬리를 함유 할 수 있다 (예컨대, [Janeway et al., Immunobiology: The Immune System in Health and Disease, 3rd Ed., Current Biology Publications, p. 4:33, 1997] 참조). 일부 측면에서, TCR의 각 채는 하나의 N-말단 면역글로불린 가변 도메인, 하나의 면역글로불린 불변 도메인, 막횡단 영역 및 C-말단에서 짧은 세포질 꼬리를 가질 수 있다. 일부 구현예에 있어서, TCR은 신호 전달을 매개하는 것과 관련된 CD3 복합체의 불변 단백질들과 관련된다.

[0190] 일부 구현예에 있어서, TCR 채는 하나 이상의 불변 도메인을 포함한다. 예를 들어, 주어진 TCR 채 (예컨대, α -채 또는 β -채)의 세포 외 부분은 세포 막에 인접하여 2 개의 면역글로불린-유사 도메인을 함유할 수 있는데, 예컨대 가변 도메인 (예컨대, $V\alpha$ 또는 $V\beta$; 통상 카바트 (Kabat) 번호매김에 기초하여 아미노산 1 내지 116, [Kabat et al., "Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services, Public Health Service National Institutes of Health, 1991, 5th ed.] 및 불변 도메인 (예컨대, α -채 불변 도메인 또는 $C\alpha$, 통상 카바트 번호매김에 기초하여 채 중 117 내지 259 위치 또는 β 채 불변 도메인 또는 $C\beta$, 통상 카바트에 기초하여 채 중 117 내지 295 위치)이다. 예를 들어, 일부 경우, 2 개의 채에 의해 형성된 TCR의 세포 외 부분은 2 개의 막-근위 불변 도메인 및 2 개의 막-말단 가변 도메인을 포함하는데, 가변 도메인 각각은 CDR을 함유한다. TCR의 불변 도메인은, 시스테인 잔기가 이황화 결합을 형성하여 그에 의해 TCR의 두 채를 연결하는 짧은 연결 서열을 함유할 수 있다. 일부 구현예에 있어서, TCR은 α 및 β 채 각각에 추가의 시스테인 잔기를 가질 수 있어서, TCR은 불변 도메인에서 2 개의 이황화 결합을 함유한다.

[0191] 일부 구현예에 있어서, TCR 채는 막횡단 도메인을 함유한다. 일부 구현예에 있어서 막횡단 도메인은 양 전하를 띤다. 일부 경우에는, TCR 채는 세포질 꼬리를 함유한다. 일부 경우, 상기 구조는 TCR이 CD3 및 그의 서브 유닛과 같은 다른 분자와 결합하는 것을 허용한다. 예를 들어, 막횡단 영역을 갖는 불변 도메인을 함유하는 TCR은 세포막 내의 단백질을 고정시키고 CD3 신호전달 장치 또는 복합체의 불변 서브 유닛과 결합 할 수 있다. CD3 신호전달 서브 유닛 (예를 들어, $CD3\gamma$, $CD3\delta$, $CD3\epsilon$ 및 $CD3\zeta$ 채)의 세포 내 꼬리는 TCR 복합체의 신호전달 능력에 관계된 하나 이상의 면역수용체 타이로신-계 활성화 모티프 또는 ITAM을 함유한다.

[0192] 일부 구현예에 있어서, TCR은 2 개의 채 α 및 β (또는 필요에 따라, γ 및 δ)의 이중이량체이거나 단

일 쉘 TCR 컨스트럭트일 수 있다. 일부 구현예에 있어서, TCR은 이항화 결합 또는 이항화 결합들에 의해 연결된 2 개의 분리된 쉘 (α 및 β 쉘 또는 γ 및 δ 쉘)를 함유하는 이중이량체이다.

[0193] 일부 구현예에 있어서, TCR은 $V\alpha$, β 쉘의 서열과 같은 공지된 TCR 서열(들)로부터 생성될 수 있는데, 이들에 대하여 실질적으로 전장 코딩 서열이 용이하게 이용 가능하다. 세포 공급원으로부터 V 쉘 서열을 포함하는 전장 TCR 서열을 얻는 방법은 잘 알려져 있다. 일부 구현예에 있어서, TCR을 인코딩하는 핵산은 다양한 원으로부터 얻어질 수 있는데, 예컨대 주어진 세포 또는 세포들 내에서 또는 그로부터 분리된 TCR-인코딩 핵산의 중합 효소 연쇄 반응 (PCR) 증폭에 의하여 또는 공개적으로 입수 가능한 TCR DAN 서열을 합성함에 의하여 얻어질 수 있다.

[0194] 일부 구현예에 있어서, TCR은 생물학적 원으로부터 얻어지는데, 예컨대 세포로부터, 예컨대 T 세포 (예를 들어, 세포 독성 T 세포), T 세포 하이브리도마 또는 다른 공개적으로 입수 가능한 원으로부터 얻어진다. 일부 구현예에 있어서, T 세포는 생체 내 분리된 세포로부터 수득될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, TCR은 흉선학적으로 (thymically) 선택된 TCR이다. 일부 구현예에 있어서, TCR은 신에피토프-제한 (neopeptide-restricted) TCR이다. 일부 구현예에 있어서, T-세포는 배양된 T-세포 하이브리도마 또는 클론일 수 있다. 일부 구현예에 있어서, TCR 또는 그의 항원-결합 부분은 TCR의 서열 지식으로부터 합성 생성될 수 있다.

[0195] 일부 구현예에 있어서, TCR은 표적 폴리펩타이드 항원 또는 그의 표적 T 세포 에피토프에 대한 후보 TCR 라이브러리의 스크리닝하는 것으로부터 선택되거나 또는 동정된 TCR로부터 생성된다. TCR 라이브러리는 PBMCs, 비장 또는 다른 림프 기관에 존재하는 세포를 포함하여 대상체로부터 분리된 T 세포로부터 $V\alpha$ 및 $V\beta$ 레퍼토리를 증폭함으로써 생성될 수 있다. 일부 경우에, T 세포는 중앙-침윤 림프구 (TIL)로부터 증폭될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, TCR 라이브러리는 CD4+ 또는 CD8+ 세포로부터 생성될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, TCR은 건강한 대상체의 정상 T 세포원, 즉 정상 TCR 라이브러리로부터 증폭될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, TCR은 질환이 있는 대상체의 T 세포원, 즉 질환이 있는 TCR 라이브러리로부터 증폭될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 축퇴 (degenerate) 프라이머는 인간으로부터 수득된 T 세포와 같은 샘플에서 예컨대 RT-PCR에 의하여 $V\alpha$ 및 $V\beta$ 의 유전자 레퍼토리를 증폭시키는데 사용된다. 일부 구현예에 있어서, scTv 라이브러리는 증폭된 산물이 클로닝되거나 어셈블리 되어 링커에 의해 분리되는 나이트 $V\alpha$ 및 $V\beta$ 라이브러리로부터 어셈블리 될 수 있다. 대상체 및 세포의 공급원에 따라 라이브러리는 HLA 대립형질-특이적일 수 있다. 또는, 일부 구현예에 있어서, TCR 라이브러리는 모체 또는 스캐폴드 TCR 분자의 돌연변이화 또는 다양화에 의해 생성될 수 있다. 일부 측면에서, TCR은 예를 들어 α 또는 β 쉘의 돌연변이화에 의하여 지시된 진화 (directed evolution)의 대상이 된다. 일부 구현예에 있어서, TCR의 CDR 내의 특정 잔기가 변경된다. 일부 구현예에 있어서, 선택된 TCR은 친화적 성숙에 의해 변형될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 항원 특이적 T 세포는, 예컨대 펩타이드에 대한 CTL 활성을 평가하기 위한 스크리닝에 의하여 선택될 수 있다. 일부 측면에서, TCR, 예를 들어 항원-특이적 T 세포 상에서 존재하는 TCR은, 예컨대 결합 활성에 의하여, 예컨대 상기 항원에 대한 특정 친화도 또는 결합력 (avidity)에 의하여 선택될 수 있다.

[0196] 일부 구현예에 있어서, 유전적으로 조작된 항원 수용체는 재조합 T 세포 수용체 (TCR) 및/또는 자연적으로 존재하는 T 세포로부터 클로닝된 TCR을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 표적 항원 (예를 들어, 암 항원)에 대한 고-친화성 T 세포 클론은 동정되고, 환자로부터 분리되며, 세포 내로 도입된다. 일부 구현예에 있어서, 표적 항원에 대한 TCR 클론은 인간 면역계 유전자 (예를 들어, 인간 백혈구 항원 시스템, 또는 HLA)로 조작된 트랜스제닉 마우스에서 생성되었다. 예컨대, 중앙 항원 (예컨대, [Parkhurst et al. (2009) Clin Cancer Res. 15:169-180] 및 [Cohen et al. (2005) J Immunol. 175:5799-5808] 참조). 일부 구현예에 있어서, 파지 디스플레이가 표적 항원에 대한 TCR을 분리하는데 사용된다 (예컨대, [Varela-Rohena et al. (2008) Nat Med. 14:1390-1395] 및 [Li (2005) Nat Biotechnol. 23:349-354] 참조).

[0197] 일부 구현예에 있어서, TCR 또는 그의 항원-결합 부분은 변형되거나 조작된 것이다. 일부 구현예에 있어서, 지시된 진화 방법이 이용되어, 특정 MHC-펩타이드 복합체에 대한 보다 높은 친화성을 갖는 것과 같은 변화된 특성을 갖는 TCR을 생성시킨다. 일부 구현예에 있어서, 지시된 진화는 디스플레이 방법, 예컨대 비한정적인 예로서 효모 디스플레이 (Holler et al. (2003) Nat Immunol, 4, 55-62; Holler et al. (2000) Proc Natl Acad Sci U S A, 97, 5387-92), 파지 디스플레이 (Li et al. (2005) Nat Biotechnol, 23, 349-54) 또는 T 세포 디스플레이 (Chervin et al. (2008) J Immunol Methods, 339, 175-84)에 의하여 달성된다. 일부 구현예에 있어서, 디스플레이 접근법은 공지된, 모체 또는 레퍼런스 TCR을 조작하는 것 또는 변형하는 것을 포함한다. 예를 들어, 일부 경우에, 야생형 TCR은, 그 TCR에서 CDR의 하나 이상의 잔기가 돌연변이되는 돌연변이화된 TCR을 생성하기 위한 주형으로서 사용될 수 있고, 원하는 변경된 성질을 갖는 돌연변이체, 예를 들어 원하는 표적 항원에

대한 더 높은 친화도의 돌연변이체가 선택된다.

[0198] 일부 구현예에 있어서, 대상 TCR을 생산하거나 생성시키는 데 사용하기 위한 표적 폴리펩타이드의 펩타이드는 공지되어 있거나 당업자에 의하여 쉽게 확인될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, TCR 또는 항원-결합 부분을 생성시키는 데 사용하기에 적합한 펩타이드는 대상 표적 폴리펩타이드, 예를 들어 하기 기술되는 표적 폴리펩타이드에서 HLA-제한 모티프의 존재에 기초하여 결정될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 펩타이드는 당업자에게 공지된 컴퓨터 예측 모델을 사용하여 확인된다. 일부 구현예에 있어서, MHC 클래스 I 결합 위치를 예측하기 위한 모델로서, ProPred1 (Singh and Raghava (2001) *Bioinformatics* 17(12):1236-1237), 및 SYFPEITHI ([Schuler et al. (2007) *Immunoinformatics Methods in Molecular Biology*, 409(1): 75-93 2007] 참조)이 있으나 이에 한정되는 것은 아니다. 일부 구현예에 있어서, MHC-제한된 에피토프는 HLA-A0201인데, 이는 전체 코카시언의 대략 39-46%에서 발현되며, 따라서 TCR 또는 기타 MHC-펩타이드 결합 분자를 제조하는데 사용하기 위한 MHC 항원의 적절한 선택을 대표한다.

[0199] 컴퓨터 예측 모델을 이용하여 HLA-A0201-결합 모티프 및 프로테아좀 및 면역-프로테아좀의 절단 위치는 당업자에게 공지되어 있다. MHC 클래스 I 결합 위치를 예측하기 위한 그러한 모델은 ProPred1 ([Singh and Raghava, ProPred: prediction of HLA-DR binding sites. *BIOINFORMATICS* 17(12):1236-1237 2001]에 보다 자세히 기술됨), 및 SYFPEITHI ([Schuler et al. SYFPEITHI, Database for Searching and T-Cell Epitope Prediction. in *Immunoinformatics Methods in Molecular Biology*, vol 409(1): 75-93 2007] 참조)를 들 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0200] 일부 구현예에 있어서, TCR 또는 그의 항원 결합 부분은 결합 특성과 같은 하나 이상의 특성이 변경된, 재조합적으로 생산된 천연 단백질 또는 그들의 돌연변이된 형태일 수 있다. 일부 구현예에 있어서, TCR은 인간, 마우스, 래트 또는 다른 포유 동물과 같은 다양한 동물 종 중 하나로부터 유래될 수 있다. TCR은 세포-결합된 것 또는 가용성 형태일 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 제공되는 방법의 목적상, TCR은 세포 표면 상에 발현된 세포-결합된 형태이다.

[0201] 일부 구현예에 있어서, TCR은 전장 TCR이다. 일부 구현예에 있어서, TCR은 항원-결합 부분이다. 일부 구현예에 있어서, TCR은 이량체 TCR (dTCR)이다. 일부 구현예에 있어서, TCR은 단일-쇄 TCR (sc-TCR)이다. 일부 구현예에 있어서, dTCR 또는 scTCR은 WO 03/020763, WO 04/033685, WO2011/044186에 기재된 바와 같은 구조를 갖는다.

[0202] 일부 구현예에 있어서, TCR은 막횡단 서열에 상응하는 서열을 함유한다. 일부 구현예에 있어서, TCR은 세포질 서열에 상응하는 서열을 함유한다. 일부 구현예에 있어서, TCR은 CD3과 함께 TCR 복합체를 형성할 수 있다. 일부 구현예에 있어서, dTCR 또는 scTCR을 포함하는 임의의 TCR은 T 세포의 표면 상에 활성 TCR을 생성하는 신호전달 도메인에 연결될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, TCR은 세포 표면에서 발현된다.

[0203] 일부 구현예에 있어서, dTCR은, TCR α 쇠 가변 영역 서열에 상응하는 서열이 TCR α 쇠 불변 영역 세포 외 서열에 상응하는 서열의 N 말단에 융합된 제1 폴리펩타이드, 및 TCR β 쇠 가변 영역 서열에 상응하는 서열이 TCR β 쇠 불변 영역 세포 외 서열에 상응하는 서열의 N 말단에 융합된 제2 폴리펩타이드를 함유하는데, 상기 제1 및 제2 폴리펩타이드는 이황화 결합에 의해 연결된다. 일부 구현예에 있어서, 상기 결합은 본래의 이량체 $\alpha\beta$ TCR에 존재하는 본래의 내부-쇄 이황화 결합에 해당할 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 쇠간 이황화 결합은 천연 TCR에는 존재하지 않는다. 예를 들어, 일부 구현예에 있어서, dTCR 폴리펩타이드 쌍의 불변 영역 세포 외 서열에 하나 이상의 시스테인이 혼입될 수 있다. 일부 경우에, 천연 및 비-천연 이황화 결합이 바람직할 수 있다. 일부 구현예에 있어서, TCR은 막에 결합하기 위해 막횡단 서열을 함유한다.

[0204] 일부 구현예에 있어서, dTCR은, 가변 α 도메인, 불변 α 도메인 및 상기 불변 α 도메인의 C-말단에 부착된 제1 이합체화 모티프를 함유하는 TCR α 쇠, 및 가변 β 도메인, 불변 β 도메인 및 상기 불변 β 도메인의 C-말단에 부착된 제2 이합체화 모티프를 포함하는 TCR β 쇠를 함유하고, 상기 제1 및 제2 이합체화 모티프는 쉽게 상호 작용하여 상기 제1 이합체화 모티프의 아미노산과 상기 제2 이합체화 모티프의 아미노산 간 공유 결합을 형성하여, TCR α 쇠와 TCR β 쇠를 함께 연결한다.

[0205] 일부 구현예에 있어서, TCR은 scTCR이다. 통상, scTCR은 당업자에게 공지된 방법을 사용하여 생성될 수 있다 (예를 들어, [Soo Hoo, W. F. et al. *PNAS (USA)* 89, 4759 (1992)]; [Wulfiging, C. and Pluckthun, A., *J. Mol. Biol.* 242, 655 (1994)]; [Kurucz, I. et al. *PNAS (USA)* 90 3830 (1993)]; 국제 공개 PCT Nos. WO 96/13593, WO 96/18105, WO99/60120, WO99/18129, WO 03/020763, WO2011/044186; 및 [Schlueter, C. J. et

al. *J. Mol. Biol.* 256, 859 (1996)] 참조). 일부 구현예에 있어서, scTCR은 도입된 비-천연 (non-naive) 이황화 쇠간 결합을 함유하여 TCR 쇠들의 결합을 촉진시킨다 (예를 들어, 국제 공개 PCT WO 03/020763 참조). 일부 구현예에 있어서, scTCR은, 그의 C-말단에 융합된 이중의 류신 지퍼가 쇠 결합을 용이하게 하는 비-이황화 결합된 절단된 TCR이다 (예를 들어, 국제 공개 PCT WO 99/60120 참조). 일부 구현예에 있어서, scTCR은 펩타이드 링커를 통해 TCR β 가변 도메인에 공유 결합된 TCR α 가변 도메인을 함유한다 (국제 공개 PCT No. W099/18129 참조).

[0206] 일부 구현예에 있어서, scTCR은, TCR α 쇠 가변 영역에 상응하는 아미노산 서열로 구성되는 제1 분절, TCR β 쇠 불변 도메인 세포 외 서열에 상응하는 아미노산 서열의 N 말단에 융합된 TCR β 쇠 가변 영역 서열에 상응하는 아미노산 서열로 구성되는 제2 분절, 및 상기 제1 분절의 C 말단을 상기 제2 분절의 N 말단에 연결하는 링커 서열을 함유한다.

[0207] 일부 구현예에 있어서, scTCR은, α 쇠 세포 외 불변 도메인 서열의 N 말단에 융합된 α 쇠 가변 영역 서열로 구성되는 제1 분절, 및 β 쇠 세포 외 불변 서열의 N 말단에 융합된 β 쇠 가변 영역 서열 및 막횡단 서열로 구성되는 제2 분절, 및, 필요에 따라 상기 제1 분절의 C 말단을 상기 제2 분절의 N 말단에 연결하는 링커 서열을 함유한다.

[0208] 일부 구현예에 있어서, scTCR은, β 쇠 세포 외 불변 도메인 서열의 N 말단에 융합된 TCR β 쇠 가변 영역 서열로 구성되는 제1 분절, 및 α 쇠 세포 외 불변 서열의 N 말단에 융합된 α 쇠 가변 영역 서열 및 막횡단 서열로 구성되는 제2 분절, 및, 필요에 따라 상기 제1 분절의 C 말단을 상기 제2 분절의 N 말단에 연결하는 링커 서열을 함유한다.

[0209] 일부 구현예에 있어서, 제1 및 제2 TCR 분절을 연결시키는 scTCR의 링커는 TCR 결합 특이성을 유지하면서 단일 폴리펩타이드 가닥을 형성할 수 있는 임의의 링커일 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 링커 서열은 예를 들어 식 -P-AA-P-를 가질 수 있는데, 여기서 P는 프롤린이고 AA는 그 아미노산이 글리신 및 세린 인 아미노산 서열을 나타낸다. 일부 구현예에 있어서, 상기 제1 및 제2 분절은 그들의 가변 영역 서열이 그러한 결합을 위해 배향되도록 쌍을 이룬다. 따라서 일부 경우에, 상기 링커는 상기 제1 분절의 C 말단과 상기 제2 분절의 N 말단 간의 거리를 아우르는 충분한 길이를 가지거나 그 역도 마찬가지이지만, scTCR의 그 표적 리간드로의 결합을 차단하거나 감소시킬 만큼 너무 길지는 않다. 일부 구현예에 있어서, 상기 링커는 10 내지 45 개 아미노산, 예컨대 10 내지 30 개 아미노산, 또는 26 내지 41 개 아미노산 잔기, 예컨대 29, 30, 31 또는 32 개의 아미노산, 또는 약 그 정도의 아미노산을 함유 할 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 상기 링커는 식 -PGGG-(SGGGG)₅-P-를 갖는데, 여기서 P는 프롤린, G는 글리신 및 S는 세린이다 (SEQ ID NO: 22). 일부 구현예에 있어서, 상기 링커는 서열 GSADDAKKDAAKKDGKS (SEQ ID NO: 23)을 갖는다.

[0210] 일부 구현예에 있어서, scTCR은 α 쇠의 불변 도메인의 면역글로불린 영역의 잔기를, β 쇠의 불변 도메인의 면역글로불린 영역의 잔기에 연결하는 공유 이황화 결합을 함유한다. 일부 구현예에 있어서, 천연 TCR에서 쇠간 (interchain) 이황화 결합은 존재하지 않는다. 예를 들어, 일부 구현예에 있어서, scTCR 폴리펩타이드의 제1 및 제2 분절의 불변 영역 세포 외 서열 내로 하나 이상의 시스테인이 혼입될 수 있다. 일부 경우에, 천연 및 비-천연 이황화 결합 양자 모두가 바람직할 수 있다.

[0211] 도입된 쇠간 이황화 결합을 함유하는 dTCR 또는 scTCR의 일부 구현예에 있어서, 천연의 이황화 결합은 존재하지 않는다. 일부 구현예에 있어서, 천연의 쇠간 이황화 결합을 형성하는 하나 이상의 천연 시스테인은 세린 또는 알라닌과 같은 다른 잔기로 치환된다. 일부 구현예에 있어서, 도입된 이황화 결합은 상기 제1 및 제2 분절 상의 비-시스테인 잔기를 시스테인으로 돌연변이 시킴으로써 형성될 수 있다. TCR의 예시적인 비-천연 이황화 결합은 국제 공개 PCT 번호 W02006/000830에 기술되어 있다.

[0212] 일부 구현예에 있어서, TCR 또는 이의 항원-결합 단편은, 10^{-5} 내지 10^{-12} M과 그 안의 모든 개별 값 및 범위 또는 약 그 정도의 표적 항원에 대한 평형 결합 상수를 갖는 친화도를 나타낸다. 일부 구현예에 있어서, 표적 항원은 MHC-펩타이드 복합체 또는 리간드이다.

[0213] 일부 구현예에 있어서, α 쇠 및 β 쇠와 같은 TCR을 인코딩하는 핵산 또는 핵산들은 PCR, 클로닝 또는 다른 적절한 수단에 의해 증폭될 수 있고, 적합한 발현 벡터 또는 벡터들 내에 클로닝 될 수 있다. 발현 벡터는 임의의 적합한 재조합 발현 벡터일 수 있으며, 임의의 적합한 숙주를 형질 전환 또는 형질 감염 시키는데 사용될 수 있다. 적합한 벡터는 전파 및 증식을 위해 또는 발현을 위해, 또는 양자 모두를 위해 설계된 것들을 포함하며, 예컨대 플라스미드 및 바이러스이다.

[0214] 일부 구현예에서, 벡터는 pUC 시리즈 (Fermentas Life Sciences), pBluescript 시리즈 (Stratagene, 미국 캘리포니아주 라호야 소재), pET 시리즈 (Novagen, 미국 위스콘신주 매디슨 소재), pGEX 시리즈 (Pharmacia Biotech, 스웨덴 옘살라 소재), 또는 pEX 시리즈 (Clontech, 미국 캘리포니아주 팔로앨토 소재)의 벡터일 수 있다. 일부 경우에서, 박테리오파지 벡터, 예컨대 λ G10, λ GT11, λ ZapII (Stratagene), λ EMBL4, 및 λ NM1149가 또한 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 식물 발현 벡터가 사용될 수 있으며, 이는 pBI01, pBI101.2, pBI101.3, pBI121 및 pBIN19 (Clontech)를 포함한다. 일부 구현예에서, 동물 발현 벡터는 pEUK-C1, pMAM 및 pMAMneo (Clontech)를 포함한다. 일부 구현예에서, 바이러스 벡터, 예컨대 레트로바이러스 벡터가 사용된다.

[0215] 일부 구현예에서, 재조합 발현 벡터는 표준 재조합 DNA 기법을 사용하여 제조할 수 있다. 일부 구현예에서, 벡터는, 벡터가 DNA- 또는 RNA-기반인지를 고려하여, 적절한 경우, 벡터가 도입될 숙주의 유형 (예를 들어, 박테리아, 균류, 식물 또는 동물)에 특이적인 조절 서열, 예컨대 전사 및 번역 개시 및 종결 코돈을 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, 벡터는 TCR 또는 항원-결합 부분 (또는 기타 MHC-펩타이드 결합 분자)를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열에 작동 가능하게 연결된 비천연 프로모터를 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, 프로모터는 비-바이러스 프로모터 또는 바이러스 프로모터, 예컨대 사이토메갈로바이러스 (CMV) 프로모터, SV40 프로모터, RSV 프로모터, 및 뮐린 줄기세포 바이러스의 긴 말단 반복부에서 발견되는 프로모터일 수 있다. 당업자에 공지된 다른 프로모터가 또한 고려된다.

[0216] 일부 구현예에 있어서, T-세포 클론이 수득된 후, TCR 알파 및 베타쇄가 분리되고 유전자 발현 벡터 내로 클로닝된다. 일부 구현예에 있어서, TCR 알파 및 베타 유전자는 피코르나바이러스 2A 리보솜 스킵 펩타이드를 통해 연결되어, 두쇄가 동시에 발현된다. 일부 구현예에 있어서, TCR의 유전자 전달은 레트로바이러스 또는 렌티바이러스 벡터를 통해 또는 트랜스포존을 통해 수행된다 (예컨대, [Baum et al. (2006) Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy. 13:1050-1063]; [Frecha et al. (2010) Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy. 18:1748-1757]; 및 [Hackett et al. (2010) Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy. 18:674-683] 참조).

[0217] 일부 구현예에 있어서, TCR을 인코딩하는 벡터를 생성하기 위해, 대상 TCR을 발현하는 T 세포 클론으로부터 분리된 총 cDNA로부터 α 및 β 쇄를 PCR 증폭하고 발현 벡터에 클로닝한다. 일부 구현예에 있어서, α 및 β 쇄는 동일한 벡터 내로 클로닝된다. 일부 구현예에 있어서, α 및 β 쇄는 상이한 벡터로 클로닝된다. 일부 구현예에 있어서, 생성된 α 및 β 쇄는 레트로바이러스 벡터, 예를 들어, 렌티바이러스 벡터 내로 혼입된다.

3. 키메라 자가-항체 수용체 (CAARs)

[0218] 일부 구현예에 있어서, 재조합 수용체는 키메라 자가항체 수용체 (CAAR)이다. 일부 구현예에 있어서, CAAR은 자가항체에 특이적이다. 일부 구현예에 있어서, CAAR을 발현하는 세포, 예컨대 CARR을 발현하도록 조작된 T 세포는 자가항체-발현 세포에 특이적으로 결합하고 이를 죽이는 데 사용될 수 있지만, 정상 항체 발현 세포에는 그러하지 아니하다. 일부 구현예에 있어서, CAAR-발현 세포는 자가면역 질환과 같은 자기-항원의 발현과 관련된 자가면역 질환을 치료하는데 사용될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, CAAR-발현 세포는 궁극적으로 자가항체를 생산하고 그의 세포 표면 상에 자가항체를 표시하는 B 세포를 표적화 할 수 있고, 이들 B 세포를 치료적 개입을 위한 질환-특이적 표적으로 표시할 수 있다. 일부 구현예에 있어서, CAAR-발현 세포는 항원-특이적 키메라 자가항체 수용체를 사용하여 질환-유발 B 세포를 표적화함으로써 자가면역 질환에서 병원성 B 세포를 효율적으로 표적화하고 사멸시키는데 사용될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 재조합 수용체는 CAAR, 예컨대 미국 특허 출원 공개 No. 2017/0051035에 개시된 임의의 것이다.

[0219] 일부 구현예에 있어서, CAAR은 자가항체 결합 도메인, 막횡단 도메인 및 세포 내 신호전달 영역을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 세포 내 신호전달 영역은 세포 내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 세포 내 신호전달 영역은 1차 신호전달 도메인, T 세포에서 1차 활성화 신호를 유도할 수 있는 신호전달 도메인, T 세포 수용체 (TCR) 요소의 신호전달 도메인 및/또는 면역수용체 타이로신-계 활성화 모티프 (ITAM)를 포함하는 신호전달 도메인이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 세포 내 신호전달 영역은 2차 또는 공 자극 신호전달 영역 (2차 세포 내 신호전달 영역)을 포함한다.

[0220] 일부 구현예에 있어서, 자가항체 결합 도메인은 자가항원 또는 그의 단편을 포함한다. 자가항원의 선택은 표적화 될 자가항체의 유형에 달려 있다. 예를 들어, 자가항원은, 그것이 특정 질병 상태, 예컨대 자가면역 질환, 예컨대 자가항체-매개 자가면역 질환과 관련된, B 세포와 같은 표적 세포상의 자가항체를 인식하기 때문에 선택될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 자가면역 질환은 심상성 천포창 (pemphigus vulgaris, PV)을 포함한

다. 예시적인 자가항원은 데스모글레인 1 (Dsg1) 및 Dsg3을 포함한다.

4. 다중-표적화

[0221] 일부 구현예에 있어서, 세포 및 방법은 다중-표적화 전략을 포함하는데, 예컨대 세포 상에 2 종 이상의 유전적으로 조작된 수용체의 발현으로서, 각각 동일하거나 상이한 항원을 인식하고, 통상 각각은 상이한 세포 내 신호전달 요소를 포함한다. 이러한 다중-표적화 전략은 예를 들어 국제 특허 출원 공개 WO 2014055668 A1 (활성화 및 공자극 CAR의 조합을 기재하는데, 이는 예를 들어, 오프-표적, 예컨대 정상 세포 상에 개별적으로 존재하는 2 가지 상이한 항원을 표적으로 하지만 치료될 질환 또는 질병 상태의 세포 상에만 같이 존재함) 및 [Fedorov et al., Sci. Transl. Medicine, 5(215) (December, 2013)](활성화 및 억제성 CAR을 발현하는 세포를 기재함, 예컨대 상기 활성화 CAR이 정상 세포나 비-질환 세포 및 치료될 질환 또는 질병 상태의 세포 양자 모두에서 발현되는 하나의 항원에 결합하고, 억제성 CAR은 정상 세포나 치료되기를 원치 않는 세포에서만 발현되는 다른 항원에 결합하는 것임)에 개시되어 있다.

[0222] 예를 들어, 일부 구현예에 있어서, 세포는 일반적으로 제1 수용체에 의하여 인식되는 항원, 예컨대 제1 항원에 특이적 결합시, 상기 세포에 대한 활성화 신호를 유도할 수 있는 유전적으로 조작된 제1 항원 수용체 (예컨대 CAR 또는 TCR)을 발현하는 수용체를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 세포는 일반적으로 제2 수용체에 의하여 인식되는 제2 항원에 특이적 결합시, 면역 세포에 대한 공자극 신호를 유도할 수 있는, 유전적으로 조작된 제2 항원 수용체 (예컨대 CAR 또는 TCR), 예컨대 키메라 공자극 수용체를 더 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 제1 항원 및 제2 항원은 동일하다. 일부 구현예에 있어서, 상기 제1 항원 및 제2 항원은 상이하다.

[0223] 일부 구현예에 있어서, 상기 제1 및/또는 제2의 유전적으로 조작된 항원 수용체 (예를 들어, CAR 또는 TCR)은 세포에 활성화 신호를 유도할 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 수용체는 ITAM 또는 ITAM-유사 모티프를 함유하는 세포 내 신호전달 요소를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 제1 수용체에 의해 유도된 활성화는 신호 전달 또는 세포에서 단백질 발현의 변화를 수반하는데, 그 결과 면역 반응의 개시, 예컨대 ITAM 인산화 및/또는 ITAM-매개 신호 전달 캐스케이드의 개시, 면역학적 시냅스의 형성 및/또는 결합된 수용체 근처에서 분자들의 클러스터링 (예컨대, CD4 또는 CD8 등), 하나 이상의 전사 인자의 활성화, 예컨대 NF- κ B 및/또는 AP-1, 및/또는 예컨대 사이토카인과 같은 인자들의 유전자 발현, 증식, 및/또는 생존의 유도가 일어난다.

[0224] 일부 구현예에 있어서, 상기 제1 및/또는 제2 수용체는 CD28, CD137 (4-1BB), OX40 및/또는 ICOS와 같은 공자극 수용체의 세포 내 신호전달 도메인 또는 영역을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 제1 및 제2 수용체는 상이한 공자극 수용체의 세포 내 신호전달 도메인을 포함한다. 하나의 구현예에 있어서, 상기 제1 수용체는 CD28 공자극 신호전달 영역을 함유하고, 제2 수용체는 4-1BB 공-자극 신호전달 영역을 함유하며, 또는 그 역도 마찬가지이다.

[0225] 일부 구현예에 있어서, 제1 및/또는 제2 수용체는 ITAM 또는 ITAM-유사 모티프를 함유하는 세포 내 신호 전달 도메인 및 공자극 수용체의 세포 내 신호전달 도메인 양자를 모두 포함한다.

[0226] 일부 구현예에 있어서, 제1 수용체는 ITAM 또는 ITAM-유사 모티프를 함유하는 세포 내 신호전달 도메인을 함유하고, 제2 수용체는 공자극 수용체의 세포 내 신호전달 도메인을 함유한다. 동일한 세포에서 유도된 활성화 신호와 조합된 공자극 신호는 면역 반응을 결과하는 것이고, 예컨대 견고하고 지속적인 면역 반응, 예컨대 유전자 발현 증가, 사이토카인 및 다른 인자의 분비, 및 T 세포 매개 된 효과자 기능, 예컨대 세포 살상이다.

[0227] 일부 구현예에 있어서, 제1 수용체만의 결합 또는 제2 수용체만의 결합은 강력한 면역 반응을 유도하지 않는다. 일부 측면에서, 단지 하나의 수용체가 결합된다면, 세포는 내성이 되거나 항원에 반응하지 않거나, 억제되거나, 및/또는 인자들을 증식하거나 분비하도록 유도되지 않거나 효과자 기능을 수행하지 않는다그러나, 일부 이러한 구현예에 있어서, 제1 및 제2 항원을 발현하는 세포와 맞닥뜨리는 것과 같이 복수 개의 수용체가 결합될 때, 원하는 반응은 달성되는데, 예를 들어, 하나 이상의 사이토카인의 분비에 의하여 표시되는 바와 같은 완전한 면역 활성화 또는 자극, 표적 세포의 세포독성 살해와 같은 면역 효과자 기능의 증식, 지속 및/또는 수행이다.

[0228] 일부 구현예에 있어서, 두 수용체는 각각 세포에 활성화 및 억제성 신호를 유도하고, 그로써 상기 수용체 중 하나에 의한 그의 항원에 대한 결합은 상기 세포를 활성화시키거나 반응을 유도하지만, 상기 제2 억제성 수용체의 그의 항원에 대한 결합은 그 반응을 억제하거나 완충하는 신호를 유도한다. 예시로는 활성화 CAR 및 억제 CAR나 iCAR의 조합이 있다. 예를 들어, 활성화 CAR이 질환 또는 질병 상태에서 발현되지만 정상 세포 상에서도 발현되는 항원에 결합하고, 억제성 수용체가 정상 세포에서 발현되지만 질환이나 질병 상태의 세포에서는

발현되지 않는 별개의 항원에 결합하는, 그러한 전략이 이용될 수 있다.

[0229] 일부 구현예에 있어서, 다중-표적화 전략은 특정 질환 또는 질병 상태와 관련된 항원이 일시적으로 (예를 들어, 유전자 조작 관련 자극시) 또는 영구적으로 비-질환 세포 상에서 발현 및/또는 조작된 세포 자체 상에서 발현되는 경우에 이용된다. 이러한 경우에, 2 개의 독립적이고 각각 특이적인 항원 수용체의 결합을 요구함으로써, 특이성, 선택성 및/또는 효능이 개선될 수 있다.

[0230] 일부 구현예에 있어서, 복수 개의 항원, 예를 들어, 제1 및 제2 항원은 표적화될 세포, 조직 또는 질환 또는 질병 상태에서 발현되는데, 예컨대 암 세포 상에서이다. 일부 측면에서, 상기 세포, 조직, 질환 또는 질병 상태는 다발성 골수종 또는 다발성 골수종 세포이다. 일부 구현예에 있어서, 복수 개의 항원 중 하나 이상은 또한 일반적으로 세포 요법으로 표적화되기를 원치 않는 세포, 예컨대 정상 또는 비-질환 세포나 조직, 및/또는 조작된 세포 그 자체 상에서 발현된다. 이러한 구현예에 있어서, 세포의 반응을 달성하기 위하여 다수의 수용체의 결합을 요구함으로써, 특이성 및/또는 효능이 달성된다.

B. 유전자 조작을 위한 세포 및 세포 제조

[0231] 수용체를 발현하며 상기 제공되는 방법으로 투여되는 세포 중에는 조작된 세포가 있다. 유전자 조작은 일반적으로 예컨대 레트로바이러스 형질 도입, 형질 감염 또는 형질 전환에 의해, 세포를 함유하는 조성물 내로 재조합 또는 조작된 요소를 인코딩하는 핵산을 도입하는 것을 수반한다.

[0232] 일부 구현예에 있어서, 핵산은 이종의 것, 즉 보통 세포나 그 세포로부터 얻어지는 샘플 내에 존재하지 않는 것으로, 예컨대 다른 생물이나 세포로부터 얻은 것, 예컨대 이는 조작되는 세포 및/또는 그러한 세포가 유래하는 생물에서 보통 발견되지 않는 것이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 핵산은 자연적으로 존재하지 않는 것이고, 예컨대 자연에서 발견되지 않는 핵산, 예컨대 다수의 상이한 세포 유형으로부터 다양한 도메인을 인코딩하는 핵산의 키메라 조합을 포함하는 것을 포함한다.

[0233] 세포는 일반적으로 진핵 세포, 예컨대 포유류 세포이며, 통상 인간 세포이다. 일부 구현예에 있어서, 세포는 혈액, 골수, 림프 또는 림프성 기관으로부터 유래된 것으로, 면역계, 예컨대 선천성 면역 또는 적응 면역의 세포들이고, 예를 들어 골수성 또는 림프성 세포, 예컨대 림프구, 통상 T 세포 및/또는 NK 세포이다. 다른 예시적인 세포는 줄기 세포를 포함하는데, 예컨대 다능성 및 전능성 줄기 세포, 예컨대 유도된 전능성 줄기 세포 (iPSCs)이다. 세포는 통상 대상체로부터 직접적으로 단리된 및/또는 대상체로부터 단리되고 동결된 것과 같은 1차 세포이다. 일부 구현예에 있어서, 세포는 T 세포 또는 기타 세포 유형의 하나 이상의 서브세트를 포함하는데, 예컨대 전체 T 세포 집단, CD4+ 세포, CD8+ 세포 및 이들의 서브집단으로, 예컨대 기능, 활성화 상태, 성숙도, 분화 잠재력, 증식, 재순환, 위치화, 및/또는 지속 능력, 항원-특이성, 항원 수용체의 유형, 특정 기관 또는 구획 내 존재 여부, 마커 또는 사이토카인 분비 프로파일, 및/또는 분화 정도에 의해 정의되는 것들이다. 치료될 대상체와 관련하여, 상기 세포는 동종 및/또는 자가일 수 있다. 상기 방법 중에는, 기존의 방법이 포함된다. 일부 측면에서, 예컨대 기존의 기술에 대하여, 세포는 전능성 및/또는 다능성이고, 예컨대 줄기 세포이며, 예컨대 유도된 전능성 줄기 세포 (iPSCs)이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 방법은 동결 보존 전 또는 후에, 대상체로부터 세포를 단리하는 것, 이들을 제조, 가공, 배양, 및/또는 조작하는 것, 및 이들을 상기 동일한 대상체에게 재-도입하는 것을 포함한다.

[0234] T 세포의, 및/또는 CD4+의, 및/또는 CD8+ T 세포의 서브-유형 및 서브집단 중에는, 나이브 T 세포 (T_N), 효과자 T 세포 (T_{EFF}), 기억 T 세포 및 이들의 서브-유형이 있는데, 예컨대 줄기 세포 기억 T 세포 (T_{SCM}), 중추 기억 T 세포 (T_{CM}), 효과자 기억 T 세포 (T_{EM}), 또는 최종 분화된 기억 T 세포, 중앙-침윤 림프구 (TIL), 미성숙 T 세포, 성숙 T 세포, 헬퍼 T 세포, 세포독성 T 세포, 점막-관련 불변 T 세포 (MAIT), 자연 발생 및 적응 조절 T 세포 (T_{reg}), 헬퍼 T 세포, 예컨대 TH1 세포, TH2 세포, TH3 세포, TH17 세포, TH9 세포, TH22 세포, 소낭 헬퍼 T 세포, 알파/베타 T 세포, 및 델타/감마 T 세포이다.

[235] 일부 구현예에 있어서, 세포는 자연 살해 세포 (NK 세포)이다. 일부 구현예에 있어서, 세포는 단핵구 또는 과립구, 예컨대 골수 세포, 대식세포, 호중구, 수지상 세포, 비만 세포, 호산구 및/또는 호염기구이다.

[0236] 일부 구현예에 있어서, 세포는 유전자 조작을 통해 도입된 하나 이상의 핵산을 포함하고, 이에 의해 그러한 핵산의 재조합 또는 유전자 조작된 생성물을 발현한다. 일부 구현예에 있어서, 핵산은 이종의 것, 즉 보통 세포나 그 세포로부터 얻어지는 샘플 내에 존재하지 않는 것으로, 예컨대 다른 생물이나 세포로부터 얻은 것, 예컨대 이는 조작되는 세포 및/또는 그러한 세포가 유래하는 생물에서 보통 발견되지 않는 것이다. 일부 구현예

에 있어서, 상기 핵산은 자연적으로 존재하지 않는 것이고, 예컨대 자연에서 발견되지 않는 핵산, 예컨대 다수의 상이한 세포 유형으로부터 다양한 도메인을 인코딩하는 핵산의 키메라 조합을 포함하는 것을 포함한다.

[0237] 일부 구현예에 있어서, 조작된 세포의 제조는 하나 이상의 배양 및/또는 제조 단계를 포함한다. CAR과 같은 트랜스제닉 수용체를 인코딩하는 핵산의 도입을 위한 세포는 샘플, 예컨대 생물학적 샘플, 예를 들어 대상체로부터 얻거나 유래된 것으로부터 단리될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 세포가 단리된 대상체는 세포 요법을 필요로 하는 질환 또는 질병 상태를 지니거나 또는 세포 요법이 가해질 대상체이다. 일부 구현예에 있어서, 대상체는 특정 치료적 개입이 필요한 인간이며, 예컨대 세포가 단리, 가공 및/또는 조작되는 입양 세포 요법과 같은 치료적 개입이다.

[0238] 따라서, 일부 구현예에 있어서, 세포는 1차 세포, 예컨대 1차 인간 세포이다. 샘플은 조직, 유액 및 대상체로부터 직접 취한 다른 샘플뿐만 아니라 하나 이상의 가공 단계로부터 결과한 샘플, 예컨대 분리, 원심 분리, 유전자 조작 (예컨대, 바이러스 벡터를 이용한 형질 도입), 수세 및/또는 배양으로부터 결과한 샘플을 포함한다. 생물학적 샘플은 생물학적 공급원으로부터 직접 얻은 샘플 또는 가공된 샘플일 수 있다. 생물학적 샘플은 체액, 예컨대 혈액, 혈장, 혈청, 뇌척수액, 활액, 소변 및 땀, 조직 및 기관 샘플, 예컨대 이들로부터 유래한 가공된 샘플을 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0239] 일부 측면에서, 그로부터 세포가 유래되거나 단리된 샘플은 혈액 또는 혈액-유래 샘플이거나, 또는 성분 채집술 또는 백혈구 성분채집술 산물로부터 유래된 것이다. 예시적인 샘플은 전혈, 말초 혈액 단핵 세포 (PBMCs), 백혈구, 골수, 흉선, 조직 생검, 종양, 백혈병, 림프종, 림프절, 장 관련 림프 조직, 점막 관련 림프 조직, 비장, 기타 림프 조직, 간, 폐, 위장, 소장, 대장, 신장, 췌장, 유방, 뼈, 전립선, 자궁 경부, 고환, 난소, 편도선 또는 기타 기관, 및/또는 이들로부터 유래되는 세포를 포함한다. 샘플은 세포 요법과 관련하여, 예를 들어, 입양 세포 요법, 자가 및 동종 원으로부터의 샘플을 포함한다.

[0240] 일부 구현예에 있어서, 세포는 세포주, 예를 들어, T 세포주에서 유래한다. 일부 구현예에 있어서, 세포는 이종발생 (xenogeneic) 공급원, 예컨대 마우스, 래트, 비-인간 영장류 및 돼지로부터 취득된다.

[0241] 일부 구현예에 있어서, 세포의 단리는 하나 이상의 제조 및/또는 비-친화성 기반 세포 분리 단계를 포함한다. 일부 예시에서, 세포는, 예컨대 원치 않는 서분을 제거, 원하는 성분을 농축, 특정 시약에 민감한 세포를 용리하거나 제거하기 위하여, 하나 이상의 시약의 존재 하에서 수세, 원심 분리 및/또는 배양된다. 일부 예시에서, 세포는 하나 이상의 특성에 기초하여, 예컨대 밀도, 부착 성질, 크기, 민감성 및/또는 특정 성분에 대한 내성에 기초하여 분리된다.

[0242] 일부 예시에서, 대상체의 순환 혈액으로부터의 세포는, 예컨대 성분채집술 또는 백혈구 성분채집술에 의하여 취득된다. 샘플은, 일부 측면에서, 림프구를 함유하는데, 예컨대 T 세포, 단핵구, 과립구, B 세포, 다른 유핵 백혈구, 적혈구 및/또는 혈소판이고, 일부 측면에서, 적혈구 및 혈소판 이외의 세포를 함유한다.

[0243] 일부 구현예에 있어서, 대상체로부터 수집된 혈액 세포는, 예를 들어, 후속하는 가공 단계를 위해 혈장 분획을 제거하고 적절한 완충액 또는 배지에 세포를 위치시키기 위하여 수세된다. 일부 구현예에 있어서, 세포는 인산 완충 식염수 (PBS)로 수세된다. 일부 구현예에 있어서, 수세 용액은 칼슘 및/또는 마그네슘 및/또는 다수의 또는 모든 2가 양이온을 결여한다. 일부 측면에서, 수세 단계는 제조사의 지침에 따라 반자동 "플로우 스루 (flow-through)" 원심 분리기 (예컨대, Cobe 2991 세포 프로세서, Baxter)에 의하여 수행한다. 일부 측면에서, 수세 단계는 제조사의 지침에 따라 접선 유동 여과 (TFF)에 의해 수행된다. 일부 구현예에 있어서, 세포는 수세 후 다양한 생체 적합성 완충액, 예를 들어, Ca⁺⁺/Mg⁺⁺ 무함유 PBS에 재현탁된다. 특정 구현예에 있어서, 혈액 세포 샘플의 성분은 제거되고 세포는 배양 배지에 직접 재현탁된다.

[0244] 일부 구현예에 있어서, 상기 방법은 밀도-기반 세포 분리 방법을 포함하는데, 예컨대 적혈구를 용리시켜 Percoll 또는 Ficoll 구배를 통해 원심 분리 함으로써 말초 혈액으로부터 백혈구를 제조하는 것이다.

[0245] 일부 구현예에 있어서, 상기 분리 방법은 세포에서 하나 이상의 특정 분자들의 발현 또는 존재에 기초하여 여러 가지 세포 유형을 분리하는 것을 포함하는데, 예컨대 특정 분자는 표면 마커, 예를 들어 표면 단백질, 세포 내 마커 또는 핵산이다. 일부 구현예에 있어서, 이러한 마커에 기초한 임의의 공지된 분리 방법이 사용될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 상기 분리는 친화도- 또는 면역친화도- 기반 분리이다. 예를 들어, 일부 측면에서, 상기 단리는 세포의 하나 이상의 마커, 통상 세포 표면 마커에 대한 발현 또는 발현 수준에 기초한 세포 및 세포 집단의 분리를 포함하는데, 이는 예컨대 그러한 마커들에 특이적으로 결합하는 항체 또는 결합 파트너와의 배양, 일반적으로 그 후의 수세 단계와 상기 항체 또는 결합 파트너와 결합하지 않은 그러한 세포들로부터

상기 항체 또는 결합 파트너에 결합된 세포의 분리에 의한다.

[0246] 이러한 분리 단계는 양성 선택 및/또는 음성 선택에 기초할 수 있는데, 양성 선택에서는 시약에 결합된 세포는 추가 사용을 위하여 보유되며, 음성 선택에서는 상기 항체 또는 결합 파트너에 결합하지 않은 세포들이 보유된다. 일부 예시에 있어서, 두 분획은 주후 사용을 위해 보유된다. 일부 측면에서, 음성 선택은 이중 집단에서 세포 유형을 특이적으로 식별하는 어떠한 항체도 이용 가능하지 않은 경우에 특히 유용할 수 있고, 그로써, 원하는 집단 이외의 세포에 의해 발현된 마커에 기초하여 분리가 가장 잘 수행된다.

[0247] 분리는, 특정 마커를 발현하는 특정 세포 집단 또는 세포들을 100% 농축 또는 제거하는 결과를 나타낼 필요는 없다. 예를 들어, 마커를 발현하는 것들과 같은 특정 유형의 세포에 대한 양성 선택 또는 농축은 그러한 세포의 수 또는 백분율을 증가시키는 것을 말하지만, 그 마커를 발현하지 않는 세포가 전혀 없는 결과를 나타낼 필요는 없다. 마찬가지로, 마커를 발현하는 것과 같은 특정 유형의 세포에 대한 음성 선택, 제거 또는 희석(depletion)은 그러한 세포의 수 또는 백분율을 감소시키는 것을 말하지만, 그러한 모든 세포를 완전히 제거하는 결과를 나타낼 필요는 없다.

[0248] 일부 예시에서, 하나의 단계로부터 양성 또는 음성적으로 선택된 분획이 다른 분리 단계로 들어가는 다수 회전의 분리 단계가 수행되는데, 다른 분리 단계는 예컨대 후속하는 양성 또는 음성 선택이다. 일부 예시에서, 단일 분리 단계는 예컨대 음성 선택을 위하여 표적화된 마커에 각각 특이적인 복수 개의 항체 또는 결합 파트너들과 세포를 배양함으로써 다수의 마커를 발현하는 세포를 동시에 희석시킬 수 있다. 마찬가지로, 다양한 세포 유형에서 발현되는 복수 개의 항체 또는 결합 파트너와 세포를 배양함으로써 다수의 세포 유형이 동시에 양성적으로 선택될 수 있다.

[0249] 예를 들어, 일부 측면에서, 특정 서브집단의 T 세포, 예컨대 하나 이상의 표면 마커, 예를 들어, CD28⁺, CD62L⁺, CCR7⁺, CD27⁺, CD127⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD45RA⁺, 및/또는 CD45RO⁺ T 세포에 대하여 양성 또는 이를 높은 수준으로 발현하는 세포가 양성 또는 음성 선택 기법에 의해 분리된다.

[0250] 예를 들어, CD3⁺, CD28⁺ T 세포는, 항-CD3/항-CD28 컨주게이트드 자성 비드 (예컨대, DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T Cell Expander)를 이용하여 양성 선택될 수 있다.

[0251] 일부 구현예에 있어서, 단리는 양성 선택에 의한 특정 세포 집단에 대한 농축이나, 음성 선택에 의한 특정 세포 집단에 대한 희석에 의하여 수행된다. 일부 구현예에 있어서, 양성 또는 음성 선택은, 각각 양성적으로 또는 음성적으로 선택되는 세포 상에서 발현되거나 (마커⁺) 또는 상대적으로 더 높은 수준으로 발현되는 (마커^{high}) 하나 이상의 표면 마커에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 항체 또는 기타 결합 체제와 세포를 배양함으로써 수행된다.

[0252] 일부 구현예에 있어서, T 세포는 비-T 세포, 예컨대 B 세포, 단핵구, 또는 기타 백혈구, 예컨대 CD14 상에서 발현되는 마커들의 음성 선택에 의하여 PBMC 샘플로부터 분리된다. 일부 측면에서, CD4⁺ 또는 CD8⁺ 선택 단계는 CD4⁺ 헬퍼 및 CD8⁺ 세포독성 T 세포를 분리하기 위하여 사용된다. 그러한 CD4⁺ 및 CD8⁺ 집단은 하나 이상의 나이브, 기억 및/또는 효과자 T 세포 서브집단 상에서 발현되거나 상대적으로 더 높은 정도로 발현되는 마커들에 대하여 양성 또는 음성 선택함으로써 서브집단으로 더 분류될 수 있다.

[0253] 일부 구현예에 있어서, CD8⁺ 세포는, 예컨대 각각의 서브집단과 관련된 표면 항원에 기초한 양성 또는 음성 선택에 의하여, 나이브, 중추 기억, 효과자 기억, 및/또는 중추 기억 줄기 세포에 대하여 더 농축되거나 희석될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 중추 기억 T 세포 (T_{CM})에 대한 농축은 효능을 증가시키기 위하여 수행되는데, 예컨대 투여 다음에 장기간 생존, 증식 및/또는 생착을 향상시키기 위하여 수행되고, 이는 일부 측면에서 특히 이러한 서브집단에서 양호한(robust) 것이다. [Terakura et al. (2012) Blood.1:72-82]; [Wang et al. (2012) J Immunother. 35(9):689-701] 참조. 일부 구현예에 있어서, T_{CM}-농축 CD8⁺ T 세포 및 CD4⁺ T 세포의 결합은 효능을 더 강화시킨다.

[0254] 구현예들에 있어서, 기억 T 세포는 CD8⁺ 말초 혈액 림프구의 CD62L⁺ 및 CD62L⁻ 서브세트 양자 모두에 존재한다. PBMC는, 예컨대 항-CD8 및 항-CD62L 항체를 사용하여, CD62L-CD8⁺ 및/또는 CD62L+CD8⁺ 분획에 대하여 농축 또는 희석될 수 있다.

[0255] 일부 구현예에 있어서, 중추 기억 T 세포 (T_{CM})에 대한 농축은 CD45RO, CD62L, CCR7, CD28, CD3, 및/또

는 CD127의 양성 또는 높은 표면 발현에 기초하고; 일부 측면에서, 이는 CD45RA 및/또는 그랜자임 B를 발현하거나 크게 발현하는 세포에 대한 음성 선택에 기초한다. 일부 측면에서, T_{CM} 세포에 대하여 농축된 CD8+ 집단의 단리는 CD4, CD14, CD45RA를 발현하는 세포를 희석, 및 CD62L을 발현하는 세포에 대한 양성 선택 또는 농축에 의함으로써 수행된다. 한 측면에서, 중추 기억 T 세포 (T_{CM})에 대한 농축은 CD4 발현에 기초하여 선택되는 음성 세포 분획을 가지고 시작하여 수행되는데, 이는 CD14 및 CD45RA의 발현에 기초한 음성 선택 및 CD62L에 기초한 양성 선택이 이루어진 것이다. 일부 측면에서 이러한 선택은 동시에 수행되고 다른 측면에서는 어느 순서로든 순차적으로 수행된다. 일부 측면에서, CD8+ 세포 집단 또는 서브집단을 제조하는데 사용된 동일한 CD4 발현-기반 선택 단계는 또한 CD4+ 세포 집단 또는 서브-집단을 생성시키는데 사용되는데, 그로써 상기 CD4-기반 분리로부터의 양성 및 음성 분획들 양자 모두는 보유되고 상기 방법의 후속 단계에서 사용되며, 필요에 따라 하나 이상의 추가적인 양성 또는 음성 선택 단계가 뒤따른다.

[0256] 특정 예시에서, PBMC 샘플 또는 다른 백혈구 샘플에는 CD4+ 세포의 선택이 이루어지는데, 여기서는 음성 및 양성 분획 모두가 보유된다. 그 후, 음성 분획은 CD14 및 CD45RA 또는 CD19의 발현에 기초한 음성 선택, 및 CD62L 또는 CCR7과 같은 중추 기억 T 세포의 마커 특징에 기초한 양성 선택을 받는데, 여기서 상기 양성 및 음성 선택은 어떤 순서로도 수행된다.

[0257] CD4+ T 헬퍼 세포는 세포 표면 항원을 갖는 세포 집단을 동정함으로써 나이브, 중추 기억 및 효과자 세포로 분류된다. CD4+ 림프구는 표준 방법으로 얻을 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 나이브 CD4+ T 림프구는 CD45RO-, CD45RA+, CD62L+, CD4+ T 세포이다. 일부 구현예에 있어서, 중추 기억 CD4+ 세포는 CD62L+ 및 CD45RO+이다. 일부 구현예에 있어서, 효과자 CD4+ 세포는 CD62L- 및 CD45RO-이다.

[0258] 한 예시에서, 음성 선택에 의하여 CD4+ 세포를 농축하기 위해, 모노클로날 항체 콕테일은 통상 CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR 및 CD8에 대한 항체를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 항체 또는 결합 파트너는 양성 및/또는 음성 선택에 대하여 세포의 분리가 가능케 하기 위해 자기 비드 또는 상자성 비드와 같은 고체 지지체 또는 기질에 결합된다. 예를 들어, 일부 구현예에 있어서, 세포 및 세포 집단은 면역자기 (또는 친화자기) 분리 기법을 사용하여 분리 또는 단리된다 ([Methods in Molecular Medicine, vol. 58]: [Metastasis Research Protocols, Vol. 2]: [Cell Behavior In Vitro and In Vivo, p 17-25 Edited by: S. A. Brooks and U. Schumacher © Humana Press Inc., Totowa, NJ]에서 리뷰됨).

[0259] 일부 측면에서, 분리될 세포의 샘플 또는 조성물은 작은 자화가능하거나 자기적으로 반응하는 물질, 예컨대 자기적으로 반응하는 입자 또는 미세입자, 예컨대 상자성 비드 (예컨대, Dynalbeads 또는 MACS 비드)와 함께 배양된다. 상기 자기적으로 반응하는 물질, 예를 들어 입자는, 일반적으로, 분리하고자 하는 세포, 세포들 또는 세포 집단, 예컨대 음성 또는 양성적으로 선택하고자 하는 것들 상에 존재하는 분자, 예컨대 표면 마커에 특이적으로 결합하는 결합 파트너, 예컨대 항체에 직접 또는 간접적으로 부착된다.

[0260] 일부 구현예에 있어서, 자성 입자 또는 비드는 특이적 결합 구성원, 예컨대 항체 또는 다른 결합 파트너에 결합된 자기적으로 반응하는 물질을 포함한다. 자기 분리법에 사용되는 다수의 잘 알려진 자기적으로 반응하는 물질들이 있다. 적합한 자기 입자는, 본 발명에 참조로서 포함되는 Molday, 미국 특허 4,452,773, 및 유럽 특허 명세서 EP 452342B에 개시된 것들을 포함한다. 콜로이드 크기 입자, 예컨대 Owen 미국 특허 4,795,698; Liberti 미국 특허 5,200,084에 개시된 것들은 다른 예이다.

[0261] 배양은 일반적으로, 그에 의하여 상기 자성 입자 또는 비드에 부착되는 항체 또는 결합 파트너, 또는 분자, 예컨대 2차 항체 또는 기타 그러한 항체 또는 결합 파트너에 특이적으로 결합하는 시약들이, 샘플 내 세포 상에 세포 표면 분자가 존재한다면 그 세포 표면 분자에 특이적으로 결합하는 조건 하에서 수행된다.

[0262] 일부 측면에서, 샘플은 자기장 내에 위치되고, 자기적으로 반응하는 또는 자화가능한 입자들이 부착된 세포들은 자석에 끌려서 비표지된 세포들로부터 분리될 것이다. 양성 선택의 경우, 자석에 끌리는 세포가 보유되고; 음성 선택의 경우 끌리지 않은 세포 (표지가 없는 세포)가 보유된다. 일부 측면에서, 양성 및 음성 선택의 조합은 동일한 선택 단계 중에 수행되는데, 여기서 양성 및 음성 분획은 보유되고 더 가공되거나 또는 추가 분리 단계를 거친다.

[0263] 특정 구현예에 있어서, 자기적으로 반응하는 입자는 1차 항체 또는 다른 결합 파트너, 2차 항체, 렉틴, 효소 또는 스트렙타비딘으로 코팅된다. 특정 구현예에 있어서, 자성 입자는 하나 이상의 마커에 특이적인 1차 항체의 코팅을 통해 세포에 부착된다. 특정 구현예에 있어서, 비드보다는 세포가 1차 항체 또는 결합 파트너로 표지되고, 그 후 세포-유형 특이적인 2차 항체 또는 다른 결합 파트너 (예컨대, 스트렙타비딘)-코팅된 자성 입

자가 첨가된다. 특정 구현예에 있어서, 스트렙타비딘-코팅된 자성 입자는 바이오티닐화 1차 또는 2차 항체와 함께 사용된다.

[0264] 일부 구현예에 있어서, 자기적으로 반응하는 입자는 후속하여 반응, 배양, 및/또는 조작될 세포에 부착된 채로 남게 되며; 일부 측면에서, 상기 입자는 환자에게 투여하기 위해 세포에 부착된 채로 남는다. 일부 구현예에 있어서, 자화 가능한 또는 자기적으로 반응하는 입자는 세포로부터 제거된다. 세포로부터 자화 가능한 입자를 제거하는 방법은 공지되어 있으며, 예를 들어, 경쟁적 비-표지 항체 및 절단 가능한 링커와 결합된 자화 가능한 입자 또는 항체를 사용하는 것을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 자화 가능한 입자는 생분해성이다.

[0265] 일부 구현예에 있어서, 친화도-기반 선택은 자기-활성화 세포 분류 (MACS)(Miltenyi Biotec, Auburn, CA)를 통해 이루어진다. 자기 활성화 세포 분류 (MACS) 시스템은 그에 자화된 입자가 부착된 세포를 고-순도로 선택할 수 있다. 특정 구현예에 있어서, MACS는 외부 자기장의 적용 후 비-표적종 및 표적종을 순차적으로 용리시키는 모드로 작동한다. 즉, 자화된 입자에 부착된 세포는 비부착종이 용리되는 동안 제 위치에 유지된다. 그 후, 이러한 첫 번째 용리 단계가 완료된 후, 자기장에 포획되어 용리 방지된 종은 어떤 방식으로든 자유롭게 되고 그로써 용리 및 회수될 수 있다. 특정 구현예에 있어서, 비-표적 세포는 표지되고 이중 세포 집단으로부터 회수된다.

[0266] 특정 구현예에 있어서, 단리 또는 분리는, 상기 방법의 하나 이상의 단리, 세포 제조, 분리, 가공, 반응, 배양 및/또는 제형화 단계를 수행하는 시스템, 장치 또는 기구를 이용하여 수행된다. 일부 측면에서, 상기 시스템은 폐쇄된 또는 무균 환경에서 이들 단계를 각각을 수행하는데 사용되는데, 예를 들어, 에러, 사용자 취급 및/또는 오염을 최소화하기 위해서이다. 일 예시에서, 상기 시스템은 국제 특허 출원 공개 번호 WO2009/072003 또는 미국 특허 출원 공개 번호 US 20110003380 A1에 기재된 시스템이다.

[0267] 일부 구현예에 있어서, 상기 시스템 또는 장치는, 통합된 또는 자기-함유 시스템에서, 및/또는 자동화된 또는 프로그램 가능한 방식으로, 하나 이상의, 예를 들어, 모든 단리, 가공, 조작 및 제형화 단계를 수행한다. 일부 측면에서, 상기 시스템 또는 장치는, 상기 시스템 또는 장치와 통신하는 컴퓨터 및/또는 컴퓨터 프로그램을 포함하는데, 이는 사용자로 하여금 상기가공, 단리, 조작 및 제형화 단계를 프로그램, 제어, 그의 결과에 접근 및/또는 그의 다양항 양상들을 조정할 수 있게 한다.

[0268] 일부 측면에서, 분리 및/또는 다른 단계는 ClinMACS 시스템 (Miltenyi Biotec)을 사용하여, 예를 들어 밀폐된 및 멸균 시스템에서 임상-규모 수준의 세포의 자동 분리를 위해 수행된다. 구성 요소는 통합 마이크로컴퓨터, 자기 분리 유닛, 연동 펌프 및 다양한 핀치 밸브가 포함할 수 있다. 일부 측면에서 상기 통합 컴퓨터는 기구의 모든 구성 요소를 제어하고 표준화된 순서로 반복적인 절차를 수행하도록 시스템에 지시한다. 일부 구현예에 있어서, 자기 분리 유닛은 이동 가능한 영구 자석 및 선택 컬럼용 홀더를 포함한다. 연동 펌프는 튜브 세트 전체의 유속을 제어하며 핀치 밸브와 함께 시스템을 통한 완충액의 흐름 제어와 세포의 지속적인 현탁을 보장한다.

[0269] 일부 측면에서 CliniMACS 시스템은 멸균, 비-발열원성 용액으로 공급되는 항체-결합 자성 입자를 사용한다. 일부 구현예에 있어서, 자성 입자로 세포를 표지한 후, 세포는 과량의 입자를 제거하기 위하여 수세된다. 그 후, 세포 준비 백은 튜브 세트에 연결되는데, 이는 차례로 버퍼 함유 백 및 세포 수집 백과 연결된다. 튜브 세트는 미리 조립된 멸균 튜브들로 이루어지는데, 예컨대 프리-컬럼 및 분리 컬럼이고, 일회용으로만 사용된다. 분리 프로그램을 시작하면 시스템이 자동으로 세포 샘플을 분리 컬럼에 적용시킨다. 표지된 세포는 컬럼 내에 보유되는 반면, 표지되지 않은 세포는 일련의 수세 단계에 의해 제거된다. 일부 구현예에 있어서, 본 발명에 기재된 방법과 함께 사용하기 위한 세포 집단은 표지되지 않고 컬럼에 보유되지 않는다. 일부 구현예에 있어서, 본 발명에서 기재된 방법과 함께 사용하기 위한 세포 집단은 표지되고 컬럼에 보유된다. 일부 구현예에 있어서, 본 발명에 기재된 방법과 함께 사용하기 위한 세포 집단은 자기장의 제거 후 컬럼으로부터 용리되어 세포 수집 백 내에 수집된다.

[0270] 특정 구현예에서, 분리 및/또는 다른 단계는 CliniMACS Prodigy 시스템 (Miltenyi Biotec)을 사용하여 수행된다. CliniMACS Prodigy 시스템은 원심 분리에 의한 세포의 자동화 세척 및 분획화를 가능케 하는 세포 처리체를 갖추고 있다. CliniMACS Prodigy 시스템은 또한 공급원 세포 생성물의 거시적 층을 포착하여 최적의 세포 분획화 종말점을 결정하는 온도 카메라 및 이미지 인식 소프트웨어를 포함할 수도 있다. 예를 들어, 말초 혈액은 적혈구, 백혈구 및 혈장 층으로 자동 분리된다. CliniMACS Prodigy 시스템은 또한 세포 분화 및 증식, 항원 로딩 및 장기적 세포 배양과 같은 세포 배양 프로토콜을 수행하는 통합 세포 배양 챔버를 포함할 수 있다. 입력 포트는 멸균 제거 및 배지 보충을 가능케 하며 세포는 통합 현미경을 사용하여 모니터링될 수 있다. 예를

들어, [Klebanoff et al. (2012) *J Immunother.* 35(9): 651-660], [Terakura et al. (2012) *Blood*.1:72-82], 및 [Wang et al. (2012) *J Immunother.*35(9):689-701] 참조.

[0271] 일부 구현예에 있어서, 본 발명에서 기재되는 세포 집단은 유동 세포 계측법을 통해 수집 및 농축 (또는 희석)되고, 여기서 다중 세포 표면 마커에 대해 염색된 세포는 유체 스트림으로 운반된다. 일부 구현예에 있어서, 본 발명에서 기재되는 세포 집단은 분취 스케일 (FACS)-분류를 통해 수집 및 농축 (또는 희석)된다. 특정 구현예에 있어서, 본 발명에서 기재되는 세포 집단은 FACS-기반 검출 시스템과 조합된 마이크로 전기기계 시스템 (MEMS) 칩의 사용에 의해 수집 및 농축 (또는 희석)된다 (예를 들어, 국제 특허 출원 공개 번호 WO 2010/033140, [Cho et al. (2010) *Lab Chip* 10, 1567-1573]; 및 [Godin et al. (2008) *J Biophoton.* 1(5):355-376] 참조). 두 경우 모두에서, 세포는 다중의 마커로 표지될 수 있고, 이는 잘 구분된 T 세포 서브셋을 고순도로 분리할 수 있게 한다.

[0272] 일부 구현예에 있어서, 항체 또는 결합 파트너는 양성 및/또는 음성 선택을 위한 분리를 용이하게 하기 위해, 하나 이상의 검출 가능한 마커로 표지된다. 예를 들어, 분리는 형광으로 표지된 항체와의 결합에 기초할 수 있다. 일부 예에서, 하나 이상의 세포 표면 마커에 특이적인 항체 또는 다른 결합 파트너의 결합에 기초하는 세포의 분리는 예컨대 유-세포 탐지 시스템과 조합하여, 분취 스케일 (FACS)을 포함하는 형광-활성화 세포 분류기 (FACS) 및/또는 MEMS 칩에 의하여 수행된다. 이러한 방법은 다중 마커에 기초하여 동시에 양성 및 음성 선택을 가능케 한다.

[0273] 일부 구현예에 있어서, 제조 방법은 분리, 배양 및/또는 조작의 전이든 또는 후이든, 세포를 동결하는, 예컨대 냉동 보존하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 동결 및 그에 후속하는 해동 단계는 세포 집단 내에서 과립구 및 어느 정도는 단핵구를 제거한다. 일부 구현예에 있어서, 세포는 예를 들어, 혈장 및 혈소판을 제거하기 위한 수세 단계 다음에 냉동 용액에 현탁된다. 일부 측면에서, 임의의 다양한 공지된 동결 용액 및 파라미터가 사용될 수 있다. 일 예시는 20% DMSO 및 8% 인간 혈청 알부민 (HSA)을 함유하는 PBS 또는 다른 적합한 세포 동결 배지를 사용하는 것을 포함한다. 그 후, 이것은 배지로 1:1 희석되어, DMSO와 HSA의 최종 농도가 각각 10%와 4%가 되도록 한다. 그 후, 세포는 일반적으로 분당 1도의 속도로 -80 °C로 동결되고 액체 질소 저장 탱크의 증기 상에 저장된다.

[0274] 일부 구현예에 있어서, 세포는 유전자 조작 전에 또는 이와 관련하여 반응 및/또는 배양된다. 배양 단계는 배양, 배양화, 자극, 활성화 및/또는 증식을 포함할 수 있다. 배양 및/또는 조작은, 배양물 또는 배양 세포 용의 배양 용기, 예컨대 유닛, 웰, 컬럼, 튜브, 튜브 세트, 밸브, 바이알, 배양 디쉬, 백 또는 기타 컨테이너에서 수행될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 조성물 또는 세포는 자극 조건 또는 자극 제제의 존재하에 배양된다. 이러한 조건은 세포 집단의 증폭, 증식, 활성화 및/또는 생존을 유도하고, 항원 노출을 모방하고, 및/또는 예컨대 재조합 항원 수용체의 도입을 위하여 유전자 조작을 위해 세포를 준비하도록 설계되는 것들을 포함한다.

[0275] 상기 조건은 하나 이상의 특정 배지, 온도, 산소 함량, 이산화탄소 함량, 시간, 제제, 예컨대 영양제, 아미노산, 항균제, 이온 및/또는 자극 인자, 예컨대 사이토카인, 케모카인, 항원, 결합 파트너, 융합 단백질, 재조합 용해성 수용체, 및 세포를 활성화 시키도록 고안된 임의의 다른 제제를 포함한다.

[0276] 일부 구현예에 있어서, 자극 조건 또는 제제는 TCR 복합체의 세포 내 신호전달 도메인을 활성화시킬 수 있는 하나 이상의 약제, 예를 들어 리간드를 포함한다. 일부 측면에서, 상기 약제는 T 세포에서 TCR/CD3 세포 내 신호전달 캐스케이드를 시동하거나 개시시킨다. 이러한 제제는 TCR에 특이적인 것과 같은 항체, 예컨대 항-CD3를 포함할 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 자극 조건은 공자극 수용체를 자극할 수 있는 하나 이상의 약제, 예를 들어 리간드를 포함하며, 예컨대 항-CD28이다. 일부 구현예에 있어서, 이러한 제제 및/또는 리간드는 고체 지지체에 결합될 수 있는데, 예컨대 비드이고 및/또는 하나 이상의 사이토카인에 결합될 수 있다. 필요에 따라, 상기 증식 방법은 항-CD3 및/또는 항CD28 항체를 배양 배지에 (예를 들어, 적어도 약 0.5 ng/ml의 농도로) 첨가하는 단계를 더 포함할 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 자극 제제는 IL-2, IL-15 및/또는 IL-7을 포함한다. 일부 측면에서, IL-2 농도는 적어도 약 10 유닛/mL이다.

[0277] 일부 측면에서, 배양은 Riddell et al.의 미국 특허 6,040,177, [Klebanoff et al.(2012) *J Immunother.* 35(9): 651-660], [Terakura et al. (2012) *Blood*.1:72-82], 및/또는 [Wang et al. (2012) *J Immunother.* 35(9):689-701]에 기재된 것들과 같은 기법에 따라 수행된다.

[0278] 일부 구현예에 있어서, T-세포는, 배양-개시 조성물에 피더 세포, 예컨대 비-분할 말초 혈액 단핵 세포

(PBMC)를 첨가하고 (예컨대 그로써 결과물인 세포 집단은 증식될 최초 집단에서의 각 T 림프구에 대하여 약 5, 10, 20, 또는 40 또는 그 이상의 PBMC 피더 세포를 함유한다); 배양물을 배양함으로써 (예컨대, T t세포의 수가 증식하기에 충분한 시간 동안) 증식된다. 일부 측면에서, 비-분할 피더 세포는 감마-조사된 PBMC 피더 세포를 포함할 수 있다. 일부 구현예에 있어서, PBMC는 세포 분열을 방지하기 위해 약 3000 내지 3600 rad 범위의 감마선으로 조사된다. 일부 측면에서, 피더 세포는 T 세포 집단을 첨가하기 전에 배양 배지에 첨가된다.

[0279] 일부 구현예에 있어서, 자극 조건은 인간 T 림프구의 성장에 적합한 온도, 예를 들어 적어도 약 25°C, 일반적으로 적어도 약 30°C, 일반적으로 37°C 또는 약 37°C를 포함한다. 필요에 따라, 배양은 피더 세포로서 비-분할 EBV-형질 전환 림프아구성 세포 (LCL)를 첨가하는 것을 더 포함할 수 있다. LCL은 약 6000 내지 10,000 rad 범위의 감마선으로 조사될 수 있다. 일부 측면에서 LCL 피더 세포는 LCL 피더 세포 대 초기 T 림프구의 비가 적어도 약 10:1 인 임의의 적합한 양으로 제공된다.

[0280] 구현예들에 있어서, 항원-특이적 T 세포, 예컨대 항원-특이적 CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포는 항원을 이용하여 나이트 또는 항원 특이적 T 림프구를 자극함으로써 획득된다. 예를 들어, 사이토메갈로바이러스 항원에 대하여 항원-특이적인 T 세포주 또는 클론은 감염된 대상체로부터 T 세포를 분리하고 동일한 항원으로 시험관 내에서 세포를 자극함으로써 생성될 수 있다.

C. 유전자 조작을 위한 벡터와 방법

[0281] 유전적으로 조작되는 요소, 예를 들어, CAR 또는 TCR과 같은 재조합 수용체의 도입을 위한 다양한 방법이 공지되어 있으며, 제공되는 방법 및 조성물과 함께 사용될 수 있다. 예시적인 방법은 상기 수용체를 인코딩하는 핵산을 전달하기 위한 것들을 포함하는데, 예컨대 바이러스를 통하여, 예컨대 레트로바이러스 또는 렌티바이러스를 통하여, 형질 도입, 트랜스포존 및 전기천공을 통하여 등이다.

[0282] 일부 구현예에서, 재조합 핵산은, 예를 들어 유인원 바이러스 40 (SV40), 아데노바이러스, 아데노-연관 바이러스 (AAV)로부터 유래한 벡터와 같은 재조합 감염성 바이러스 입자를 사용하여, 세포 내로 전달된다. 일부 구현예에서, 재조합 핵산은 재조합 렌티바이러스 벡터 또는 레트로바이러스 벡터, 예컨대 감마-레트로바이러스 벡터를 사용하여, T 세포 내로 전달된다 (예를 들어, 문헌 [Koste et al.(2014) *Gene Therapy* 2014 Apr 3. doi: 10.1038/gt.2014.25]; [Carlens et al.(2000) *Exp Hematol* 28(10): 1137-46]; [Alonso-Camino et al.(2013) *Mol Ther Nucl Acids* 2, e93]; [Park et al, *Trends Biotechnol.* 2011 November 29(11): 550-557] 참조).

[0283] 일부 구현예에서, 레트로바이러스 벡터는 긴 말단 반복부 서열 (LTR), 예를 들어 모로니 뮤린 백혈병 바이러스 (MoMLV), 골수 증식성 육종 바이러스 (MPSV), 뮤린 배아 줄기세포 바이러스 (MESV), 뮤린 줄기세포 바이러스 (MSCV), 비장 병소 형성 바이러스 (SFFV), 또는 아데노-연관 바이러스 (AAV)로부터 유래한 레트로바이러스 벡터를 가질 수 있다. 대부분의 레트로바이러스 벡터는 뮤린 레트로바이러스로부터 유래한다. 일부 구현예에서, 레트로바이러스는 임의의 조류 또는 포유류 세포 공급원으로부터 유래한 것을 포함한다. 레트로바이러스는 통상적으로 양쪽성이며, 이는 이들이 인간을 포함하는 여러 종의 숙주 세포를 감염시킬 수 있음을 의미한다. 일 구현예에서, 발현될 유전자는 레트로바이러스 gag, pol 및/또는 env 서열을 대체한다. 다수의 예시적 레트로바이러스 시스템이 기재된 바 있다 (예를 들어, 미국 특허 5,219,740; 6,207,453; 5,219,740; 문헌 [Miller and Rosman(1989) *BioTechniques* 7:980-990]; [Miller, A. D.(1990) *Human Gene Therapy* 1:5-14]; [Scarpa et al.(1991) *Virology* 180:849-852]; [Burns et al.(1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:8033-8037]; 및 [Boris-Lawrie and Temin(1993) *Cur. Opin. Genet. Develop.* 3:102-109]).

[0284] 렌티바이러스 형질도입 방법은 공지되어 있다. 예시적 방법은, 예를 들어 문헌 [Wang et al.(2012) *J. Immunother.* 35(9): 689-701]; [Cooper et al.(2003) *Blood*, 101:1637-1644]; [Verhoeven et al.(2009) *Methods Mol Biol.* 506: 97-114]; 및 [Cavaliere et al.(2003) *Blood*, 102(2): 497-505]에 기재되어 있다.

[0285] 일부 구현예에서, 재조합 핵산은 전기천공을 통해 T 세포 내로 전달된다 (예를 들어, 문헌 [Chicaybam et al.(2013) *PLoS ONE* 8(3): e60298] 및 [Van Tedeloo et al.(2000) *Gene Therapy* 7(16): 1431-1437] 참조). 일부 구현예에서, 재조합 핵산은 트랜스포지션 (transposition)을 통해 T 세포 내로 전달된다 (예를 들어, 문헌 [Manuri et al.(2010) *Hum Gene Ther* 21(4): 427-437]; [Sharma et al.(2013) *Molec Ther Nucl Acids* 2, e74]; 및 [Huang et al.(2009) *Methods Mol Biol* 506: 115-126] 참조). 면역 세포에서 유전 물질을 도입하여, 발현시키는 다른 방법으로는 인산칼륨 형질감염 (예를 들어, 존 윌리 앤드 손 (미국 뉴욕주 뉴욕 소재)의 [Current Protocols in Molecular Biology]에 기재된 바와 같음), 원형질체 융합, 양이온성 리포솜 매개 형질

감염; 텅스텐 입자 촉진 미립자 충격 (문헌 [Johnston, Nature, 346: 776-777(1990)]); 및 스트론튬 인산염 DNA 공-침전 (문헌 [Brash et al, Mol. Cell Biol., 7: 2031-2034(1987)])을 포함한다.

[0286] 재조합 산물을 인코딩하는 핵산의 전달을 위한 다른 접근법 및 벡터에는, 예를 들어 국제 특허 출원 공개 WO2014055668 및 미국 특허 7,446,190에 기재된 것들이 있다.

[0287] 일부 구현예에 있어서, 세포, 예를 들어, T 세포는 증식 도중 또는 증식 후에 예컨대 T 세포 수용체 (TCR) 또는 키메라 항원 수용체 (CAR)로 형질 감염될 수 있다. 원하는 수용체 유전자의 도입을 위한 이러한 형질 감염은 예를 들어 임의의 적합한 레트로바이러스 벡터로 수행될 수 있다. 그 후, 유전적으로 변형된 세포 집단은 초기 자극 (예를 들어, CD3/CD28 자극)으로부터 유리될 수 있고, 이어서, 예컨대 새로 도입된 수용체를 통하여 제2 유형의 자극으로 자극될 수 있다. 이 제2 유형의 자극은 펩타이드/MHC 분자 형태의 항원 자극, 유전적으로 도입된 수용체의 동족 (가교성) 리간드 (예컨대, CAR의 천연 리간드) 또는 (예컨대, 수용체 내 불변 영역을 인식함으로써) 새로운 수용체의 구조 내에 직접 결합하는 기타 리간드 (항체 등)를 포함할 수 있다. 예를 들어, [Cheadle et al, "Chimeric antigen receptors for T-cell based therapy" Methods Mol Biol. 2012; 907:645-666] 또는 [Barrett et al., Chimeric Antigen Receptor Therapy for Cancer Annual Review of Medicine Vol. 65: 333-347 (2014)] 참조.

[0288] 일부 경우에, 세포, 예를 들어, T 세포가 활성화되는 것을 요하지 않는 벡터가 사용될 수 있다. 이러한 일부 경우에서, 세포는 활성화 전에 선택 및/또는 형질 도입될 수 있다. 따라서, 세포는, 세포의 배양 전에 또는 후에, 그리고 경우에 따라서는 상기 배양과 동시에 적어도 상기 배양의 일부분 도중에 조작될 수 있다.

[0289] 일부 측면에서, 세포는 사이토카인 또는 다른 인자의 발현이 촉진되도록 추가로 조작된다. 특히, 추가적인 핵산, 예를 들어 도입을 위한 유전자는, 예컨대 전달되는 세포의 생존 및/또는 기능을 촉진시킴으로써, 방법의 효능을 개선시키는 것; 예컨대 생체내 생존 또는 국소화를 평가하기 위한 세포의 선택 및/또는 평가를 위한 유전자 마커를 제공하는 유전자; 예를 들어, 문헌 [Lupton S. D. et al., Mol. and Cell Biol., 11:6 (1991)]; 및 [Riddell et al., Human Gene Therapy 3:319-338 (1992)]에 기재된 바와 같이, 생체 내에서 음성 선택에 민감한 세포를 제조함으로써, 안전성을 개선하기 위한 유전자이며; 또한 양성 양성 선택 가능 마커와 음성 선택 가능 마커의 융합으로부터 유래한 2 기능성 선택 가능 융합 유전자의 사용을 기술하고 있는 Lupton 등에 의한 PCT/US91/08442 및 PCT/US94/05601의 공보물을 참조한다. 예를 들어, Riddell 등의 미국 특허 6,040,177, 컬럼 14 내지 17을 참조한다.

[0290] 일부 상황에서, 자극 인자 (예컨대, 림포카인 또는 사이토카인)의 과발현은 대상체에게 독성일 수 있다. 따라서, 일부 상황에서, 조작된 세포는, 예컨대 양자 면역요법에서 투여시, 생체 내에서 세포를 음성 선택에 대하여 감수성이 되도록 하는 유전자 분절을 포함한다. 예를 들어, 일부 측면에서, 세포는 그들이 투여되는 대상체의 생체 내 조건의 변화의 결과로서 제거될 수 있도록 조작된다. 음성 선택 가능한 표현형은 투여되는 제제, 예를 들면 화합물에 감수성을 부여하는 유전자의 삽입으로부터 결과하는 것일 수 있다. 음성 선택 가능한 유전자는 간시클로비어 감수성을 부여하는 헤르페스 심플렉스 바이러스 타입 I 티미딘 키나아제 (HSV-1 TK) 유전자 (Wigler et al., Cell 2: 223, 1977); 세포성 히포크산틴 포스포리보실전달효소 (HPRT) 유전자, 박테리아 시토신 디아미나아제 (Mullen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 33 (1992))를 포함한다.

[0291] 일부 구현예에 있어서, 단일 프로모터는 단일 오픈 리딩 프레임 (ORF)에서 자기-분해 펩타이드를 인코딩하는 서열 (예컨대, 2A 서열) 또는 프로테아제 인식 위치 (예컨대, 퓨린)에 의하여 서로 분리되는 2 개 또는 3 개의 유전자 (예를 들어, 대사 경로를 조절하는 것과 관련된 분자를 인코딩하고 재조합 수용체를 인코딩함)를 함유하는 RNA의 발현을 지시할 수 있다. 따라서 ORF는 하나의 폴리 펩타이드를 인코딩하며, 이는 번역 도중 (2A의 경우) 또는 번역된 후에 개별 단백질들로 가공된다. 일부 경우에, T2A와 같은 펩타이드는 리보솜으로 하여금 2A 요소의 C-말단에서 펩타이드 결합의 건너뛰기 (리보솜 스킵핑)를 일으켜, 2A 서열의 말단과 다음 펩타이드 하류 사이의 분리를 유도할 수 있다 (예를 들어, [de Felipe. Genetic Vaccines and Ther. 2:13 (2004)] 및 [de Felipe et al. Traffic 5:616-626 (2004)] 참조). 다수의 2A 요소가 알려져 있다. 본 발명에 개시되는 방법 및 핵산에 사용될 수 있는 2A 서열의 예시는, 제한없이, 미국 특허 공개 번호 20070116690에 기재된 것과 같은 구제역 바이러스 (F2A, 예를 들어, SEQ ID NO: 21), 마(馬) 비염 A 바이러스 (equine rhinitis A virus)(E2A, 예컨대 SEQ ID NO: 20), 토시아 어시그나 바이러스 (Thosea asigna virus)(T2A, 예컨대 SEQ ID NO: 6 또는 17) 및 돼지 테스코 바이러스-1 (P2A, 예를 들어 SEQ ID NO: 18 또는 19) 이다.

III. 구성 및 제형

[0292] 일부 구현예에 있어서, 세포 요법은 조성물 또는 제형, 예컨대 약학적 조성물 또는 제형으로서 제공된다. 이러한 조성물은 예컨대 질환, 질병 상태 및 장애의 예방 또는 치료에 있어서, 상기 제공되는 방법에 따라 사용될 수 있고, 또는 검출, 진단 및 예후 방법에서 사용될 수 있다.

[0293] 용어 "약학적 제형"은, 내부에 함유된 활성 성분의 생물학적 활성이 이러한 형태 내에서 유효하도록 하고, 제형이 투여되는 대상체에 허용 가능하지 않을 정도로 유독한 추가의 성분을 함유하지 않은 제제를 지칭한다.

[0294] "약학적으로 허용 가능한 담체"는, 대상체에 유독하지 않은, 활성 성분 이외의 약학적 제형 중 성분을 지칭한다. 약학적으로 허용 가능한 담체는 완충액, 부형제, 안정화제 또는 보존제를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0295] 일부 구현예에 있어서, 조작된 T 세포 (예컨대, CAR T 세포)와 같은 T 세포 요법은 약학적으로 허용 가능한 담체와 함께 제형화된다. 일부 구현예에 있어서, 담체의 선택은 부분적으로는, 특정 세포 및/또는 투여 방법에 의해 결정된다. 따라서, 다양한 적합한 제형이 존재한다. 예를 들어, 약학적 조성물은 보존제를 함유할 수 있다. 적합한 보존제는, 예를 들어 메틸파라벤, 프로필파라벤, 벤조산나트륨 및 염화벤잘코늄을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 2종 이상의 보존제의 혼합물이 사용된다. 보존제 또는 그의 혼합물은 통상적으로 총 조성물 중 약 0.0001 중량% 내지 약 2 중량%의 양으로 존재한다. 담체는, 예를 들어 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)]에 기재되어 있다. 약학적으로 허용 가능한 담체는 일반적으로, 사용되는 투여량 및 농도에서 수용체에 유독하지 않은 것이며, 인산염, 시트르산염 및 다른 유기산과 같은 완충액; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함한 항산화제; 보존제 (예컨대, 염화옥타데실디메틸벤질암모늄; 염화헥사메토늄; 염화벤잘코늄; 염화벤제토늄; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 메틸 또는 프로필 파라벤과 같은 알킬 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 사이클로헥사놀; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량 (약 10개 미만의 잔기)의 폴리펩타이드; 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린과 같은 단백질; 폴리비닐피롤리돈과 같은 소수성 중합체; 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신과 같은 아미노산; 글루코스, 만노스 또는 텍스트린을 포함한 당당류, 이당류 및 다른 탄수화물; EDTA와 같은 킬레이트제; 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨과 같은 당류; 나트륨과 같은 염-형성 반대-이온; 금속 복합체(예를 들어, Zn-단백질 복합체); 및/또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)과 같은 비이온성 계면활성제를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0296] 일부 측면에서, 조성물 중에 완충제가 포함된다. 적합한 완충제는, 예를 들어 시트르산, 시트르산나트륨, 인산, 인산칼륨 및 다양한 다른 산 및 염을 포함한다. 일부 측면에서, 2종 이상의 완충제의 혼합물이 사용된다. 완충제 또는 그의 혼합물은 통상적으로 총 조성물 중 약 0.001 중량% 내지 약 4 중량%의 양으로 존재한다. 투여 가능한 약학적 조성물의 제조 방법이 공지되어 있다. 예시적인 방법이, 예를 들어, 문헌 [Remington: Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins; 21st ed.(May 1, 2005)]에 더욱 상세히 기재되어 있다.

[0297] 제형은 수용액을 포함할 수 있다. 제형 또는 조성물은 또한, 세포에 의해 예방되거나 치료되는 특정 지표, 질환 또는 질병 상태에 유용한 1종 이상의 활성 성분을 함유할 수 있는데, 예컨대 그 활성은 세포에 상보성이고 및/또는 각각의 활성은 서로 유해한 영향을 주지 않는 것인 하나 이상의 활성 성분이다. 이러한 활성 성분은 의도된 목적에 유효한 양으로 조합물 중에 적절히 존재한다. 따라서, 일부 구현예에서, 약학적 조성물은 화학치료제, 예를 들어 아스파라기나제, 부술판, 카르보플라틴, 시스플라틴, 다우노루비신, 독소루비신, 플루오로우라실, 겐시타빈, 하이드록시우레아, 메토트렉세이트, 파클리탁셀, 리톡시맙, 빈블라스틴, 빈크리스틴 등과 같은 다른 약학적 활성 제제를 추가로 포함한다.

[0298] 약학적 조성물은 일부 구현예에서, 질환 또는 질병 상태의 치료 또는 예방에 유효한 양, 예컨대 치료적 유효량 또는 예방법적 유효량의 세포를 함유한다. 일부 구현예에서, 치료 대상체의 주기적 평가에 의해, 치료 또는 예방법적 효능을 모니터링한다. 수일 또는 그 이상에 걸친 반복 투여에 대하여, 질병 상태에 따라, 치료는 원하는 질환 징후에 대한 억제나 나타날 때까지 반복된다. 그러나, 다른 투여 요법이 유용할 수 있고 결정될 수 있다. 요망되는 투여량은 조성물의 단일 볼루스 투여, 조성물의 다회 볼루스 투여 또는 조성물의 연속 주입 투여에 의해 전달될 수 있다.

[0299] 세포는 표준 투여 기법, 제형 및/또는 장치를 사용하여 투여될 수 있다. 상기 조성물의 저장 및 투여를 위하여, 제형 및 시린지 및 바이알과 같은 장치가 제공된다. 세포에 관하여, 투여는 자가 또는 이종의 것일 수 있다. 예를 들어, 면역반응 세포 또는 전구세포는 하나의 대상체로부터 얻어질 수 있으며, 동일한 대상체 또는 상용 가능한 상이한 대상체에 투여될 수 있다. 말초혈 유래 면역반응 세포 또는 그의 전구세포 (예를 들어, 생

체내, 생체의 또는 시험관내 유래)는 카테터 투여, 전신 주사, 국소 주사, 정맥내 주사 또는 비경구 투여를 포함하여, 국소 주사를 통해 투여될 수 있다. 치료 조성물 (예를 들어, 유전자 변형된 면역반응 세포를 함유하는 약학적 조성물)의 투여 시, 이는 일반적으로 단위 투여량의 주사 가능한 형태 (용액, 현탁액, 유제)로 제형화될 것이다.

[0300] 제형은 경구, 정맥내, 복강내, 피하, 폐, 경피, 근육내, 비강내, 협측, 실하 또는 좌제 투여용의 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 제제 또는 세포 집단은 비경구로 투여된다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "비경구"는 정맥내, 근육내, 피하, 직장, 질 및 복강내 투여를 포함한다. 일부 구현예에서, 제제 또는 세포 집단은 정맥내, 복강내 또는 피하 주사에 의해, 말초 전신 전달을 사용하여, 대상체에 투여된다.

[0301] 일부 구현예에서, 조성물은, 일부 측면에서 선택된 pH로 완충될 수 있는 멸균 액체 제조물, 예를 들어 등장성 수용액, 현탁액, 유제, 분산액 또는 점성 조성물로서 제공된다. 액체 제조물은 일반적으로 겔, 다른 점성 조성물 및 고체 조성물보다 제조가 용이하다. 추가로, 액체 조성물은 특히 주사에 의해 투여하기에 다소 편리하다. 한편, 점성 조성물은 특정 조직과의 접촉 시간을 연장하기 위해 적절한 점성 범위 내에서 제형화될 수 있다. 액체 또는 점성 조성물은, 예를 들어 물, 염수, 인산염 완충 염수, 폴리올 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 액체 폴리에틸렌 글리콜) 및 이들의 적합한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있는 담체를 포함할 수 있다.

[0302] 용매, 예컨대 적절한 담체, 희석제 또는 부형제, 예컨대 멸균 수, 생리 염수, 글루코스, 덱스트로스 등의 혼합물에 세포를 혼입시킴으로써, 멸균 주사용 용액을 제조할 수 있다. 조성물은 또한 동결건조될 수 있다. 조성물은 투여 경로 및 요망되는 제조물에 따라, 보조 물질, 예컨대 습윤제, 분산제 또는 유화제 (예를 들어, 메틸셀룰로스), pH 완충제, 겔화 또는 점도 강화 첨가제, 보존제, 착향료, 착색제 등등을 함유할 수 있다. 일부 측면에서, 적절한 제조물을 제조하기 위해, 표준 텍스트를 참고할 수 있다.

[0303] 항균 보존제, 산화방지제, 킬레이트제 및 완충액을 포함하여, 조성물의 안정성 및 멸균성을 향상시키는 다양한 첨가제를 첨가할 수 있다. 다양한 항균제 및 항진균제, 예를 들어 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 소르브산 등등에 의해, 미생물의 작용을 확실히 방지할 수 있다. 주사 가능한 약학적 형태의 연장된 흡수는 흡수를 지연시키는 제제, 예를 들면, 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴의 사용에 의해 유도할 수 있다.

[0304] 생체내 투여에 사용되는 제형은 일반적으로 멸균된 것이다. 멸균은, 예를 들어 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성될 수 있다.

[0305] 질환의 예방 또는 치료를 위하여, 적절한 투여량은 치료될 질환의 유형, 제제 또는 제제들의 유형, 세포 또는 재조합 수용체의 유형, 질환의 중증도 및 경과, 제제 또는 세포가 예방 또는 치료 목적을 위하여 투여되는가 여부, 이전의 치료, 대상체의 임상 내력 및 제제 또는 세포에 대한 반응, 및 주치의의 재량에 따른다. 일부 구현예에 있어서, 조성물은 대상체에게 한 번에 또는 일련의 치료를 통해 적절하게 투여된다.

IV. 치료 및 방법

[0306] 일부 구현예에 있어서, 제공되는 방법은, 예컨대 다양한 종양을 포함하는 질환 또는 질병 상태의 치료를 위한, 세포 요법의 투여와 관련된다. 상기 방법은 질환 또는 질병 상태와 관련된 분자를 인식 및/또는 상기 분자에 특이적으로 결합하고, 그러한 분자에 결합시 반응, 예컨대 그러한 분자에 대하여 면역 반응을 결과하도록 설계된 재조합 수용체를 발현하는 조작된 세포를 투여하는 것을 포함한다. 상기 수용체는 키메라 수용체, 예를 들어, 키메라 항원 수용체 (CAR) 및 다른 트랜스제닉 항원 수용체, 예컨대 트랜스제닉 T 세포 수용체 (TCR), 예컨대 본 발명에 기재되는 임의의 것을 포함할 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 예컨대 상기 조작된 세포가 존재하거나 존재할 가능성이 있거나 또는 존재하였거나 존재할 가능성이 있었던 대상체의 부위를 파괴함으로써, 대상체의 생체 내에서 상기 재조합 면역 세포를 재-증식시키는 방법이 상기 제공되는 방법 다음에 뒤따른다. 일부 구현예에 있어서, 상기 부위는 조작된 세포에 의해 인식되는 항원-발현 세포를 함유하는 부위, 예를 들어 병변, 예컨대 종양, 또는 병변의 미세환경, 예컨대 종양 미세환경일 수 있다.

[0307] 일부 구현예에 있어서, 재조합 수용체를 발현하는 세포의 투여량은 질환, 질병 상태 및 장애, 예컨대 암을 치료하거나 예방하기 위하여 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에서, 세포, 집단, 및 조성물은, 예를 들어 입양 T 세포 요법과 같은 입양 세포 요법을 통해, 치료될 특정 질환 또는 질병 상태를 가진 대상체 또는 환자에 투여된다. 일부 구현예에서, 배양 및/또는 다른 가공 방법 다음에, 세포 및 조성물, 예컨대 조작된 조성물 및 최종 생산 조성물은, 대상체, 예컨대 질환 또는 질병 상태를 갖거나, 그러한 위험이 있는 대상체에 투여된다. 일부 측면에서, 따라서, 이 방법은, 예컨대 조작된 T 세포에 의해 인식되는 항원을 발현하는 암에서 종양 부담

을 감소시킴으로써, 질환 또는 질병 상태의 하나 이상의 증상을 치료, 예를 들어 개선한다.

[0308] 입양 세포 요법을 위한 세포의 투여 방법은 공지되어 있으며, 제공되는 방법 및 조성물과 관련하여 사용될 수 있다. 예를 들어, 입양 T 세포 요법 방법은, 예를 들어 Gruenberg 등의 미국 특허 출원 공개 2003/0170238; Rosenberg 등의 미국 특허 4,690,915; 문헌 [Rosenberg(2011) *Nat Rev Clin Oncol.* 8(10):577-85)]에 기재되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Themeli et al.(2013) *Nat Biotechnol.* 31(10): 928-933]; [Tsukahara et al.(2013) *Biochem Biophys Res Commun* 438(1): 84-9]; [Davila et al.(2013) *PLoS ONE* 8(4): e61338]을 참조한다.

[0309] 치료되는 질환 또는 질병 상태는, 항원의 발현이 질환, 질병 상태 또는 장애의 병인학과 관련되고 및/또는 수반되는, 예컨대, 이러한 질환, 질병 상태 또는 장애의 원인이 되거나, 이를 악화시키거나 또는 달리 이와 관련된 임의의 것일 수 있다. 예시적인 질환 및 질병 상태는, 세포의 악성 또는 형질 전환 (예를 들어, 암), 자가면역 또는 염증성 질환, 또는 예컨대 박테리아, 바이러스 또는 기타 병원체에 의하여 야기되는 감염성 질환과 관련되는 질환 또는 질병 상태를 포함할 수 있다. 치료될 수 있는 다양한 질환 및 질병 상태와 관련된 항원을 포함하는, 예시적인 항원은 상기 기재되어 있다. 특정 구현예에 있어서, 키메라 항원 수용체 또는 트랜스제닉 TCR은 상기 질환 또는 질병 상태와 관련된 항원에 특이적으로 결합한다.

[0310] 상기 질환, 질병 상태 및 장애 중에는, 종양, 예컨대 고형 종양, 혈액학적 악성종양, 및 흑색종이 있고, 국소화된 및 전이성 종양, 감염성 질환, 예컨대 바이러스 또는 기타 병원체로의 감염, 예컨대 HIV, HCV, HBV, CMV 감염, 및 기생충 질환, 및 자가면역 및 염증성 질환이 있다. 일부 구현예에서, 질환 또는 질병 상태는 종양, 암, 악성종양, 신생물, 또는 다른 증식성 질병 또는 장애이다. 이러한 질병은 백혈병, 림프종, 예를 들어 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 급성 림프모구 백혈병 (ALL), 비-호지킨 림프종, 급성 골수성 백혈병, 다발성 골수종, 난치성 여포성 림프종, 맨틀 세포 림프종, 지연성 B 세포 림프종, B 세포 악성종양, 결장암, 폐암, 간암, 유방암, 전립선암, 난소암, 피부암, 흑색종, 골암 및 뇌암, 난소암, 상피암, 신장 세포 암종, 췌장 선암종, 호지킨 림프종, 자궁 경부암, 결장직장암, 교모세포종, 신경아세포종, 유잉 육종 (Ewing sarcoma), 수모세포종, 골육종, 활액 육종 및/또는 중피종을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에 있어서, 대상체는 급성 림프모구 백혈병 (ALL)을 갖는다. 일부 구현예에 있어서, 대상체는 비-호지킨 림프종을 갖는다.

[0311] 일부 구현예에서, 질환 또는 질병 상태는 감염성 질환 또는 질병 상태, 예컨대, 바이러스, 레트로바이러스, 박테리아, 및 원충 감염, 면역결핍, 사이토메갈로바이러스 (CMV), 엡스타인-바르 바이러스 (Epstein-Barr virus)(EBV), 아데노바이러스, BK 폴리오마바이러스 (polyomavirus)이나, 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 질환 또는 질병 상태는 자가면역 또는 염증성 질환 또는 질병 상태, 예컨대 관절염, 예를 들어 류머티즘성 관절염 (RA), I형 당뇨병, 전신 홍반성 낭창 (SLE), 염증성 장 질병, 건선, 경피증, 자가면역 갑상선 질병, 그레이브스병 (Grave's disease), 크론병 (Crohn's disease) 다발성 경화증, 천식, 및/또는 이식 관련 질환 또는 질병 상태이다.

[0312] 일부 구현예에 있어서, 상기 질환 또는 장애와 관련된 항원은 $\alpha v \beta 6$ 인테그린 ($\alpha v \beta 6$ 인테그린), B 세포 성숙 항원 (BCMA), B7-H3, B7-H6, 탄산 탈수 효소 9 (CA9, 또한 CAIX 또는 G250으로도 알려짐), 암-고환 항원, 암/고환 항원 1B (CTAG, NY-ESO-1 및 LAGE-2로도 알려짐), 배암종 항원 (CEA), 사이클린, 사이클린 A2, C-C 모티프 케모카인 리간드 1 (CCL-1), CD19, CD20, CD22, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, CD44v6, CD44v7/8, CD123, CD138, CD171, 표피 성장 인자 단백질 (EGFR), 절단형 표피 성장 인자 단백질 (tEGFR), III형 상피 성장 인자 수용체 돌연변이 (EGFR vIII), 상피 당단백 2 (EPG-2), 상피 당단백 40 (EPG-40), 에프린 B2, 에프린 수용체 A2 (EPHa2), 에스트로겐 수용체, Fc 수용체 유사 5 (FCRL5, Fc 수용체 상동체 5 또는 FCRH5로도 알려짐), 태아 아세틸콜린 수용체 (태아 AchR), 염산 결합 단백질 (FBP), 염산 수용체 알파, 태아 아세틸콜린 수용체, 강글리오사이드 GD2, O-아세틸 화 GD2 (OGD2), 강글리오사이드 GD3, 당단백질 100 (gp100), G 단백질 결합 수용체 5D (GPCR5D), Her2/neu (수용체 타이로신 키나아제 erbB2), Her3 (erb-B3), Her4 (erb-B4), erbB 이량체, 인간 고분자량-흑색종-관련 항원 (HMW-MAA), 헤파티티스 B 표면 항원, 인간 백혈구 항원 A1 (HLA-A1), 인간 백혈구 항원 A2 (HLA-A2), IL-22 수용체 알파 (IL-22Ra), IL-13 수용체 알파 2 (IL-13Ra2), 키나아제 삽입 도메인 수용체 (kdr), 카파 경쇄, L1 세포 부착 분자 (L1CAM), L1-CAM의 CE7 에피토프, 류신 리치 리피드 함유 8 패밀리 멤버 A (LRRC8A), 루이스 Y, 흑색종-관련 항원 (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, 메소텔린, c-Met, 쥐과 사이토메갈로바이러스 (CMV), 뮤신 1 (MUC1), MUC16, 자연 킬러 그룹 2 멤버 D (NKG2D) 리간드, 멜란 A (MART-1), 신경 세포 접착 분자 (NCAM), 종양태아성 항원, 흑색종 우선 발현 항원 (PRAME), 프로게스테론 수용체, 전립선 특이 항원, 전립선 줄기 세포 항원 (PSCA), 전립선 특이 막 항원 (PSMA), 수용체 타이로신 키나아제 유사 회귀 수용체 1 (ROR1), 서바이빈 (survivin), 영양막 당단백질 (TPBG, 5T4로도 알려짐), 종양-관련

당단백질 72 (TAG72), 혈관 내피 장 인자 수용체 (VEGFR), 혈관 내피 성장 인자 수용체 2 (VEGFR2), 윌름 종양 1 (WT-1), 병원체-특이적 항원, 또는 보편적 태그 관련 항원, 및/또는 비오틴화 분자, 및/또는 HIV, HCV, HBV 또는 다른 병원체에 의해 발현되는 분자 중에서 선택되는 항원이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 수용체에 의해 표적화된 항원은 B 세포 악성종양과 관련된 항원을 포함하는데, 예컨대 다수의 공지된 B 세포 마커 중 어느 하나이다. 일부 구현예에 있어서, 수용체에 의하여 표적화되는 항원은 CD20, CD19, CD22, ROR1, CD45, CD21, CD5, CD33, Ig가파, Ig람다, CD79a, CD79b 또는 CD30이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 항원은 병원체- 특이적 항원 또는 병원체-발현 항원이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 항원은 바이러스 항원 (예컨대, HIV, HCV, HBV 등으로부터의 바이러스 항원), 박테리아 항원 및/또는 기생충 항원이다.

[0313] 일부 구현예에 있어서, 세포 요법, 예를 들어, 입양 T 세포 요법은 자가조직 전달 (autologous transfer)에 의하여 수행되는데, 자가조직 전달에서 세포는 상기 세포 요법을 받는 대상체로부터 또는 그러한 대상체로부터 유래한 샘플로부터 단리 및/또는 달리는 제조된다. 따라서, 일부 측면에서, 세포는 대상체, 예컨대 치료를 필요로 하는 환자로부터 유래하고, 상기 세포는, 단리 및 가공 다음에 동일한 대상체에게 투여된다.

[0314] 일부 구현예에 있어서, 세포 요법, 예를 들어, 입양 T 세포 요법은 동종이계 전달 (allogeneic transfer)에 의해 수행되는데, 동종이계 전달에서 세포는 상기 세포 요법을 받거나 궁극적으로 받는 대상체, 예컨대 제1 대상체 이외의 대상체로부터 단리 및/또는 달리는 제조된다. 그러한 구현예에 있어서, 세포는 그 후 동일한 종의 상이한 대상체, 예를 들어, 제2 대상체에 투여된다. 일부 구현예에 있어서, 제1 및 제2 대상체는 유전적으로 동일하다. 일부 구현예에 있어서, 제1 및 제2 대상체는 유전적으로 유사하다. 일부 구현예에 있어서, 제2 대상체는 제1 대상체와 동일한 HLA 클래스 또는 수퍼타입을 발현한다.

[0315] 예를 들어, 볼루스 주입, 주사, 예를 들어 정맥내 또는 피하 주사, 안내 주사, 눈 주위 주사, 망막하 주사, 유리체내 주사, 경 중격 주사, 공막하 주사, 맥락막내 주사, 전방내 주사, 결막하 주사 (subconjunctival injection), 결막하 주사 (subconjunctival injection), 안각건하 주사, 안구후 주사, 안구 주위 주사 또는 후방 공막 부근 전달에 의한 임의의 적절한 수단에 의해 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 이들은 비경구, 폐내 및 비내, 및 국소 치료가 요망되는 경우, 병변내 투여에 의해 투여된다. 비경구 주입은 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내 또는 피하 투여를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포의 단일 볼루스 투여에 의해 소정의 투여량이 투여된다. 일부 구현예에서, 이는, 예를 들어 3 일 이하의 기간에 걸쳐, 세포의 다회의 볼루스 투여 또는 세포의 연속 주입 투여에 의해 투여된다.

[0316] 질환의 예방 또는 치료를 위해, 적절한 투여량은 치료될 질환의 유형, 세포 또는 재조합 수용체의 유형, 질환의 중증도 및 경과, 세포가 예방적 또는 치료적 목적으로 투여되는지 여부, 이전의 치료, 대상체의 임상 기록 및 세포에 대한 반응, 주치의의 재량에 따라 달라질 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 조성물 및 세포는 한 번에 또는 일련의 치료를 통해 적절하게 대상체에게 투여된다.

[0317] 일부 구현예에서, 세포는 항체 또는 조작된 세포 또는 수용체, 세포 독성 또는 치료제와 같은 제제와 같은 또 다른 치료적 개입과의 조합 치료의 일부로서, 예컨대 그와 동시에 또는 임의의 순서로 순차적으로 투여된다. 일부 구현예에서, 세포는 하나 이상의 추가 치료제와 함께 또는 또 다른 치료적 개입과 관련하여, 동시에 또는 임의의 순서로 순차적으로 공동 투여된다. 일부 상황에서, 세포 집단이 하나 이상의 추가 치료제의 효과를 향상시키거나, 그 반대의 경우도 그러하도록, 충분히 근접한 시간에 또 다른 치료와 공동 투여된다. 일부 구현예에서, 세포는 하나 이상의 추가 치료제 전에 투여된다. 일부 구현예에서, 세포는 하나 이상의 추가 치료제 후에 투여된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 추가 제제는, 예를 들어 지속성을 향상시키기 위해, IL-2와 같은 사이토카인을 포함한다. 일부 구현예에서, 이러한 방법은 화학요법 제제의 투여를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 방법은 화학요법 제제의 투여를 포함한다. 일부 경우에, 이러한 치료적 제제는 병변을 파괴하는 상기 제공되는 방법에서 사용되는 제제와 동일하지 않다.

[0318] 일부 구현예에 있어서, 상기 방법은, 예컨대 투여 전에 종양 부담을 감소시키기 위하여 화학요법 제제, 예를 들어 컨디셔닝 화학요법 제제의 투여를 포함한다.

[0319] 일부 측면에서, 면역고갈 (immunodepleting)(예컨대, 림프구고갈 (lymphodepleting)) 요법을 하는 사전 컨디셔닝 (preconditioning) 대상체는 입양 세포 요법 (ACT)의 효과를 향상시킬 수 있다.

[0320] 따라서, 일부 구현예에 있어서, 상기 방법은 세포 요법의 개시 전에 대상체에게 사전 컨디셔닝 제제를 투여하는 것을 포함하는데, 예컨대 림프고갈 또는 화학치료 제제, 예컨대 시클로포스파마이드, 플루다라빈 또는 그들의 조합이다. 예를 들어, 상기 대상체는 세포 요법의 개시보다 적어도 2 일 전에, 예를 들어 적어도 3, 4,

5, 6, 또는 7 일 이전에 사전 컨디셔닝 제제를 투여받는다. 일부 구현예에 있어서, 상기 대상체는 세포 요법의 개시보다 최대 7 일 전에, 예를 들어 최대 6, 5, 4, 3 또는 2 일 이전에 사전 컨디셔닝 제제를 투여받는다.

[0321] 일부 구현예에 있어서, 대상체는 20 mg/kg 내지 100mg/kg 사이, 또는 40 mg/kg 내지 80 mg/kg 사이 또는 약 그 정도의 투여량으로 시클로포스파마이드를 이용하여 사전 컨디셔닝된다. 일부 측면에서, 상기 대상체는 60 mg/kg의 또는 약 그 정도의 시클로포스파마이드로 사전 컨디셔닝된다. 일부 구현예에 있어서, 시클로포스파마이드는 단일 투여로 투여되거나 또는 복수 회 투여로, 예컨대 매일, 격일로 또는 매 3일에 투여될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 시클로포스파마이드는 하루 또는 이틀간 1 일 1 회 투여된다.

[0322] 림프고갈 제제가 플루다라빈을 포함하는 일부 구현예에 있어서, 대상체는 플루다라빈을 1 mg/m^2 내지 100 mg/m^2 또는 약 그 사이의 양으로 투여받는데, 예컨대 10 mg/m^2 내지 75 mg/m^2 , 15 mg/m^2 내지 50 mg/m^2 , 20 mg/m^2 내지 30 mg/m^2 , 또는 24 mg/m^2 내지 26 mg/m^2 또는 약 그 사이의 양이다. 일부의 경우, 상기 대상체는 25 mg/m^2 의 플루다라빈을 투여받는다. 일부 구현예에 있어서, 플루다라빈은 단일 투여로 투여되거나 또는 복수 회 투여로, 예컨대 매일, 격일로 또는 매 3일에 투여될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 플루다라빈은 예컨대 1-5 일간, 예컨대 3 내지 5 일간 매일 투여된다.

[0323] 일부 구현예에 있어서, 림프고갈 제제는 제제들의 조합, 예컨대 시클로포스파마이드 및 플루다라빈의 조합을 포함한다. 따라서, 상기 제제의 조합물은 임의의 투여량 또는 투여 스케줄로 시클로포스파마이드를 포함할 수 있는데, 예컨대 전술한 바와 같고, 상기 조합물은 임의의 투여량 또는 투여 스케줄로 플루다라빈을 포함할 수 있는데, 예컨대 전술한 바와 같다. 예를 들어, 일부 측면에서, 제1 투여 또는 후속 투여 전에 60 mg/kg ($\sim 2 \text{ g/m}^2$)의 시클로포스파마이드 및 3 내지 5 투여량의 25 mg/m^2 플루다라빈을 투여받는다.

[0324] 세포의 투여 다음에, 일부 구현예에서, 조작된 세포 집단의 생물학적 활성을, 예를 들어 다수의 공지된 방법 중 임의의 방법에 의해 측정한다. 생체내의 경우, 예를 들어 영상화에 의해, 또는 생체외의 경우, 예를 들어 ELISA 또는 유동 세포계측에 의해 평가할 매개변수는 조작되거나, 천연의 T 세포 또는 다른 면역 세포의 항원에 대한 특이적 결합을 포함한다. 특정 구현예에서, 조작된 세포가 표적 세포를 붕괴시키는 능력은, 예를 들어 문헌 [Kochenderfer et al., J. Immunotherapy, 32(7): 689-702 (2009)], 및 [Herman et al. J. Immunological Methods, 285(1): 25-40 (2004)]에 기재된 세포독성 분석과 같이, 당업계에 공지된 임의의 적절한 방법을 사용하여, 측정할 수 있다. 특정 구현예에서, 세포의 생물학적 활성은 CD 107a, IFN γ , IL-2 및 TNF와 같은 하나 이상의 사이토카인의 발현 및/또는 분비를 분석함으로써 측정한다. 일부 측면에서, 생물학적 활성은 종양 부담 또는 부하의 감소와 같은 임상 결과를 평가함으로써 측정한다.

[0325] 특정 구현예에서, 조작된 세포는 치료적 또는 예방법적 효능을 증가시키는 임의의 많은 방법으로 추가로 변형된다. 예를 들어, 집단에 의해 발현된 조작된 CAR 또는 TCR은 직접적으로 또는 링커를 통해 간접적으로 표적화 모이어티에 접합될 수 있다. 화합물, 예를 들어 CAR 또는 TCR을 표적화 모이어티에 접합시키는 실시법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Wadwa et al, J. Drug Targeting 3: 111(1995)] 및 미국 특허 5,087,616를 참조한다.

A. 투여량

[0326] 일부 구현예에 있어서, 약학적 조성물은 질환 또는 질병 상태를 치료하거나 예방하기에 유효한 양, 예를 들어 치료적으로 유효한 또는 예방적으로 유효한 양으로 세포를 함유한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 조성물은 질환 또는 질병 상태의 부담을 감소시키는데 효과적인 양으로 세포를 포함한다.

[0327] 입양 세포 요법과 관련하여, 주어진 "투여량"의 투여는 단일 조성물 및/또는 단일 무중단 투여 (uninterrupted administration)로서, 예컨대 단일 주사 또는 연속적 주입으로서 주어진 양 또는 세포의 수의 투여를 포함하고, 또한 3 일 이하의 특정 기간에 걸쳐 다량의 개별적인 조성물이나 주입으로 제공되는, 분할 투여량으로서 주어진 양이나 세포의 수의 투여를 포함한다. 따라서, 일부 상황에서, 투여량은 특정한 단일 시점에서 개시되거나 주어진 특정 수의 세포의 단일 또는 연속 투여이다. 그러나 일부 상황에서는, 투여량은 3 일 이하의 기간에 걸쳐 다량의 주사 또는 주입으로 투여되는데, 예컨대 3 일 또는 2 일 동안 1 회 또는 하루에 걸친 다중 주입에 의한다.

[0328] 따라서, 일부 측면에서, 투여량의 세포는 단일의 약학 조성물로 투여된다. 일부 구현예에 있어서, 투여량의 세포는 제1 투여의 세포를 총체적으로 함유하는 복수 개의 조성물로 투여된다.

[0329] "분할 투여량"이란 용어는 분할되어 하루 이상에 걸쳐 투여되는 투여량을 말한다. 이러한 유형의 투여는 본 발명의 방법에 포함되며 단일 투여량으로 간주된다.

[0330] 따라서, 일부 측면에서 투여량은 분할 투여량으로서 투여될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에 있어서, 투여량은 2 일 이상 또는 3 일 이상에 걸쳐 대상체에게 투여될 수 있다. 투여량을 분할하는 예시적인 방법은 제 1 일에 투여량의 25%를 투여하고 제2 일에 투여량의 나머지 75%를 투여하는 것을 포함한다. 다른 구현예에 있어서, 제1 투여량의 33%는 제1 일에 투여되고 나머지 67%는 제2 일에 투여될 수 있다. 일부 측면에서, 투여량의 10%는 제1 일에 투여되고, 투여량의 30%는 제2 일에 투여되고, 투여량의 60%는 제3 일에 투여된다. 일부 구현예에 있어서, 분할 투여량은 3 일 이상에 걸쳐 이루어지지 않는다.

[0331] 일부 구현예에 있어서, 투여량의 세포는 각각 투여량 중 일부의 세포를 함유하는 복수 개의 조성물 또는 용액의 투여에 의하여 투여될 수 있는데, 예컨대 제1 및 제2 조성물 또는 용액, 필요에 따라 더 다수의 조성물 또는 용액의 투여에 의하는 것이다. 일부 측면에서, 각각 상이한 세포 집단 및/또는 서브-유형을 함유하는 복수 개의 조성물은, 필요에 따라 특정 기간 내에 개별적이거나 독립적으로 투여된다. 예를 들어, 세포의 집단 또는 서브-유형은, 각각 CD4+ 및 CD4+ T 세포 및/또는 각각 CD8+--농축된 및 CD4+--농축된 집단, 예를 들어 각각 재조합 수용체를 발현하도록 유전적으로 조작된 세포들을 각기 포함하는 CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포를 포함할 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 투여량의 투여는 CD8+ T 세포의 투여량 또는 CD4+ T 세포의 투여량을 포함하는 제1 조성물의 투여, 및 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포의 다른 투여량을 포함하는 제2 조성물의 투여를 포함한다.

[0332] 일부 구현예에 있어서, 조성물 또는 투여량의 투여, 예를 들어, 복수 개의 세포 조성물의 투여는 세포 조성물을 개별적으로 투여하는 것을 포함한다. 일부 측면에서, 개별적인 투여는 동시에 또는 어느 순서로든 순차적으로, 수행된다. 일부 구현예에 있어서, 투여량은 제1 조성물 및 제2 조성물을 포함하고, 제1 조성물 및 제2 조성물은 0 내지 12 시간 간격으로, 0 내지 6 시간 간격으로 또는 0 내지 2 시간 간격으로 투여된다. 일부 구현예에 있어서, 제1 조성물의 투여 개시 및 제2 조성물의 투여 개시는 2 시간 이하의 간격으로, 1 시간 이하의 또는 30 분 이하의, 15 분 이하의, 10 분 이하의 또는 5 분 이하의 간격으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 제1 조성물의 투여 개시 및/또는 완료 및 제2 조성물의 투여의 완료 및/또는 개시는 2 시간 이하, 1 시간 이하, 또는 30 분 이하, 15 분 이하, 10 분 이하 또는 5 분 이하의 간격으로 수행된다.

[0333] 일부 조성물에서, 제1 조성물, 예를 들어 투여량 중 제1 조성물은 CD4+ T 세포를 포함한다. 일부 조성물에서, 제1 조성물, 예를 들어 투여량 중 제1 조성물은 CD8+ T 세포를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 제1 조성물은 제2 조성물 이전에 투여된다.

[0334] 일부 구현예에 있어서, 세포의 투여량 또는 조성물은 정의된 비 또는 표적 비의 재조합 수용체를 발현하는 CD8+ 세포에 대한 재조합 수용체를 발현하는 CD4+ 세포, 및/또는 CD8+ 세포에 대한 CD4+ 세포를 포함하는데, 여기서 비는 임의로 대략 1:1 또는 대략 1:3 내지 대략 3:1 사이로, 예컨대 대략 1:1이다. 일부 측면에서, 표적 비 또는 원하는 비의 상이한 세포 집단 (예컨대 CD4+:CD8+ 비 또는 CAR+CD4+:CAR+CD8+ 비, 예컨대 1:1)을 갖는 조성물 또는 투여량의 투여는 상기 집단 중 하나를 함유하는 세포 조성물을 투여한 후 상기 집단 중 다른 것을 포함하는 개별적인 세포 조성물을 투여하는 것을 포함하는데, 여기서 투여는 상기 표적 비 또는 원하는 비로 또는 대략 그러한 비로 이루어진다.

[0335] 일부 구현예에 있어서, 하나 이상의 연속적인 또는 후속하는 세포 투여량이 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 세포의 연속 투여 또는 후속 투여는 세포의 제1 투여량의 투여 개시 후 7 일, 14 일, 21 일, 28 일 또는 35 일 이상 또는 약 그 이상 투여된다. 상기 세포의 연속 또는 후속 투여량은 제1 투여량 이상, 대략 그와 동일하거나 그보다 적을 수 있다. 일부 구현예에 있어서, T 세포 요법의 투여, 예컨대 세포의 제1 및/또는 제2 투여량의 투여는 반복될 수 있다.

[0336] 일부 구현예에 있어서, 세포 투여량은 상기 제공되는 방법에 따라 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에 있어서, 투여량의 크기 또는 시점은 대상체의 특정 질환 또는 질병 상태의 함수로서 결정된다. 특정 질환에 대한 투여량의 크기 또는 시점을 경험적으로 결정하는 것은 당업자의 수준 내이다. 투여량은 질환 또는 장애 및/또는 환자 및/또는 다른 치료에 대한 특별한 속성에 따라 다를 수 있다.

[0337] 특정 구현예에 있어서, 세포, 또는 세포의 각 서브-유형 집단은 대상체에게 약 10만 내지 약 1000억 개의 세포 수준으로 및/또는 대상체의 체중 킬로그램당 그러한 양의 세포로 투여될 수 있는데, 예컨대 대상체의 체중 킬로그램당 10만 내지 약 500억 세포 (예컨대, 약 500만 세포, 약 2500만 세포, 약 5억 세포, 약 10억 세포, 약 50억 세포, 약 200억 세포, 약 300억 세포, 약 400억 세포 또는 상기 수치들 중 임의의 2 가지에 의하여

구획되는 범위), 100만 내지 약 500억 세포 (예컨대, 약 500만 세포, 약 2500만 세포, 약 5억 세포, 약 10억 세포, 약 50억 세포, 약 200억 세포, 약 300억 세포, 약 400억 세포 또는 상기 수치들 중 임의의 2 가지에 의하여 구획되는 범위), 예컨대 약 1000만 내지 약 1000억 세포 (예컨대, 약 2000만 세포, 약 3000만 세포, 약 4000만 세포, 약 6000만 세포, 약 7000만 세포, 약 8000만 세포, 약 9000만 세포, 약 100억 세포, 약 250억 세포, 약 500억 세포, 약 750억 세포, 약 900억 세포, 또는 상기 수치들 중 임의의 2 가지에 의하여 구획되는 범위), 및 일부 경우 약 1억 세포 내지 약 500억 세포 (예컨대 약 1억2천만 세포, 약 2억5천만 세포, 약 3억5천만 세포, 약 4억5천만 세포, 약 6억5천만 세포, 약 8억 세포, 약 9억 세포, 약 30억 세포, 약 300억 세포, 약 450억 세포) 또는 이들 범위들 사이의 임의의 수치이다. 투여량은 질환 또는 장애 및/또는 환자 및/또는 다른 치료에 대한 특별한 속성에 따라 다를 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 이러한 값은 재조합 수용체-발현 세포의 수를 말하며; 다른 구현예에 있어서, 이들은 투여되는 T 세포 또는 PBMC 또는 총 세포의 수를 말한다.

[0010] 일부 구현예에 있어서, 예를 들어, 대상체가 인간인 경우, 상기 투여량은 약 5×10^8 개의 총 재조합 수용체 (예컨대, CAR)-발현 세포, T 세포, 또는 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs)보다 더 적은 수의 세포를 포함하는데, 예컨대 약 1×10^6 내지 5×10^8 개의 이러한 세포, 예컨대 2×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 또는 5×10^8 개의 이러한 총 세포 범위의 또는 상기 수치들 중 임의의 2 수치 사이의 범위이다.

[0011] 일부 구현예에 있어서, 세포 요법은 각각 포함하기로, (약) 1×10^5 내지 5×10^8 개의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs) 수, (약) 5×10^5 내지 1×10^7 개의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs) 수, 또는 (약) 1×10^6 내지 1×10^7 개의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs) 수를 포함하는 투여량의 투여를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 세포 요법은 적어도 (약) 1×10^5 개의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs) 수를 포함하는 세포 투여량의 투여를 포함하는데, 예컨대 적어도 (약) 1×10^6 개, 적어도 (약) 1×10^7 개, 적어도 (약) 1×10^8 개의 그러한 세포를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 수는 CD3+ 또는 CD8+의 총 수에 관한 것이며, 일부 경우, 재조합 수용체-발현 (예컨대, CAR+) 세포에 관한 것이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 세포 요법은 각각 포함하기로, (약) 1×10^5 내지 5×10^8 개의 CD3+ 또는 CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD8+ 재조합 수용체-발현 세포, (약) 5×10^5 내지 1×10^7 개의 CD3+ 또는 CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD8+ 재조합 수용체-발현 세포, 또는 (약) 1×10^6 내지 1×10^7 개의 CD3+ 또는 CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD8+ 재조합 수용체-발현 세포 수를 포함하는 투여량의 투여를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 세포 요법은 각각 포함하기로, (약) 1×10^5 내지 5×10^8 개의 총 CD3+/CAR+ 또는 CD8+/CAR+ 세포, (약) 5×10^5 내지 1×10^7 개의 총 CD3+/CAR+ 또는 CD8+/CAR+ 세포, 또는 (약) 1×10^6 내지 1×10^7 개의 총 CD3+/CAR+ 또는 CD8+/CAR+ 세포 수를 포함하는 투여량의 투여를 포함한다.

[0338] 일부 구현예에 있어서, 상기 투여량 중 T 세포는 CD4+ T 세포, CD8+ T 세포 또는 CD4+ 및 CD8+ T 세포를 포함한다.

[0339] 일부 구현예에 있어서, 예를 들어, 대상체가 인간인 경우, 예컨대 CD4+ 및 CD8+ T 세포를 포함하는 투여량에서, 상기 투여량 중의 CD8+ T 세포는 약 1×10^6 내지 5×10^8 개의 총 재조합 수용체 (예컨대, CAR)-발현 CD8+ 세포를 포함하는데, 예컨대 약 5×10^6 내지 1×10^8 개의 그러한 세포, 예컨대 1×10^7 , 2.5×10^7 , 5×10^7 , 7.5×10^7 , 1×10^8 , 또는 5×10^8 개의 총 그러한 세포, 또는 전술한 수치들 중 임의의 2 수치 사이의 개수이다. 일부 구현예에 있어서, 환자는 다회 투여량을 투여받고, 투여량 각각 또는 총 투여량은 전술한 수치들 중 어느 하나 이내일 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 상기 세포 투여량은 각각 포함하기로, (약) 1×10^7 내지 0.75×10^8 개의 총 재조합 수용체-발현 CD8+ T 세포, 1×10^7 내지 2.5×10^7 개의 총 재조합 수용체-발현 CD8+ T 세포, (약) 1×10^7 내지 0.75×10^8 개의 총 재조합 수용체-발현 CD8+ T 세포의 투여를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 세포 투여량은 약 1×10^7 , 2.5×10^7 , 5×10^7 , 7.5×10^7 , 1×10^8 , 또는 5×10^8 개의

총 재조합 수용체-발현 CD8+ T 세포의 투여를 포함한다.

[0340] 일부 구현예에 있어서, 세포 요법은 각각 포함하기로, (약) 1×10^5 내지 1×10^8 개의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs) 수, 약 5×10^5 내지 1×10^7 개의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs) 수, 또는 약 1×10^6 내지 1×10^7 개의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs) 수를 포함하는 투여량의 투여를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 세포 요법은 적어도 (약) 1×10^5 개의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs) 수를 포함하는 세포 투여량의 투여를 포함하는데, 예컨대 적어도 (약) 1×10^6 개, 적어도 (약) 1×10^7 개, 적어도 (약) 1×10^8 개의 그러한 세포를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 수는 CD3+ 또는 CD8+의 총 수에 관한 것이며, 일부 경우, 재조합 수용체-발현 (예컨대, CAR+) 세포에 관한 것이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 세포 요법은 각각 포함하기로, (약) 1×10^5 내지 1×10^8 개의 CD3+ 또는 CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD8+ 재조합 수용체-발현 세포, (약) 5×10^5 내지 1×10^7 개의 CD3+ 또는 CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD8+ 재조합 수용체-발현 세포, 또는 (약) 1×10^6 내지 1×10^7 개의 CD3+ 또는 CD8+ 총 T 세포 또는 CD3+ 또는 CD8+ 재조합 수용체-발현 세포 수를 포함하는 투여량의 투여를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 세포 요법은 각각 포함하기로, (약) 1×10^5 내지 1×10^8 개의 총 CD3+/CAR+ 또는 CD8+/CAR+ 세포, (약) 5×10^5 내지 1×10^7 개의 총 CD3+/CAR+ 또는 CD8+/CAR+ 세포, 또는 (약) 1×10^6 내지 1×10^7 개의 총 CD3+/CAR+ 또는 CD8+/CAR+ 세포 수를 포함하는 투여량의 투여를 포함한다.

[0341] 특정 구현예에 있어서, 세포, 또는 세포의 각 서브-유형 집단은 대상체에게 약 10만 내지 약 1000억 개의 세포 수준으로 및/또는 대상체의 체중 킬로그램당 그러한 양의 세포로 투여될 수 있는데, 예컨대 대상체의 체중 킬로그램당 10만 내지 약 500억 세포 (예컨대, 약 500만 세포, 약 2500만 세포, 약 5억 세포, 약 10억 세포, 약 50억 세포, 약 200억 세포, 약 300억 세포, 약 400억 세포 또는 상기 수치들 중 임의의 2 가지에 의하여 구획되는 범위), 100만 내지 약 500억 세포 (예컨대, 약 500만 세포, 약 2500만 세포, 약 5억 세포, 약 10억 세포, 약 50억 세포, 약 200억 세포, 약 300억 세포, 약 400억 세포 또는 상기 수치들 중 임의의 2 가지에 의하여 구획되는 범위), 예컨대 약 1000만 내지 약 1000억 세포 (예컨대, 약 2000만 세포, 약 3000만 세포, 약 4000만 세포, 약 6000만 세포, 약 7000만 세포, 약 8000만 세포, 약 9000만 세포, 약 100억 세포, 약 250억 세포, 약 500억 세포, 약 750억 세포, 약 900억 세포, 또는 상기 수치들 중 임의의 2 가지에 의하여 구획되는 범위), 및 일부 경우 약 1억 세포 내지 약 500억 세포 (예컨대 약 1억2천만 세포, 약 2억5천만 세포, 약 3억5천만 세포, 약 4억5천만 세포, 약 6억5천만 세포, 약 8억 세포, 약 9억 세포, 약 30억 세포, 약 300억 세포, 약 450억 세포) 또는 이들 범위들 사이의 임의의 수치이다. 투여량은 질환 또는 장애 및/또는 환자 및/또는 다른 치료에 대한 특별한 속성에 따라 다를 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 이러한 값은 재조합 수용체-발현 세포의 수를 말하며; 다른 구현예에 있어서, 이들은 투여되는 T 세포 또는 PBMC 또는 총 세포의 수를 말한다.

[0342] 일부 구현예에 있어서, 상기 세포 요법은 0.1×10^6 세포/대상체의 체중 kg, 0.2×10^6 세포/kg, 0.3×10^6 세포/kg, 0.4×10^6 세포/kg, 0.5×10^6 세포/kg, 1×10^6 세포/kg, 2.0×10^6 세포/kg, 3×10^6 세포/kg 또는 5×10^6 세포/kg 이상 또는 약 그 이상, 또는 0.1×10^6 세포/대상체의 체중 kg, 0.2×10^6 세포/kg, 0.3×10^6 세포/kg, 0.4×10^6 세포/kg, 0.5×10^6 세포/kg, 1×10^6 세포/kg, 2.0×10^6 세포/kg, 3×10^6 세포/kg 또는 5×10^6 세포/kg이거나 약 그 정도인 세포 수를 포함하는 투여량의 투여를 포함한다.

[0343] 일부 구현예에 있어서, 상기 세포 요법은 각각 포함하기로, (약) 0.1×10^6 세포/대상체의 체중 kg 내지 1.0×10^7 세포/kg, (약) 0.5×10^6 세포/kg 내지 5×10^6 세포/kg, (약) 0.5×10^6 세포/kg 내지 3×10^6 세포/kg, (약) 0.5×10^6 세포/kg 내지 2×10^6 세포/kg, (약) 0.5×10^6 세포/kg 내지 1×10^6 세포/kg, (약) 1.0×10^6 세포/대상체의 체중 kg 내지 5×10^6 세포/kg, (약) 1.0×10^6 세포/kg 내지 3×10^6 세포/kg, (약) 1.0×10^6 세포/kg 내지 2×10^6 세포/kg, (약) 2.0×10^6 세포/대상체의 체중 kg 내지 5×10^6 세포/kg, (약) 2.0

$\times 10^6$ 세포/kg 내지 3×10^6 세포/kg, 또는 (약) 3.0×10^6 세포/대상체의 체중 kg 내지 5×10^6 세포/kg인 세포 수를 포함하는 투여량의 투여를 포함한다.

[0344] 일부 구현예에 있어서, 상기 세포 투여량은 (약) 2×10^5 세포/kg 내지 (약) 2×10^6 세포/kg, 예컨대 (약) 4×10^5 세포/kg 내지 (약) 1×10^6 세포/kg 또는 (약) 6×10^5 세포/kg 내지 (약) 8×10^5 세포/kg를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 세포 투여량은 대상체의 체중 킬로그램당 2×10^5 개 이하의 세포 (예컨대, 항원-발현, 예컨대 CAR-발현 세포)를 포함하는데 (세포/kg), 예컨대 (약) 3×10^5 세포/kg 이하의, (약) 4×10^5 세포/kg 이하의, (약) 5×10^5 세포/kg 이하의, (약) 6×10^5 세포/kg 이하의, (약) 7×10^5 세포/kg 이하의, (약) 8×10^5 세포/kg 이하의, (약) 9×10^5 세포/kg 이하의, (약) 1×10^6 세포/kg 이하의, 또는 (약) 2×10^6 세포/kg 이하이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 세포 투여량은 대상체의 체중 킬로그램당 (약) 2×10^5 개 이상 또는 (약) 2×10^5 개의 세포 (예컨대, 항원-발현, 예컨대 CAR-발현 세포)를 포함하는데 (세포/kg), 예컨대 (약) 3×10^5 세포/kg 이상 또는 (약) 3×10^5 세포/kg, (약) 4×10^5 세포/kg 이상 또는 (약) 4×10^5 세포/kg, (약) 5×10^5 세포/kg 이상 또는 (약) 5×10^5 세포/kg, (약) 6×10^5 세포/kg 이상 또는 (약) 6×10^5 세포/kg, (약) 7×10^5 세포/kg 이상 또는 (약) 7×10^5 세포/kg, (약) 8×10^5 세포/kg 이상 또는 (약) 8×10^5 세포/kg, (약) 9×10^5 세포/kg 이상 또는 (약) 9×10^5 세포/kg, (약) 1×10^6 세포/kg 이상 또는 (약) 1×10^6 세포/kg, 또는 (약) 2×10^6 세포/kg 이상 또는 (약) 2×10^6 세포/kg이다.

[0345] 일부 구현예에 있어서, 세포는 원하는 투여량으로 투여되는데, 이는 일부 측면에 있어서 원하는 투여량 또는 세포 수 또는 세포 유형(들) 및/또는 원하는 세포 유형의 비를 포함한다. 따라서, 일부 구현예에 있어서, 상기 세포의 투여량은 총 세포 수 (또는 체중 kg당 세포 수) 및 개개의 서브-유형 집단의 원하는 비, 예컨대 CD4+ 대 CD8+ 비에 기초한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 세포의 투여량은 개개 집단에서 세포의, 또는 개개의 세포 유형의 원하는 총 세포 수 (또는 체중 kg당 세포 수)에 기초한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 투여량은 이러한 특징의 조합에 기초하는데, 예컨대 원하는 총 세포 수, 원하는 비, 및 개개 집단에서 원하는 총 세포 수와 같은 특징이다.

[0346] 일부 구현예에 있어서, 세포 집단 또는 서브-유형, 예컨대 CD8+ 및 CD4+ T 세포는 원하는 총 세포의 투여량, 예컨대 원하는 T 세포의 투여량의 용인되는 차이로, 또는 그 내에서 투여된다. 일부 측면에서, 원하는 투여량은 원하는 세포의 수 또는 세포가 투여되는 대상체의 체중 단위당 원하는 세포의 수로서, 예컨대 세포/kg이다. 일부 측면에서, 원하는 투여량은 최소한의 세포 수 또는 체중 단위당 최소한의 세포 수이거나, 또는 그보다 많다. 일부 측면에서, 원하는 투여량으로 투여된 총 세포 중에서, 각 집단 또는 서브-유형은 원하는 결과 비로 (예컨대 CD4+ 대 CD8+ 비), 또는 그 근처에 존재하는데, 예컨대 그러한 비의 특정 용인 차이 내이거나 오류 내이다.

[0347] 일부 구현예에 있어서, 세포는 하나 이상의 각 세포 집단 또는 서브-유형의 원하는 투여량, 예컨대 CD4+ 세포의 원하는 투여량 및/또는 CD8+ 세포의 원하는 투여량의 용인되는 차이로 또는 그 이내로 투여된다. 일부 측면에서, 원하는 투여량은 상기 서브-유형 또는 집단의 원하는 세포 수, 또는 상기 세포가 투여되는 대상체의 체중 단위당 원하는 그러한 세포의 수, 예컨대 세포/kg이다. 일부 측면에서, 원하는 투여량은 최소한의 세포 수 또는 체중 단위당 최소한의 세포 수이거나, 또는 그보다 많다.

[0348] 따라서, 일부 구현예에 있어서, 투여량은 총 세포의 원하는 고정 투여량 및 원하는 비에 기초하고, 및/또는 하나 이상의, 예를 들어 각각 개별적인 서브-유형 또는 서브-집단의 원하는 고정 투여량에 기초한다. 따라서, 일부 구현예에 있어서, 투여량은 T 세포의 원하는 고정 또는 최소 투여량 및 원하는 CD4+ 대 CD8+ 세포의 비에 기초하고 및/또는 CD4+ 및/또는 CD8+ 세포의 원하는 고정 또는 최소 투여량에 기초한다.

[0349] 일부 구현예에 있어서, 세포는 다수의 세포 집단 또는 서브-유형, 예컨대 CD4+ 및 CD8+ 세포 또는 서브 유형의 원하는 결과 비의 용인 범위에서 또는 그 이내에서 투여된다. 일부 측면에서, 원하는 비는 특정 비율 수 있고 또는 비의 범위일 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에 있어서, 원하는 비 (예컨대 CD4+ 대 CD8+ 세포의 비)는 (약) 1:5 내지 (약) 5:1 (또는 약 1:5보다 크고, 약 5:1보다 작음), 또는 (약) 1:3 내지 (약) 3:1 (또는 약 1:3보다 크고, 약 3:1보다 작음), 예컨대 (약) 2:1 내지 (약) 1:5 (또는 약 1:5보다 크고, 약 2:1보다 작음), 또는 (약) 1:1 내지 (약) 1:2 (또는 약 1:2보다 크고, 약 1:1보다 작음)일 수 있다.

작음)이고, 예컨대 (약) 5:1, 4.5:1, 4:1, 3.5:1, 3:1, 2.5:1, 2:1, 1.9:1, 1.8:1, 1.7:1, 1.6:1, 1.5:1, 1.4:1, 1.3:1, 1.2:1, 1.1:1, 1:1, 1:1.1, 1:1.2, 1:1.3, 1:1.4, 1:1.5, 1:1.6, 1:1.7, 1:1.8, 1:1.9, 1:2, 1:2.5, 1:3, 1:3.5, 1:4, 1:4.5, 또는 1:5이다. 일부 측면에서, 상기 용인되는 차이는 상기 원하는 비의 약 1%, 약 2%, 약 3%, 약 4%, 약 5%, 약 10%, 약 15%, 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 및 이들 범위 사이의 임의의 수치를 포함하여 그 이내이다.

[0350] 특정 구현예에 있어서, 세포의 수 및/또는 농도는 재조합 수용체 (예를 들어, CAR)-발현 세포의 수를 지칭한다. 다른 구현예에 있어서, 상기 세포의 수 및/또는 농도는 투여된 모든 세포, T 세포 또는 말초 혈액 단핵구 (PBMC)의 수 또는 농도를 말한다.

[0351] 일부 측면에서, 투여량의 크기는 하나 이상의 기준에 기초하여 결정되는데, 예컨대 화학요법과 같은 이전 치료에 대한 환자의 반응, 대상체의 질환 부담, 예컨대 종양 부하, 벌크, 크기 또는 정도, 세기, 또는 전이 유형, 단계 및/또는 독성 결과, 예컨대 CRS, 대식세포 활성화 증후군, 종양 용해 증후군, 신경독성, 및/또는 투여되는 세포 및/또는 재조합 수용체에 대한 숙주 면역 반응을 발병할 가능성 또는 이환률에 기초한다.

B. 파괴 및/또는 치료

[0352] 유전적으로 조작된 세포, 예컨대 재조합 수용체-발현 세포, 예를 들어, CAR+ T 세포의 투여량을 투여하는 것과 관련하여, 부위, 예컨대 상기 세포가 존재하거나 존재할 가능성이 있는 병변을 파괴하는, 및/또는 병변 또는 그 일부분에 대한 하나 이상의 물리적 또는 기계적 조작, 방사선 조사 또는 면역조절 제제의 투여를 포함하는 치료를 결과하는, 임의의 방법이 이용될 수 있는데, 예컨대 섹션 B에 기술되는 방법들이다. 일부 구현예에 있어서, 파괴 및/또는 치료는 유전적으로 조작된 세포를 투여한 후에 수행된다. 일부 구현예에 있어서, 파괴 및/또는 치료는 상기 유전적으로 조작된 세포 (예컨대 CAR-T 세포)를 투여하고 1 주, 2 주, 3 주, 4 주, 5 주, 6 주, 7 주, 8 주, 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 1 년, 2 년 또는 그 이상 또는 약 그 이상 수행된다.

[0353] 일부 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴는, 반응 결과를 개선시키기 위하여, 대상체가 유전적으로 조작된 세포에 부분 반응 (PR)을 나타낸 후의, 및/또는 대상체가 특정 시간 내에, 예컨대 14-28 일 내에 상기 유전적으로 조작된 세포에 반응하지 않은 후의 시점에 수행된다. 특정 구현예에 있어서, 치료 및/또는 파괴는 대상체가 부분 반응을 나타낸 후에 수행된다. 특정 구현예에 있어서, 파괴는, 대상체가 PR을 나타낸 후 1 주, 2 주, 3 주, 4 주, 5 주, 6 주, 7 주, 8 주, 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 1 년, 2 년 또는 그 이상 또는 약 그 이상 수행된다. 특정 구현예에 있어서, 파괴는, 대상체가 PR을 나타낸 후 1 주, 2 주, 3 주, 4 주, 5 주, 6 주, 7 주, 8 주, 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 1 년, 2 년 또는 그 이상 또는 약 그 이상 수행된다. 일부 구현예에 있어서, 치료에 대한 완전한 반응 (CR)은 상기 제공되는 방법에 의해 관찰된다. 일부 구현예에 있어서, 대상체는 이전의 치료에 대하여 또는 재조합 수용체-발현 세포, 예컨대 CAR+ T 세포와 같은 유전적으로 조작된 세포에 대하여, 예컨대 CR과 같은 관해를 이전에 달성하지 못했다.

[0354] 일부 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴시 또는 그 직전에, 대상체는 유전적으로 조작된 세포의 투여에 반응하여 관해된 다음에 재발하였다. 일부 구현예에 있어서, 재발은, 상기 유전적으로 조작된 세포, 예컨대 재조합 수용체-발현 세포, 예컨대 CAR+ T 세포의 투여에 대한 완전한 반응 (CR) 또는 PR 다음의 시점에 (예를 들어, 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 1 년 또는 그 이상 내에) 발생한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴는, 재발 후 또는 재발이 검출 또는 관찰된 후 12 시간, 1 일, 2 일, 3 일, 4 일, 5 일, 6 일 또는 1 주 또는 약 그 정도 내에 수행된다. 특정 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴는, 대상체가 재발인 것으로 결정되었거나 재발 경험으로 의심된 후 12 시간, 1 일, 2 일, 3 일, 4 일, 5 일, 6 일 또는 1 주 또는 약 그 정도 내에 수행된다.

[0355] 일부 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴는 조작된 세포의 투여 후, 앞선 시점에서의 대상체에서와 비교하여 상기 대상체로부터의 혈액에서 검출 가능한 조작된 세포의 수가 감소되는 시점에 수행된다. 일부 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴는 혈액에서 검출 가능한 T 세포 요법의 세포 수가 상기 T 세포 요법의 투여 개시 후 대상체의 혈액에서 검출 가능한 T 세포 요법의 세포의 피크 또는 최대 수보다 1.5 배, 2 배, 3 배, 4 배, 5 배, 10 배, 50 배 또는 100 배 미만 또는 약 그 미만인 시점에서; 및/또는 상기 T 세포 요법의 세포의 피크 또는 최대 수준이 대상체의 혈액에서 검출 가능한 후 상기 대상체로부터의 혈액에서 검출 가능한 상기 T 세포 요법의 세포 수가 상기 대상체의 혈액 중 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs)의 10% 미만, 5% 미만, 1% 미만 또는 0.1% 미만인 시점에 수행된다. 일부 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴는, 혈액에서 검출 가능한 T 세포 요법의 세포 수가, 상기 T 세포 요법의 투여 개시 후 상기 대상체의 혈액에서 검출 가능한 상기

T 세포 요법의 세포의 피크 또는 최대 수보다 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 또는 99.9% 미만 또는 약 그 미만인 시점에 수행된다.

[0356] 일부 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴는, (i) 마이크로리터당 조작된 세포가 10 개 미만 또는 약 그 정도 미만으로 있거나 (ii) 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs)의 총 수의 20%, 30%, 40% 또는 50% 미만 또는 약 그 정도 미만으로 있거나 (iii) 조작된 세포가 1×10^5 개 미만 또는 약 그 미만으로 있거나 또는 (iv) DNA 마이크로 그램당 재조합 수용체-인코딩 DNA 카피 수가 5000 미만 또는 약 그 미만으로 있는 시점에 수행된다.

[0357] 일부 구현예에 있어서, 상기 파괴 파괴 및/또는 치료는 단일 치료, 절차 또는 조작을 수반하는 치료 요법의 일부로서 수행된다. 특정 구현예에 있어서, 상기 파괴 및/또는 치료는 하나 이상의 치료, 절차 또는 조작을 수반하는 치료 요법의 일부로서 수행된다. 특정 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴는 약 1 시간, 약 6 시간, 약 12 시간, 약 24 시간, 약 1 일, 약 2 일, 약 3 일, 약 4 일, 약 5 일, 약 6 일, 약 7 일, 약 8 일, 약 9 일, 약 10 일, 약 11 일, 약 12 일, 약 13 일, 약 14 일, 약 2 주, 약 3 주, 약 4 주, 약 5 주, 약 6 주, 약 7 주, 약 8 주, 약 9 주, 약 10 주, 약 11 주, 약 12 주, 약 1 개월, 약 2 개월, 약 3 개월, 약 4 개월, 약 5 개월, 또는 약 6 개월의 치료 기간에 걸친 다수의 치료를 수반하는 치료 요법으로 수행된다. 일부 구현예에 있어서, 상기 치료 및/또는 파괴는 약 1 분 내지 약 1 시간, 1 시간 내지 12 시간, 약 12 시간 내지 약 24 시간, 약 1 일 내지 약 2 일, 약 1일 내지 약 5일, 약 1 일 내지 약 7일, 약 1 주 내지 약 4 주, 약 1 개월 내지 약 2 개월 길이의 치료 기간에 걸친 다수의 치료로 수행된다. 일부 구현예에 있어서, 상기 다수의 치료는 상기 치료 기간에 걸쳐 매시간, 매일, 격일에, 매 2 일에, 매 3 일에, 매 4 일에, 매 5 일에, 매 6 일에, 1 주 1 회, 1 주 2 회, 1 주 3 회, 1 주 4 회, 1 주 5 회, 1 주 6 회, 1 주 7 회, 1 주 8 회, 1 주 9 회, 1 주 10 회, 1 주 11 회, 1 주 12 회, 1 주 13 회, 1 주 14 회, 1 개월에 1 회, 1 개월에 2 회, 1 개월에 3 회, 1 개월에 4 회, 1 개월에 5 회, 1 개월에 6 회, 1 개월에 7 회, 1 개월에 8 회, 1 개월에 9 회, 1 개월에 10 회, 1 개월에 11 회, 1 개월에 12 회, 1 개월에 13 회, 1 개월에 14 회, 매 2 개월에 1 회, 매 3 개월에 1 회로 수행된다.

[0358] 특정 구현예에 있어서, 치료 주기 중에, 부위 (예컨대, 대상체의 조직, 기관, 매쓰 또는 병변 부위 또는 그의 영역 또는 일부분)은 다수의 치료 (또는 절차 또는 조작)을 수반하는 치료 요법에 의하여 치료 및/또는 파괴된다. 치료 주기는 정기적인 일정으로 반복되는 치료 과정이다. 일부 구현예에 있어서, 치료 주기는 며칠의 치료 후에 며칠의 휴식 (즉, 약물 휴일)을 포함할 수 있다. 예를 들어, 치료는 28 일 치료 주기로, 3 주간 매일 수행된 후 무치료 1 주로 수행될 수 있고, 또는 치료는 첫 3 주간 1 주일에 5 회 수행된 후 무치료 1 주로 수행될 수 있다. 특정 구현예에 있어서, 치료는 하나 이상의 치료 주기에 걸쳐 병변을 치료 및/또는 파괴시키기 위해 수행된다. 치료 주기는 적어도 2 일, 적어도 3 일, 적어도 4 일, 적어도 5 일, 적어도 6 일, 적어도 7 일, 적어도 14 일, 적어도 21 일, 적어도 28 일, 적어도 48 일, 또는 적어도 96 일 또는 그 이상일 수 있다. 한 구현예에 있어서, 치료 주기는 28 일이다. 다양한 구현예에 있어서, 치료 주기는 대상체의 상태 및 필요에 기초하여 의료 전문가에 의해 결정된다. 일부 구현예에 있어서, 치료는 28 일 치료 주기 중에서 적어도 1 일, 적어도 2 일, 적어도 3 일, 적어도 4 일, 적어도 5 일, 적어도 6 일, 적어도 7 일, 적어도 8 일, 적어도 9 일, 적어도 10 일, 적어도 11 일, 적어도 12 일, 적어도 13 일, 적어도 14 일, 적어도 21 일, 또는 모든 28 일에 수행된다.

[0359] 일부 구현예에 있어서, 부위 (예컨대, 대상체의 조직, 기관, 매쓰 또는 병변 부위 또는 그의 영역 또는 일부분)은 기계적 치료 및/또는 파괴, 예를 들어 생검으로 치료 및/또는 파괴된다. 특정 구현예에 있어서, 병변은 단일 치료, 절차 또는 조작으로 기계적으로 치료 및/또는 파괴된다. 특정 구현예에 있어서, 기계적 치료 및/또는 파괴는 하나 이상의 치료, 절차 또는 조작, 예를 들어 생검을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 하나 이상의 병변이 대상체에서 치료 및/또는 파괴된다.

[0360] 특정 구현예에 있어서, 부위 (예컨대, 대상체의 조직, 기관, 매쓰 또는 병변 부위 또는 그의 영역 또는 일부분)은 열요법, 예를 들어, 냉동요법 또는 고열 요법으로 치료 및/또는 파괴된다. 열요법은 병변에 대한 효과적인 치료 및/또는 파괴가 되도록 당업자에게 공지된 임의의 스케줄, 처리량 또는 방법에 따라 처리될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 병변은 단일의 열요법 치료에 의해 치료 및/또는 파괴된다. 특정 구현예에 있어서, 병변은 하나 이상의 열요법 치료로 치료 및/또는 파괴된다. 특정 구현예에 있어서, 열요법은 동결절제 요법일 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 열요법은 고열 요법일 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 열요법은 고열 요법보다 종양의 온도를 높게 하는 요법이다.

[0361] 일부 구현예에 있어서, 병변은 방사선 조사에 의하여 및/또는 방사선 요법으로 치료 및/또는 파괴된다. 선량은 그레이 (Gy, cGy로도 표현하는데, 여기서 $100 \text{ cGy} = 1 \text{ Gy}$)로 알려진 국제 단위를 기반으로 하며 한 번의 치료 세션 동안 전달되는 선량을 분수 (fraction)라고 한다. 예를 들어, 표면 방사선 요법 (SRT)에 대한 전

형적인 투여 일정은 총 15 분수에 대하여 300 cGy 선량으로 전달되는 4,500 cGy (45 Gy)의 총선량일 수 있다. 방사선 치료는 월요일부터 금요일까지와 같이 특정 일에 주어진 분수로, 몇 주에 걸쳐 제공될 수 있다. 또 다른 투여 일정은 임상 시험에 사용되며, 이는 주당 2 내지 3 분수를 포함한다 (즉, 월요일, 수요일, 금요일 일정). 환자에 대한 처리는 숙련된 기술자, 예컨대 방사선 물리학자의 도움을 포함하여, 숙련된 임상가에 의하여 결정되고, 병변의 크기, 및 대상체의 나이 및 건강 상태에 기초한다.

[0362] 특정 구현예에 있어서, 부위 (예컨대, 대상체의 조직, 기관, 매쓰 또는 병변 부위 또는 그의 영역 또는 일부분)은 하나 이상의 방사선을 이용하는 치료에 의해 치료 및/또는 파괴된다. 특정 구현예에 있어서, 병변은 하나 이상의 방사선 치료 또는 처리로 치료 및/또는 파괴되고, 총 선량은 약 5 Gy, 약 10 Gy, 약 15 Gy, 약 20 Gy, 약 25 Gy, 약 30 Gy, 약 35 Gy, 약 40 Gy, 약 41 Gy, 약 42 Gy, 약 43 Gy, 약 44 Gy, 약 45 Gy, 약 46 Gy, 약 47 Gy, 약 48 Gy, 49 Gy, 약 50 Gy, 약 51 Gy, 약 52 Gy, 약 53 Gy, 약 54 Gy, 약 55 Gy, 약 56 Gy, 약 57 Gy, 약 58 Gy, 약 59 Gy, 약 60 Gy, 약 61 Gy, 약 62 Gy, 약 63 Gy, 약 64 Gy, 약 65 Gy, 약 70 Gy, 약 80 Gy, 약 90 Gy, 또는 약 100 Gy이다. 일부 구현예에 있어서, 총 선량은 약 0.01 Gy 내지 약 1 Gy, 약 1 Gy 내지 약 30 Gy, 약 1 Gy 내지 약 15 Gy, 약 15 Gy 내지 약 30 Gy, 약 30 Gy 내지 약 90 Gy, 약 30 Gy 내지 약 45 Gy, 약 40 Gy 내지 약 70 Gy, 또는 약 45 Gy 내지 약 60 Gy 사이이다.

[0363] 일부 구현예에 있어서, 상기 병변은 2 이상의 방사선을 이용한 분수 치료에 의하여 치료 및/또는 파괴된다. 특정 구현예에 있어서, 상기 분수 선량은 약 100 cGy, 약 200 cGy, 약 300 cGy, 약 400 cGy, 약 500 cGy, 약 600 cGy, 약 700 cGy, 약 800 cGy, 약 900 cGy, 약 1 Gy, 약 2 Gy, 약 3 Gy, 약 4 Gy, 또는 약 5 Gy이다. 특정 구현예에 있어서, 상기 분수 선량은 약 10 cGy 내지 약 100 cGy, 약 100 cGy 내지 약 500 cGy, 약 500 cGy 내지 약 1 Gy, 또는 약 1 Gy 내지 약 5 Gy 사이이다.

[0364] 일부 구현예에 있어서, 상기 병변은 단일 방사선 치료에 의하여 치료 및/또는 파괴된다. 특정 구현예에 있어서, 단일 선량은 약 100 cGy, 약 200 cGy, 약 300 cGy, 약 400 cGy, 약 500 cGy, 약 600 cGy, 약 700 cGy, 약 800 cGy, 약 900 cGy, 약 1 Gy, 약 2 Gy, 약 3 Gy, 약 4 Gy, 또는 약 5 Gy이다. 특정 구현예에 있어서, 단일 선량은 약 10 cGy 내지 약 100 cGy, 약 100 cGy 내지 약 500 cGy, 약 500 cGy 내지 약 1 Gy, 또는 1 Gy 내지 약 5 Gy 사이이다.

[0365] 특정 구현예에 있어서, 병변은 외부-빔 방사선 요법 (EBT)으로 치료 및/또는 파괴된다. 병변을 치료 및/또는 파괴시키기 위해, EBT는 과증식성 장애의 치료 또는 개선에 효과적하도록 당업자에게 공지된 임의의 스케줄, 용량 또는 방법에 따라 제한없이 처치될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 병변은 과증식성 장애의 치료 또는 개선에 효과적하도록 당업자에 의해 이해되는 것보다 적은 선량으로 EBT를 처치함으로써 치료 및/또는 파괴된다. 일반적으로 외부-빔 방사선 요법은 대상체 내 제한된 체적을 고에너지 빔으로 조사하여 그로써 그 체적에서 세포 사멸을 일으키는 것을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 조사되는 체적은 치료 및/또는 파괴되는 병변을 함유하고, 바람직하게는 가능한 한 적은 건강한 및/또는 비-병변 조직을 함유한다. 특정 구현예에 있어서, 조사되는 체적은 대부분 또는 모든 병변을 함유한다. 일부 구현예에 있어서, 외부-빔 방사선 요법에 유용한 투여 방법 및 장치 및 조성물은 미국 특허 6,449,336, 6,398,710, 6,393,096, 6,335,961, 6,307,914, 6,256,591, 6,245,005, 6,038,283, 6,001,054, 5,802,136, 5,596,619, 및 5,528,652에서 찾아볼 수 있다.

[0366] 일부 구현예에 있어서, 병변은 근접요법으로 치료 및/또는 파괴된다. 특정 구현예에 있어서, 근접요법은 병변을 치료 및/또는 파괴하기 위하여 과증식성 장애의 치료 또는 개선에 효과적하도록 당업자에게 공지된 임의의 스케줄, 용량 또는 방법에 따라 처치될 수 있다. 특정 구현예에 있어서, 근접요법은 과증식성 장애의 치료 또는 개선에 효과적인 것보다 적도록 당업자에게 공지된 임의의 스케줄, 용량 또는 방법에 따라 처치될 수 있다. 일반적으로, 근접요법은 암 치료될 대상체의 체내로 방사선 원을 삽입하는 것을 포함하는데, 예컨대 종양 자체 내로의 삽입이며, 이로써 상기 종양은 상기 방사선 원에 최대도 노출되고 건강한 조직의 노출은 최소화된다. 근접요법에서 처리될 수 있는 대표적인 방사성 동위 원소는 인 32, 코발트 60, 팔라듐 103, 루테튬 106, 요오드 125, 세슘 137, 인듐 192, 크세논 133, 라듐 226, 칼리포늄 252 또는 금 198을 포함하지만 이에 한정되는 것은 아니다. 근접요법에 유용한 투여 방법 및 장치 및 조성물은 [Mazon et al, Sem. Rad. Oncol. 12:95-108 (2002), Kovacs J. Contemp. Brachytherapy. 6(4):404-416 (2015)], 및 미국 특허 6,319,189, 6,179,766, 6,168,777, 6,149,889, 및 5,611,767에 개시되어 있다.

[0367] 일부 구현예에 있어서, 하나 이상의 치료, 예를 들어, 치료 제제와 같은 약학적 제제의 투여가 병변을 치료 및/또는 파괴하기 위해 수행된다. 특정 구현예에 있어서 상기 치료는 약학적 제제, 예를 들어 기재되는 바와 같은 임의의 것, 예컨대 면역조절 제제 또는 화합물의 투여량을 투여하는 것을 포함한다. 특정 구현예에 있

어서, 약학적 제제는 병변을 치료 및/또는 파괴시키기 위해 한번에 투여된다. 특정 구현예에 있어서, 약학적 제제는 병변을 치료 및/또는 파괴시키기 위해 한 번 이상 투여된다. 일부 구현예에 있어서, 약학적 제제는 약 0.0001 내지 약 100 mg/kg 체중, 예컨대 약 0.0005 내지 약 50 mg/kg 체중, 약 0.001 내지 약 10 mg/kg 체중, 예컨대 약 0.01 내지 약 1 mg/kg 체중 범위의 투여량으로 투여된다. 특정 구현예에 있어서, 약학적 제제는 약 0.001 mg 내지 약 100 mg, 약 0.05 mg 내지 약 50 mg, 약 0.01 mg 내지 약 1 mg, 약 1 mg 내지 약 20 mg, 또는 약 5 mg 내지 약 15 mg 사이의 투여량으로 대상체에게 투여된다. 일부 구현예에 있어서, 약학적 제제는 전신 투여된다. 특정 구현예에 있어서, 상기 제제는 병변에 국소 투여된다. 특정 구현예에 있어서, 상기 약학적 제제는 경구, 국소, 설하, 정맥 내, 피하, 장내, 비경구, 흡입 및/또는 주사 투여된다.

[0368] 일부 구현예에 있어서, 약학적 제제는 화학요법 제제이다. 일부 구현예에 있어서, 화학요법 제제는 과증식성 장애의 치료에 효과적인 것으로 당업자에 의해 인식되는 투여량 또는 투여량들로 투여될 수 있다. 특정 구현예에 있어서, 화학요법 제제는 과증식성 장애의 치료에 효과적인 것으로 인식되는 당업계에서 사용되는 것보다 낮은 투여량으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 단일 투여량의 화학요법 제제를 투여하여 병변을 치료 및/또는 파괴한다. 특정 구현예에 있어서, 병변을 치료 및/또는 파괴하기 위하여, 치료 기간에 걸쳐, 예컨대 하나 이상의 치료 주기에 걸쳐 하나 이상의 투여량의 화학요법 제제가 대상체에게 투여된다. 특정 구현예에 있어서, 화학요법 제제의 치료량 또는 투여량은 과증식성 장애의 치료에 효과적이라고 당업자에 의해 인식되는 수이다. 일부 구현예에 있어서, 치료량은 과증식성 장애의 치료에 효과적이라고 당업자에 의해 인식되는 수보다 적다.

[0369] 일부 구현예에 있어서, 약학적 제제는 면역조절 제제, 예컨대 체크포인트 억제제이다. 특정 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 과증식성 장애의 치료에 효과적인 것으로 당업자에 의해 인식되는 투여량 또는 투여량들로 투여될 수 있다. 특정 구현예에 있어서, 면역조절 제제는 과증식성 장애의 치료에 효과적인 것으로 인식되는 당업계에서 사용되는 것보다 낮은 투여량으로 투여될 수 있다. 특정 구현예에 있어서, 단일 투여량의 면역조절 제제를 투여하여 병변을 치료 및/또는 파괴한다. 일부 구현예에 있어서, 병변을 치료 및/또는 파괴하기 위하여, 치료 기간에 걸쳐, 예컨대 하나 이상의 치료 주기에 걸쳐 하나 이상의 투여량의 면역조절 제제가 대상체에게 투여된다. 특정 구현예에 있어서, 면역조절 제제의 치료량 또는 투여량은 과증식성 장애의 치료에 효과적이라고 당업자에 의해 인식되는 수이다. 일부 구현예에 있어서, 치료량은 과증식성 장애의 치료에 효과적이라고 당업자에 의해 인식되는 수보다 적다.

[0370] 특정 구현예에 있어서, 약학적 제제는 레날리도마이드 또는 탈리도마이드 유도체이다. 특정 구현예에 있어서, 약학적 제제는 레날리도마이드이다. 일부 구현예에 있어서, 레날리도마이드 또는 탈리도마이드 유도체는 약 1 mg 내지 약 20 mg의 투여량으로, 예를 들어 약 1 mg 내지 약 10 mg, 약 2.5 mg 내지 약 7.5 mg, 약 5 mg 내지 15 mg, 예컨대 약 5 mg, 10 mg, 15 mg 또는 20 mg으로 투여된다. 일부 구현예에 있어서, 레날리도마이드는 약 10 μ g/kg 내지 5 mg/kg, 예를 들면 약 100 μ g/kg 내지 약 2 mg/kg, 약 200 μ g/kg 내지 약 1 mg/kg, 약 400 μ g/kg 내지 약 600 μ g/kg, 예컨대 500 μ g/kg의 투여량으로 투여된다. 특정 구현예에 있어서, 레날리도마이드의 투여량은 10 mg 또는 약 그 정도이다. 특정 구현예에 있어서, 병변은 단일 투여량의 레날리도마이드를 대상체에게 투여함으로써 치료 및/또는 파괴된다. 특정 구현예에 있어서, 병변은 다투여량의 레날리도마이드를 대상체에게 투여함으로써 치료 및/또는 파괴된다. 특정 구현예에 있어서, 다투여량의 레날리도마이드는 하나 이상의 치료 주기에 걸쳐 투여된다. 일부 구현예에 있어서, 치료 주기는 약물 휴일을 포함한다. 특정 구현예에 있어서, 레날리도마이드는 21 일 치료 주기에 걸쳐서 14 일 동안 1 일 1 회 투여된다. 특정 구현예에 있어서, 레날리도마이드는 28 일 치료 주기에 걸쳐서 21 일 동안 1 일 1 회 투여된다.

[0371] 일부 구현예에 있어서, 치료 및/또는 파괴는, 예컨대 앞선 또는 이전의 치료 및/또는 파괴 후에 하나 이상의 후속 치료 및/또는 파괴를 결과함으로써 1 회 이상 반복된다. 일부 구현예에 있어서, 상기 후속 또는 반복 치료 및/또는 파괴는 유전적으로 조작된 세포가 대상체에서 증식되거나, 선행 치료 및/또는 파괴 후 및 상기 후속 치료 및/또는 파괴 전에 증식되는 것으로 관찰된 후에 수행된다. 일부 경우, 후속 치료 및/또는 파괴는 상기 후속 치료 및/또는 파괴의 시점에 또는 그 시점 직전에 대상체가 관해 상태인 시점에 수행된다. 일부 예시에서, 후속 치료 및/또는 파괴는, 그 시점에 또는 그 시점 직전에 혈액에서 검출 가능한 유전적으로 조작된 세포의 수가 감소되거나 검출 가능하지 않은 시점에 수행된다. 일부 경우, 후속 치료 및/또는 파괴는, 후속 치료 및/또는 파괴 시점에 또는 그 시점 직전에, 대상체로부터의 유액 또는 조직 또는 샘플, 필요에 따라 혈액에서 검출 가능한 유전적으로 조작된 세포의 수가 선행 치료 및/또는 파괴의 개시 후 선행하는 시점과 비교하여 감소되는 시점에 수행된다. 일부 경우에, 후속 치료 및/또는 파괴는, 선행 치료 및/또는 파괴의 개시 후에 대상체의 혈액에서 검출가능하거나 검출된 유전적으로 조작된 세포의 피크 또는 최대 수와 비교하여, 및/또는 선행 치료 및/또는

파괴의 개시 다음 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 또는 14 또는 28 일 내 시점에서의 수준과 비교하여, 후속 치료 및/또는 파괴의 시점에 또는 그 직전에, 대상체로부터의 유액 또는 조직 또는 샘플, 필요에 따라 혈액에서 검출 가능한 유전적으로 조작된 세포의 세포 수가 1.5 배, 2.0 배, 3.0 배, 4.0 배, 5.0 배, 10 배 또는 그 이상으로 감소하는 시점에 수행된다.

[0372] 일부 구현예에 있어서, 상기 방법은 임의로 대상체가 선행 치료 및/또는 파괴 후 반응한 다음 재발된 후에, 및/또는 상기 선행 치료 및/또는 파괴 후 완전한 반응을 달성하지 못했던 후에, 후속 치료 및/또는 파괴를 결과하는 것을 포함한다. 일부 경우, 대상체는 선행 치료 및/또는 파괴(들) 후 유전적으로 조작된 세포에 반응했었고, 이어서 후속하는 치료 및/또는 파괴에 반응하기를 멈추었고 및/또는 후속하는 치료 및/또는 파괴 전에 재발하였다. 일부 측면에서, 유전적으로 조작된 세포는 선행 치료 및/또는 파괴(들) 후 및 후속 치료 및/또는 파괴 이전에 대상체에서 증식하거나 증식하는 것으로 관찰되었다.

C. 세포의 증식 모니터링

[0373] 일부 구현예에 있어서, 상기 방법은 T 세포, 예를 들어, T 세포 기반 치료를 위해 투여된 T 세포의 노출, 지속성 및 증식의 평가를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 본 발명에서 제공되는 방법에서 세포, 예컨대 면역요법, 예컨대 T 세포 요법을 위하여 투여된 세포의 노출, 또는 증식 연장 및/또는 지속성, 및/또는 그 세포의 세포 표현형이나 기능적 활성의 변화는 상기 T 세포의 특징을 시험관 내 또는 생체 외로 평가함으로써 측정될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 그러한 평가는 본 발명에서 제공되는 세포 요법을 투여하지 전 또는 후에, 면역요법, 예컨대 T 세포 요법에 사용되는 T 세포의 기능을 결정 또는 확인하는데 이용될 수 있다.

[0374] 일부 구현예에 있어서, T 세포의 투여 다음, 요법의 투여 전, 도중 및/또는 그 후에, 대상체에서 재조합 수용체를 발현하는 세포 (예컨대, T 세포 기반 요법을 위하여 투여된 CAR-발현 세포)의 존재 및/또는 양이 검출된다. 특정 구현예에 있어서, T 세포의 투여 다음, 요법의 투여 전, 도중 및/또는 그 후에, 대상체에서 재조합 수용체를 발현하는 세포의 존재 및/또는 양이 검출된다. 일부 측면에서, 예컨대 지속성을 모니터링하기 위하여, 세포의 존재 및/또는 양은 DNA 마이크로그램당 상기 수용체, 예컨대 CAR을 인코딩하는 DNA 또는 플라스미드의 카피 수, 또는 샘플, 예컨대 혈액 또는 혈청의 마이크로리터당 또는 샘플의 마이크로리터당 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs) 또는 백혈구 또는 T 세포의 총 수당 수용체-발현, 예컨대 CAR-발현 세포의 수로서 정량화된다. 일부 경우, 조작된 세포, 예컨대 재조합 수용체-발현 세포의 존재는 대상체의 다른 생물학적 샘플, 예컨대 기관 또는 조직 샘플 (예컨대, 질병 위치, 예컨대 종양 샘플)에서 검출되거나 모니터링될 수 있다.

[0375] 일부 측면에서, 정량적 PCR (qPCR)은 대상체의 혈액 또는 혈청 또는 기관 또는 조직 샘플 (예컨대, 질병 위치, 예컨대 종양 샘플)에서 재조합 수용체를 발현하는 세포 (예를 들어, T 세포 기반 요법에서 투여되는 CAR-발현 세포)의 양을 평가하는데 사용된다. 일부 경우, 재조합 수용체를 발현하는 세포의 존재 또는 양을 평가하는 방법은 조작된 세포가 투여된 대상체로부터 말초 혈액 (또는 다른 생물학적 샘플)을 추출하고, 상기 말초 혈액 또는 생물학적 샘플에서 조작된 세포의 수 또는 비율을 결정하는 것을 포함할 수 있다. 세포를 선택 및/또는 분리하는 접근법은 키메라 항원 수용체 (CAR)-특이적 항체의 사용 (예컨대, [Brentjens et al., Sci. Transl. Med. 2013 Mar; 5(177): 177ra38]), 단백질 L (Zheng et al., J. Transl. Med. 2012 Feb; 10:29), 에피토프 태그, 예컨대 CAR 내 특정 위치로 직접 도입된 Strep-Tag 서열의 사용으로, 이에 의하여 Strep-Tag에 대한 결합 시약이 CAR을 직접 평가하는데 이용되고 ([Liu et al. (2016) Nature Biotechnology, 34:430]; 국제 특허 출원 공개 W02015095895) 및 CAR 폴리펩타이드에 특이적으로 결합하는 모노클로날 항체의 사용 (예컨대 국제 특허 출원 공개 W02014190273 참조)을 들 수 있다. 일부 경우, 외인성 마커 유전자가 조작된 세포 요법과 관련하여 이용되어 세포의 검출 또는 선택을 가능케 하고, 일부 경우에 또한 세포의 자살을 촉진할 수 있다. 일부 경우에, 절단된 표피 성장 인자 수용체 (EGFRt)는 형질도입된 세포에서 대상 전이유전자 (CAR 또는 TCR)와 함께 공-발현될 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 8,802,374 참조). EGFRt는 항체 세톡시맵 (Erbixux®) 또는 다른 치료용 항-EGFL 항체 또는 결합 분자에 의해 인식되는 에피토프를 포함할 수 있는데, 이는 EGFRt 컨스트럭트 및 다른 재조합 수용체, 예를 들어 키메라 항원 수용체 (CAR)로 조작된 세포를 동정하거나 선택, 및/또는 상기 수용체를 발현하는 세포를 제거하거나 분리시키는데 사용될 수 있다. 미국 특허 8,802,374 및 [Liu et al., Nature Biotech. 2016 April; 34(4): 430-434] 참조.

[0376] 일부 구현예에 있어서, 세포는 T 세포, 예를 들어, CAR-발현 T 세포의 투여 다음 4, 14, 15, 27 또는 28 일에 또는 적어도 그 때 대상체에서 검출된다. 일부 측면에서, 세포는 T 세포, 예를 들어, CAR-발현 T 세포의 투여 다음 2, 4, 또는 6 주에 또는 적어도 그 때, 또는 3, 6, 또는 12, 18, 또는 24, 또는 30 또는 36 개월에 또는 적어도 그 때, 또는 1, 2, 3, 4, 5 년, 또는 그 이상에 또는 적어도 그 때 검출된다. 특정 구현예에 있

어서, 세포는 대상체의 부위, 예컨대 대상체의 조직, 기관, 매쓰 또는 병변 부위 또는 그의 영역 또는 일부분의 파괴 다음 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 또는 28 일에 또는 적어도 그 때 대상체에서 검출된다. 일부 구현예에 있어서, 세포는 대상체의 부위, 예컨대 대상체의 조직, 기관, 매쓰 또는 병변 부위 또는 그의 영역 또는 일부분의 치료 및/또는 파괴 다음 2, 4, 또는 6 주에 또는 적어도 그 때에, 또는 3, 6, 또는 12, 18, 또는 24, 또는 30 또는 36 개월에 또는 적어도 그 때에, 또는 1, 2, 3, 4, 5년, 또는 그 이상에 또는 적어도 그 때 검출된다.

[0377] 일부 구현예에 있어서, 세포의 존재 및/또는 양은 대상체의 부위 예컨대 대상체의 조직, 기관, 매쓰 또는 병변 부위 또는 그의 영역 또는 일부분이 치료 기간에 걸쳐 하나 이상의 치료, 절차 또는 조작으로 치료 및/또는 파괴된 후 일정 시간 후에 검출되고, 일정 시간은 최초의 치료, 절차 또는 조작의 개시로부터 측정된다. 특정 구현예에 있어서, 세포의 존재 및/또는 양은 대상체의 부위 예컨대 대상체의 조직, 기관, 매쓰 또는 병변 부위 또는 그의 영역 또는 일부분이 치료 기간에 걸쳐 하나 이상의 치료, 절차 또는 조작으로 치료 및/또는 파괴된 후 일정 시간 후에 검출되고, 일정 시간은 최후의 치료, 절차 또는 조작의 종결로부터 측정된다.

[0378] 증식 및/또는 지속성의 표지가 되는 노출, 예를 들어, 세포 수, 예를 들어, T 세포 요법을 위하여 투여된 T 세포의 수는 상기 대상체가 노출되는 세포의 최대 수, 검출 가능한 세포의 지속 시간 또는 특정 수 또는 백분율 이상의 세포, 시간에 따른 세포 수에 대한 곡선하영역, 및/또는 그들의 조합 및 그들의 표지자의 관점에서 기술될 수 있다. 이러한 결과는 공지의 방법을 사용하여 평가될 수 있는데, 예컨대 특정 샘플, 예컨대 혈액, 혈청, 혈장 또는 조직, 예컨대 종양 샘플에서 핵산 또는 DNA의 총량과 비교하여 재조합 수용체를 인코딩하는 핵산의 카피 수를 검출하는 qPCR 및/또는 상기 수용체들에 특이적인 항체를 사용하여 일반적으로 상기 수용체를 발현하는 세포를 검출하는 유세포 분석이다. 세포-기반 분석은 또한 기능성 세포의 수 또는 백분율을 검출하는데 사용될 수 있는데, 상기 기능성 세포는 예컨대 질환 또는 질병 상태의 세포와 결합 및/또는 그를 중화 및/또는 그에 대한 반응, 예컨대 세포독성 반응을 유도하거나 상기 수용체에 의하여 인식되는 항원을 발현할 수 있는 세포이다.

[0379] 일부 측면에서, 대상체의 상기 세포에 대한 노출 증가는 세포의 증식 증가를 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 수용체 발현 세포, 예를 들면, CAR-발현 세포는, T-세포, 예를 들어, CAR-발현 T 세포의 투여 다음에 대상체에서 증식한다. 특정 구현예에 있어서, 부위 (예를 들어, 대상체의 조직, 기관, 매쓰 또는 병변 부위 또는 그의 영역 또는 일부분)를 파괴하는 것은, 수용체 발현 세포, 예컨대 CAR-발현 세포에 대한 노출 증가라는 결과를 낳는데, 예컨대 상기 파괴 직전의 세포 증식과 비교하여 또는 상기 부위 (예컨대 대상체의 조직, 기관, 매쓰 또는 병변 부위 또는 그의 영역 또는 일부분)의 파괴 전에 대상체에서의 세포 증식의 피크와 비교하여 대상체의 세포 증식의 증가이다.

[0380] 일부 측면에서, 예를 들어 부위 (예를 들어, 대상체의 조직, 기관, 매쓰 또는 병변 부위 또는 그의 영역 또는 일부분)를 파괴하는 방법은, 예컨대 유세포 분석에 의하여 측정되는 바, 투여된 세포의 높은 생체 내 증식이라는 결과를 낳는다. 일부 측면에서, 피크 세포의 분율이 높게 검출된다. 예를 들어, 일부 구현예에 있어서, 대상체의 혈액 또는 질환-위치 또는 그들의 백혈구 분획, 예컨대 PBMC 분획 또는 T 세포 분획 중의 T 세포, 예를 들어, CAR-발현 T 세포의 투여 다음 피크 또는 최대 수준에서, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 또는 적어도 약 90%의 세포가 재조합 수용체, 예를 들어 CAR을 발현한다.

[0381] 일부 구현예에 있어서, 예컨대 부위 (예를 들어, 대상체의 조직, 기관, 매쓰 또는 병변 부위 또는 그의 영역 또는 일부분)를 파괴하는 방법은 대상체의 혈액 또는 혈청 또는 다른 체액 또는 기관 또는 조직에서 DNA 마이크로그램당 상기 수용체, 예컨대 CAR를 인코딩하는 핵산 카피 100, 500, 1000, 1500, 2000, 5000, 10,000 또는 15,000 이상, 또는 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs)의 총 수, 단핵구 세포의 총 수, T 세포의 총 수 또는 총 마이크로리터 수당 수용체-발현, 예컨대 CAR-발현 세포 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 또는 0.9 이상의 최대 농도라는 결과를 낳는다. 일부 구현예에 있어서, 상기 수용체를 발현하는 세포는, 상기 T 세포, 예컨대 CAR-발현 T 세포의 투여 개시 다음 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 36, 48, 또는 52 주 동안, 또는 그러한 투여 다음 1, 2, 3, 4, 5 년 동안 또는 그 이상, 대상체의 혈액 중 총 PBMC의 10, 20, 30, 40, 50, 또는 60% 이상으로 검출되고, 및/또는 그러한 수준으로 검출된다.

[0382] 일부 측면에서, 상기 방법은, 대상체의 예컨대 혈청, 혈장, 혈액 또는 조직, 예컨대 종양 샘플에서, DNA 마이크로그램당 상기 재조합 수용체, 예컨대 CAR을 인코딩하는 핵산 카피 수에 있어서 2-배 이상, 4-배 이상, 10-배 이상 또는 20-배 이상 증가라는 결과를 낳는다.

[0383] 일부 구현예에 있어서, 상기 수용체를 발현하는 세포는 대상체의 예컨대 혈청, 혈장, 혈액 또는 조직, 예컨대 종양 또는 병변 샘플에서, 예컨대 특정 방법, 예컨대 qPCR 또는 유세포 분석-기반 검출 방법에 의하여, T 세포, 예컨대 CAR-발현 T 세포의 투여 다음 적어도 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 또는 60 일 또는 그 이상의 일수 동안, T 세포, 예컨대 CAR-발현 T 세포의 투여 다음 적어도 (약) 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 또는 24 주 또는 그 이상의 주수 동안 검출된다. 특정 구현예에 있어서, 상기 수용체를 발현하는 세포는 대상체의 혈청, 혈장, 혈액 또는 조직에서 부위 (예를 들어, 대상체의 조직, 기관, 매쓰 또는 병변 부위 또는 그의 영역 또는 일부분)의 치료 및/또는 파괴 다음 적어도 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 또는 60 일 또는 그 이상의 일수 동안, 상기 병변의 치료 및/또는 파괴 다음 적어도 (약) 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 또는 24 주 또는 그 이상의 주수 동안 검출된다.

[0384] 일부 측면에서, 약 1×10^2 , 약 1×10^3 , 약 1×10^4 , 약 1×10^5 , 또는 약 1×10^6 또는 약 5×10^6 또는 약 1×10^7 또는 약 5×10^7 또는 약 1×10^8 개 이상의 재조합 수용체-발현, 예컨대 CAR-발현 세포 및/또는 마이크로리터당 적어도 10, 25, 50, 100, 200, 300, 400, 또는 500, 또는 1000 개 수용체-발현 세포가 대상체에서, 또는 그의 유액, 혈장, 혈청, 조직 또는 구획에서, 예컨대 그의 혈액, 예컨대 말초 혈액, 또는 질환 위치, 예컨대 병변 종양 내에서 검출 가능하거나 존재한다. 일부 구현예에 있어서, 이러한 세포 수 또는 농도는, T 세포, 예컨대 CAR-발현 T 세포의 투여 다음, 적어도 약 20 일간, 적어도 약 40 일간, 또는 적어도 약 60 일간, 또는 적어도 약 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12 개월간, 또는 적어도 2 또는 3 년간 대상체에서 검출 가능하다. 특정 구현예에 있어서, 이러한 세포 수 또는 농도는, 상기 병변의 치료 및/또는 파괴 다음, 적어도 약 20 일간, 적어도 약 40 일간, 또는 적어도 약 60 일간, 또는 적어도 약 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12 개월간, 또는 적어도 2 또는 3 년간 대상체에서 검출 가능하다. 이러한 세포 수는 유세포 분석-기반의 또는 정량적 PCR-기반의 방법에 의하여 검출되고 공지된 방법을 이용하여 총 세포 수가 외삽될 수 있다. 예컨대, [Brentjens *et al.*, *Sci Transl Med.* 2013 5(177)], [Park *et al.*, *Molecular Therapy* 15(4):825-833 (2007)], [Savoldo *et al.*, *JCI* 121(5):1822-1826 (2011)], [Davila *et al.*, (2013) *PLoS ONE* 8(4):e61338], [Davila *et al.*, *Oncoimmunology* 1(9):1577-1583 (2012)], [Lamers, *Blood* 2011 117:72-82], [Jensen *et al.*, *Biol Blood Marrow Transplant* 2010 September; 16(9): 1245-1256], [Brentjens *et al.*, *Blood* 2011 118(18):4817-4828] 참조.

[0385] 일부 측면에서, 예컨대 말초 혈액 또는 골수 또는 다른 구획에서 면역조직화학, PCR 및/또는 유세포 분석에 의하여 측정되는, 100 개 세포당 재조합 수용체를 인코딩하는 핵산의 카피 수, 예컨대 벡터 카피 수는, 세포, 예컨대 CAR-발현 T 세포의 투여 다음 약 1 주, 약 2 주, 약 3 주, 약 4 주, 약 5 주, 또는 적어도 약 6 주에, 또는 적어도 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12 개월에 또는 적어도 2 또는 3 년에 적어도 0.01, 적어도 0.1, 적어도 1 또는 적어도 10이다. 일부 구현예에 있어서, 게놈 CNA 마이크로그램당 상기 수용체, 예컨대 CAR을 발현하는 벡터의 카피 수는 T 세포, 예컨대 CAR-발현 T 세포의 투여 다음 약 1 주, 약 2 주, 약 3 주, 또는 적어도 약 4 주에 또는 그러한 투여 다음 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12 개월 또는 적어도 2 또는 3 년에, 적어도 100, 적어도 1000, 적어도 5000 또는 적어도 10000 또는 적어도 15000 또는 적어도 20000이다.

[0386] 특정 구현예에 있어서, 면역조직화학, PCR 및/또는 유세포 분석에 의하여 측정되는, 100 개 세포당 재조합 수용체를 인코딩하는 핵산의 카피 수, 예컨대 벡터 카피 수는, 병변의 치료 및/또는 파괴 다음 약 1 주, 약 2 주, 약 3 주, 약 4 주, 약 5 주, 또는 적어도 약 6 주에, 또는 적어도 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12 개월에 또는 적어도 2 또는 3 년에 적어도 0.01, 적어도 0.1, 적어도 1 또는 적어도 10이다. 일부 구현예에 있어서, 게놈 CNA 마이크로그램당 상기 수용체, 예컨대 CAR을 발현하는 벡터의 카피 수는 병변의 치료 및/또는 파괴 다음 약 1 주, 약 2 주, 약 3 주, 또는 적어도 약 4 주에 또는 병변의 치료 및/또는 파괴 다음 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12 개월 또는 적어도 2 또는 3 년에, 적어도 100, 적어도 1000, 적어도 5000 또는 적어도 10000 또는 적어도 15000 또는 적어도 20000이다.

[0387] 일부 측면에서, 세포에 의하여 발현되는 수용체, 예를 들어, CAR는 대상체, 그의 혈장, 혈청, 조직 및/또는 질환 위치, 예를 들어, 종양 위치에서의 정량적 PCR (qPCR) 또는 유세포 분석법에 의해, 상기 세포의 투여 다음, 예컨대 T 세포의 투여 개시 다음 적어도 약 3 개월, 적어도 약 6 개월, 적어도 약 12 개월, 적어도 약 1

년, 적어도 약 2 년, 적어도 약 3 년, 3 년보다 더 후의 시간에 검출 가능하다. 특정 구현예에 있어서, 세포에 의하여 발현되는 수용체, 예를 들어, CAR는 대상체, 그의 혈장, 혈청, 조직 및/또는 질환 위치, 예를 들어, 병변 또는 종양 위치에서의 정량적 PCR (qPCR) 또는 유세포 분석법에 의해, 상기 병변의 치료 및/또는 파괴 다음 적어도 약 3 개월, 적어도 약 6 개월, 적어도 약 12 개월, 적어도 약 1 년, 적어도 약 2 년, 적어도 약 3 년, 3 년보다 더 후의 시간에 검출 가능하다. 일부 구현예에 있어서, T 세포, 예컨대 CAR-발현 T 세포의 투여 다음 시간 경과에 따른 대상체의 유액, 혈장, 혈청, 혈액, 조직, 기관 및/또는 질환 위치, 예컨대 종양 위치에서의 수용체 (예컨대 CAR)-발현 세포의 농도에 대한 곡선하영역 (AUC)이 측정된다.

D. 반응, 효능 및 생존

[0388] 일부 구현예에 있어서, 상기 투여는 대상체가 다른 요법에 내성을 갖거나 및/또는 재조합 수용체-발현 세포, 예컨대 CAR+ T 세포와 같은 유전적으로 조작된 세포의 투여 다음에 재발하였음에도 효과적으로 대상체를 치료한다. 일부 구현예에 있어서, 상기 방법에 따라 치료된 대상체들 중 적어도 대상체의 (약) 50%, 적어도 대상체의 (약) 60%, 적어도 대상체의 (약) 70%, 적어도 대상체의 (약) 80% 또는 적어도 대상체의 (약) 90%가 완전 관해 (CR)를 달성하고 및/또는 객관적 반응 (OR)을 달성한다.

[0389] 일부 구현예에 있어서, 상기 제공되는 방법, 예컨대 유전적으로 조작된 세포의 투여 다음에 부위 또는 병변을 파괴하는 것을 수반하는 방법에 따라 치료된 대상체는, 상기 유전적으로 조작된 세포, 예컨대 재조합 수용체-발현 세포의 투여를 수반하지만 본 발명에서 기술하는 것과 같은 부위 또는 병변의 치료 및/또는 파괴를 수반하지 않는 방법에 비하여, 더 지속적인 반응을 달성하거나 그렇게 치료된 복수의 대상체들에서 평균적으로 더 지속적인 반응을 달성한다. 일부 경우, 반응 지속시간 (DOR)의 측정에는 종양 반응의 기록부터 질환 진행까지의 시간을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 반응 평가를 위한 파라미터는 지속적인 반응, 예컨대 요법 개시 다음에 그것이 관찰된 후, 또는 유전적으로 조작된 세포의 개시 다음에 부위 또는 병변의 치료 및/또는 파괴 후 일정 시간 이후 지속되는 반응을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 지속적인 반응은 요법 개시 후 또는 상기 유전적으로 조작된 세포의 투여 개시 다음에 부위 또는 병변의 치료 및/또는 파괴 후 대략 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18 또는 24 개월에 반응을로서 표시된다. 일부 구현예에 있어서, 상기 반응은 3 개월 이상, 6 개월 이상, 12 개월 이상, 18 개월 이상, 24 개월 이상, 30 개월 이상, 36 개월 이상 또는 그 이상 지속 가능하다. 일부 특정 구현예에 있어서, 상기 방법에 따라 치료된 대상체는, 유전적으로 조작된 세포의 투여에 반응하여 관해된 다음 재발된 후에, 지속적인 반응을 달성한다.

[0390] 일부 측면에서, 예컨대 CLL을 앓고 있는 대상체와 같은 대상체의 반응률은 만성 림프성 백혈병에 대한 국제 워크숍 (IWCLL) 반응 기준에 기초한다 (Hallek, et al., Blood 2008, Jun 15; 111 (12) : 5446-5456). 일부 측면에서, 이러한 기준은 다음과 같이 기술된다: 완전 관해 (CR), 이는 일부 측면에서 면역표현형 검사에 의한 말초 혈액 클론 림프구의 부재, 림프선염의 부재, 간 비대증 또는 비장 비대증의 부재, 구성적 증상의 부재 및 만족스러운 혈구 수를 요구하고; 불완전 골수 회복을 동반하는 완전 관해 (CRi), 이는 일부 측면에서 상기 CR과 같이 설명되지만 정상적인 혈구 수를 갖지 못하며; 부분 관해 (PR), 이는 일부 측면에서 말초 혈액 수에서의 개선과 함께, 림프구 수 $\geq 50\%$ 저하, 림프선염 $\geq 50\%$ 감소 또는 간이나 비장에서의 $\geq 50\%$ 크기 감소로서 설명되고; 진행 질환 (PD), 이는 일부 측면에서 $> 5 \times 10^9/L$ 로 림프구 수 $\geq 50\%$ 증가, 림프선염의 $\geq 50\%$ 증가, 간 또는 비장 크기, 리히터 변이 또는 CLL에서 기인한 새로운 혈구감소증의 $\geq 50\%$ 증가로서 설명되고; 안정 질환, 이는 일부 측면에서 CR, CRi, PR 또는 PD에 대한 기준을 충족시키지 못하는 것으로 설명된다.

[0391] 일부 구현예에 있어서, 세포 투여량의 투여 1 개월 내에, 대상체의 림프절이 크기에 있어서 (약) 20 mm 미만, (약) 10 mm 미만이면, 상기 대상체는 CR 또는 OR을 나타낸다. 특정 구현예에 있어서, 병변의 치료 및/또는 파괴 처리 1 개월 내에, 대상체의 림프절이 크기에 있어서 (약) 20 mm 미만, (약) 10 mm 미만이면, 상기 대상체는 CR 또는 OR을 나타낸다.

[0392] 일부 구현예에 있어서, CLL의 지표 클론 (index clone)은 상기 방법에 따라 치료된 대상체의 골수에서 (또는 대상체들 중 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 이상 또는 그 이상의 골수에서) 검출되지 않는다. 일부 구현예에 있어서, CLL의 지표 클론은 IgH 딥 시퀀싱에 의해 평가된다. 일부 구현예에 있어서, 지표 클론은, 세포를 투여한 다음 (약) 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 18 또는 24 개월의 시점에 또는 적어도 (약) 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 18 또는 24 개월의 시점에 검출되지 않는다.

[0393] 일부 측면에서, 반응 평가는 임의의 임상적, 혈액학적 및/또는 분자 적 방법을 이용한다. 일부 측면에서, 반응은 Lugano 기준을 이용하여 평가된다 ([Cheson et al., (2014) JCO 32(27):3059-3067]; [Johnson et al., (2015) Radiology 2:323-338]; [Cheson, B.D. (2015) Chin Clin Oncol 4(1):5]). 일부 측면

에서, 반응 평가는 임의의 임상적, 혈액학적 및/또는 분자적 방법을 이용한다. 일부 측면에서 Lugano 기준을 사용하여 평가된 반응은 양전자 방출 단층 촬영 (PET)-컴퓨터 단층 촬영 (CT) 및/또는 CT를 적절하게 사용하는 것을 포함한다. PET-CT 평가는 FDG-애비드 림프종 (FDG-avid lymphoma)에 대한 플루오로디옥시글루코오스 (FDG)의 사용을 더 포함할 수 있다. PET-CT가 FDG-애비드 조직학에서의 반응을 평가하는 데 사용되는 일부 측면에서, 5-점 스케일이 사용될 수 있다. 어떤 면에서, 상기 5-점 스케일은 다음 기준을 포함한다: 1, 백그라운드를 넘는 어떠한 흡수도 없음; 2, 흡수 $\leq$ 종격 (mediastinum); 3, 흡수 $>$ 종격, 그러나 $\leq$ 간; 중등도의 흡수 $>$ 간; 5, 간 및/또는 새로운 병변보다 매우 높은 흡수; X, 림프종과 관련된 것 같지 않은 새로운 흡수 영역.

[0394] 일부 측면에서, Lugano 기준을 사용하여 기술되는 것과 같은 완전한 반응은 다양한 측정 가능한 위치에서의 완전한 대사 반응 및 완전한 방사선학적 반응을 포함한다. 일부 측면에서, 이들 위치는 림프절 및 림프의 위치를 포함하며, 여기서 CR은 PET-CT가 사용될 때, 5-점 스케일 상 잔류 매쓰를 포함하거나 포함하지 않고 1, 2 또는 3의 점수로 기술된다. 일부 측면에서, 생리학적 흡수가 높거나 비장 또는 골수 내에서 활성화된 (예를 들어, 화학요법 또는 골수 콜로니-자극 인자를 갖는) Waldeyer 고리 또는 결절의 위치에서, 흡수는 정상 종격 및/또는 간보다 클 수 있다. 이 상황에서, 조직이 높은 생리적 흡수량을 가진다 하더라도, 초기 침범 위치에서의 흡수가 주변의 정상 조직보다 크지 않으면 완전한 대사 반응이 추론될 수 있다. 어떤 측면에서 반응은 CT를 사용하여 림프절로 평가되는데, 여기서 CR은 질병의 림프의 위치가 없고 표적 결절/결절 매쓰가 병변의 가장 긴 횡직경 (LDi)에서 ≤ 1.5 cm로 퇴행하여야 하는 것으로 기술된다. 추가적인 평가 위치는 골수를 포함하는데 여기서 PET-CT-기반 평가는 골수에서 FDG-애비드 질환의 증거가 부족함을 나타내야 하고, CT-기반 평가는, 불확실한 경우 IHC 음성인 것인, 정상 형태를 나타내야 한다. 추가적인 위치는 정상으로 퇴행되어야 할 기관 확대에 대한 평가를 포함할 수 있다. 일부 측면에서, CR의 경우에 없어야만 하는, 측정되지 않은 병변 및 새로운 병변이 평가된다 ([Cheson et al., (2014) JCO 32(27):3059-3067]; [Johnson et al., (2015) Radiology 2:323-338]; [Cheson, B.D. (2015) Chin Clin Oncol 4(1):5]).

[0395] 일부 측면에서, Lugano 기준을 사용하여 기술되는 부분 반응 (PR)은 다양한 측정 가능한 위치에서 부분적인 대사 반응 및/또는 방사선학적 반응을 포함한다. 일부 측면에서, 이들 위치는 림프절 및 림프의 위치를 포함하며, 여기서 PR은 PET-CT가 사용되는 경우, 기준치 및 임의의 크기의 잔류 매쓰와 비교하여 감소된 흡수를 갖는 4 또는 5의 점수로 기재된다. 중반에, 그러한 발견은 질환에 반응하는 것을 나타낸다. 치료의 종결시, 그러한 결과는 질환 잔류를 나타낼 수 있다. 일부 측면에서, 반응은 CT를 사용하여 림프절에서 평가되며, 여기서 PR은 최대 6 개의 표적 측정 가능 결절 및 결절의 위치의 SPD가 $\geq 50\%$ 감소하는 것으로 기술된다. 병변이 너무 작아서 CT로 측정할 수 없으면 기본 값으로 $5\text{mm} \times 5\text{mm}$ 가 할당되고; 병변이 더 이상 보이지 않으면 그 값은 $0\text{mm} \times 0\text{mm}$ 이며; $>5\text{mm} \times 5\text{mm}$ 이지만 정상보다 작은 결절의 경우에는, 실측이 계산에 사용된다. 추가적인 평가 위치는 골수를 포함하는데, 여기서 PET-CT 기반 평가는 정상 골수에서의 흡수보다 높지만 기준치와 비교하여 감소된 잔류 흡수를 나타내야 한다 (화학요법으로부터의 반응 변화와 일치하는 확산 흡수는 허용됨). 일부 측면에서, 결절 반응의 맥락에서 골수에 지속적인 국소적 변화가 있다면, MRI 또는 생검, 또는 인터벌 스캔을 이용한 추가적인 평가가 고려되어야 한다. 일부 측면에서, 추가적인 위치는 비대 기관의 평가를 포함할 수 있는데, 여기서 비장은 길이에 있어서 $>50\%$ 정상 이상으로 퇴행되어야 한다. 일부 측면에서, 비측정 병변 및 새로운 병변이 평가되는데, PR의 경우라면 이는 부재/정상, 퇴행되어야 하고, 증가는 없어야 한다. 무반응/안정적 질환 (SD) 또는 진행성 질환 (PD) 또한 PET-CT 및/또는 CT 기반 평가를 이용하여 측정될 수 있다. ([Cheson et al., (2014) JCO 32(27):3059-3067]; [Johnson et al., (2015) Radiology 2:323-338]; [Cheson, B.D. (2015) Chin Clin Oncol 4(1):5]).

[0396] 일부 측면에서, 무-진행 생존 (PFS)은 질환, 예컨대 암의 치료 중 또는 그 후에, 대상체가 그 질환을 앓고 있으나 더 악화되지는 않는 시간의 길이로서 설명된다. 일부 측면에서 객관적 반응 (OR)은 측정 가능한 반응으로 설명된다. 일부 측면에서 객관적 반응률 (ORR)은 CR 또는 PR을 달성한 환자의 비율로 설명된다. 일부 측면에서 총 생존율 (OS)은, 진단 날짜나 질환, 예컨대 암에 대한 치료 개시 중 어느 하나로부터 상기 질환으로 진단된 대상체가 여전히 생존하는 시간의 길이로서 설명된다. 일부 측면에서, 무-사건 생존 (EFS)은 암 치료가 종료된 후, 대상체가, 상기 치료가 방해되거나 지체되려 하였던 사건 또는 특정 합병증 없이 남아있는 시간의 길이로서 설명된다. 이러한 사건은 암이 회귀하거나 특정한 증상이 개시되는 것을 포함할 수 있는데, 예컨대 뼈까지 퍼진 암으로부터의 뼈 통증이나 사망이다.

[0397] 일부 측면에서, RECIST 기준은 객관적 종양 반응을 결정하는데 사용되며; 일부 측면에서, 고형 종양에서의 반응 결정에 사용된다. (Eisenhauer et al., European Journal of Cancer 45 (2009) 228-247). 일부 측면에서, RECIST 기준은 표적 병변에 대한 객관적 종양 반응을 결정하는데 사용된다. 어떤 면에서는, RECIST 기준을

사용하여 결정된 완전한 반응은 모든 표적 병변의 소실로 설명되며 병리학적 림프절 (표적이든 비-표적이든)은 짧은 축에서 <10 mm로 감소해야 한다. 다른 측면에서, RECIST 기준을 사용하여 결정된 부분 반응은, 기준값 직경들의 합계를 레퍼런스로 하여, 표적 병변 직경들의 합계가 적어도 30% 감소하는 것으로 설명된다. 다른 측면에서, 진행성 질환 (PD)은 연구중인 최소 합계 (이는, 그것이 연구중인 가장 작은 것이라면 기준값 합계를 포함한다)를 레퍼런스로 하여, 표적 병변 직경들의 합계가 적어도 20% 증가하는 것으로 설명된다. 20%의 상대적 증가에 더하여, 그 합계는 적어도 5 mm의 절대적 증가를 입증해야 한다 (일부 측면에서, 하나 이상의 새로운 병변의 출현 또한 진행으로 간주된다). 다른 측면에서, 안정한 질환 (SD)은, 연구 중인 직경들의 가장 작은 합계를 레퍼런스로 하여, PR로 평가될 만큼 충분히 수축하지도, PD로 평가될 만큼 충분히 증가하지도 않은 것으로 설명된다.

[0398] 일부 측면에서, 제공되는 방법에 따른 투여 또는 치료는 일반적으로 대상체에서 질환 또는 질병 상태의 확산 또는 부담을 감소시키거나 예방한다. 예를 들어, 질환 또는 질병 상태가 종양인 경우, 상기 방법은 일반적으로 종양 크기, 벌크, 전이, 골수나 분자적으로 검출 가능한 암에서의 아세포의 백분율을 감소시키고 및/또는 예후 또는 생존 또는 종양 부담과 관련된 다른 증상을 개선시킨다.

[0399] 질환 부담은 대상체에서, 또는 대상체의 기관 또는 조직 또는 체액, 예컨대 종양 기관 또는 조직 또는 예컨대 전이를 나타내는 다른 부분에서 질환 세포의 총 수를 포함할 수 있다. 예를 들어, 종양 세포는 특정 혈액학적 악성종양의 맥락에서 혈액 또는 골수에서 검출 및/또는 정량화될 수 있다. 질환 부담은 일부 구현예에 있어서, 종양의 매쓰, 전이의 수 또는 정도 및/또는 골수에 존재하는 아세포의 백분율을 포함할 수 있다.

[0400] 일부 구현예에 있어서, 대상체는 백혈병을 앓는다. 질환 부담의 정도는 혈액 또는 골수에 남아있는 백혈병을 평가하여 결정할 수 있다.

[0401] 일부 구현예에 있어서, 대상체는, 예를 들어 광학 현미경에 의해 검출되는 바, 골수에 5% 이상의 아세포가 존재하는 경우 형태학적 질환을 나타내는데, 예컨대 골수에 10% 이상, 골수에 20% 이상, 골수에 30% 이상, 골수에 40% 이상 또는 골수에 50% 이상의 아세포가 존재하는 경우이다. 일부 구현예에 있어서, 골수에 5% 미만의 아세포가 존재한다면, 대상체는 완전한 또는 임상적 관해를 나타낸다.

[0402] 일부 구현예에 있어서, 대상체는 완전한 관해를 나타낼 수 있지만, (광학 현미경 기법에 의하여) 형태학적으로 검출할 수 없는 적은 분물의 잔류 백혈병 세포가 존재한다. 대상체가 골수에서 5% 미만의 아세포를 나타내고 분자적으로 검출 가능한 암을 나타내는 경우 대상체는 최소 잔류 질환 (MRD)을 나타내는 것이라고 일컬어진다. 일부 구현예에 있어서, 분자적으로 검출 가능한 암은 소수의 세포를 민감하게 검출하게 하는 다양한 분자적 기법 중 임의의 것을 사용하여 평가될 수 있다. 일부 측면에서, 그러한 기법은 독특한 Ig/T-세포 수용체 유전자 재배열 또는 염색체 전위에 의해 생성된 융합 된 전사체를 결정할 수 있는 PCR 분석을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 유세포 분석법은 백혈병-특이적 면역 표현형에 기초하여 암 세포를 동정하는데 사용될 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 암의 분자적 검출은 100,000 개의 정상 세포 중에서 1 개만큼 적은 백혈병 세포를 검출할 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 대상체는, 예컨대 PCR이나 유세포 분석법에 의하여 100,000 개 세포 중 적어도 1 개 또는 그 보다 많은 백혈병 세포가 검출된다면 분자적으로 검출 가능한 MRD를 나타낸다. 일부 구현예에 있어서, 대상체의 질환 부담은 분자적으로 검출할 수 없거나 MRD-인데, 그렇게, 일부 경우, 어떠한 백혈병 세포도 PCR 또는 유세포 분석 기법을 이용하여 대상체에서 검출될 수 없다.

[0403] 일부 측면에서, 질환 또는 상태는 제1 투여량의 투여 다음에도 지속되고 및/또는 상기 제1 투여량의 투여는 대상체에서 질환 또는 질병 상태를 근절시키는데 충분하지 않다. 일부 구현예에 있어서, 치료에 대한 반응, 예컨대 질환의 해소 및/또는 관해는 기술되는 바와 같이 부위 또는 병변을 파괴한 후에 상기 제공되는 방법에 따라 관찰된다.

[0404] 일부 구현예에 있어서, 상기 방법은 질환 또는 질환 상태의 부담, 예를 들어, 종양 세포의 수, 종양의 크기, 환자 생존 기간 또는 무-사건 생존을 대안의 투여 요법을 사용하는 비교 가능한 방법으로 관찰될 감소에 비하여 보다 큰 정도로 및/또는 더 긴 기간 동안 감소시키는데, 상기 대안의 투여 요법은 예를 들어 대상체가 하나 이상의 대안적 치료적 제제를 투여받는 것, 및/또는 대상체가 조작된 세포가 존재하거나 존재할 가능성이 있거나 존재하였거나 존재할 가능성이 있었던 대상체의 부위에 대하여 상기 제공되는 방법에 따른 치료 및/또는 파괴를 받지 않은 것이다. 일부 구현예에 있어서, 대상체에서의 질환 또는 질병 상태의 부담은 검출, 평가 또는 측정된다. 질환 부담은 일부 측면에서, 대상체에서 또는 대상체의 기관, 조직 또는 체액, 예컨대 혈액 또는 혈청에서 질환 또는 질환-관련 세포의 총 수를 검출함으로써 검출될 수 있다. 일부 측면에서, 대상체의 생존, 특정 기간 내의 생존율, 생존 범위, 무-사건 또는 무-증상 생존 또는 무-재발 생존의 존재 또는 기간이 평가된다.

일부 구현예에 있어서, 질환 또는 질병 상태의 임의의 증상이 평가된다. 일부 구현예에 있어서, 질환 또는 질병 상태 부담의 척도가 특정된다.

[0405] 일부 구현예에 있어서, 대상체의 무-사건 생존율 또는 총 생존율은, 다른 방법, 예를 들어 대상체가 하나 이상의 대안적 치료적 제제를 투여받는 방법, 및/또는 대상체가 조작된 세포가 존재하거나 존재할 가능성이 있거나 존재하였거나 존재할 가능성이 있었던 대상체의 부위에 대하여 상기 제공되는 방법에 따른 치료 및/또는 파괴를 받지 않은 방법에 비하여, 상기 방법에 의하여 향상된다. 예를 들어, 일부 구현예에 있어서, 상기 투여 다음 6 개월에 상기 방법으로 치료된 대상체들에 대한 무-사건 생존율 또는 확률은 약 40% 이상, 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 약 90% 이상, 또는 약 95% 이상이다. 일부 측면에서, 총 생존율은 약 40% 이상, 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 약 90% 이상, 또는 약 95% 이상이다. 일부 구현예에 있어서, 상기 방법으로 치료된 대상체는 무-사건 생존, 무-재발 생존, 또는 6 개월 이상, 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 년 이상까지 생존을 나타낸다. 일부 구현예에 있어서, 진행까지의 시간이 향상되는데, 예컨대 진행까지의 시간은 (약) 6 개월 이상 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10 년 이상이다.

[0406] 일부 구현예에 있어서, 상기 방법에 의한 치료 다음에, 재발 가능성은, 다른 방법, 예를 들어, 대상체가 하나 이상의 대안적 치료적 제제를 투여받는 방법, 및/또는 대상체가 조작된 세포가 존재하거나 존재할 가능성이 있거나 존재하였거나 존재할 가능성이 있었던 대상체의 부위에 대하여 상기 제공되는 방법에 따른 치료 및/또는 파괴를 받지 않은 방법에 비하여, 감소된다. 예를 들어, 일부 구현예에 있어서, 제1 투여 다음 6 개월에 재발 가능성은 약 80% 미만, 약 70% 미만, 약 60% 미만, 약 50% 미만, 약 40% 미만, 약 30% 미만, 약 20% 미만 또는 약 10% 미만이다.

V. 정의

[0407] 달리 정의되지 않는 한, 본 발명에 사용되는 분야의 모든 용어, 표기 및 다른 기술적 및 과학적 용어 또는 전문용어는 청구 대상이 속하는 기술 분야의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는 것으로 의도된다. 일부 경우에서, 일반적으로 이해되는 의미의 용어는 본 명세서에서 명확성 및/또는 용이한 참조를 위해 정의되며, 본 명세서에 이러한 정의가 포함된 경우에는 반드시, 당업계에서 일반적으로 이해되는 것 이상의 실질적인 차이를 나타내는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0408] 본 발명에서 사용되는 바, "대상체"는 인간 또는 다른 동물과 같은 포유류이고, 통상 인간이다. 일부 구현예에 있어서, 면역조절 폴리펩타이드, 조작된 세포 또는 조성물이 투여되는 대상체, 예를 들어, 환자는 포유류, 통상 인간과 같은 영장류이다. 일부 구현예에 있어서, 영장류는 원숭이 또는 유인원이다. 대상체는 남성 또는 여성이 될 수 있으며 유아, 청소년, 청년, 성인 및 노인 대상체를 포함하는 임의의 적절한 연령일 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 대상체는 설치류와 같은, 비-영장류 포유류이다.

[0409] 본 발명에서 사용되는 바, "치료" (및 그 문법적 변형, 예컨대 "치료하다" 또는 "치료하는")은 질환 또는 질병 상태 또는 장애 또는 그와 관련된 증상, 부작용 또는 결과, 또는 표현형의 완전한 또는 부분적 개선 또는 감소를 말한다. 치료의 바람직한 효과는 질환의 발생 또는 재발 방지, 증상의 완화, 질환의 직접적인 또는 간접적인 병리학적 결과의 감소, 전이 방지, 질환 진행률 감소, 질환 상태의 개선 또는 완화, 및 관해 또는 개선된 예후를 포함하지만 이에 한정되지는 않는다. 이 용어는 질환의 완전한 치유 또는 임의의 증상에 대한 완전한 제거 또는 모든 증상 또는 결과에 대한 효과(들)을 의미하지는 않는다.

[0410] 본 발명에서 사용되는 바, "질환의 발생 지체"는 질환 (예컨대, 암)의 발생을 연기, 방해, 지연, 늦춤, 안정화, 억제 및/또는 연기하는 것을 의미한다. 이러한 지체는 질환 이력 및/또는 치료 대상인 개체에 따라 다양한 시간 길이일 수 있다. 당업자에게 명백할 바와 같이, 충분한 또는 상당한 지체는, 개체가 질환을 발생시키지 않는다는 점에서, 사실상 예방을 포함할 수 있다. 예를 들어, 전이 발생과 같은 말기 단계 암이 지체될 수 있다.

[0411] 본 발명에서 사용되는 바, "방지"는 질환에 걸리기 쉽지만 아직 그 질환으로 진단되지 않은 대상체에서 질환의 발생 또는 재발에 관한 예방을 제공하는 것을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 제공되는 세포 및 조성물은 질환의 발생을 지체시키거나 질환의 진행을 지연시키는데 사용된다.

[0412] 본 발명에서 사용되는 바, 기능 또는 활성을 "억제"시킨다는 것은, 대상 조건 또는 파라미터를 제외하고 다른 것은 동일한 조건과 비교하였을 때, 또는 다른 조건과 비교하여 상기 기능 또는 활성을 감소시키는 것이다. 예를 들어, 종양 성장을 억제하는 세포는, 상기 세포의 부재시 종양의 성장 속도와 비교하여 상기 종양의 성장 속도를 감소시킨다.

[0413] 투여의 맥락에서 제제, 예컨대 약학적 제형, 세포 또는 조성물의 "유효량"은 원하는 결과, 예컨대 치료적 또는 예방적 결과를 달성하기 위하여 필요한 투여량/양으로 및 그러한 시간 동안 효과적인 양을 말한다.

[0414] 제제, 예컨대 약학적 제형 또는 조작된 세포의 "치료적으로 유효한 양"은 원하는 치료적 결과를 달성하기 위하여, 예컨대 질환, 질병 상태 또는 장애의 치료, 및/또는 치료의 약물 동태학적 또는 약물 동력학적 효과를 달성하기 위하여 필요한 투여량으로 및 그러한 시간 동안 효과적인 양을 말한다. 치료적으로 유효한 양은 대상체의 질환 상태, 연령, 성별 및 체중, 및 투여되는 면역조절 폴리펩타이드 또는 조작된 세포와 같은 인자에 따라 달라질 수 있다. 일부 구현예에 있어서, 제공되는 방법은 면역조절 폴리펩타이드, 조작된 세포 또는 조성물을 유효량, 예를 들어 치료적으로 유효한 양으로 투여하는 것을 포함한다.

[0415] "예방적으로 유효한 양"은 원하는 예방적 결과를 달성하기 위해 필요한 투여량으로 및 그러한 시간 동안 효과적인 양을 말한다. 반드시 그러한 것은 아니지만 통상, 예방적 투여량은 질환 발생 전 또는 초기 단계에서 대상체에게 사용되기 때문에, 상기 예방적으로 유효한 양은 치료적으로 유효한 양보다 적을 것이다.

[0416] "약학적 제형"이라는 용어는 그러한 형태로서 그 안에 함유된 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적이라도 하는, 그 제형이 투여될 대상체에 허용될 수 없을만큼 독성인 어떠한 추가 성분을 함유하지 않는 제형을 말한다.

[0417] "약학적 허용 담체"는 활성 성분 이외의, 약학적 제제의 성분을 말하며, 이는 대상체에게 비독성이다. 약학적 허용 담체는 완충액, 부형제, 안정화제 또는 보존제를 포함하지만, 이에 국한되는 것은 아니다.

[0418] 본 발명에서 사용되는바, 뉴클레오타이드 또는 아미노산 위치가, 기재된 서열, 예컨대 서열 목록에 기재된 서열 내 뉴클레오타이드 또는 아미노산 위치"에 대응한다"는 것은, 표준 정렬 알고리즘, 예컨대 GAP 알고리즘을 사용하여 상기 기재된 서열과 상동성을 최대화하는 정렬시 확인된 뉴클레오타이드 또는 아미노산 위치를 말한다. 서열을 정렬시킴으로써, 당업자는 예컨대, 보존된 아미노산 잔기 및 동일한 아미노산 잔기를 가이드로서 사용하여 대응하는 잔기를 확인할 수 있다. 일반적으로, 대응하는 위치를 확인하기 위해, 가장 높은 정도의 매치가 얻어지도록 아미노산 서열을 정렬한다 (예컨대, [Computational Molecular Biology, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, New York, 1988]; [Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York, 1993]; [Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A.M., and Griffin, H.G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994]; [Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987]; 및 [Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991]; [Carrillo et al. (1988) SIAM J Applied Math 48: 1073] 참조).

[0419] 본 발명에 사용되는바, 용어 "백터"는 그것이 연결된 다른 핵산을 전파시킬 수 있는 핵산 분자를 말한다. 상기 용어는 그것이 도입된 숙주 세포의 계통에 혼입된 백터뿐만 아니라 자기 복제 핵산 구조로서의 백터를 포함한다. 특정 백터는 그들이 작동적으로 연결된 핵산의 발현을 지시할 수 있다. 이러한 백터를 본 발명에서는 "발현 백터"라 지칭한다. 백터 중에는 레트로바이러스, 예컨대 감마레트로바이러스 및 렌티 바이러스 백터와 같은 바이러스 백터가 있다.

[0420] 용어 "숙주 세포", "숙주 세포주" 및 "숙주 세포 배양체"는 상호교환적으로 사용되며, 이러한 세포의 자손을 포함하여 외인성 핵산이 도입된 세포를 지칭한다. 숙주 세포는 "형질 전환체" 및 "형질전환된 세포"를 포함하는데, 여기에는 최초의 형질전환된 세포 및 계대의 수에 관계없이 그로부터 유래된 자손이 포함된다. 자손은 핵산 함량이 부모 세포와 완전히 동일하지는 않을 수 있고, 돌연변이를 포함할 수 있다. 본래의 형질전환된 세포에서 스크리닝되거나 선택된 것과 동일한 기능 또는 생물학적 활성을 갖는 돌연변이 자손이 본 발명에 포함된다.

[0421] 본 발명에서 사용되는 바, 세포 또는 세포 집단이 특정 마커에 대해 "양성"이라는 설명은 특정 마커, 통상 표면 마커의, 세포 상의 또는 세포 내의 검출 가능한 존재를 말한다. 표면 마커를 언급할 때, 이 용어는 유세포 분석에 의하여 검출되는, 예컨대 상기 마커에 특이적으로 결합하는 항체를 이용하여 염색하고 상기 항체를 검출함으로써 검출되는 표면 발현의 존재를 말하는데, 여기서 상기 염색은, 다른 것은 동일한 조건 하에서 이소형-매치된 대조군으로 동일한 절차를 수행하여 검출된 염색을 실질적으로 초과하는 수준에서, 및/또는 상기 마커에 대하여 양성이라고 알려진 세포에 대한 것과 실질적으로 유사한 수준에서, 및/또는 상기 마커에 대하여 음성이라고 알려진 세포에 대한 것보다 실질적으로 더 높은 수준에서 유세포 분석에 의하여 검출 가능하다.

[0422] 본 발명에서 사용되는 바, 세포 또는 세포 집단이 특정 마커에 대해 "음성"이라는 설명은 특정 마커, 통상 표면 마커의, 세포 상에 또는 세포 내의 실질적인 검출 가능한 존재의 부재를 말한다. 표면 마커를 언급할

때, 이 용어는 유세포 분석에 의하여 검출되는, 예컨대 상기 마커에 특이적으로 결합하는 항체를 이용하여 염색하고 상기 항체를 검출함으로써 검출되는 표면 발현의 부재를 말하는데, 여기서 상기 염색은, 다른 것은 동일한 조건 하에서 이소형-매치된 대조군으로 동일한 절차를 수행하여 검출된 염색을 실질적으로 초과하는 수준에서 유세포 분석에 의하여 검출되지 않고, 및/또는 상기 마커에 대하여 양성이라고 알려진 세포에 대한 것보다 실질적으로 낮은 수준에서, 및/또는 상기 마커에 대하여 음성이라고 알려진 세포에 대한 것과 실질적으로 유사한 수준에서 유세포 분석에 의하여 검출된다.

[0423] 본 발명에서 사용되는바, 아미노산 서열 (레퍼런스 폴리펩타이드 서열)에 대해 사용되는 경우, "백분율 (%) 아미노산 서열 상동성" 및 "백분율 상동성"은, 서열들과, 최대치의 백분율 서열 상동성을 얻기 위하여 필요하다면 도입되는 갭을 정렬한 후, 상기 기준 폴리펩타이드 서열 내 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열 (예컨대, 대상 항체 또는 단편) 내 아미노산 잔기의 백분율로서 정의되며, 상기 서열 상동성의 일부로서 어떠한 보존적 치환은 고려하지 않는다. 백분율 아미노산 서열 상동성을 결정하는 목적을 위한 서열정렬은 이 기술 분야의 기술 범위 내 다양한 방식, 예컨대 BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 메갈리안 (DNASTAR) 소프트웨어와 같은 공중이 이용 가능한 컴퓨터 소프트웨어를 이용하여 달성될 수 있다. 이 기술 분야의 숙련자는 비교되는 서열의 전체 길이에 대해 최대 정렬을 달성하는데 필요한 임의의 알고리즘을 포함하여, 서열을 정렬하기 위한 적절한 파라미터를 결정할 수 있다.

[0424] 본 발명에서 사용되는바, 단수 형태 "a", "an" 및 "the"는 문맥상 분명히 다르게 지시하지 않는 한 복수의 대상을 포함한다. 예컨대, "a" 또는 "an"은 "적어도 하나" 또는 "하나 이상"을 의미한다. 본 발명에서 기술된 측면 및 변형은 측면들 및 변형들"로 이루어지는" 및/또는 "필수적으로 그로 이루어지는"을 포함하는 것으로 이해된다.

[0425] 본 명세서에 걸쳐, 청구된 주제의 다양한 측면이 범위 형식으로 제시된다. 범위 형식에서의 설명은 편의상 및 간략화를 위한 것이며 청구된 주제의 범위에 대한 융통성 없는 제한으로 해석되어서는 안됨을 이해해야 한다. 따라서, 범위의 설명은 가능한 모든 하위 범위 및 그 범위 내의 개별적인 수치를 구체적으로 개시한 것으로 간주되어야 한다. 예컨대, 값의 범위가 제공되는 경우, 그 범위의 상한과 하한 사이의 각각의 개재된 값 및 언급된 범위 내 임의의 언급된 또는 개재된 값이 청구된 주제 내에 포함되는 것으로 이해된다. 이들과 같은 보다 작은 범위의 상한 및 하한은 독립적으로보다 더욱 작은 범위에 포함될 수 있으며, 기술된 범위 내에서 특별히 배제된 한계에 따라 청구된 대상 내에 포함된다. 명시된 범위가 하나의 한계 또는 두 한계를 포함하는 경우, 포함된 한계들 중 하나 또는 둘 모두를 제외한 범위는 청구 대상에 포함된다. 이는 범위의 폭에 관계없이 적용된다.

[0426] 본 발명에서 사용되는 "약"이라는 용어는 이 기술 분야의 숙련자에게 용이하게 공지된 각각의 값에 대한 통상적인 오차 범위를 나타낸다. 본 발명에서 어떠한 값 또는 파라미터와 관련한 "약"의 언급은 그 값 또는 매개 변수 자체에 대한 구현예를 포함 (및 설명)한다. 예컨대, "약 X"을 언급하는 설명은 "X"에 대한 설명을 포함한다. 일부 구현예에 있어서, 약이라는 용어는 $\pm 25\%$, $\pm 20\%$, $\pm 10\%$, $\pm 5\%$ 를 말한다.

[0427] 본 발명에서 사용되는바, 조성물은 세포를 비롯한 2 이상의 산물, 물질 또는 화합물의 임의의 혼합물을 지칭한다. 이는 용액, 현탁액, 액체, 분말, 페이스트, 수성, 비수성 또는 이들의 임의의 조합일 수 있다.

[0428] 본 출원에 언급된 모든 간행물, 예컨대 특허 문헌, 과학 기사 및 데이터베이스는 각 개별 간행물이 개별적으로 참고 문헌으로 인용된 것과 동일한 정도로 모든 목적을 위해 그 전체가 참고 문헌으로 포함된다. 본 발명에서 기재된 정의가 본 발명에 참고로 인용된 특허, 출원, 공개된 출원 및 기타 간행물에 기재된 정의와 상반되거나 또는 달리 불일치하는 경우, 본 발명에 기재된 정의가 본 발명에 참고로 인용된 정의에 우선한다.

[0429] 본 발명에서 사용된 섹션 표제는 단지 조직적인 목적을 위한 것이며 설명된 주제를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.

VI. 예시적 구현예

[0430] 제공되는 구현예 중에는 다음의 것들이 있다:

1. 유전적으로 조작된 세포를 증식시키는 방법으로, 상기 방법은,

상기 유전적으로 조작된 세포가 존재하거나 존재할 가능성이 있는 또는 존재하였거나 존재할 가능성이 있었던 대상체의 부위의 파괴를 결과하고,

상기 대상체는 질환 또는 질병 상태를 치료하기 위하여 이전에 상기 유전적으로 조작된 세포의 투여를

받았으며,

상기 방법은 상기 대상체 내, 상기 부위 내, 및/또는 상기 대상체의 조직 또는 기관 또는 유액 내에서 상기 조작된 세포의 증식이라는 결과를 낳고, 및/또는 상기 부위, 조직 또는 기관 또는 유액 내 상기 조작된 세포의 수 증가라는 결과를 낳는 것인 방법.

2. 제1 구현예에 있어서, 상기 방법은 유전적으로 조작된 세포의 후속 투여를 포함하지 않고 및/또는 상기 증식은 상기 유전적으로 조작된 세포의 그러한 후속 투여 없이 달성되는 것인 방법.

3. 치료 방법으로서, 상기 방법은 대상체에게 치료 요법을 적용하는 것을 포함하고,

상기 대상체는 질환 또는 질병 상태를 치료하기 위해 이전에 유전적으로 조작된 세포를 투여받았고,

상기 방법은 대상체에서, 상기 부위에서 및/또는 상기 대상체의 조직 또는 기관 또는 유액에서 상기 조작된 세포의 증식이라는 결과를 낳고 및/또는 상기 부위, 조직 또는 기관 또는 유액에서 상기 유전적으로 조작된 세포의 수 증가라는 결과를 낳는 것인 방법.

4. 제4 구현예에 있어서, 상기 치료 요법은 상기 조작된 세포가 존재하거나 존재하는 것으로 의심되거나 존재하였거나 또는 존재할 가능성이 있는 대상체의 부위의 파괴를 포함하는 것인 방법.

5. 제3 구현예 또는 제4 구현예에 있어서, 상기 치료 요법 및/또는 상기 방법은 유전적으로 조작된 세포 또는 상기 유전적으로 조작된 세포의 후속 투여를 포함하지 않고 및/또는 상기 증식은 그러한 후속 투여 없이 달성되는 것인 방법.

6. 제3 구현예 내지 제5 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 치료 요법은 준-치료적 투여량으로 투여되고 및/또는 상기 유전적으로 조작된 세포의 증식을 통하여 그의 치료적 효과를 이끌어내는 것인 방법.

7. 제1 구현예, 제2 구현예 및 제4 구현예 내지 제6 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 부위는 병변 또는 그의 일부분이거나 그를 포함하는 것인 방법.

8. 제7 구현예에 있어서, 상기 병변은 종양인 것인 방법.

9. 제8 구현예에 있어서, 상기 종양은 1차 또는 2차 종양인 것인 방법.

10. 제1 구현예, 제2 구현예 및 제4 구현예 내지 제6 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 부위는 골수 조직이거나 그를 포함하는 것인 방법.

11. 제1 구현예, 제2 구현예 및 제4 구현예 내지 제10 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 파괴 시점에 또는 그 직전에, 상기 대상체는 반응 후에, 임의로 관해 후에 재발하였고, 및/또는 상기 유전적으로 조작된 세포의 투여에 반응하지 않았던 것인 방법.

12. 제1 구현예 내지 제11 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 대상체는, 이전의 유전적으로 조작된 세포의 투여에 대하여 반응한 후 재발하였고 및/또는 그에 반응하지 않았던 것인 방법.

13. 제1 구현예 내지 제12 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 대상체는 상기 유전적으로 조작된 세포에 대하여 반응하였었고, 상기 파괴 전에, 후속하여 반응하기를 멈추었고 및/또는 재발한 것인 방법.

14. 제1 구현예 내지 제13 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 유전적으로 조작된 세포는 상기 대상체에서 이전에 증식되었거나, 상기 파괴 전에 증식되었던 것으로 관찰된 것인 방법.

15. 제1 구현예 내지 제14 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 파괴 시점에 또는 그 직전에:

상기 대상체는 관해 상태에 있고;

혈액 내에서 검출 가능한 유전적으로 조작된 세포의 수는 감소되거나 검출 가능하지 않으며;

상기 대상체로부터의 유액 또는 조직 또는 샘플, 임의로 혈액 내에서 검출 가능한 유전적으로 조작된 세포의 수는, 상기 유전적으로 조작된 세포의 투여 후 앞선 시점과 비교하여 감소되고; 및/또는

상기 대상체로부터의 유액 또는 조직 또는 샘플, 임의로 혈액 내에서 검출 가능한 유전적으로 조작된 세포의 세포 수는, 상기 유전적으로 조작된 세포의 투여 개시 후 상기 대상체의 혈액에서 검출 가능한 또는 검출되는 상기 유전적으로 조작된 세포의 피크 또는 최대 수와 비교하여, 및/또는 상기 유전적으로 조작된 세포의 투여 다음 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 또는 14 또는 28 일 내 시점에서의 수준과 비교하여, 1.5-배,

2.0-배, 3.0-배, 4.0-배, 5.0-배, 10-배 또는 그 이상의 배수로 또는 그 이상으로 감소되는 것인 방법.

16. 제1 구현예 내지 제15 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 파괴는, 상기 유전적으로 조작된 세포의 투여 개시 후, 또는 상기 유전적으로 조작된 세포의 마지막 투여 후,

2 주, 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 1 년 또는 그 이상에,

약 2 주, 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 1 년 또는 그 이상에,

2 주, 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 1 년 또는 그 이상보다 더 후에,

약 2 주, 1 개월, 2 개월, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 1 년 또는 그 이상보다 더 후에 수행되는 것인 방법.

17. 제1 구현예 내지 제16 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 파괴는, 상기 대상체의 생체 내에서 상기 유전적으로 조작된 T 세포의 활성화 또는 기능을 직접적으로 또는 간접적으로 조절하는 것인 방법.

18. 제1 구현예 내지 제17 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 파괴는 상기 부위 또는 병변에 대한 면역조절 제제의 투여, 방사선 조사 또는 물리적 또는 기계적 조작 중 하나 이상을 포함하는 것인 방법.

19. 제1 구현예 내지 제18 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 파괴는 면역조절 제제의 투여를 포함하는 것인 방법.

20. 제19 구현예에 있어서, 상기 면역조절 제제는,

면역-억제 분자이거나 그를 포함하고,

면역 체크포인트 분자 또는 면역 체크포인트 경로의 구성원이거나 그를 포함하고, 및/또는

면역 체크포인트 분자 또는 경로의 조절자이거나 그를 포함하는 것인 방법.

21. 제20 구현예에 있어서, 상기 면역 체크포인트 분자 또는 경로는,

PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA-4, LAG-3, TIM3, VISTA, 아테노신 수용체, CD73, CD39, 아테노신 2A 수용체 (A2AR) 또는 아테노신 또는 임의의 전술한 것들을 수반하는 경로이거나 그를 포함하는 것인 방법.

22. 제1 구현예 내지 제20 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 면역조절 제제는,

BY55, MSB0010718C, 이필리무맙, 다클리주맙, 베바시주맙, 바실릭시맙, 이필리무맙, 니볼루맙, 펌브롤리주맙, MPDL3280A, 피딜리주맙, MK-3475, BMS-936559, 아테졸리주맙, 트레멜리무맙, IMP321, BMS-986016, LAG525, 우렐루맙, PF-05082566, TRX518, MK-4166, 다세투주맙, 루카투무맙, SEA-CD40, CP-870, CP-893, MEDI6469, MEDI6383, MOXR0916, AMP-224, 아벨루맙, MEDI4736, PDR001, rHlgM12B7, 울로킵루맙, BKT140, Varlilumab, ARGX-110, MGA271, 리틸루맙, IPH2201, ARGX-115, 에막투주맙, CC-90002 및 MNRP1685A, 또는 그들의 항체-결합 단편인 것인 방법.

23. 제1 구현예 내지 제22 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 면역조절 제제는 항-PD-L1 항체인 것인 방법.

24. 제1 구현예 내지 제23 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 항-PD-L1 항체는 MEDI14736, MDPL3280A, BMS-936559, LY3300054, 아테졸리주맙 또는 아벨루맙 또는 그들의 항원-결합 단편인 것인 방법.

25. 제19 구현예에 있어서, 상기 면역조절 제제는 탈리도마이드이거나 또는 탈리도마이드의 유도체 또는 유사체인 것인 방법.

26. 제19 구현예 또는 제25 구현예에 있어서, 상기 면역조절 제제는,

레날리도마이드 또는 포말리도마이드, 아마도마이드,

레날리도마이드, 포말리도마이드, 아마도마이드의 입체이성질체 또는

그들의 약학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정체, 클라스레이트 또는 다형체인 것인 방법.

27. 제19 구현예, 제25 구현예 및 제26 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 면역조절 제제는

레날리도마이드,

레날리도마이드의 입체이성질체 또는

그의 약학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 수화물, 공-결정체, 클라스레이트 또는 다형체인 것인 방법.

28. 제1 구현예 내지 제27 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 재발 후이고 상기 파괴 전에, 상기 대상체는 상기 질환 또는 질병 상태를 치료하기 위한 또는 상기 유전적으로 조작된 세포의 활성을 조절하기 위한 외인성이거나 재조합인 제제를 투여받지 않은 것인 방법.

29. 제1 구현예 내지 제19 구현예 및 제28 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 파괴는 방사선 조사를 포함하는 것인 방법.

30. 제1 구현예 내지 제19 구현예 및 제28 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 파괴는 상기 부위 또는 병변에 대한 물리적 또는 기계적 조작을 포함하고, 임의로 탐침하기 (probing), 찌르기 (poking) 또는 침투하기 (penetrating)를 포함하는 것인 방법.

31. 제30 구현예에 있어서, 상기 물리적 또는 기계적 조작은 생검을 포함하는 것인 방법.

32. 제31 구현예에 있어서, 상기 생검은 니들 또는 트로카로 수행되는 것인 방법.

33. 제31 구현예 또는 제32 구현예에 있어서, 상기 생검은 절개 생검을 포함하는 것인 방법.

34. 제1 구현예 내지 제34 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 방법은, 상기 파괴의 직전 시점에서와 비교하여, 상기 유전적으로 조작된 세포의 증식, 또는 상기 유전적으로 조작된 세포의 수의 증가라는 결과를 낳는 것인 방법.

35. 제1 구현예 내지 제34 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 유전적으로 조작된 세포의 증식은, 상기 파괴 후,

24 시간, 48 시간, 96 시간, 7 일, 14 일 또는 28 일 내에 또는

약 24 시간, 48 시간, 96 시간, 7 일, 14 일 또는 28 일 내에 일어나는 것인 방법.

36. 제1 구현예 내지 제35 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서,

상기 증식은, 상기 파괴 직전과 비교하여, 1.5-배, 2.0-배, 5.0-배, 10-배, 100-배, 200-배 또는 그 이상의, 또는 약 1.5-배, 2.0-배, 5.0-배, 10-배, 100-배, 200-배 또는 그 이상의, 혈액 내에서 검출 가능한 유전적으로 조작된 세포라는 결과를 낳거나; 또는

상기 증식은, 상기 파괴 전에 혈액 내의 조작된 세포의 이전 피크 수준과 비교하여, 1.5-배, 2.0-배, 5.0-배, 10-배, 100-배, 200-배 또는 그 이상의, 또는 약 1.5-배, 2.0-배, 5.0-배, 10-배, 100-배, 200-배 또는 그 이상의, 혈액 내에서 검출 가능한 유전적으로 조작된 세포라는 결과를 낳는 것인 방법.

37. 제1 구현예 내지 제36 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 파괴 후 시점에서 혈액 내에서 검출 가능한 유전적으로 조작된 세포의 수는:

상기 파괴 전 선행하는 시점에서 상기 유전적으로 조작된 세포의 수와 비교하여, 증가되고 (즉, 1.5-배, 2-배, 3-배, 4-배, 5-배, 10-배 또는 그 이상으로 증가);

상기 파괴 전 상기 대상체의 혈액에서 검출 가능한 상기 유전적으로 조작된 세포의 피크 또는 최대 수보다, 1.5-배 2-배, 3-배, 4-배, 5-배, 10-배, 50-배, 100-배 이상 또는 그 이상이고;

그러한 세포의 최대 수준의 피크가 혈액에서 검출된 후의 시점에서 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0.5%, 0.2% 또는 0.1% 이상의 또는 약 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0.5%, 0.2% 또는 0.1% 이상의 상기 유전적으로 조작된 세포가 혈액에서 검출 가능한 것인 방법.

38. 제1 구현예 내지 제37 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 조작된 세포는, 상기 질환 또는 질병 상태와 관련된 또는 상기 부위, 임의로 상기 병변의 환경의 세포에서 발현되는 항원에 특이적으로 결합하는 재조합 수용체를 발현하는 것인 방법.

39. 제1 구현예 내지 제38 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 질환 또는 질병 상태는 종양 또는 암인 것인 방법.

40. 제1 구현예 내지 제39 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 질환 또는 질병 상태는 백혈병 또는

림프종인 것인 방법.

41. 제1 구현예 내지 제40 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 질환 또는 질병 상태는 비-호지킨 림프종 (NHL), 급성 림프모구 백혈병 (ALL) 또는 만성 림프구성 백혈병 (CLL)인 것인 방법.

42. 제1 구현예 내지 제41 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 재조합 수용체는 T 세포 수용체 또는 기능적 비-T 세포 수용체인 것인 방법.

43. 제1 구현예 내지 제42 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 재조합 수용체는 키메라 항원 수용체 (CAR)인 것인 방법.

44. 제43 구현예에 있어서, 상기 CAR은,

상기 항원에 특이적으로 결합하는 세포 외 항원-인식 도메인, 및

ITAM을 포함하는 세포 내 신호전달 도메인을 포함하는 것인 방법.

45. 제38 구현예 내지 제44 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 항원은 CD19인 것인 방법.

46. 제44 구현예 또는 제45 구현예에 있어서, 상기 세포 내 신호전달 도메인은 CD3-제타 (CD3 ζ)쇄의 세포 내 도메인을 포함하는 것인 방법.

47. 제43 구현예 내지 제46 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 CAR은 공자극 신호전달 영역을 더 포함하는 것인 방법.

48. 제35 구현예에 있어서, 상기 공자극 신호전달 도메인은 CD28 또는 4-1BB의 신호전달 도메인을 포함하는 것인 방법.

49. 제1 구현예 내지 제48 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 조작된 세포는 CD4+ 또는 CD8+ T 세포인 것인 방법.

50. 제1 구현예 내지 제49 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 T 세포 요법은 대상체로부터 유래한 1차 세포를 포함하는 것인 방법.

51. 제1 구현예 내지 제49 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 조작된 세포는 상기 대상체에 자가조직성 (autologous)인 것인 방법.

52. 제1 구현예 내지 제49 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 조작된 세포는 상기 대상체에 동종이계성 (allogeneic)인 것인 방법.

53. 제1 구현예 내지 제52 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 대상체는 인간인 것인 방법.

54. 제1 구현예 내지 제53 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 이전에 투여된 유전적으로 조작된 세포의 투여량은, 각각 포함하기로,

1×10^5 내지 5×10^8 개의, 또는 약 1×10^5 내지 5×10^8 개의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs) 수,

5×10^5 내지 1×10^7 개의, 또는 약 5×10^5 내지 1×10^7 개의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs) 수, 또는

1×10^6 내지 1×10^7 개의, 또는 약 1×10^6 내지 1×10^7 개의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs) 수인 것인 방법.

55. 제1 구현예 내지 제54 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 이전에 투여된 유전적으로 조작된 세포의 투여량은,

1×10^8 개 이하의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs),

1×10^7 개 이하의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs),

0.5×10^7 개 이하의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs),

1×10^6 개 이하의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs),

0.5×10^6 개 이하의 총 재조합 수용체-발현 세포, 총 T 세포, 또는 총 말초 혈액 단핵구 세포 (PBMCs)인 것인 방법.

56. 제1 구현예 내지 제53 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 이전에 투여된 유전적으로 조작된 세포의 투여량은, 상기 대상체의 체중 kg당 각각 포함하기로

약 0.25×10^6 세포/kg 내지 5×10^6 세포/kg,

약 0.5×10^6 세포/kg 내지 3×10^6 세포/kg,

약 0.75×10^6 세포/kg 내지 2.5×10^6 세포/kg, 또는

약 1×10^6 세포/kg 내지 2×10^6 세포/kg인 것인 방법.

57. 제1 구현예 내지 제56 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 유전적으로 조작된 세포의 투여량은,

상기 세포를 포함하는 단일 약학적 조성물로 투여되거나, 또는

상기 세포를 포함하는 복수 개의 조성물이 함께 투여되는 것인 방법.

58. 제1 구현예 내지 제57 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서,

투여되는 상기 조작된 세포는 분할 투여량 (split dose)이고,

상기 투여량의 세포는 3 일 이하의 기간에 걸쳐 상기 투여량의 세포를 총괄하여 포함하는 복수의 조성물로 투여되는 것인 방법.

59. 제1 구현예 내지 제58 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 방법은,

임의로 대상체가 선행 파괴 후 반응한 다음 재발된 후에, 및/또는 상기 선행 파괴 후 완전한 반응을 달성하지 못했던 후에,

후속 파괴를 결과하는 것을 포함하는 것인 방법.

60. 제59 구현예에 있어서, 상기 대상체는 선행 파괴 후 상기 유전적으로 조작된 세포에 반응했었고, 이어서 후속하는 반응하기를 멈추었고 및/또는 후속하는 파괴 전에 재발한 것인 방법.

61. 제59 구현예 또는 제60 구현예에 있어서, 상기 유전적으로 조작된 세포는 상기 대상체 내에서 증식하였거나, 선행하는 파괴 후 후속하는 파괴 이전에 증식한 것인 방법.

62. 제59 구현예 내지 제61 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 후속하는 파괴의 시점에 또는 그 직전에,

상기 대상체는 관해 상태에 있고;

혈액 내에서 검출 가능한 유전적으로 조작된 세포의 수는 감소되거나 검출 가능하지 않으며;

상기 대상체로부터의 혈액 또는 조직 또는 샘플, 임의로 혈액 내에서 검출 가능한 유전적으로 조작된 세포의 수는, 상기 선행하는 파괴의 개시 후 앞선 시점과 비교하여 감소되고; 및/또는

상기 대상체로부터의 혈액 또는 조직 또는 샘플, 임의로 혈액 내에서 검출 가능한 유전적으로 조작된 세포의 세포 수는, 상기 선행하는 파괴의 개시 후 상기 대상체의 혈액에서 검출 가능한 또는 검출되는 상기 유전적으로 조작된 세포의 피크 또는 최대 수와 비교하여, 및/또는 상기 선행하는 파괴의 개시 다음 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 또는 14 또는 28 일 내 시점에서의 수준과 비교하여, 1.5-배, 2.0-배, 3.0-배, 4.0-배, 5.0-배, 10-배 또는 그 이상의 배수로 또는 그 이상으로 감소되는 것인 방법.

63. 제1 구현예 내지 제62 구현예 중 어느 하나의 구현예에 있어서, 상기 유전적으로 조작된 세포는, 상기 유전적으로 조작된 세포가 상기 파괴 없이 상기 대상체에게 투여되는 방법과 비교하여, 상기 대상체에서 증가된 또는 연장된 증식 및/또는 지속성을 나타내는 것인 방법.

64. 제1 구현에 내지 제63 구현에 중 어느 하나의 구현에 있어서, 상기 방법은, 상기 유전적으로 조작된 세포가 상기 파괴 없이 상기 대상체에게 투여되는 및/또는 상기 유전적으로 조작된 세포의 부재하에서 임의로 동일한 투여량이나 투여 일정으로 상기 치료 요법이 투여되거나 상기 파괴가 결과되는 비교 가능한 방법으로 관찰될 감소와 비교하여, 중앙 부담을 보다 큰 정도로 및/또는 더 긴 기간 동안 감소시키는 것인 방법.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

VII. 실시예

[0431] 다음의 실시예들은 오로지 설명의 목적으로 포함되며 발명의 범위를 제한하는 것으로 의도되지 않는다.

실시예 1: 항-CD19 CAR-발현 세포의 대상체로의 투여

[0432] 재발 또는 난치성 (R/R) 비-호지킨 림프종 (NHL)을 앓고 있는 28 명의 대상체들에게 항-CD19 키메라 항원 수용체 (CAR)을 발현하는 자가이식성 T 세포를 투여하였다. 대상체의 통계특성 및 기저 특징들은 표 1에 개시된다. CAR은 설치류 항체로부터 유래된 항-CD19 scFv, 면역글로불린-유래 스페이스, CD28로부터 유래된 막관통 도메인, 4-1BB로부터 유래한 공자극 영역, 및 CD3-제타 세포내 신호전달 도메인을 함유하였다. 자가조직성 CAR-발현 T 세포를 생성하기 위하여, 각각의 대상체들로부터의 혈액구 성분채집술 샘플에서 면역친화-기반 농축으로 T 세포를 분리하고, 활성화 및 항-CD19 CAR을 인코딩하는 바이러스 벡터로 형질도입한 후, 증식시켰다. 세포는 일반적으로 대략 1:1의 표적 CAR⁺ CD4⁺ T 세포 대 CAR⁺ CD8⁺ T 세포의 비로 대상체에게 투여되었다.

표 1. 통계특성 및 기저 특징	
특징	N=28
연령 중앙값, 세 (범위)	63 (37-79)
≥ 70 세, n (%)	6 (21)
남성/여성, n (%)	19/9 (68/32)
B-NHL 서브유형, n (%)	
DLBCL, NOS	16 (54)
형질전환 DLBCL	10 (36)
소포성, 등급 3B	1 (4)
MCL	2 (7)
질환 상태, n (%)	
난치*	24 (86)
화학적 난치†	23 (82)
기저 ECOG 점수, n (%)	
0	14 (50)
1	10 (36)
2	4 (14)
이전 치료 라인	
중앙값 (범위)	4 (1-8)
≥ 5, n (%)	7 (25)
이전 조절 줄기 세포 이식, n (%)	
임의 HSCT	16 (57)
동종이계성	4 (14)
자가이식성	13 (46)

* 마지막 치료에 대하여 <CR

† 마지막 화학-함유 요법에 대하여 SD 또는 PD, 또는 자가이식성 SCT 후 <12 개월에 재발

[0433] CAR-발현 T 세포의 투여 전 (d=0), 3 일간 매일 30 mg/m² 플루다라빈 및 3 일간 매일 300 mg/m² 시클로

포스파마이드를 대상체에게 처리하였다. 동결 보존된 세포 조성물을 정맥 내 투여하기 전에 해동시켰다. 치료적 T 세포 투여량은 대략 1:1의 표적 비로 제형화된 CD4+ CAR+ 세포 집단 및 제형화된 CD8+ CAR+ 집단을 투여함에 의한 특정된 (defined) 세포 조성물로서 투여되었다. d=0에, 정맥 내 주입으로, 2 가지 투여량 수준 (투여량 수준 1 (DL-1) 또는 투여량 수준 2 (DL-2)) 중 하나로, 단일-투여량 또는 2-투여량 일정으로 대상체의 치료가 개시되었다. 투여된 각 투여량은 5×10^7 (DL-1) 또는 1×10^8 (DL-2) CAR-발현 T 세포 (표적 1:1 CD4+:CD8+ 비)를 포함하였다. 이 실시예의 결과는 특정 대상체 그룹(들)에 대하여, 진행 중인 연구에서 특정 시점까지 및 특정 시점에 관찰된 결과를 언급한다.

[0029]

[0434] 다양한 투여량 일정의 CAR-T 세포 요법으로 치료된 대상체들에서 다양한 치료-응급 부작용 사건의 존재 또는 부재를 평가하였다 (표 2). 표 3에서 볼 수 있듯이, 어떠한 중증의 사이토카인 분비 증후군 (sCRS)(등급 3-5)은 관찰되지 않았고; 대상체의 36% (10/28)에서 사이토카인 분비 증후군 (CRS)이 관찰되었다. 등급 3-4의 신경독성이 14% (4/28)의 대상체에서 관찰되었고 18% (5/28)의 대상체들이 임의 등급의 신경독성을 나타내었다. 등급 2 CRS 또는 신경독성의 조기 개시에 대하여 1 명의 대상체가 토실리주맙으로 치료받았고 4 명의 환자들이 텍사메타손으로 치료받았다. 6 명의 대상체는 예방적 항-경련제를 투여받았다.

표 2. 치료-응급 부작용 사건 (TEAE)				
	DL1-S N=22	DL1-D N=3	DL2-S N=3	합계 N=28
임의의 TEAE	21 (96)	3 (100)	3 (100)	27 (96)
임의의 등급 3-5* TEAE	16 (73)	3 (100)	0	19 (68)
임의의 관련 TEAE	14 (64)	2 (67)	1 (33)	17 (61)
임의의 관련 등급 3-5* TEAE	4 (18)	1 (33)	0	5 (18)
≥15% 환자에서 보고된 모든 등급 TEAEs				
바람직한 용어, n (%)				
피로	7 (32)	2 (67)	2 (67)	11 (39)
사이토카인 분비 증후군	8 (36)	2 (67)	0	10 (36)
식욕 감소	6 (27)	1 (33)	1 (33)	8 (29)
변비	5 (23)	1 (33)	1 (33)	7 (25)
구토	5 (23)	1 (33)	1 (33)	7 (25)
설사	5 (23)	1 (33)	0	6 (21)
현기증	6 (27)	0	0	6 (21)
두통	4 (18)	1 (33)	0	5 (18)
고혈압	4 (18)	1 (33)	0	5 (18)
구역질	3 (14)	1 (33)	1 (33)	5 (18)
말초 부종	5 (23)	0	0	5 (18)
실험실 이상				
빈혈	16 (73)	1 (33)	1 (33)	18 (64)
호중구 감소	22 (100)	3 (100)	2 (67)	27 (96)
혈소판 감소	13 (59)	3 (100)	2 (67)	18 (64)

*1 등급 5 호흡 부전, 진행되어 후속 치료 개시된 MCL 환자에서 CAR-T 세포 요법과 관련 가능성이 있는 것으로 평가됨.

[0030]

표 3. 특별 대상의 치료-응급 부작용 사건				
바람직한 용어, n (%)	DL1-S N=22	DL1-D N=3	DL2-S N=3	합계 N=28
사이토카인 분비 증후군 (CRS), 임의	8 (36)	2 (67)	0	10 (36)
등급 3-4	0	0	0	0
세포독성, 임의*	4 (18)	1 (33)	0	5 (18)
등급 3-4	3 (14)	1 (33)	0	4 (14)

* 포함사항: 뇌증, 혼란 상태, 의식 상태 저하, 무기력 또는 발작

[0435] 상기 그룹 내 대상체들은, 단일-투여량 DL1의 마지막 CAR+ T cell 주입 후 진행중인 연구에서 특정 시점까지의 기간에 걸쳐 관찰된, 최상의 총 반응에 대하여 평가되었다. 총 반응의 결과를 표 4에 도시된다. 미만성 대형-세포 림프종 (DLBCL) 코호트에서 단일-투여량의 DL1으로 치료된 20 명의 대상체 중, 총 반응률 (ORR) 80% (16/20)가 관찰되었고 대상체 중 60% (12/20)가 완전 관해 (CR)의 증거를 나타내었다. 대상체 중 20% (4/20)는 부분적 반응 (PR)의 증거를, 그리고 대상체의 20% (4/20)는 진행성 질환 (PD)의 증거를 나타내었다. CAR+ T 세포 투여 전에 화학적 난치였던 대상체들 (마지막 화학-함유 요법 다음에 안정하거나 진행성 질환을 나타냈거나 자가이식성 SCT 후 12 개월 미만에 재발)에서, 총 반응률은 83%였다 (10 ORR, 7 CR, 3 PR, 2 PD, n=12). 난치였던 대상체들 (마지막 치료 다음에 완전 관해보다는 미만이었으나 화학적 난치로 간주되지는 않음) 중에서는, 총 반응률이 77%였다 (13 ORR, 9 CR, 4 PR, 4PD, n=17).

표 4. 최고 반응률			
	DLBCL 코호트, DL1 단일-투여량 일정		
	모두 (n=20)	난치* (n=17)	화학적 난치† (n=12)
ORR, n (%) [95% CI]	16 (80) [56, 94]	13 (77) [50, 93]	10 (83) [52, 98]
CR, n (%) [95% CI]	12 (60) [36, 81]	9 (53) [28, 77]	7 (58) [28, 85]
PR	4 (20)	4 (24)	3 (25)
PD	4 (20)	4 (24)	2 (17)

* 마지막 요법에 대해 <CR to last therapy

† 마지막 화학-함유 요법에 대해 SD 또는 PD 또는 자가이식성 SCT 후 <12 개월에 재발

[0436] 평가시 2 투여량의 DL-1으로 치료받았던 3 명의 DLBCL 대상체들 중, 2 명은 부분적 반응 (PR)을 나타내었고, 1 명은 진행성 질환 (PD)을 나타내었다. 평가시 단일-투여량의 DL-2로 치료받았던 2 명의 DLBCL 대상체들 중에서, 두 대상체들 모두 CR을 달성한 것으로 관찰되었다. 평가시 단일-투여량의 DL-1으로 치료된 2 명의 총 대상체들을 포함한 MCL 코호트 중에서는, 1 명의 PR 및 1 명의 PD가 관찰되었다. 더블-히트 (double-hit) 대상체 2 명, 트리플-히트 대상체 3 명, 및 더블-발현자 DLBCL 4 명이 치료받았고, 모두 반응을 달성하였다 (7 CR, 2 PR).

[0437] 말초 혈액 중의 CAR⁺ T 세포의 수를, 치료-후 특정 시점에 전이유전자-특이적 시약으로 세포를 반응시켜 측정하였다. 주입-후 특정 시점에 측정된 말초 혈액 내 CD3⁺/CAR⁺ T 세포의 수를 최고 총 반응에 따라 그룹화한 대상체들에 대하여 도 1a에 도시하였다. PD에서보다 반응자들 (CR/PR)에서 더 높은 CD3⁺/CAR⁺ T 세포 피크가 관찰되었다. 도 1b-d는, 반응의 지속성에 의하여 그룹화된 반응인, 3 개월에 연속된 반응 (CR/PR) 또는 PD를 달성한 대상체들에서 CD3⁺/CAR⁺ T 세포의 수준, CD4⁺/CAR⁺ T, 및 CD8⁺/CAR⁺ T 세포 수준 (세포/혈액 μ L; 평균 $\pm$ SEM)을 보여준다. 반응자들 (CR/PR) 및 PD에 대한 C_{max} (CAR⁺ 세포/혈액 μ L) 및 곡선하영역 (AUC)을 결정하였고 표 5에 도시하였다. 결과는, 시간 경과에 따라 그리고 피크 증식에서, 지속적인 반응은 더 높은 CD3⁺/CAR⁺ T 세포 수준과 관련되어 있다는 결론과 일치하였다.

표 5. PD 대비 CR/PR 환자들에서 더 높은 C_{max} 및 AUC_{0-28}

	CD3		CD4		CD8	
	CR/PR (n=16)	PD (n=4)	CR/PR (n=16)	PD (n=4)	CR/PR (n=16)	PD (n=4)
C_{max} (CAR ⁺ 세포/혈액 μ L blood)						
평균 (SD)	612 (1919)	2 (1)	220 (754)	1 (0.6)	426 (1314)	0.5 (0.5)
중앙값 (최소, 최대)	33 (1, 7726)	1 (1, 3)	8 (1, 3040)	1 (0, 2)	4 (0, 5238)	0.3 (0, 1)
Q1, Q3	7, 123	0.7, 2	2, 46	0.6, 2	0.8, 104	0.1, 0.9
AUC_{0-28}						
평균 (SD)	5883 (18821)	16 (13)	2369 (8388)	10 (7)	3873 (11963)	6 (6)
중앙값 (최소, 최대)	196 (11, 75773)	14 (4, 31)	47 (7, 33740)	9 (3, 17)	23 (1, 47834)	4 (1, 14)
Q1, Q3	52, 781	5, 26	16, 261	4, 16	4, 761	1, 10

실시예 2: 항-CD19 CAR-발현 세포의 제-중식

[0438] 실시예 1에서 논의한 바와 같이 DL-1 일정에 따라 CAR⁺ T 세포를 투여받은 화학적 난치 변형 DLBCL (BCL2 재배열 및 다수 카피의 MYC 및 BCL6을 갖는 생식세포 중심 서브유형)을 앓는 1 명의 대상체에 대하여, 특정 시점에서 측정된, 말초 혈액에서 CD3+/CAR+, CD4+/CAR+, CD8+/CAR+ T 세포의 수를 도 2a에 도시하였다. 상기 대상체는 투여량-조정 에토포사이드, 독소루비신 및 시클로포스파마이드 병용 빈크리스틴 및 프레드니손 플러스 리툭시맵 (DA-EPOCH-R) 및 8/8 HLA-매치 무관 증여자로부터 중간-강도 동종이계 줄기-세포 이식 (intermediate-intensity allogeneic stem-cell transplantation)을 포함하는 5 가지 이전의 치료 라인으로 치료 받았었고 그에 불응성이었다. 동종이계 줄기 세포 이식 다음 CAR⁺ T 세포를 투여받기 전, 상기 대상체는 모든 혈액 계통에서 100% 증여자 키메라즘을 보였고, 면역억제 요법을 중단했었으며, 이식편대숙주 질환 (GVHD)을 갖지 않았다. CAR⁺ T 세포의 투여 전에, 상기 대상체는 양전자 방출 단층 촬영 및 컴퓨터 단층 촬영 (PET-CT)에 의하여 관찰되고 (도 2b) 자기 공명 영상 (MRI)로 확인된 (도 2d) 귀주위부 매쓰 (periauricular mass) 및 우-측두엽 뇌 병변을 가지고 있었다.

[0439] 항-CD19 CAR-T 세포 치료를 받은 후, 상기 대상체는, 주입-후 28 일에, PET-CT (도 2c) 및 뇌 MRI (도 2e)로 도시되는 바와 같이, 어떠한 신경독성이나 CRS의 징후가 관찰되지 않고 CR을 달성하였다. CAR-T 세포 주입-후 3 개월에, 이 대상체에서 귀주위 매쓰의 재발이 발견되었고 (도 2f) 절개 생검이 수행되었다. 도 2a에 도시되는 바와 같이, 생검 다음에, 가시적인 종양은 추가적인 치료없이 회피해졌다. 약물동태학 분석은 말초 혈액에서 CAR-T 세포의 현저한 제-중식을 보여주었는데 (최초 관찰된 중식보다 더 높은 수준으로, 주입-후 약 113 일에 피크 수준 관찰됨), 이는 종양 퇴행과 일치하였다. 그 후, 대상체는 생검 다음 1 개월에 리스테이징 PET-CT (restaging PET-CT)에 의하여 확인되었듯이 (도 2g) 제2 CR을 계속하여 달성하였고, CAR-T 세포 주입 후 6 개월에 CR을 유지하였다. 상기 대상체에 대한 추가적인 평가는 CNS 반응이 지속 가능한 것이었고 상기 대상체는 12 개월에 CR을 유지하였음을 보여주었다.

[0440] 상기 결과는 CAR-T 세포의 제-중식 및 활성화가, 기능적 또는 활성인 CAR⁺ T 세포의 감소 또는 소실 후에 및/또는 CAR-T 세포 요법에 대한 항-종양 반응 다음의 재발 후에 생체 내에서 개시될 수 있다는 결론과 일치한다. 또한, 초기 CAR⁺ T 세포 주입 후 생체 내에서의 늦은 제-중식 후에, CAR⁺ T 세포는 항-종양 활성을 다시 나타낼 수 있다. 이 결과는 CAR⁺ T 세포 제-중식 및 활성화가 생체 내에서 촉발될 수 있으며, CAR⁺ T 세포를 재 활성화시키는 방법이 그들의 효능을 추가로 증가시킬 수 있다는 것을 뒷받침한다.

실시예 3: 재발 및 난치성인 비-호지킨 림프종 (NHL)을 앓고 있는 대상체로의 항-CD19 CAR-발현 세포의 투여

A. 대상체 및 치료

[0442] CD19에 특이적인 키메라 항원-수용체 (CAR)를 발현하는 자가이식 T 세포를 함유하는 치료적 CAR⁺ T 세포 조성물을 B 세포 악성 종양 대상체에게 투여 하였다.

실시예 3.A.1

[0045] [0442] B 세포 악성 종양 환자에게 그러한 치료법을 투여하는 진행중인 임상 연구에서 특정 시점을 통하여 평가한 결과가 이 실시예 3.A.1에 기재되어 있다. 구체적으로, 코호트 (전체 코호트)(이 시점에서, 55 명)은 재발성 또는 불응성 (R/R) 공격적 비-호지킨 림프종 (NHL), 미만성 거대 B 세포 림프종 (DLBCL), 신생 또는 변형 지연성 림프종 (NOS), 원발성 종격동 거대 b-세포 림프종 (PMBCL) 및 여포성 림프종 등급 3b (FLG3B)을 가진 성인 인간 대상체들을 포함한다. 치료된 대상체들 중에는 Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 점수가 0과 2 사이인 대상체들이 있었다 (추적 중앙값 3.2 개월). 전체 코호트에는 맨틀 세포 림프종 (MCL) 대상체는 포함되지 않았다. 이전의 동종이계 줄기 세포 이식 (SCT) 2 차 중추 신경계 (CNS) 관련 또는 ECOG 점수 2에 근거하여 제외된 대상체는 없었고, 성분채집술이 필요한 최소 림프구 절대 수 (ALC)도 없었다.

[0046] [0443] 결과는 전체 코호트 내 대상체들의 코어 서브 세트 (열악한 기능 상태 (ECOG 2), 변연부 림프종 (MZL)로부터 변형된 DLBCL 및/또는 만성 림프구성 백혈병 (CLL Richter's)을 갖는 대상체들을 제외한 전체 코호트 내 환자들)(핵심 코호트)에 대하여 개별적으로 평가되었다. 실시예 3.A.1의 시점에서, 이 핵심 코호트 내 44 명의 대상체에 대한 결과를 개별적으로 평가하였다.

[0047] [0444] 이 실시예 3.A.1의 시점에서 평가된 전체 및 코어 코호트 대상체들의 통계특성 및 기저 특징이 표 6에 나타나 있다.

표 6. 통계특성 및 기저 특징		
특징	전체 N=65	코어 N=44
중앙값 연령, 세 (범위)	61 (29-82)	61 (29-82)
≥ 65 세, n (%)	22 (40)	17 (39)
남성/여성, n (%)	38/17 (60/31)	28/16 (64/36)
진단으로부터의 개월수, 중앙값 (범위)	17 (3-259)	20 (8-259)
B-NHL 서브유형, n (%)		
DLBCL, NOS	40 (73)	35 (80)
변형 DLBCL	14 (26)	8 (18)
소포성, 등급 3B	1 (2)	1 (2)
분자 서브유형, n (%)		
더블/트리플 히트	15 (27)	12 (27)
더블 발현자	6 (11)	4 (9)
환자 특징, n (%)		
화학적 난치 [†]	42 (76)	34 (77)
ECOG 0-1	48 (87)	44 (100)
ECOG 2	7 (13)	0
이전의 치료 라인, 중앙값 (범위)	3 (1-11)	3 (1-8)
< 5 치료 라인	44 (80)	37 (84)
임의의 HSCT	27 (49)	22 (50)
동종이계성	4 (7)	3 (7)
자가이식성	24 (44)	20 (45)

[0048] † 마지막 화학-함유 요법에 대해 SD 또는 PD 또는 자가이식성 SCT 후 <12 개월에 재발

[0049] [0445] 투여되는 치료용 T 세포 조성물은 치료될 각 대상체로부터의 백혈구 성분채집 샘플로부터 CD4+ 및 CD8+ 세포의 면역 친화성-기반 농축을 포함하는 공정에 의해 생성되었다. 단리된 CD4+ 및 CD8+ T 세포를 활성화시키고 항-CD19 CAR을 인코딩하는 바이러스 벡터로 형질도입한 다음, 조작된 세포 집단의 증식 및 냉동 보존을 수행하였다. CAR은 설치류 항체로부터 유래하는 항 CD19 scFv, 면역글로불린-유래 스페이스, CD28 유래의 막관통 도메인, 4-1BB 유래 공자극 영역 및 CD3-제타 세포 내 신호전달 도메인을 함유하였다.

[0050] [0446] 동결보존된 세포 조성물을 정맥 내 투여하기 전에 해동시켰다. 치료적 T 세포 투여량은, 대략 1:1의 표적 비로 투여되는 제형화된 CD4+ CAR+ 세포 집단 및 제형화된 CD8+ CAR+ 집단을 투여함으로써 특정된 세포 조성물로서 투여되었다. 대상체들은 다음과 같은 단일 투여량 또는 2 투여량의 CAR-발현 T 세포를 투여받았다 (각각

의 단일 투여량은 CD4+ CAR-발현 T 세포 및 CD8+ CAR-발현 T 세포를 분리 주입함에 의함): 5×10^7 총 CAR-발현 T 세포를 함유하는 단일 투여량의 투여량 수준 1 (DL-1)11s (실시에 3.A.1에서 평가되는 대상체들에 대하여 n=30), 각 투여량이 대략 14 일 파트로 투여되는 2 투여량의 DL1 (실시에 3.A.1에서 평가된 대상체들에 대하여 n=6, 투여량 오류로 인하여 실수로 2-투여량 일정을 통하여 DL2 투여량을 2 번 받은 1 명의 대상체를 포함함), 또는 1×10^8 (DL-2) 총 CAR-발현 T 세포를 함유하는 단일 투여량의 투여량 수준 2 (DL-2) (실시에 3.A.1에서 평가된 대상체들에 대하여 n=18). CAR+ T 세포 주입 3 일 전에 개시하여, 대상체들은 플루다라빈 (flu, 30 mg/m²) 및 시클로 포스파마이드 (Cy, 300mg/m²)로 림프구고갈 화학요법을 받았다.

[0051] 실시예 3.A.2

[0447] 실시예 3.A.2에서는, 상기 이 실시예 3에 기재되는 임상 연구의 후속 시점에서, 결과를 분석하였다. 이 분석 시점에서, 74 명의 환자가 치료받았었다 (남성 51 명, 여성 23 명). 대상체들은, 전체 DLBCL 코호트에 69 명의 대상체들 (67 명 DLBCL NOS (45 명 신생, 14 명은 FL로부터 변형, 8 명은 CLL 또는 MZL로부터 변형), 1 명 FL 등급 3B, 1 명 PMBCL을 포함함); 및 MCL 코호트에 5 명의 대상체들을 포함하였다. 전체 (DLBCL) 코호트의 대상체들 중 중앙값 연령은 61 세 (범위 26, 82)였고, 이전의 치료법 중앙값은 3 회 (범위 1, 12)이었고, 46 명 (67%)은 화학적 난치, 32 명 (46%)은 이전에 장기이식을 받았고, 최소 16 명 (23%)의 환자는 더블/트리플 히트 림프종이었다. 코어 코호트에서 49 명의 대상체들이 3.A.2의 이 시점에서 평가되었다.

[0053] B. 안전성

[0448] CAR-T 세포 요법의 투여 다음에 치료-응급 부작용 사건 (TEAE)의 존재 또는 부재를 평가하였다. 국립 암 연구소 (National Cancer Institute)-공통 독성 기준 (CTCAE), 버전 4.03 (NCI-CTCAE v4.03)에 따라 1-5 점 스케일로 등급화하여, 대상체들을 또한 신경독성 (혼란, 실어증, 뇌증, 근경련 발작, 경련, 무기력 및/또는 정신 상태 변화를 포함하는 신경학적 합병증)에 대하여 평가하고 모니터링하였다. [Common Terminology for Adverse Events (CTCAE) Version 4, U.S. Department of Health and Human Services, Published: May 28, 2009 (v4.03: June 14, 2010)]; 및 [Guido Cavaletti & Paola Marmioli *Nature Reviews Neurology* 6, 657-666 (December 2010)] 참조. 사이토카인 분비 증후군 (CRS) 역시 중증도에 기초하여 등급화되어, [Lee et al, *Blood*. 2014;124(2):188-95] 참조.

[0055] 실시예 3.B.1

[0449] 실시예 3.B.1은 실시예 3.A.1의 분석 시점에 기초한 결과를 기술한다.

[0450] 도 3은 대상체의 $\geq 20\%$ 에서 발생하는, 실험실 이상 및 TEAE를 경험한 것으로 관찰된 대상체들의 백분율을 도시한다. 도 3에 도시된 TEAE에 더하여, 다음의 사건들이 환자의 $\geq 5\%$ 에서 등급 3-4로 관찰되었다: 백혈구 수 감소 (13.6%), 뇌증 (12%), 고혈압 (7%). 관찰된 독성 정도는 투여량 수준 1과 2 사이에서 일관되었다.

[0451] 실시예 3.B.1 분석의 전체 코호트 대상체 중 84%에서 중증 (3 등급 이상) 사이토카인 분비 증후군 (CRS) 및 심한 신경 독성은 관찰되지 않았다. 또한 전체 코호트 대상체 중 60%가 어떠한 등급의 CRS 또는 신경독성도 나타내지 않았다. 투여량 수준 간에, 어떠한 CRS, 신경독성 (NT), sCRS 또는 중증 신경독성 (sNT)의 발생률 차이는 없었다. 표 7은 CAR-T 세포의 최소 1 투여량 28 일 후의 환자에서의 사이토카인 분비 증후군 (CRS) 및 신경독성 부작용 사건의 발생률을 요약하고 있다. 표 7에서 볼 수 있듯이, 단일 투여량의 DL2 또는 2 투여량의 DL1을 투여받은 어떤 대상체에서도 sCRS (3-4 등급)이 관찰되지 않았다. 중증 신경독성 또는 중증 CRS (등급 3-4)가 대상체 전체 코호트의 16% (9/55)에서 관찰되었고, 코어 서브세트의 대상체의 18% (8/44)에서 관찰되었다. 대상체들 중 11% (n = 6)가 토실리주맙을, 대상체들 중 24% (n = 13)가 텍사메타손을 투여받았다. 전체 코호트 내 ECOG2 대상체들 중에서, 관찰된 CRS 및 신경독성률은 각각 71%와 29%였다.

표 7. 실시예 3.B.1에서 CRS 및 신경독성 부작용 사건의 존재 또는 부재 평가					
	전체				코어
	모든 투여량 수준	DL1S	DL2S	DL1D [†]	
안전성, N	55	30	19	6	44
sCRS 또는 sNT, n (%)	9 (16)	6 (20)	2 (11)	1 (17)	8 (18)
CRS 또는 NT, n (%)	22 (40)	12 (40)	7 (37)	3 (50)	15 (34)
CRS					
등급 1-2, n (%)	18 (33)	10 (33)	5 (26)	3 (50)	12 (27)
등급 3-4, n (%)	1 (2)	1 (3)	0	0	1 (2)
신경독성					
등급 1-2, n (%)	3 (6)	1 (3)	2 (11)	0	2 (5)
등급 3-4, n (%)	9 (16)	6 (20)	2 (11)	1 (17)	8 (18)

[†] 투여량 오류로 인하여 DL2 2-투여량 일정으로 치료된 1 명의 환자 포함.

[0452] 도 4는 3.B.1에서의 분석에 대한 CRS 및/또는 신경독성의 발병까지 관찰된 시간을 도시한 Kaplan Meier 곡선을 보여준다. 보여지는 바와 같이, CRS 발병 및 신경독성 발병까지의 시간의 중앙값은 각각 5 일 및 11 일이었으며, 세포 요법의 투여 개시 후 72 시간 이내에 CRS 발병을 경험한 환자는 11%에 불과했다. 등급 1로 CRS 및 신경독성이 해소되기까지의 시간 중앙값은 각각 5 일과 7 일이었다. CRS 및 신경독성의 완전한 해소까지의 시간 중앙값은 각각 5 일과 11 일이었다. 그 결과는 대상체들에서 CRS 또는 신경독성의 조기 발병율이 낮았다는 결론과 일치했다.

실시예 3.B.2

[0453] 실시예 3.B.2는 실시예 3.B.2의 시점에서의 평가를 기술한다. 이 시점까지, 부작용 사건 (AE) 데이터는 CAR-발현 T 세포의 투여 후 90 일까지 림프구고갈 (LD)로부터 수집되었다. 두 번째 시점에서, DLBCL 코호트 (전체 코호트)의 69 명의 대상체들은 안전성을 평가받았고, 그 중 38 명은 DL1 단일 투여량을 받았고, 25 명은 DL2 단일 투여량을 받았고, 6 명은 DL1 2 투여량 일정을 투여받았다. 호중구 감소증 (41%, 28/69), 피로감 (30%, 21/69), 혈소판 감소증 (30%, 21/69) 및 빈혈 (26%, 18/69)이 CRS 또는 NT 이외의 가장 흔한 TEAE로 포함되었다. 확산성 폐포 손상 등급 5가 1 명 관찰되었다.

[0454] 전체 코호트에서 어떠한 급성 주입 독성은 관찰되지 않았으며, 대다수의 대상체들, 64% (44/69)는 어떠한 CRS 또는 NT를 나타내지 않는 것으로 관찰되었고, CAR-발현 T 세포의 외래환자 전달이 가능할 수 있음을 나타냈다. CRS와 NT를 포함하는 CAR T 세포-관련 독성의 비율은 투여량 수준에 따라 차이가 없었다. 안전성 프로파일은 코호트들 및 투여량 수준들에 걸쳐 유사한 것으로 관찰되었다. CRS 또는 NT를 경험한 전체 코호트 내 25 명 대상체들 (36%) 중, CRS가 21 명 (30%), NT가 14 명 (20%)이었다. 등급 3 CRS였던 대상체는 없었으며 등급 4 CRS였던 대상체가 1 명 (1/69)이었고 ICU 치료를 요하였으며; 다른 29% (20/69)는 1-2 등급 CRS였다. NT인 20%의 대상체들 중, 6% (4/69)는 등급 1-2였고, 14% (10/69)는 3-4 등급이었으며; 2 명 (3%)은 발작을 일으켰다. 어떠한 등급 5 CRS 또는 등급 5 NT도 관찰되지 않았다. 뇌 부종의 발생은 관찰되지 않았다. 모든 CRS와 NT 사건은, 분석 당시 진행중이었던 등급 1의 진전 (tremor) 사례 하나를 제외하고는 모두 해소되었다. 첫 번째 CRS와 NT의 발병까지의 시간 중앙값은 각각 5 일 (범위 2, 12)과 10 일 (범위 5, 23)이었다. 주입 후 처음 72 시간에, 어떠한 대상체도 NT인 것으로 관찰되지 않았고, 오로지 10% (7/69)만이 CRS인 것으로 관찰되었으며 (모두 등급 1); NT 대상체의 ≥70%서 CRS가 선행되었다. 전체적으로, 13 명의 대상체들 (19%)가 항-사이토카인 요법 (토실리주맙 단독 1 명 (1%), 텍사메타손 단독 6 명 (9%), 또는 두 약제 모두 6 명 (9%))으로 CRS나 NT에 대한 개입을 요하였으며, 오로지 1 명이 임의의 승압제의 지원을 요하였다. 토실리주맙 및 텍사메타손 투여량의 중앙값은 각각 1과 6이었다. CRS와 NT의 투여기간 중앙값은 각각 5 일과 11 일이었다. 코어 코호트 (n = 49)의

분석도 유사한 CRS와 NT 비율을 보였다.

[0064]

[0455] 이 평가에서, CRS 및/또는 NT의 낮은 발병 및 늦은 개시가 두 투여량 수준 모두에서 관찰되었는데, 발열의 첫 징후시 또는 특정 시간에 걸쳐 지속되는 발열시 병원 입원하는 것과 같은, 외래 환자 주입의 가능성을 뒷받침했다. 5 등급 CRS 또는 5 등급 NT는 관찰되지 않았고 모든 중증 CRS 및 중증 NT는 해소되었다. 또한 3 명의 환자 중 대략 2 명이 CRS 또는 NT가 아니었고, 이는 세포가 외래 환자에게 투여될 수 있음을 뒷받침하였다. 3.B.2의 평가 당시, 4 명의 대상체는 외래로 치료를 받았었다. DL1 또는 DL2를 투여받은 환자에서 독성의 의미 있는 차이는 관찰되지 않았으며 이는 독성의 위험 또는 안전성에 대한 우려를 증가시키지 않으면서 더 높은 반응률을 달성함을 나타낸다.

[0065]

C. 치료 다음의 반응 결과

[0066]

[0456] 예컨대, CAR+ T 세포 투여 후 1, 3, 6, 7, 12, 18 및 24 개월에 종양 부담을 평가함에 의하여, 반응에 대하여 대상체들을 모니터링 하였다.

[0067]

실시예 3.C.1

[0068]

[0457] 실시예 3.C.1은 실시예 3.A.1 및 3.B.1의 분석 시점에 기초한 결과를 기술한다.

[0069]

[0458] 반응률이 표 8에 열거되어 있다. 높은 지속적 반응률은, 강도높게 전처리된 대상체들 또는 불량한 예후 및/또는 재발성 또는 불응성 질환이 있는 대상체들을 포함하였던 코호트에서 관찰되었다. 코어 (n = 44) 코호트의 모든 투여량들에 걸친 대상체들에 대하여, 관찰된 전체 반응률 (ORR)은 86%였고 관찰된 완전한 반응률 (CR)은 59%였다. 코어 코호트에서 3 개월에, 전체 반응률 (ORR)은 66%였고; 그 코어 코호트 중에서 3-개월 CR률은 50%였다. 상기 코어 코호트에서, 3 개월 ORR은 투여량 수준 1에서 58% (11/19)였고 투여량 수준 2에서 78%였으며; 3 개월 CR률은 투여량 수준 1에서 42% (8/19), 투여량 수준 2에서 56% (5/9)이었고, 이는 치료 결과에 대해 시사된 투여량 반응 효과와 일치하였다. 또한, 상기 결과는 투여량과 반응 지속성 간의 관계와 일치한다.

표 8. 반응								
	전체				코어			
	모든 투여량 수준	DL1S	DL2S	DL1D ^c	모든 투여량 수준	DL1S	DL2S	DL1D ^a
최고 총 반응, N ^a	54	30	18	6	44	25	15	4
ORR, % (95% CI)	76 (62, 87)	80 (61, 92)	72 (47, 90)	67 (23, 96)	86 (73, 95)	84 (64, 95)	87 (60, 98)	100 (40, 100)
CR, % (95% CI)	52 (38, 66)	53 (34, 72)	50 (26, 74)	50 (12, 88)	59 (43, 74)	56 (35, 76)	60 (32, 84)	75 (19, 99)
≥ 3 개월 f/u, n ^b	41	24	11	6	32	19	9	4
3 개월 ORR, % (95% CI)	51 (35, 67)	46 (26, 67)	64 (31, 89)	50 (12, 88)	66 (47, 81)	58 (34, 80)	78 (40, 97)	75 (19, 99)
3 개월 CR, % (95% CI)	39 (24, 56)	33 (16, 55)	46 (17, 77)	50 (12, 88)	50 (32, 68)	42 (20, 67)	56 (21, 86)	75 (19, 99)

DL1S: DL1 1-투여량 일정; DL2S: DL2 1-투여량 일정; DL1D: DL1 2-투여량 일정;

^a PD, 사망, 또는 28 일 리스테인징 스캔 사건이 있는 환자들을 포함하였다.

데이터 스냅샷 이전 <28 일에 치료된 환자들은 제외되었다.

^b 분모는 3 개월에 효능 평가를 통하여 데이터 스냅샷 이전, 또는 PD 또는 사망의 ≥3 개월 전 CAR T-세포 요법을 받았던 환자 수이다.

^c 투여량 오류로 인하여 DL2 2-투여량 일정으로 치료받은 1 명의 환자를 포함한.

[0070]

[0071]

[0459] 전체 코호트 및 코어 코호트에서 대상체들의 다양한 서브그룹 중에서의 총 반응률을 각각 도 5a 및 5b에 도시하였다. 저-위험 DLBCL 서브그룹에서는, 일반적으로 반응률이 높았다. 원발성 난치성의 또는 화학적 난치성

DLBCL이었거나 또는 이전에 전혀 CR을 달성한 적이 없었던, 더블/트리플 히트 분자 서브유형의 환자들에서 3 개월에 50%를 넘는 ORR이 관찰되었다. 2 명의 환자에게서, 림프종에 의한 CNS 침범의 완전한 해소가 관찰되었다.

[0072] [0460] 평가의 특정 시점 이전에 6 개월 이상 치료된 대상체들 중, 3 개월에 반응을 보인 10 명의 환자 중 9 명 (90%)이 6 개월에도 반응을 보였다. 평가 시점에서, 반응한 코어 서브세트의 97% 대상체들은 생존해 있었고 추적 관찰에서 추적 관찰 기간의 중앙값은 3.2 개월이었다.

[0073] [0461] 대상체들의 전체 및 코어 코호트에 대한 반응 및 총 생존의 기간에 대한 결과 (최고 총 반응 (무-반응자, CR/PR, CR 및/또는 PR)에 의해 그룹화됨)를 도 6a 및 6b에 각각 나타내었다. 나타난 바와 같이, CR 인 대상체들에서 반응의 지속성 증가를 나타내면서 생존의 연장이 반응자들에게서 관찰되었다. 열악한 결과 상태인 대상체들 5/6 명이 종료되었지만 (ECOG 2), 3 개월에 반응한 모든 환자는 평가 시점에 생존해 있었다.

[0074] **실시예 3.C.2**

[0075] [0462] 실시예 3.C.2는 실시 예 3.A.2 및 3.B.2의 분석 시점에 기초한 결과를 기술한다.

[0076] [0463] 실시예 3.C.2의 시점까지, 전체 DLBCL 코호트 중 68 명의 대상체들을 그들의 반응에 대해 평가하였다. 총 또는 객관적 반응 (OR), 3 개월 및 6 개월 객관적 반응률은 각각 75% (51/68), 49% (27/55) 및 40% (14/35)였다. 완전한 반응 (CR)률, 3 개월 CR률, 6 개월 CR률은 각각 56% (38/68), 40% (22/55), 37% (13/35)였다. DL1에 비해, DL2로 치료된 대상체들에서 3 개월에 개선된 반응을 경향이 관찰되었다: $p = 0.148$ 로 ORR에 대하여 63% (12/19; 95% CI 38, 84) 대 40% (12/30; 95% CI 23, 59), $p = 0.0385$ 로 CR에 대하여 58% (11/19; 95% CI 34, 80) 대 27% (8/30; 95% CI: 12, 46). 16 명의 더블/트리플 히트 림프종 대상체들 중에서 ORR은 81%였고, 3 개월 CR률은 60%였다.

[0077] [0464] 코어 코호트 (실시예 1.C.2의 시점에서 $n = 49$)에서, OR, 3 개월 및 6 개월 OR률은 각각 84% (41/49), 65% (26/40), 57% (13/23)이었다. CR률, 3 개월 CR률, 6 개월 CR률은 각각 61% (30/49), 53% (21/40), 52% (12/23)였다. 더 높은 투여량에서 3 개월에 지속적인 ORR 및 CR 향상의 유사한 경향이 관찰되었다. 구체적으로, DL1 투여된 코어 코호트 대상체들에서의 52% (11/21, 95% CI 30, 74) 및 33% (7/21, 95% CI 15, 57)의 3-개월 ORR 및 CR률과 비교하여, DL2 투여된 코어 코호트의 환자들에 대하여 각각 $p = 0.159$ 및 $p = 0.0409$ 로 3-개월 ORR은 80% (12/15, 95% CI 52, 96)였고 3-개월 CR은 73% (11/15, 95% CI 45, 92)였다. DL2를 투여받고 3-개월 추적한 코어 코호트의 대상체들 중에서 ($n = 15$), 3-개월 ORR은 80%였고 3-개월 CR은 73%였다.

[0078] [0465] 1.C.2의 이 시점에서 전체 코호트 및 코어 코호트에서의 DOR의 중앙값은 각각 5.0 및 9.2 개월이었고; CR의 지속기간 중앙값은 전체 코호트에서 9.2 개월이었다. 코어 코호트에서 CR의 지속기간 중앙값은 도달되지 못했다. 총 생존 (OS)의 중앙값은 전체 코호트에서 13.7 개월이었고 코어 코호트에서는 도달되지 못했다. 추적 기간의 중앙값 5.8 개월로, 6-개월 OS는 전체 코호트에서 75%였다. 추적 기간의 중앙값 5.6 개월로 6-개월 OS는 핵심 코호트에서 88%였다.

[0079] **D. 혈액에서 CAR⁺ T 세포의 평가**

[0080] [0466] 실시예 3.A.1, 3.B.1 및 3.C.1에 기재된 시점으로부터의 데이터에 근거하여, 약물동태학적 분석을 수행하여, 말초 혈액에서의 CAR⁺ T 세포의 수를 치료-후 다양한 시점에서 평가 하였다. DLBCL 코호트에서 실시예 3.A.1의 시점에서 평가된 55 명의 대상체들 및 하기 실시예 4에서 기재되는 맨틀 세포 림프종 (MCL)에서의 4 명의 대상체들 (동일한 시점에서 평가)로부터의 결과를 분석하였다. 검증된 유세포 분석법을 사용하여 CAR 컨스트럭트에서 발현되는 마커를 검출하고, CAR 컨스트럭트의 통합을 검출하기 위한 정량적 PCR-기반의 분석법을 사용하여 약물동태학 (PK) 측정을 수행하였다. B 세포 무형성증은 항-CD19 항체를 사용한 유세포 분석법으로 평가되었다. 도 7a에 도시된 바와 같이, 로그 스케일로 플로팅된 세포수/혈액 μ l로 측정된 (중앙값 $\pm$ 사분위수) CD4⁺ 및 CD8⁺ CAR-발현 세포는 투여된 두 투여량 수준 모두에서 평가 과정을 통하여 검출되었다. DL1과 비교하여, DL2를 투여받은 대상체들이 말초 혈액에서 CD3⁺/CAR⁺, CD4⁺/CAR⁺, 및 CD8⁺/CAR⁺ T 세포 서브세트에 대해 더 높은 중앙값 C_{max} 및 중앙값 AUC_{0-28} 을 가졌다 (AUC_{0-28} : CD3⁺, CD4⁺, 및 CD8⁺에 대하여 DL2 대 DL1은 각각 1836 대 461, 350 대 182, 및 1628 대 114; CD8⁺에 대하여 $p < 0.05$; C_{max} : DL2 대 DL1은 각각 99.8 대 27.9, 15.1 대 5.2, 및 73.1 대 5.5 세포/ μ l였다). 최대 CD3⁺ CAR⁺ T 세포 증식까지의 시간 중앙값은 15 일 (8-29 범위)이었고 투여량 수준간에 차이가 없었다. CD4⁺ 및 CD8⁺ CAR-발현 T 세포는 비교적 유사한 수준으로 골수에 위치 (home)하였다.

- [0081] [0467] 낮은 투여량 수준과 비교하여, 더 높은 투여량 수준을 투여받은 대상체들에서, 독성의 증가가 관찰되지 않고 곡선하면적 (AUC)(혈액 내에서 시간 경과에 따른 CD8+ CAR+ T 세포 수)의 중앙값 증가가 관찰되었다. 비반응자 (PD)에서보다 반응자(CR/PR)에서 더 높은 피크의 CD8+/CAR+ T 세포 노출이 관찰되었고; 질환이 진행된 대상체에서도 3 개월 및 6 개월까지를 포함하여 평가 시간에 걸쳐 세포의 지속성이 관찰되었다 (도 7b). CD8+ CAR+ T 세포의 중앙값 C_{max} 와 중앙값 AUC_{0-28} 은 반응 대상체들에서 더 높았으며, 3 개월에 지속적 반응을 나타내었다 (3 개월에 CR/PR 대 3 개월에 PD에서, $CD8^+ C_{max}$ 중앙값 = 20.8 대 5.5; $CD8^+ AUC_{0-28}$ 중앙값 = 235 대 55). CAR T 세포 지속성에 대해 평가된 대상체들 중, 29 명 대상체들의 각각 90% 및 93%가 3 개월에 검출 가능한 CD8+ 및 CD4+ CAR+ T 세포를 가졌고; 19 명의 대상체들의 각각 63%와 58%가 6 개월에 검출 가능한 CD8+ 및 CD4+ CAR+ T 세포를 가졌다. 3 개월과 6 개월에, 지속적 반응 또는 재발 대상체들 간에 CAR+ T 세포의 지속성에 있어서 어떠한 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 3 개월에 거의 모든 대상체들 97% (34/35), 및 6 개월에 100% (24/24) 대상체들에서 B 세포 무형성증이 증명되었음에도 (< 세포/ μ l), PK로는 11 명의 대상체들 중 89%에서 재발의 시점에 CAR+ T 세포가 검출 가능하였다.
- [0082] [0468] DL1과 비교하여, DL2에서 더 높은 C_{max} 및 AUC_{0-28} 은 CRS 또는 NT의 증가와 관련이 없는 것으로 관찰되었다. 임의의 NT 또는 >2 등급 CRS에 대하여, CD4+/CAR+ 및 CD8+/CAR+ T 세포의 AUC 중앙값은, DL2에 대항 AUC보다 각각 5 배 내지 10 배, 및 3 배 내지 5 배 더 높았다. 염증성 사이토카인의 더 높은 질환 부담 및 기저 수준은 CAR+ T 세포의 더 높은 피크 수준, 더 높은 사이토카인 피크 수준 및 CRS 및 NT의 높은 발병률과 관련되는 것으로 관찰되었다. 이 결과는 DL2에서의 C_{max} 및 중앙값 AUC_{0-28} 이 CRS 또는 NT를 증가시키지 않았다는 결론과 일치하였다.
- [0083] [0469] 상기 결과는 열악한 반응의 대상체들에서도, 치료가, 조작된 세포의 장기 노출 및 지속성이라는 결과를 낳는다는 결론과 일치했다. 일부 구현예에 있어서, 예를 들어, 재발 또는 질환 진행 다음에, 예컨대 말초 혈액에서의 세포 수준으로 측정되는 바 대상체에서 조작된 세포가 지속되는 시점에 면역 체크포인트 조절자 또는 기타 면역 조절 제제의 투여와 같은 조합 접근이 사용된다. 일부 측면에서, 장기간 지속된 세포는, 다른 제제 또는 치료의 투여 다음에 재-증식 또는 활성화되고 및/또는 항-종양 기능을 나타낸다. 신경독성이 나타난 대상체의 혈액에서 더 높은 CD4+ 및 CD8+ CAR+ T 세포 수의 중앙값이 시간 경과에 따라 일반적으로 관찰되었다 (도 7c). 결과는, CAR+ T 세포가, 독성의 증가 없이, 증식 및 지속, 3 개월에 더 높은 투여량 수준으로 증가된 반응 지속성을 나타내었음을 보여주었다. 혈액에서 높은 피크 수준의 CAR+ T 세포 및 사이토카인이 NT 및 CRS와 연관될 수 있으며 대상체의 기저 인자에 의해 영향을 받을 수 있다는 시사와 일치하는 결과가 관찰되었다. CAR+ T 세포가 재발 시점에 존재한다는 것이 관찰되었는데, 이는 조합 또는 재치료 접근법이 특정한 이점을 제공할 수 있음을 나타낸다.
- [0084] E. 혈액 분석물 및 신경독성, CRS 및 반응
- [0085] [0470] CAR+ T 세포의 투여 전에, 대상체의 혈청에서 측정된 다양한 전-처리 혈액 분석물, 예컨대 사이토카인을 측정하였다 (실시예 3.A.1의 시점에서 평가된 것). 사이토카인은 멀티플렉스 사이토카인 분석을 이용하여 측정하였다. 단변량 논과파메트릭 검정에 근거한 통계학적 분석을 이용하여 신경독성 발병 위험에 대한 잠재적인 상관 관계를 평가하였다.
- [0086] [0471] 도 8은 CAR+ T 세포 요법 다음에 신경독성을 발병하지 않았던 대상체들 대 신경독성을 발병한 대상체들에서, 평가된 분석물의 중앙값 수준을 단위로 (LDH, U/L; 페리틴, ng/mL; CRP, mg/L; 사이토카인, pg/mL) 보여준다. LDH, 페리틴, CRP, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , IFN- α 2, MCP-1 및 MIP-1 β 를 포함한 특정 혈액 분석물의 수준은 신경독성의 발병 위험 수준과 관련된 것으로 관찰되었다 (다중도 조정없이, Wilcoxon p 값 < 0.05). 특히, 상기 결과는, 일부 구현예에 있어서 질환 부담에 대한 대리자인 LDH의 전-처리 수준이 잠재적인 신경독성 위험 평가 및/또는 위험-적응 투여량 또는 특정 대상체의 치료 조정에 유용할 수 있다는 결론과 일치하였다. 또한, CAR-T 세포 조성물 투여 전의 종양 부담은 신경독성의 발병 위험과 상관 관계가 있었다 (Spearman p 값 < 0.05). 일부 측면에서, LDH 수준은, 단독으로 및/또는 다른 전-처리 파라미터와 조합하여 평가될 수 있는데, 예컨대 질환 부담에 대한 다른 척도 또는 지표, 예컨대 치수 곱의 합 (sum of product dimensions, SPD)과 같은 체적 종양 측정 또는 다른 CT-계 또는 MRI-계 질환 부담의 체적 측정이다. 일부 측면에서, 질환 부담을 나타내는 하나 이상의 파라미터가 평가되고, 일부 상황에서는 상기 T 세포 요법 다음에 신경독성의 발병 위험의 존재, 부재 또는 정도를 나타낼 수 있다. 일부 측면에서, 상기 하나 이상의 파라미터는 LDH 및/또는 체적 측정 종양 측정을 포함한다.

- [0087] [0472] 추가적인 분석에서, 실시예 3.A.1의 시점에서의 DLBCL 코호트의 55 명 대상체들, 및 하기 실시예 4에 기재된 맨틀 세포 림프종 (MCL) 대상체 4 명이 안전성 평가와의 상관 관계 분석에 포함되었다. 안전성을 평가된 59 명의 대상체들에서, CRS는 32% (30% 등급 1-2, 0% 등급 3, 2% 등급 4)로 관찰되었고; NT는 20% (5% 등급 1-2, 10% 등급 3, 5% 등급 4)로 관찰되었다. 투여량 수준은 CRS 또는 NT와 상관 관계가 없었다 (각각 $p = 0.565$ 및 $p = 1.00$). 임의 등급의 CRS 및 NT와 상관 관계가 있는 대상체 인자는 열악한 기능 상태 (예컨대, ECOG 상태 2)($p = 0.03$) 및 이미징 결과에 기초한 직경 급의 합 (SPD)에 의하여 측정했을 때 더 높은 질병 부담 ($p < 0.05$)이었다. 임의 등급의 NT 발생과 관련된 것으로 관찰된 투여전-CAR+ T 세포 주입 (pre-CAR+ T cell infusion) 임상 실험실 파라미터와 투여전-CAR+ T 세포 주입에 대한 사이토카인 측정치는 더 높은 혈청 LDH, 페리틴 및 CRP, 더 높은 혈장 IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , IFN- α 2, MCP-1, 및 MIP-1 β (각각에 대하여 $p < 0.05$)를 포함하였다. IL-8, IL-10, 및 CXCL10의 더 높은 투여전-CAR+ T 세포 주입 혈장 수준 또한 등급 3-4 NT와 관련이 있었다 (각각에 대하여 $p < 0.05$).
- [0088] [0473] 반응에 대하여 평가된 DLBCL 코호트의 54 명 대상체들 중, 더 높은 ECOG 점수 또는 CLL 또는 MZL로부터 변형된 DLBCL이 3 개월에 더 낮은 지속적 반응과 상관되어 있었다 (양자 모두에 대하여 $p = 0.02$). 최고 ORR과 관련된 사전-CAR+ T 세포 주입 파라미터는 낮은 수치의 페리틴, LDH, CXCL10, G-CSF, 및 IL-10을 포함하였고, 3 개월에 지속적 반응과 관련된 것들은 낮은 페리틴, CRP, LDH, CXCL10, IL-8, IL-10, IL-15, MCP-1, MIP-1 β , TNF- α 및 더 높은 사전-CAR+ T 주입 헤모글로빈 및 알부민을 포함하였다 (각각에 대하여 $p < 0.05$).
- [0089] [0474] 일부 경우, 성분채집 샘플과 투여용 CAR+ T 세포 조성물을 평가하고 임상 결과와 상관시켰다. 결과는 T 세포 기억 서브세트와 T 세포 기능성이 특정 임상 결과와 상관되어 있을 수 있음을 보여주었다.
- [0090] [0475] 상기 결과는, 치료 전 염증 상태 및 높은 종양 부담을 포함하는 특정한 기저 환자 특징이, CAR-발현 T 세포의 투여 다음에 독성 증가의 위험이 있는 환자의 동정에 유용할 수 있음을 보여 주었다. 낮은 종양 부담 및 낮은 염증 상태는 개선된 독성 프로파일 및 더 우수한 반응 지속성과 관련되는 것으로 관찰되었다. 상기 결과는 요법 과정에서 조기에 대상체를 치료하고 및/또는 잠재적인 조기 개입을 위하여 대상체들을 위험 계층화할 임상 적 및 실험실 바이오마커 패널을 평가하는 것이 독성 위험을 완화시키고 반응 지속성을 개선시킬 수 있다는 것을 뒷받침한다.
- [0091] [0476] 도 9는 전체 및 코어 코호트 내의 개별 대상체들에 대한, 무-진행 시간 (개월)을 플로팅한 그래프를 도시한다. 각 막대는 1 명 환자를 나타낸다. 음영은 최고 총 반응을 나타내고 (각 경우에, 달리 명시되지 않은 한, 1 개월에 달성됨); 텍스처는 투여량을 나타낸다 (무지 = 투여량 수준 1, 단일 투여량; 사전 빗금 = 투여량 수준 2, 단일 투여량; 수직 빗금 = 투여량 수준 1, 2 투여량). 수평 화살표는 진행 중 반응을 나타낸다. 특정한 개별 대상체들은 처음에는 안정한 질환 (SD) 또는 부분적 반응 (PR)을 나타내는 것으로 평가되었고 (예를 들어, 1 개월에), 나중에 PR (예를 들어, SD에서 PR로 전환) 또는 CR을 달성한 것으로 관찰되었다. 이러한 경우에, 각 환자 막대의 음영은, 밝힌 바와 같이, 최고 총 반응을 나타내고, 각 대상체 막대와 함께 점무늬 (달성된 반응에 대하여 동일한 음영 일치도) 는 각 SD, PR 및/또는 CR이 언제 그 대상체에서 발생하였는지를 나타낸다. 2 명의 환자에서, 림프종에 의한 CNS 침범의 완전한 해소가 관찰되었다. 1 명의 대상체에서, CAR+ 세포가 재발 후 생검 다음에 증식한 것으로 관찰되었다.
- [0092] **실시예 4: 맨틀 세포 림프종 (MCL)을 앓는 대상체로의 항-CD19 CAR-발현 세포의 투여**
- [0093] [0477] 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성시킨, CD19에 특이적인 키메라 항원-수용체 (CAR)를 발현하는 자가조 직성 T 세포를 함유하는 치료적 CAR+ T 세포 조성물을 한 가지 라인의 요법에 실패한 맨틀 세포 림프종 (MCL) 인간 대상체 4 명에게 투여하였다. 동결보존된 세포 조성물을 정맥 내 투여하기 전에 해동시켰다. 치료용 T 세포 조성물을, 대략 1:1의 표적 비율로 투여되는 동일한 대상체 유래 CAR+ 조작된 T 세포의 CD4+ 및 CD8+ 제형화 집단으로 특정된 조성물 세포 생성물로서 투여하였다. 대상체들은 5×10^7 CAR-발현 T 세포를 함유하는 투여량 수준 1 (DL1)의 단일 투여량으로 CAR-발현 T 세포의 투여량을 투여받았다 (CD4+ 및 CD8+ CAR-발현 T 세포의 분 할 투여량으로서). CAR+ T 세포 주입 3 일 전에 시작하여, 대상체들은 플루다라빈 (flu, 30 mg/m²)과 시클로포 스파마이드 (Cy, 300 mg/m²)를 이용한 림프고갈 화학요법을 받았다.
- [0094] [0478] 실시예 1에 기재된 바와 같이, 대상체들을 반응 및 독성에 대하여 모니터링하였다. 어떠한 대상체에서도 CRS 또는 신경독성이 관찰되지 않았다. 치료받은 4 명의 대상체들 중, 2 명의 대상체가 PR (지속성 없음)을 달성하였고 2 명의 환자는 진행성 질환이었다.

- [0095] **실시예 5: 항-CD19 CAR-발현 세포에 대한, 재발성 및 난치성 비-호지킨 림프종 (NHL) 대상체로부터의 투여전- 및 투여후- 종양 생검에서의 바이오마커 평가**
- [0096] [0479] CAR-발현 세포의 투여 전 및/또는 투여 후에 대상체들로부터 수집한 종양 생검에서 몇 가지 바이오마커의 발현을 평가하였다.
- [0097] A. 종양 생검 샘플
- [0098] [0480] 종양 생검은, 실시예 3.A.2에서의 평가 시점에 기초하여, 상기 실시예 3 및 4에서 전술된, CD19에 특이적인 키메라 항원-수용체 (CAR)를 발현하는 자가조직성 T 세포를 함유하는 치료적 CAR+ T 세포 조성물로 치료받은 재발성 또는 난치성 (R/R) 미만성 대형 B-세포 림프종 (DLBCL) 또는 맨틀 세포 림프종 (MCL)의 선택된 대상체들로부터 수집되었다. 종양 생검은, CAR+ T 세포 투여 전 (치료-전) 및 투여 후 7 내지 20 일에 (치료-후) 얻어졌다. 진행중인 연구에서 실시예 3.A.2의 시점을 통한 평가 결과가 이 실시예에서 기술된다. 총 28 명의 대상체들 (DLBCL 25 명과 MCL 3 명)로부터의 43 건의 생검 (26 건의 치료-전; 17 건의 치료-후 및 15 건의 매치된 쌍) 결과가 조사되었다.
- [0099] B. 바이오 마커, 반응 및 안전성 결과의 평가
- [0100] [0481] 종양 생검에서 CAR+ T 세포의 침윤을 항-CD19 CAR을 인코딩하는 mRNA에 특이적인 인 시투 혼성화 (ISH) 프로브를 사용하여 정량하였다. CAR-발현 세포에 대한 세포 표면 대리자 마커, CD4, CD8, CD19, CD20, CD73, FOXP3, CD163, IDO 및 PD-L1를 검출하는 다중 면역형광 (IF) 분석을 사용하여 CAR+ T 세포, 비-CAR T 세포 및 B 세포를 계수하였다. 종양 생검 절편을 헤마톡실린과 에오신 (H&E)으로 염색하고 조직의 질과 종양의 존재를 평가하였다. 면역형광 이미지는 이미지 분석 소프트웨어를 사용하여 분석되었다. 반응 결과에 대한 잠재적인 상관 관계는 단변량 t-검정에 기초한 통계 분석을 사용하여 평가되었으며, p-값은 다중성 조정없이 2-면이었다.
- [0101] [0482] CAR+ T 세포의 투여 후 다양한 시점에서, 예컨대 투여 후 3 개월에 종양 부담을 평가하고, 대상체가 진행성 질환 (PD), 안정한 질환 (SD), 부분적 반응 (PR), 또는 완전한 반응 (CR)인지를 결정하는 것에 의함을 포함하여, 반응 및 안정성 결과에 대하여 대상체들을 평가하였다. 평가된 안전성 결과는, 국립 암 연구소 (National Cancer Institute)-공통 독성 기준 (CTCAE), 버전 4.03 (NCI-CTCAE v4.03)에 따라, 1-5 점 스케일로 등급화된, 신경독성 (혼란, 실어증, 뇌증, 근경련 발작, 경련, 무기력 및/또는 정신 상태 변화를 포함하는 신경학적 합병증)을 포함하였다.
- [0102] C. 결과
- [0103] [0483] 관찰된 객관적 반응률 (ORR; CR 및 PR 포함)은 생검이 평가된 대상체들에서 71% (20/28)였다. 생검 평가된 대상체들 중에서 등급 1, 2 CRS는 36% (10/28; 등급 1, 2)에서 관찰되었으며, 생검 평가된 대상체들의 18% (5/28)에서 등급 2-4 NT가 관찰되었다.
- [0104] [0484] 치료-전 종양 생검은 각양 각색의 세포 조성을 함유하는 것으로 관찰되었다: 종양 세포 (종양값 77%, 범위 5-96%), CD4+ 세포 (0.90%, 0.02-15%) 및 CD8+ 세포 (1.5%; 0-23%). 그 결과는, CAR+ T 세포 투여 후 3 개월에 CR 또는 PR인 대상체가, PD인 대상체와 비교하여 치료-전 종양에서의 내인성 CD4+ 세포의 백분율이 더 높다는 것을 보여주었다 (CR, PR 중앙값: 7.9%, PD 중앙값: 0.38%; $p < 0.0001$). 치료-전 종양에서 CD8+ 세포의 백분율은 3 개월 반응 그룹들 간에 차이가 없었다 (CR, PR 중앙값: 1.9%, PD 중앙값: 0.47%; $p = 0.6496$).
- [0105] [0485] 치료-후 생검에서는, CAR+ T 세포가 종양에 침투한 것으로 관찰되었고, 생검 샘플에서 최대 22%의 세포를 구성하였다. 치료-후 샘플에서 (투여 후 7-20 일) 종양 침윤 수준은, SD 또는 PD (중앙값: 0.51%)의 최고 총 반응 (BOR)을 계속하여 달성하였던 대상체들과 비교하여 CR (중앙값: 3.9%) 또는 PR (중앙값: 1.1%)을 계속하여 달성하였던 대상체들에서 더 높은 것으로 관찰되었다. 치료-후 시점 (투여 후 7 내지 20 일)에 CD4+ 및 CD8+ CAR T 세포 양자 모두가 종양 부위를 침윤한 것으로 관찰되었지만, 계속하여 CR을 달성하였던 대상체들은, 계속하여 SD 또는 PD의 BOR을 달성하였던 대상체들과 비교하여, 이 치료-후 시점에, 더 높은 $CD4^{+} CAR^{+}$ T 세포에 대한 $CD8^{+} CAR^{+}$ T 세포의 비를 갖는 것으로 관찰되었다. 위해 진행된 피험자는 $CD8 + CAR + T$ 의 비율이 더 높은 것으로 관찰되었다 (CR 중앙값: 0.83; SD, PD 중앙값: 0.14; $p = 0.0097$).
- [0106] [0486] 각 대상체들로부터 매치되는 치료-전 및 치료-후 생검을 비교하였을 때, 결과는, 결국 SD 또는 PD의 BOR을 달성하는 대상체들과 비교하여 결국 CR 또는 PR의 BOR을 달성하는 대상체들이, 치료-후 종양에서 더 큰 CD8+ 세포 (CAR+ T 및 비-CAR T) 증가를 나타냄에 대한 경향성을 보여주었다 (CR, PR 중앙값 변화: +5.3%; SD, PD

증양값 변화: +0.06%; $p = 0.1225$).

[0107] [0487] CD73, FOXP3, CD163, IDO 및 PD-L1을 포함하는 면역억제 인자들의 발현은, 치료-전에 (CD73 (증양값: 1.5%; 범위 0-42%), FOXP3 (0.10%; 0-1.5%), IDO (0.06%; 0-11%), CD163 (1.2%; 0-24%) 및 PD-L1 (0.16%; 0-56%)) 및 치료-후에 (CD73 (1.6%; 0-53%), FOXP3 (0.09%; 0-4.3%), IDO (0.28%; 0-15%), CD163 (3.6%; 0-22%) 및 PD-L1 (3.3%; 0-65%))로 대상체들에서 다양하였다. 매치된 생검에서 CD8+ 세포의 치료-후 증가는 IDO ($R^2 = 0.64$) 및 PD-L1 ($R^2 = 0.61$) 발현의 치료-후 증가와 관련이 있는 것으로 관찰되었다. 이 결과는, 평가된 시간에, CD8+ CAR+ 세포의 침윤이, 달성되는 반응의 정도 또는 반응의 지속 기간의 잠재적 가능성을 나타낼 수 있으며, 그러한 세포의 존재 및/또는 활성이 TME 인자의 상향 조절을 결과할 수 있다는 결론과 일치한다.

[0108] D. 결론

[0109] [0488] CAR+ T 세포 투여 후 3 개월에 지속적인 반응은, 치료-전 종양에서의 높은 CD4+ 세포 수준과 관련되는 것으로 관찰되었다. 치료-후 종양 세포에서, CAR+ T 세포 (CD4+ 및 CD8+ 양자 모두)는 종양 및 인접 조직에 침투하는 것으로 관찰되었다. ORR은 종양 생검에서 CAR+ T 세포의 증가와 관련이 있었다. 치료-전 종양 생검에서의 CD8+ 수준과 비교하여, 치료-후 종양 생검에서의 CD8+ 수준 증가는 IDO 및 PD-L1 발현 증가와 관련되어 있었다. 일부 구현예에 있어서, CAR-T 세포의 투여시에 또는 투여 후에 투여되는 것들과 같은 이들 경로를 표적으로 하는 요법은, CAR+ T 세포 투여 다음의 하나 이상의 치료 결과 또는 그의 지속 기간을 향상시킬 수 있다.

[0110] **실시예 6: 재발성 및 난치성 비-호지킨 림프종 (NHL) 대상체에서의 항-CD19 CAR-발현 세포의 투여 후 지속성 평가**

[0111] [0489] 상기 실시예 3에 기재된 임상 연구의 후속 시점에서, 환자에서의 지속성 및 증식이 평가되었다.

[0112] A. 대상체, 반응 및 안전성

[0113] [0490] 이 실시예에서 제시되는 이 시점에서의 분석은 항-CD19 CAR-발현 세포를 투여받았던 전체 DLBCL 코호트에서의 총 91 명의 대상체들 (반응에 대하여 평가된 88 명 (코어 코호트로부터 34 명) 및 안전성에 대하여 평가된 91 명)에 대한 평가에 기초한다. 표 9에 나타나 있듯이, 객관적 반응률 (ORR)은 74%였고, 완전한 반응 (CR)을 보인 52%의 대상체들을 포함하였다. 임의 등급의 사이토카인 분비 증후군 (CRS)의 발생률은 35%였고, 1%는 중증의 CRS였으며; 임의 등급의 신경독성 (NT)의 발생률은 19%였고, 1%는 중증의 NT였다.

표 9. CAR+ 세포 투여 후 반응 및 안전성	전체	코어		
	모든 투여량 수준	모든 투여량 수준 ^a	DL1S	DL2S
최고 총 반응 (BOR), n ^b	88	65	34	27
ORR, % (95% CI)	74 (63, 83)	80 (68, 89)	77 (59, 89)	82 (62, 94)
CR, % (95% CI)	52 (41, 63)	55 (43, 68)	47 (30, 65)	63 (42, 81)
안전성, n ^c	91	67	34	29
임의의 CRS, % (95% CI)	35 (25, 46)	36 (24, 48)	41 (25, 59)	24 (10, 44)
sCRS(등급 3-4), % (95% CI)	1 (0, 6)	1 (0, 8)	38 (0, 15)	0
임의의 NTx, % (95% CI)	19 (11, 28)	21 (12, 33)	24 (11, 41)	17 (6, 36)
sNTx(등급 3-4), % (95% CI)	12 (6, 21)	15 (7, 26)	21 (9, 38)	7 (1, 23)

a DL1D (투여량 수준 1, 2-투여량 일정)로 치료된 4 명의 환자가 유사한 결과를 나타냄.

b PD, 사망, 또는 28-일 리스테이징 스캔 사건의 환자들을 포함. 1 명의 환자는 리스테이징 스캔하지 않았다.

c 데이터 스냅샷 28 일 전에 규정상의 CAR-발현 세포 생성물을 적어도 1 투여량 투여 받았거나 또는 사망한 모든 대상체들을 포함.

[0114]

[0115] B. 지속성

[0116] [0491] 각각, 검출 가능한 CD3⁺, CD4⁺ 또는 CD8⁺ CAR-발현 세포 수준 및 혈액에서 검출되는 CD19⁺ B-세포 수준에 기초하여, CAR+ T 세포를 투여받았던 DLBCL 평가 대상체들에서 다양한 시점에 CAR-발현 세포 및 CD19+ B-세포 무형성증 (CD19+ B 세포의 부재 또는 낮은 숫자)의 지속을 평가하였다. 그 결과를 표 10에 나타내었다. 진행시 평가된 대상체들 (n = 37) 중에서, 중앙값 0.17 세포/ μ L의 CD4+ CAR-발현 세포 (범위, 0-65.5 세포/ μ L) 및 중앙값 0.15 세포/ μ L의 CD8+ CAR-발현 세포 (범위, 0-131.8 세포/ μ L)가 관찰되었다. 재발시 (CR/PR을 달성한

후 진행) 평가된 대상체들 (n = 12) 중에서, 중앙값 0.17 세포/ μ L의 CD4+ CAR-발현 세포 (범위 0-35.1 세포/ μ L) 및 중앙값 0.20 세포/ μ L의 CD8+ CAR-발현 세포 (범위, 0-131.8 세포/ μ L)가 관찰되었다. 12 개월에 DLBCL인 평가 가능한 대상체의 75%에서 CAR-발현 세포의 장기 지속성이 관찰되었다. B 세포 무형성증의 장기 지속성 또한 12 개월에 대상체의 75%에서, 그리고 재발 상태와 무관하게 대상체에서 관찰되었다. 그 결과는 항-CD19 CAR-발현 세포가 대부분의 대상체들에서 장기간의 지속성을 나타내었다는 결론과 일치하고, 심지어 재발 환자에서도 계속되는 낮은-수준의 질환 조절에 대한 가능성을 제시한다.

[0117]

[0492] 재발한 대상체들 중에서, 91.7% (11/12)는 재발 당시 혈액에서 CAR-발현 세포가 검출 가능하였다. 이러한 결과는, 조합 요법 또는 일부 구현예에서의 다른 개입이, 소진될 수 있는 등의 CAR-발현 세포를 강화 및/또는 부양하는데 사용될 수 있다는 결론과 일치한다.

표 10. CAR+ Cell 장기간 지속성 및 CD19 무형성증						
	3 개월	6 개월	9 개월	12 개월	진행시	재발시
평가 가능한 환자에서 CAR T 지속성, n	50	30	18	12	37	12
CD3 ⁺ , %	100	80.0	77.8	75.0	91.9	91.7
CD4 ⁺ , %	88.0	83.3	50.0	41.7	83.8	83.3
CD8 ⁺ , %	90.0	70.0	55.6	50.0	83.8	75.0
CD19 ⁺ B-세포 무형성증 (< 1 세포/ μ L), %	96.0	93.3	77.8	75.0	97.3	100

[0118]

[0119]

[493] 본 발명은, 예를 들어 본 발명의 다양한 측면을 예시하기 위해 제공되는 특정의 개시된 구현예에 대한 범위 내로 제한하려는 의도는 아니다. 기재된 조성물 및 방법에 대한 다양한 변형이 본 명세서의 기재내용 및 교시로부터 명백해질 것이다. 이러한 변형은 본 개시내용의 진정한 범위 및 사상을 벗어남이 없이 실시될 수 있으며, 본 개시내용의 범위 내에 포함되도록 의도된다.

[0120] 서열

SEQ ID NO.	서열	설명
1	ESKYGPPCPPCP	스페이서 (IgG4인지) (aa) 호모 사피엔스
2	GAATCTAAGTACGGACCGCCCTGCCGCCCTTGCCCT	스페이서 (IgG4인지) (nt) 호모 사피엔스
3	ESKYGPPCPPCPQGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHY TQKSLSLSLGK	인지-CH3 스페이서 호모 사피엔스
4	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNARTKPREEQFMSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHN HYTQKSLSLSLGK	인지-CH2-CH3 스페이서 호모 사피엔스
5	RNPESPQAQASSVPTAQPAEGSLAKATTAPATTNTGRGGEKKKEKEKEEQE ERETKTPECPSTHTQPLGVYLLTPAVQDLWLADKATFTCFVVGSDLDKAHLIWEV ACKVPTGGVEBGLLERHNSGQSQHSRLTLPRSLWNAQTSVTCTLNHPSLPPQR LMALREPAQAQPVKLSLNLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPPNILLMWLEDQRE VNTSGGFAPARPPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAPPPSPQATYTCVVSHEDSRTLLNA SRSEVSYVIDH	IgD-인지-Fc 호모 사피엔스
6	LEGGGEGRGSLTCTGDVEENPGPR	T2A 인공
7	MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFKNCTSI SGDLHILPVAFRGDSFTHTPPLDPQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHA FENLEIIRGRTKQHGGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVVISGNKNLCYAN TINWKKLFGTSGQKTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCR NVSRGREGCVDKCNLLEGEPRFEVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQ CAHYIDGPHCVKTCGAGVMGNNITLVWKYADAGHVCHLCHFNCTYGTGPGLEG CPTNGPKIPSIATGMVGAALLLVVALGIGLFM	iEGFR 인공
8	FWVLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (수락번호 P10747의 아미노산 153- 179) 호모 사피엔스
9	IEWMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSELFPGPSKP FWVLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (수락번호 P10747의 아미노산 114- 179) 호모 사피엔스

[0121]

10	RSKRSRLHSDYMNMTFRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS	CD28 (P10747)의 아미노산 180- 220) 호모 사피엔스
11	RSKRSRGCHSDYMNMTFRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS	CD28 (LL 내지 GG) 호모 사피엔스
12	KRGRRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPFEEEEGGCEL	4-1BB (Q07011.1)의 아미노산 214- 255) 호모 사피엔스
13	RVKFSRSADAPAYQQGQNLVYNELNLRREEYDVLDRRGGRDPFEMGGKPRKKNP QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR	CD3 제타 호모 사피엔스
14	RVKFSRSAEPPAYQQGQNLVYNELNLRREEYDVLDRRGGRDPFEMGGKPRKKNP QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR	CD3 제타 호모 사피엔스
15	RVKFSRSADAPAYQQGQNLVYNELNLRREEYDVLDRRGGRDPFEMGGKPRKKNP QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR	CD3 제타 호모 사피엔스
16	RKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFKNCTSSISGDLHILPVAFRGDSFTHTPPL DPQELDLKTVKEITGFLLIQAWPENRIDLHAFENLEIIRGRTKQHGQFSLAVV SLNITSLGLRSLKEISDGDVITSGNKNLCYANTINWKKLFGTSGQNTKIISNRG ENSKATGQVCHALCSPEGCGWPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCNLLEGEPRF VENSECIOCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIOCAHYIDGPHCVKTCFAGVMGEN NTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGTCTGPGLEGCPITNGPKIPSIATGMVGAALLL LVVALGIGLFM	iEGFR 인공
17	EGRGSLLTCGDVEENPGP	T2A 인공
18	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A
19	ATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A
20	QCTNYALLKLAGDVESNPGP	E2A
21	VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP	F2A
22	PGGG-(SGGGG)5-P-, 여기서 P는 프롤린, G는 글리신이고 S는 세린	링커
23	GSADDAKKDAKKDGKS	링커
24	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	링커
25	gacatccagatgaccagaccacccacagcctgagcgcagcctgggagcaccg gtgacccatcagctgcccgggcccagccaggacatcagcaagtaacctgaactggat cagcagaagcccgacggcaccgtcaagctgctgactctaccacaccagccggctg cacagcggcgtgcccagccggttttagcggcagcggctccggcaccgactacagc ctgacccatctccaaacctggaaacagggaagatatcgccacctacttttgccagcag ggcaacacactgcccacaccccttgggcggcgggaacaaagctgggaatcaccggc agcaccctccggcagcggcgaagcctggcagcggcggcagcaccgaaggcggcag gtgaagctgcaggaaagcggccctggcctggcggcccccagccagagcctgagc gtgacctgcaacgtgagcggcgtgagcctgcccgaactacggcgtgagcctggatc cggcagccccccagggaaggcctggaaatggcctgggctgactctggggcagcggc	scFv를 인코딩하는 서열

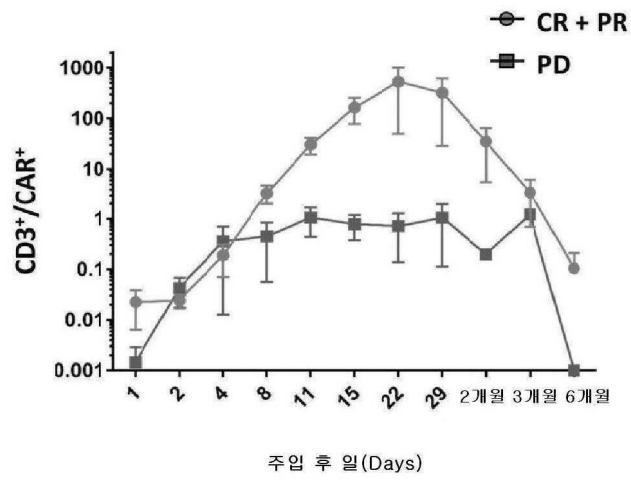
[0122]

	accacotactacaacagcgccctgaagagcgcgctgaccatcatcaaggacaac agcaagagccaggtgttccctgaagatgaacagcctgcagaccgacgacacccgcc atctactactcgcgccaagcactactactacggcgccagctacgccatggactac tggggccagggccaccagcggtgaccgtgagcagc	
26	X ₁ PPX ₂ P X ₁ 는 글리신, 시스테인 또는 아르기닌 X ₂ 는 시스테인 또는 트레오닌	한지
27	Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro	한지
28	Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro	한지
29	ELKTFPLGDTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTP PPCPRC	한지
30	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro	한지
31	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	한지
32	Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	한지
33	Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	한지
34	Glu Val Val Val Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	한지
35	RASQDISKYLN	FMC63 CDR L1
36	SRLHSGV	FMC63 CDR L2
37	GNTLPYIFG	FMC63 CDR L3
38	DYGV	FMC63 CDR H1
39	VIWGSETTYNSALKS	FMC63 CDR H2
40	YAMDYWG	FMC63 CDR H3
41	EVKLQESGPGGLVAPSSQLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGS ETTYNSALKSRLLTIKDNKSKQVFLKMNLSQTDDTAIYYCAKHHYYGGSYAMD YWGQTSVTVSS	FMC63 VH
42	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRL HSGVPSRFSGSGSGTDYSLTIISNLEQEDIAITYFCQQGNTLPYTFGGGKLEIT	FMC63 VL
43	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRL HSGVPSRFSGSGSGTDYSLTIISNLEQEDIAITYFCQQGNTLPYTFGGGKLEITG STSGSGKPGSGEGSTKGEVRLQESGPGGLVAPSSQLSVTCTVSGVSLPDYGVSWI RQPPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLLTIKDNKSKQVFLKMNLSQTDDTA IYYCAKHHYYGGSYAMDYWGQTSVTVSS	FMC63 scFv
44	KASQNVGTNVA	SJ25C1CDR L1
45	SATYRNS	SJ25C1CDR L2
46	QQYNRYEYT	SJ25C1CDR L3
47	SYWMN	SJ25C1CDR H1
48	QIYPGDDTNYNGKFKG	SJ25C1CDR H2
49	KTISSVVDIFYFDY	SJ25C1 CDR H3
50	EVKLQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPQGQLEWIGQIYPG DGDITNYNGKFKGQATLTADKSSSTAYMQLSGLTSEDSAVYFCARKTISVVDIFY FDYWGQTTVTVSS	SJ25C1 VH
51	DIELTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKPGQSPKPLIYSATYR NSGVDPDRFTSGSGSDFTLTITNVQSKDLADYFCQQYNRYPYTSGGGKLEIKR	SJ25C1 VL
52	GGGSGGGSGGGGS	링크어
53	EVKLQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPQGQLEWIGQIYPG DGDITNYNGKFKGQATLTADKSSSTAYMQLSGLTSEDSAVYFCARKTISVVDIFY FDYWGQTTVTVSSGGGSGGGSGGGSDIELTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKA SQNVGTNVAWYQQKPGQSPKPLIYSATYRNSGVDPDRFTSGSGSDFTLTITNVQ SKDLADYFCQQYNRYPYTSGGGKLEIKR	SJ25C1 scFv

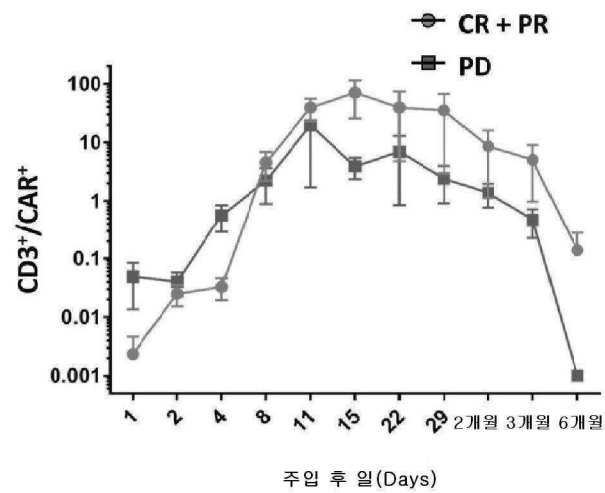
54	HVYGGSYAMDY	FMC63 CDR H3
55	HTSRLHS	FMC63 CDR L2
56	QQGNTLPYT	FMC63 CDR L3

도면

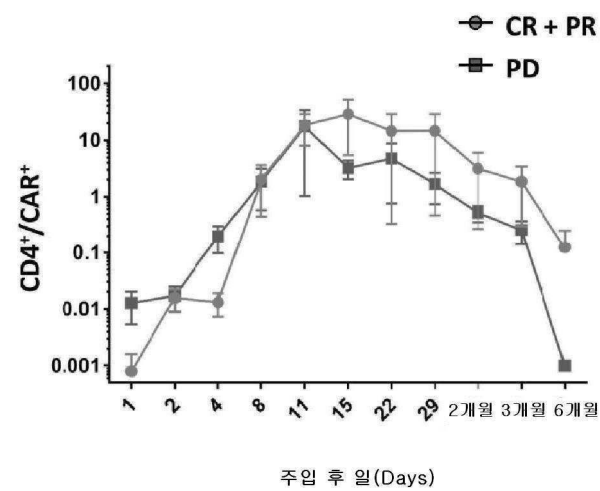
도면1a



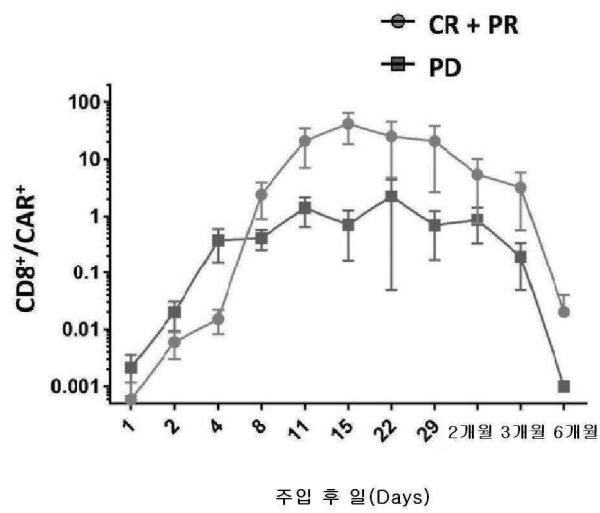
도면1b



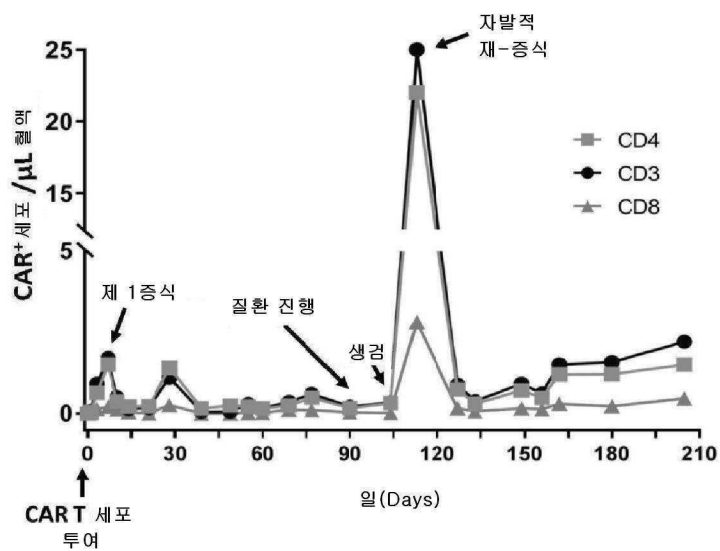
도면1c



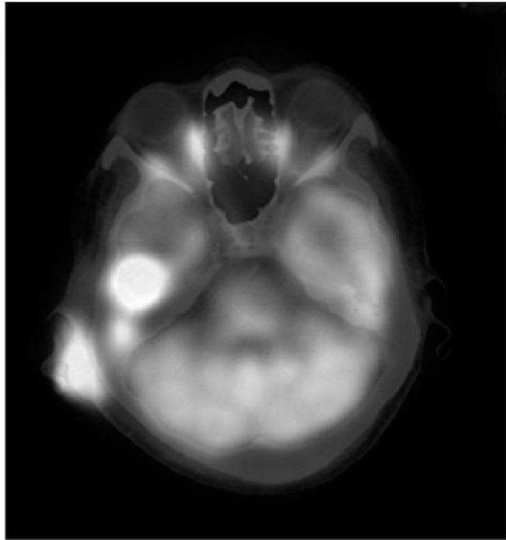
도면1d



도면2a



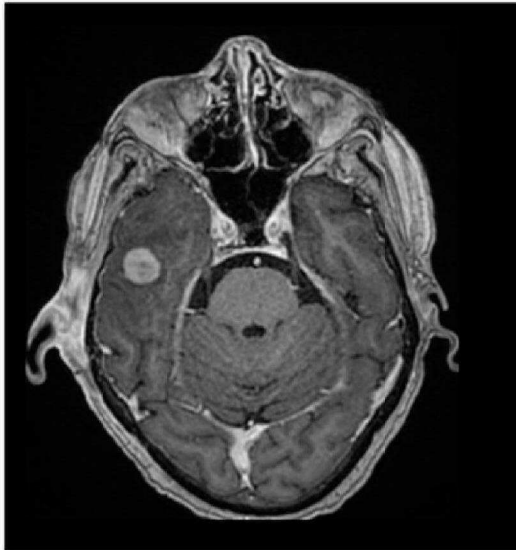
도면2b



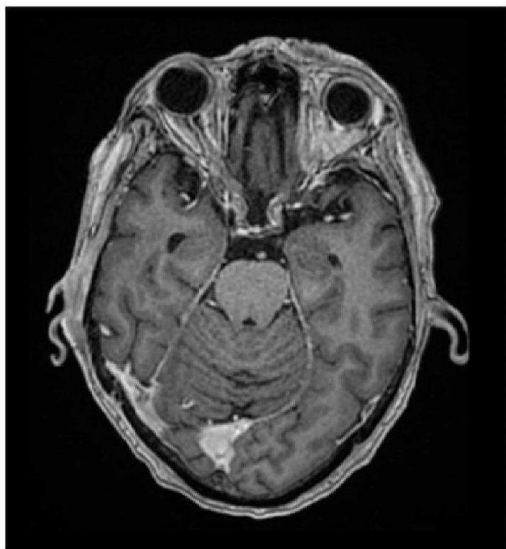
도면2c



도면2d



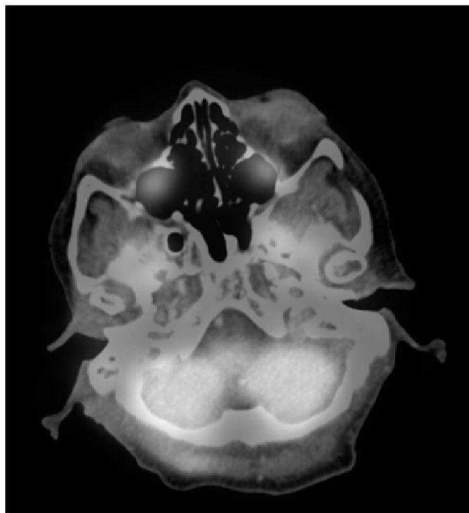
도면2e



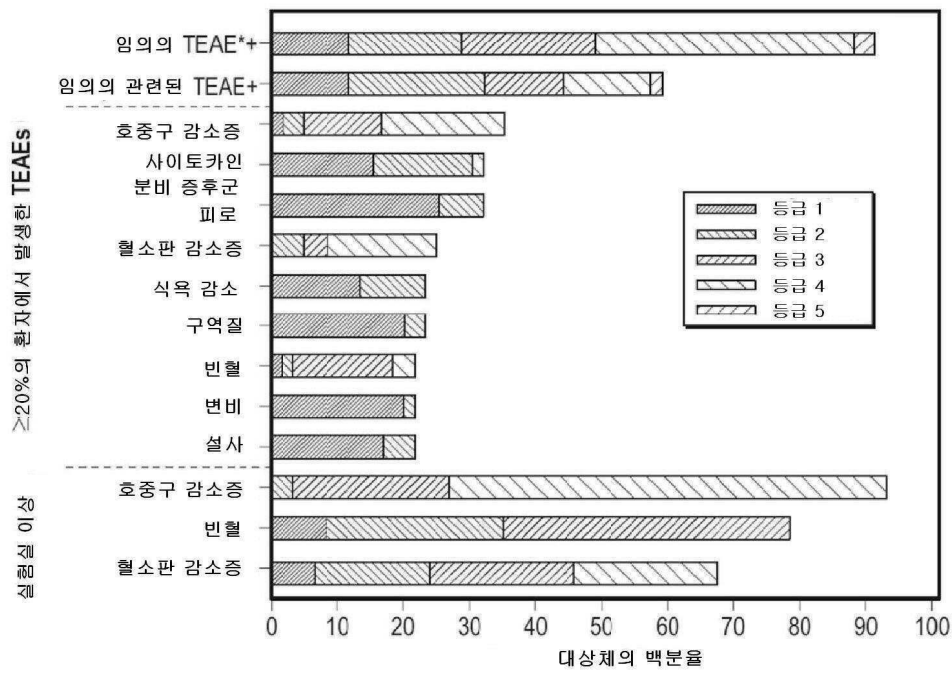
도면2f



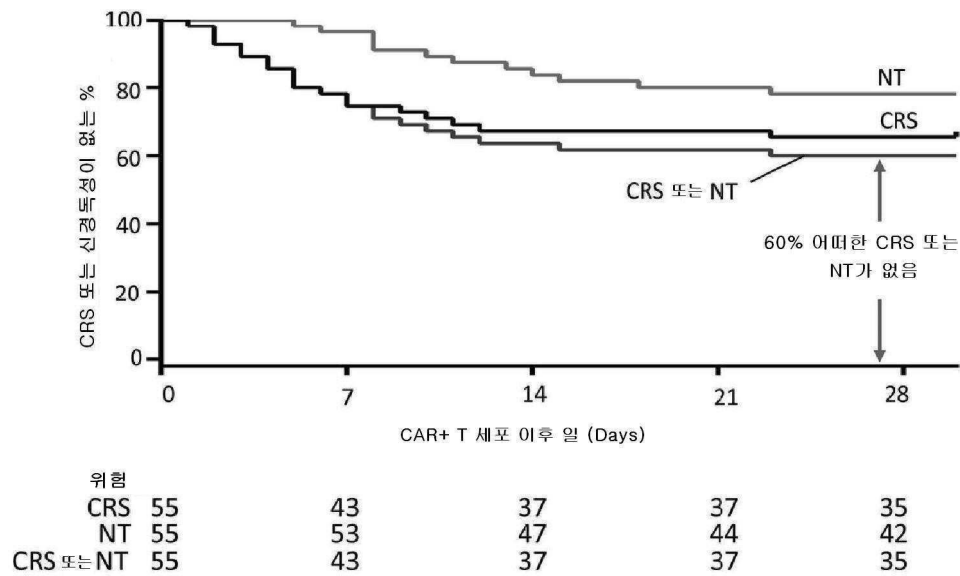
도면2g



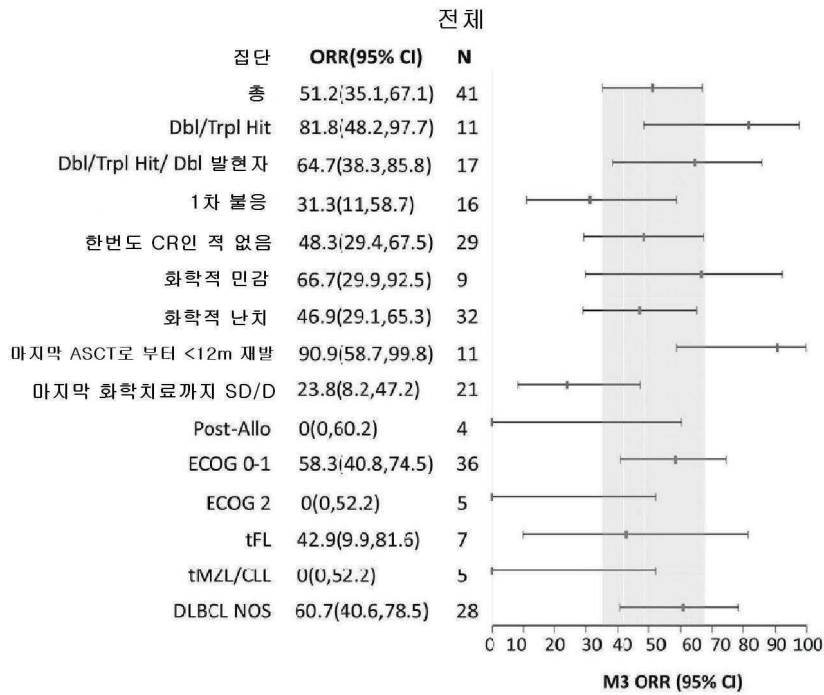
도면3



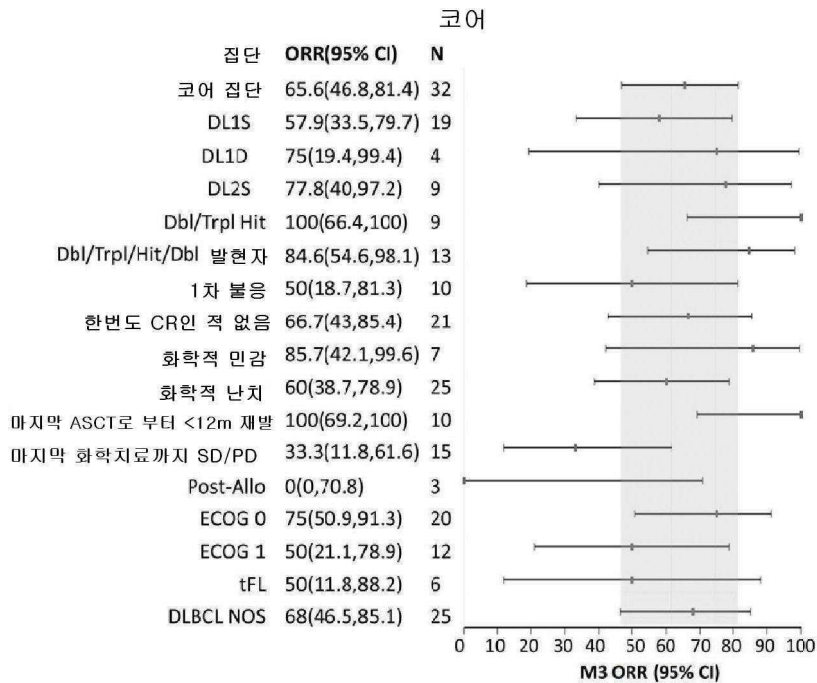
도면4



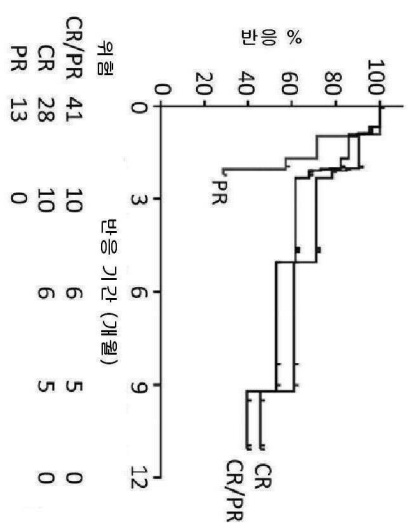
도면5a



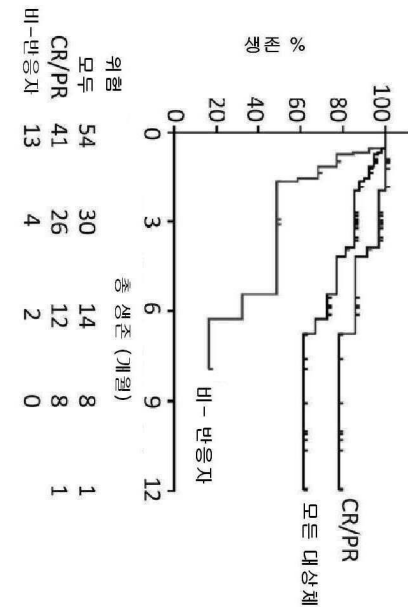
도면5b



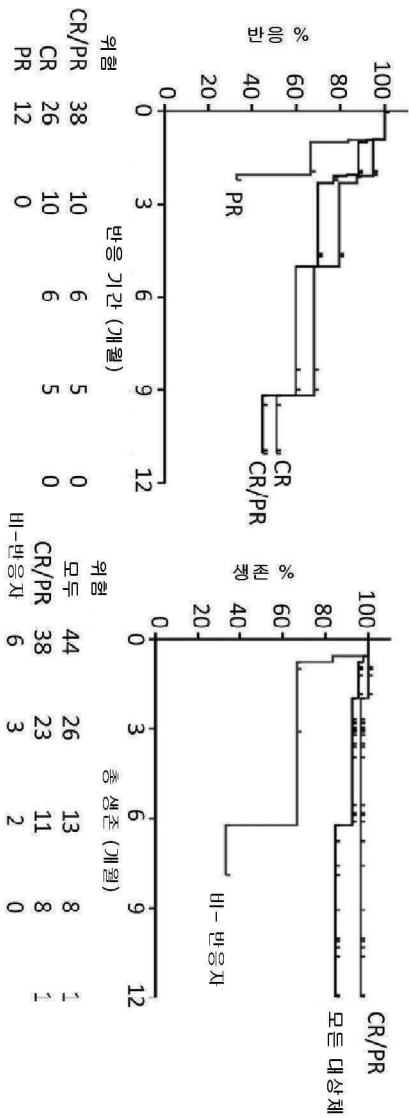
도면6a



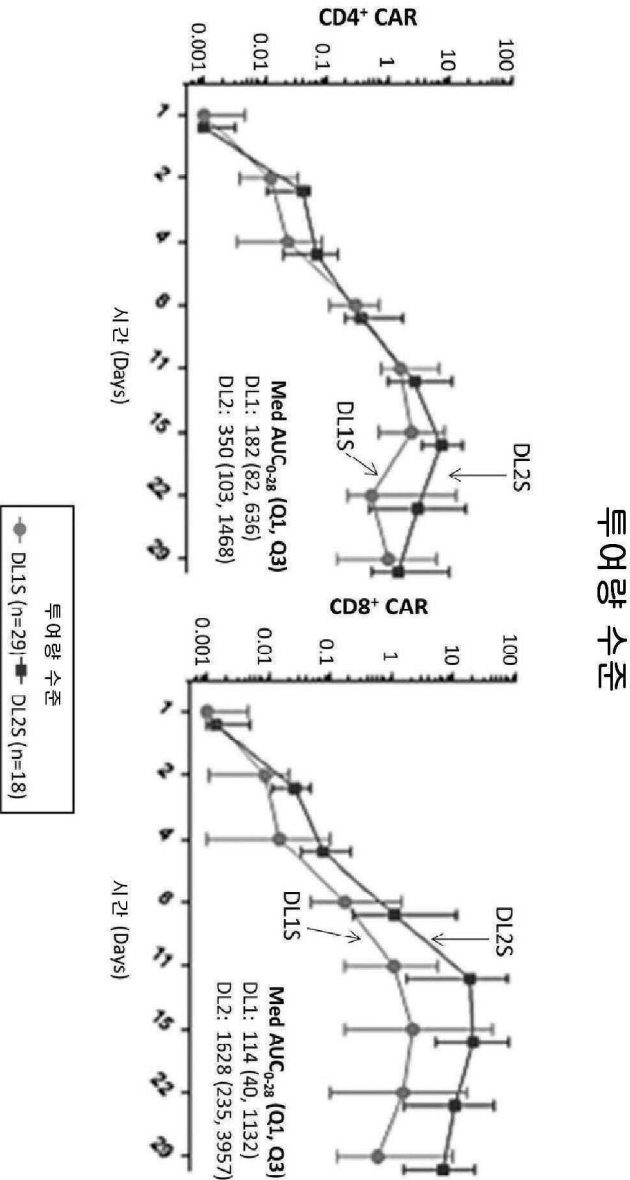
전체



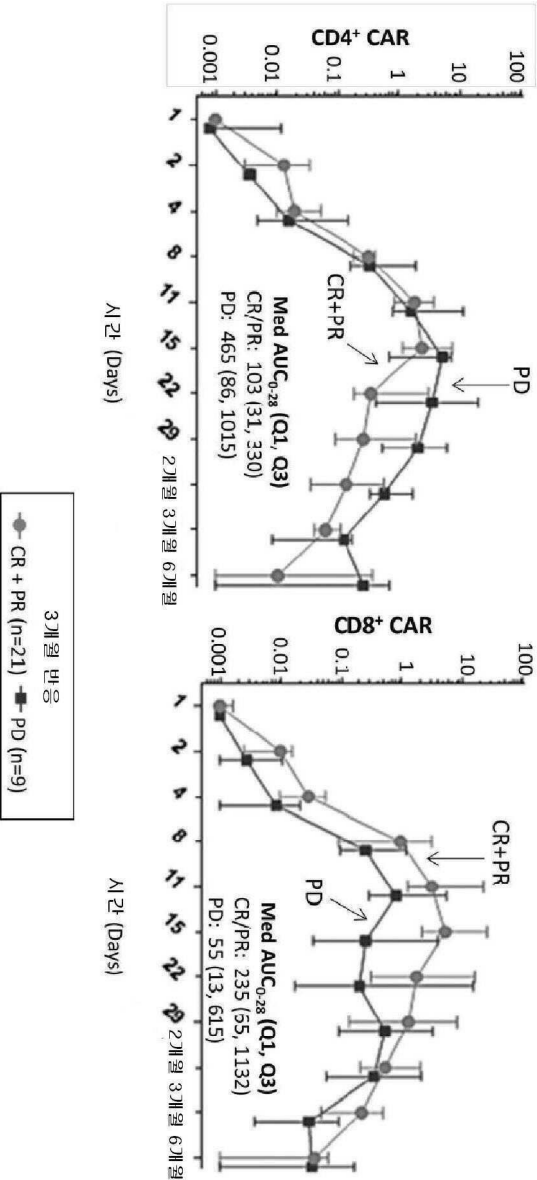
도면6b



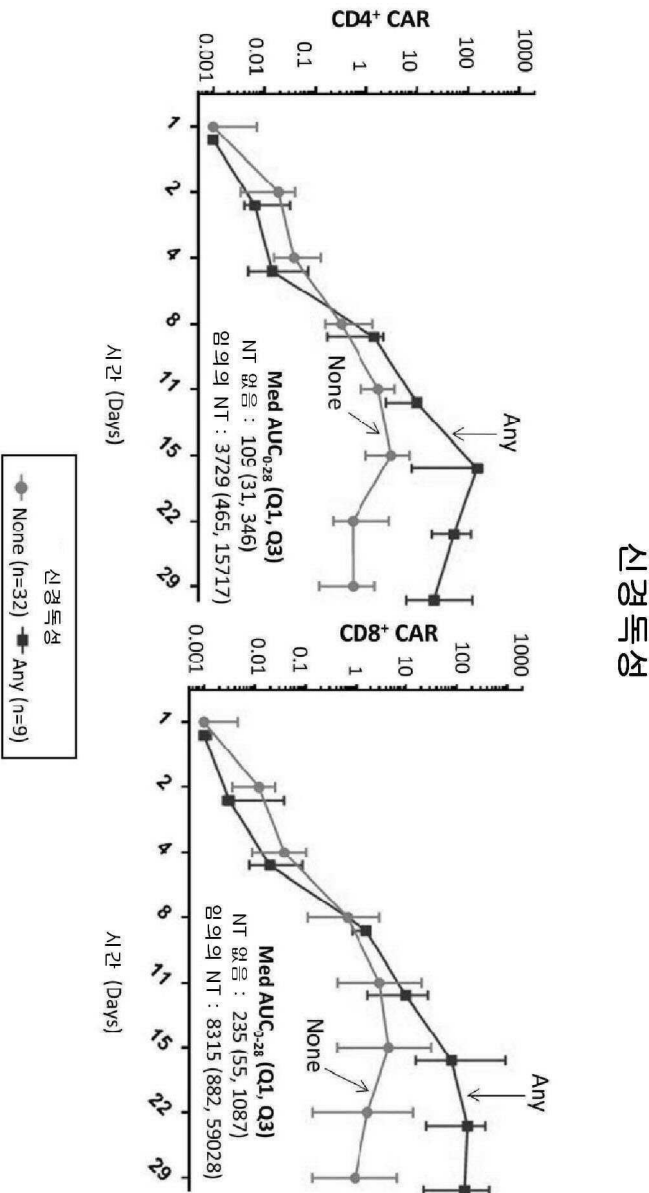
도면7a



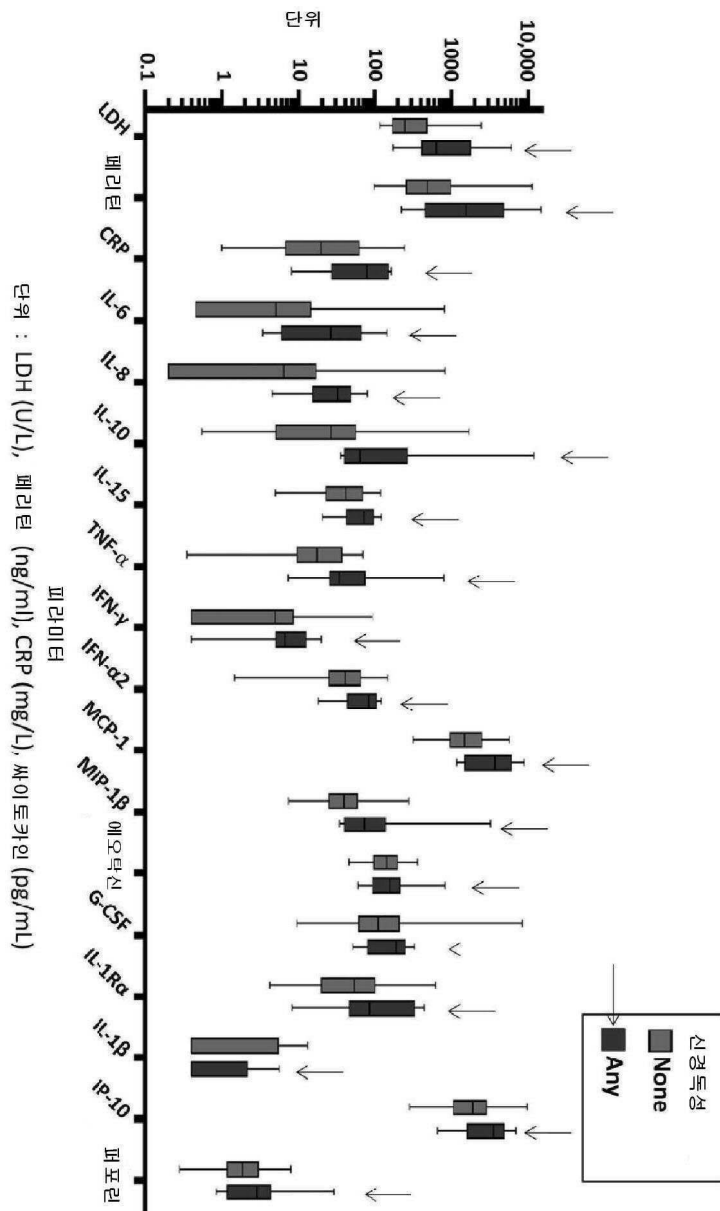
도면7b



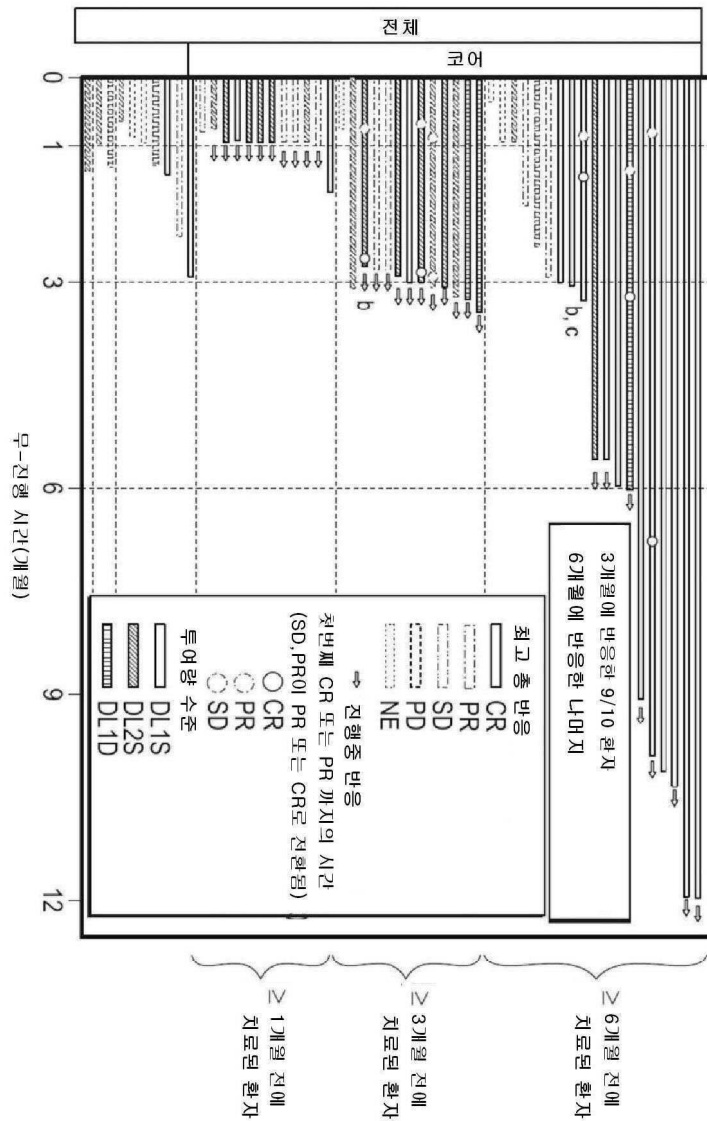
도면7c



도면8



도면9



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> JUNO THERAPEUTICS, INC.

ALBERTSON, Tina

<120> METHODS FOR MODULATION OF GENETICALLY
ENGINEERED CELLS

<130> 735042009140

<140> Not Yet Assigned

<141> Concurrently Herewith

<150> 62/580,414

<151> 2017-11-01

<150> 62/549,391

<151> 2017-08-23

<150> 62/515,512

<151> 2017-06-05

<150> 62/514,777

<151> 2017-06-02

<150> 62/492,950

<151> 2017-05-01

<150> 62/444,784

<151> 2017-01-10

<150> 62/429,740

<151> 2016-12-03

<160> 56

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Spacer (IgG4hinge)

<400> 1

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 2

<211> 36

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Spacer (IgG4hinge)

<400> 2

gaatctaagt acggaccgcc ctgccccct tgcct

36

<210> 3

<211> 119

<

212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Hinge-CH3 spacer

<400> 3

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Gly Gln Pro Arg

1 5 10 15

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys

20 25 30

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

35 40 45

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

50 55 60

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

65 70 75 80

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser

85 90 95

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

100 105 110

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

115

<210> 4

<211> 229

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Hinge-CH2-CH3 spacer

<400> 4

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe

1 5 10 15

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr

20 25 30

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val

35 40 45

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val

50

55

60

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser

65

70

75

80

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu

85

90

95

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser

100

105

110

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro

115

120

125

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln

130

135

140

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala

145

150

155

160

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr

165

170

175

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu

180

185

190

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser

195

200

205

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser

210

215

220

Leu Ser Leu Gly Lys

225

<210> 5

<211> 282

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> IgD-hinge-Fc

<400> 5

Arg Trp Pro Glu Ser Pro Lys Ala Gln Ala Ser Ser Val Pro Thr Ala

1 5 10 15

Gln Pro Gln Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala Thr Thr Ala Pro Ala

20 25 30

Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu Lys

35 40 45

Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro

50 55 60

Ser His Thr Gln Pro Leu Gly Val Tyr Leu Leu Thr Pro Ala Val Gln

65 70 75 80

Asp Leu Trp Leu Arg Asp Lys Ala Thr Phe Thr Cys Phe Val Val Gly

85 90 95

Ser Asp Leu Lys Asp Ala His Leu Thr Trp Glu Val Ala Gly Lys Val

100 105 110

Pro Thr Gly Gly Val Glu Glu Gly Leu Leu Glu Arg His Ser Asn Gly

115 120 125

Ser Gln Ser Gln His Ser Arg Leu Thr Leu Pro Arg Ser Leu Trp Asn

130 135 140

Ala Gly Thr Ser Val Thr Cys Thr Leu Asn His Pro Ser Leu Pro Pro

145 150 155 160

Gln Arg Leu Met Ala Leu Arg Glu Pro Ala Ala Gln Ala Pro Val Lys

165 170 175

Leu Ser Leu Asn Leu Leu Ala Ser Ser Asp Pro Pro Glu Ala Ala Ser

180 185 190

Trp Leu Leu Cys Glu Val Ser Gly Phe Ser Pro Pro Asn Ile Leu Leu

195 200 205

Met Trp Leu Glu Asp Gln Arg Glu Val Asn Thr Ser Gly Phe Ala Pro

210 215 220

Ala Arg Pro Pro Pro Gln Pro Gly Ser Thr Thr Phe Trp Ala Trp Ser

225 230 235 240

Val Leu Arg Val Pro Ala Pro Pro Ser Pro Gln Pro Ala Thr Tyr Thr

245 250 255
Cys Val Val Ser His Glu Asp Ser Arg Thr Leu Leu Asn Ala Ser Arg

260 265 270
Ser Leu Glu Val Ser Tyr Val Thr Asp His

275 280

<210> 6

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> T2A

<400> 6

Leu Glu Gly Gly Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp

1 5 10 15

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Arg

20

<210> 7

<211> 357

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> tEGFR

<400> 7

Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro

1 5 10 15

Ala Phe Leu Leu Ile Pro Arg Lys Val Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly

20 25 30

Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn Ala Thr Asn Ile Lys His Phe

35 40 45

Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp Leu His Ile Leu Pro Val Ala

50 55 60

Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu

65 70 75 80
 Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile
 85 90 95
 Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp Leu His Ala Phe Glu Asn Leu
 100 105 110
 Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln His Gly Gln Phe Ser Leu Ala
 115 120 125

 Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu
 130 135 140
 Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr
 145 150 155 160
 Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys
 165 170 175
 Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly
 180 185 190

 Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu
 195 200 205
 Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys
 210 215 220
 Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu
 225 230 235 240
 Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met
 245 250 255

 Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala
 260 265 270
 His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val
 275 280 285
 Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His
 290 295 300
 Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro
 305 310 315 320

Gly Leu Glu Gly Cys Pro Thr Asn Gly Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala

325

330

335

Thr Gly Met Val Gly Ala Leu Leu Leu Leu Leu Val Val Ala Leu Gly

340

345

350

Ile Gly Leu Phe Met

355

<210> 8

<211> 27

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD28

<300>

<308> UniProt P10747

<309> 1989-07-01

<400> 8

Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu

1

5

10

15

Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val

20

25

<210> 9

<211> 66

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD28

<300>

<308> UniProt P10747

<309> 1989-07-01

<400> 9

Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn

1

5

10

15

Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu

20 25 30

Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly

35 40 45

Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe

50 55 60

Trp Val

65

<210> 10

<211> 41

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD28

<300>

<308> UniProt P10747

<309> 1989-07-01

<400> 10

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr

1 5 10 15

Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro

20 25 30

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

35 40

<210> 11

<211> 41

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD28

<400> 11

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr

1 5 10 15

Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro

20 25 30

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

35 40

<210> 12

<211> 42

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> 4-1BB

<300>

<308> UniProt Q07011.1

<309> 1995-02-01

<400> 12

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met

1 5 10 15

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe

20 25 30

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

35 40

<210> 13

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD3 zeta

<400> 13

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly

1 5 10 15

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr

20 25 30

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys

35 40 45

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
50 55 60
Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
65 70 75 80
Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
85 90 95
Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
100 105 110

<210> 14

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD3 zeta

<400> 14

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Glu Pro Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
1 5 10 15
Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
20 25 30
Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
35 40 45
Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys

50 55 60
Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
65 70 75 80
Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
85 90 95
Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
100 105 110

<210> 15

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CD3 zeta

<400> 15

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly

1 5 10 15

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr

20 25 30

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys

35 40 45

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys

50 55 60

Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg

65 70 75 80

Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala

85 90 95

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

100 105 110

<210> 16

<211> 335

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> tEGFR

<400> 16

Arg Lys Val Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu

1 5 10 15

Ser Ile Asn Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile

20 25 30

Ser Gly Asp Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe

35 40 45

Thr His Thr Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr

50 55 60
 Val Lys Glu Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn

 65 70 75 80
 Arg Thr Asp Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg
 85 90 95
 Thr Lys Gln His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile
 100 105 110
 Thr Ser Leu Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val
 115 120 125
 Ile Ile Ser Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp

 130 135 140
 Lys Lys Leu Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn
 145 150 155 160
 Arg Gly Glu Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala Leu
 165 170 175
 Cys Ser Pro Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser
 180 185 190
 Cys Arg Asn Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu

 195 200 205
 Leu Glu Gly Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln
 210 215 220
 Cys His Pro Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly
 225 230 235 240
 Arg Gly Pro Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro
 245 250 255
 His Cys Val Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr

 260 265 270
 Leu Val Trp Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His
 275 280 285
 Pro Asn Cys Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly Cys Pro
 290 295 300

Thr Asn Gly Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala Thr Gly Met Val Gly Ala
 305 310 315 320
 Leu Leu Leu Leu Leu Val Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe Met

325 330 335

<210> 17

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> T2A

<400> 17

Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro
 1 5 10 15
 Gly Pro

<210> 18

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> P2A

<400> 18

Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val
 1 5 10 15

Glu Glu Asn Pro Gly Pro
 20

<210> 19

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> P2A

<400> 19

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn

1 5 10 15

Pro Gly Pro

<210> 20

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> E2A

<400> 20

Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser

1 5 10 15

Asn Pro Gly Pro

20

<210> 21

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> F2A

<400> 21

Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val

1 5 10 15

Glu Ser Asn Pro Gly Pro

20

<210> 22

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Linker

<220>

<221> REPEAT

<222> (5)...(9)

<223> SGGGG is repeated 5 times

<400> 22

Pro Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Pro

1 5 10

<210> 23

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Linker

<400> 23

Gly Ser Ala Asp Asp Ala Lys Lys Asp Ala Ala Lys Lys Asp Gly Lys

1 5 10 15

Ser

<210> 24

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Linker

<400> 24

Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 25

<211> 735

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> scFv

<400> 25

gacatccaga tgacccagac cacctccagc ctgagcgcca gcctgggcga cgggtgacc 60
atcagctgcc gggccagcca ggacatcagc aagtacctga actggtatca gcagaagccc 120
gacggcaccg tcaagctgct gatctaccac accagccggc tgcacagcgg cgtgcccagc 180
cggtttagcg gcagcggctc cggcaccgac tacagcctga ccatctcaa cctggaacag 240
gaagatatcg ccacctactt ttgccagcag ggcaacacac tgcctacac ctttggcggc 300
ggaacaaaagc tggaatcac cggcagcacc tccggcagcg gcaagcctgg cagcggcgag 360

ggcagcacca agggcgaggt gaagctgcag gaaagcggcc ctggcctggt ggcccccagc 420
cagagcctga gcgtgacctg caccgtgagc ggcgtgagcc tgcccgaacta cggcgtgagc 480
tggatccggc agccccccag gaaggcctg gaatggctgg gcgtgatctg gggcagcgag 540
accacctact acaacagcgc cctgaagagc cggctgacca tcataagga caacagcaag 600
agccagggtg tctgaagat gaacagcctg cagaccgacg acaccgcat ctactactgc 660
gccaaagcact actactacgg cggcagctac gccatggact actggggcca gggcaccagc 720
gtgaccgtga gcagc 735

<210> 26

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(1)

<223> Xaa1 is glycine, cysteine or arginine

<220>

<221> VARIANT

<222> (4)...(4)

<223> Xaa4 is cysteine or threonine

<400> 26

Xaa Pro Pro Xaa Pro

1 5

<210> 27

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge

<400> 27

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10 15

<210> 28

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge

<400> 28

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 29

<211> 61

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge

<400> 29

Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr His Thr Cys Pro Arg Cys Pro

1 5 10 15

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu

20 25 30

Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro

35 40 45

Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro

50 55 60

<210> 30

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge

<400> 30

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro

1 5 10

<210> 31

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

> Hinge

<400> 31

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge

<400> 32

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro

1 5

<210> 33

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge

<400> 33

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 34

<211> 14

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220>

<223> Hinge

<400> 34

Glu Val Val Val Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 35

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> FMC63 CDR L1

<400> 35

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 36

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> FMC63 CDR L2

<400> 36

Ser Arg Leu His Ser Gly Val

1 5

<210> 37

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> FMC63 CDR L3

<400> 37

Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly

1 5

<210> 38

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> FMC63 CDR H1

<400> 38

Asp Tyr Gly Val Ser

1 5

<210> 39

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> FMC63 CDR H2

<400> 39

Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 40

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> FMC63 CDR H3

<400> 40

Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly

1 5

<210> 41

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> FMC63 VH

<400> 41

Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln

1 5 10 15

Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr

20 25 30

Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35 40 45

Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu

65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 42

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> FMC63 VL

<400> 42

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr
100 105

<210> 43

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> FMC63 scFv

<400> 43

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile

35 40 45
Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Ser Thr Ser Gly
100 105 110
Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr Lys Gly Glu Val Lys
115 120 125

Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser

130 135 140
Val Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser
145 150 155 160
Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile

165 170 175
Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu
180 185 190
Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn
195 200 205
Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr
210 215 220
Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser

225 230 235 240
Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 44

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> SJ25C1 CDR L1

<400> 44

Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala

1 5 10

<210> 45

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> SJ25C1 CDR L2

<400> 45

Ser Ala Thr Tyr Arg Asn Ser

1 5

<210> 46

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> SJ25C1 CDR L3

<400> 46

Gln Gln Tyr Asn Arg Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 47

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> SJ25C1 CDR H1

<400> 47

Ser Tyr Trp Met Asn

1 5

<210> 48

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> SJ25C1 CDR H2

<400> 48

Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 49

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> SJ25C1 CDR H3

<400> 49

Lys Thr Ile Ser Ser Val Val Asp Phe Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 50

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> SJ25C1 VH

<400> 50

Glu Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Gln Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Gly Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Lys Thr Ile Ser Ser Val Val Asp Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 51

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> SJ25C1 VL

<400> 51

Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile

35 40 45

Tyr Ser Ala Thr Tyr Arg Asn Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser

65 70 75 80

Lys Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Arg Tyr Pro Tyr

85 90 95

Thr Ser Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 52

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Linker

<400> 52

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 53

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> SJ25C1 scFv

<400> 53

Glu Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe
 50 55 60

 Lys Gly Gln Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Ser Gly Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Arg Lys Thr Ile Ser Ser Val Val Asp Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 115 120 125

 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser
 130 135 140
 Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Val Thr Cys
 145 150 155 160
 Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys
 165 170 175
 Pro Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Ser Ala Thr Tyr Arg Asn
 180 185 190

 Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
 195 200 205
 Thr Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser Lys Asp Leu Ala Asp Tyr Phe
 210 215 220
 Cys Gln Gln Tyr Asn Arg Tyr Pro Tyr Thr Ser Gly Gly Gly Thr Lys
 225 230 235 240
 Leu Glu Ile Lys Arg
 245

<210> 54

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> FMC63 CDR H3

<400> 54

His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 55

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> FMC63 CDR L2

<400> 55

His Thr Ser Arg Leu His Ser

1 5

<210> 56

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> FMC63 CDR L3

<400> 56

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr

1 5