



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0150803
(43) 공개일자 2024년10월16일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/00 (2006.01) A61K 39/385 (2006.01)
A61K 39/39 (2006.01) A61P 3/10 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 39/0008 (2013.01)
A61K 39/385 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7031493
- (22) 출원일자(국제) 2023년02월22일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2024년09월20일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2023/063022
- (87) 국제공개번호 WO 2023/164476
국제공개일자 2023년08월31일
- (30) 우선권주장
63/312,452 2022년02월22일 미국(US)

- (71) 출원인
더 리젠츠 오브 더 유니버시티 오브 미시간
미국 48109 미시간주 앤 아버 세컨드 플로어 휴론
파크웨이 1600 오피스 오브 테크놀로지 트랜스퍼
- (72) 발명자
문, 제임스, 제이.
미국 48109-2590 미시간주 앤 아버 세컨드 플로어
휴론 파크웨이 1600 오피스 오브 테크놀로지 트랜
스퍼 더 리젠츠 오브 더 유니버시티 오브 미시간
내
쉬, 청
미국 48109-2590 미시간주 앤 아버 세컨드 플로어
휴론 파크웨이 1600 오피스 오브 테크놀로지 트랜
스퍼 더 리젠츠 오브 더 유니버시티 오브 미시간
내
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인 무한

전체 청구항 수 : 총 110 항

(54) 발명의 명칭 자가면역 질환을 치료하기 위한 조성물 및 방법

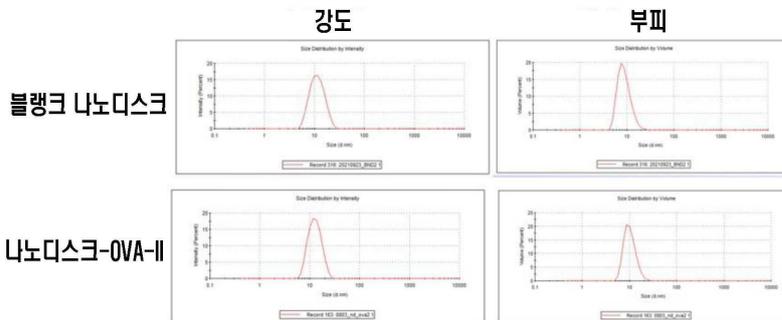
(57) 요약

본 발명은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합되거나 결합되지 않은 나노입자를 포함하는 조성물, 면역조절제 (예를 들어, 인터류킨-2(IL-2), IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC)를 포함하는 조성물, 및 조절 T 세포(Treg)(예를 들어, 항원-특이적 조절 Treg)의 증폭을 유도하기 위한 목적으로 이러한 조성물을 공동-투여하는 것을 포함하는 관련 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 면역조절제를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하기 전에 대상체에게 자가면역 질환과 관련된 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합되거나 결합되지 않은 나노입자를 포함하는 조성물을 투여하여 자가면역 질환을 치료하는 방법을 제공한다.

대표도 - 도1

동적 광산란(DLS) 분석:

	직경 (부피 기준)	PDI
블랭크	8.9 ± 1.9	0.137
나노디스크-OVA-II	10.4 ± 2.6	0.095



(52) CPC특허분류

A61K 39/39 (2013.01)

A61P 3/10 (2018.01)

A61P 37/00 (2018.01)

A61K 2039/545 (2013.01)

A61K 2039/55522 (2013.01)

A61K 2039/55533 (2013.01)

A61K 2039/55555 (2013.01)

A61K 2039/6018 (2013.01)

(72) 발명자

딤슨, 한나

미국 48109-2590 미시간주 앤 아버 세컨드 플로어
휴론 파크웨이 1600 오피스 오브 테크놀로지 트랜
스퍼 더 리젠츠 오브 더 유니버시티 오브 미시간
내

쉬, 진

미국 48109-2590 미시간주 앤 아버 세컨드 플로어
휴론 파크웨이 1600 오피스 오브 테크놀로지 트랜
스퍼 더 리젠츠 오브 더 유니버시티 오브 미시간
내

씨에, 팡

미국 48109-2590 미시간주 앤 아버 세컨드 플로어
휴론 파크웨이 1600 오피스 오브 테크놀로지 트랜
스퍼 더 리젠츠 오브 더 유니버시티 오브 미시간
내

슈베펜데만, 안나

미국 48109-2590 미시간주 앤 아버 세컨드 플로어
휴론 파크웨이 1600 오피스 오브 테크놀로지 트랜
스퍼 더 리젠츠 오브 더 유니버시티 오브 미시간
내

명세서

청구범위

청구항 1

나노입자를 포함하는 조성물; 및

대상체 내에서 조절 T 세포(Treg)를 확장(expanding)할 수 있는 면역조절제(immunomodulatory agent)를 포함하는 조성물;

을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 나노입자는 하나 이상의 면역관용성 항원(tolerogenic antigen)과 결합되어 있고,

하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 나노입자를 포함하는 조성물을 투여한 후 Treg를 확장할 수 있는 면역조절제를 포함하는 조성물을 투여하면 다음 중 하나 이상의 결과가 발생하며:

상기 대상체에서 하나 이상의 질환을 치료, 예방 및/또는 완화;

상기 대상체 내의 자가면역 질병과 관련된 항원에 대한 강력한 면역 관용(immune tolerance) 촉진;

상기 대상체 내에서 Treg(예를 들어, CD3+FOXP3+ 세포)의 생체 내 증폭; 및

상기 대상체 내의 T 세포 집단 내에서 CD3+FOXP3- 세포에 대한 CD3+FOXP3+ 세포의 비율 증가;

이때 상기 항원은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 상기 나노입자와 결합된 하나 이상의 면역관용성 항원에 특이적인 것인, 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 Treg를 확장할 수 있는 면역조절제를 포함하는 조성물은 나노입자 내에 포함되어, 상기 나노입자가 Treg를 확장할 수 있는 면역조절제와 결합되어 있는 것인, 방법.

청구항 4

제2항 또는 제3항에 있어서, 상기 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 나노입자를 포함하는 조성물은 상기 Treg를 확장할 수 있는 면역조절제를 포함하는 조성물과 동시에 투여되지 않고, 상기 Treg를 확장할 수 있는 면역조절제를 포함하는 조성물을 투여하기 이전에, 예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 전에 투여되는 것인, 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 Treg를 확장할 수 있는 면역조절제를 포함하는 조성물은 상기 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 나노입자를 포함하는 조성물을 투여하고 30일 이내에 투여되는 것인, 방법.

청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 나노입자는 sHDL 나노입자인 것인, 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 sHDL 나노입자는 적어도 하나의 인지질과 적어도 하나의 HDL 아포지질단백질 또는 아포지질단백질 모방체를 포함하는 것인, 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 인지질은 1,2-디라우로일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디아라키도일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디베헤노일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디리그노세로일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디미리스톨레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디미리스텔라이도일(dimyristelaidoyl)-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디팔미톨레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디팔미텔라이도일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디페트로셀레노일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디엘라이도일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디에이코세노일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디네르보노일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디라우로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 1,2-디펜타데카노일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 1,2-디팔미톨레오일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 1,2-디엘라이도일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 디올레오일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[3-(2-피리딜 디티오) 프로피오네이트]; 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포티오에탄올; 1,2-디-(9Z-옥타데세노일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[4-(p-말레이미도페닐)부티라미드]; 1,2-디헥사데카노일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[4-(p-말레이미도페닐)부티라미드]; 1,2-디헥사데카노일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[4-(p-말레이미도메틸)사이클로헥산-카복사미드]; 1,2-디-(9Z-옥타데세노일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[4-(p-말레이미도메틸)사이클로헥산-카복사미드]; N-[(3-말레이미드-1-옥소프로필)아미노프로필 폴리에틸렌글리콜-카바밀 디스테아로일포스파티딜-에탄올아민; N-[(3-말레이미드-1-옥소프로필)아미노프로필 폴리에틸렌글리콜-카바밀 디스테아로일포스파티딜-에탄올아민; N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디스테아로일; N-[(3-말레이미드-1-옥소프로필)아미노프로필 폴리에틸렌글리콜-카바밀] 디스테아로일포스파티딜-에탄올아민; N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디미리스토이(Dimyristoy); N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디올레오일; N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디팔미토일; N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 1-팔미토일-2-올레오일; 포스파티딜콜린; 포스파티딜이노시톨; 포스파티딜세린; 포스파티딜에탄올아민; N-(석신이미딜옥시-글루타릴)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디스테아로일; N-(석신이미딜옥시-글루타릴)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디올레오일; N-(석신이미딜옥시-글루타릴)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 1-팔미토일-2-올레오일; N-(석신이미딜옥시-글루타릴)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디팔미토일; N-(석신이미딜옥시-글루타릴)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디미리스토일; 3-(N-석신이미딜옥시글루타릴)아미노프로필, 및 폴리에틸렌글리콜-카바밀 디스테아로일포스파티딜-에탄올아민; N-(3-옥소프로폭시 폴리에틸렌글리콜)카바밀-디스테아로일-에탄올아민으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 9

제7항에 있어서, 상기 HDL 아포지질단백질 성분은 아포지질단백질 A-I(apoA-I), 아포지질단백질 A-II(apoA-II), 아포지질단백질 A-II xxx(apoA-II-xxx), 아포지질단백질 A4(apoA4), 아포지질단백질 Cs(apoCs), 아포지질단백질 E(apoE), 아포지질단백질 A-I 밀라노(apoA-I-밀라노), 아포지질단백질 A-I 파리(apoA-I-파리), 아포지질단백질 M(apoM), HDL 아포지질단백질 모방체, 프리프로아포지질단백질(preproapolipoprotein), preproApoA-I, proApoA I, preproApoA-II, proApoA II, preproApoA-IV, proApoA-IV, ApoA-V, preproApoE, proApoE, preproApoA I_{밀라노}, proApoA-I_{밀라노}, preproApoA-I_{파리}, proApoA-I_{파리}, 및 이들의 혼합물로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 10

제7항에 있어서, 상기 아포지질단백질 모방체는 서열 번호: 1-336 및 WDRVKDLATVYVDVLKDSGRDYVSQF (서열 번호:341), LKLLDNWDSVTSTFSKLEOL (서열 번호:342), PVTOEFWDNLEKETEGLROEMS (서열 번호:343), KDLEEVKAKVQ (서열 번호:344), KDLEEVKAKVO (서열 번호:345), PYLDDFQKKWQEEMELYRQKVE (서열 번호:346), PLRAELQEGARQKLHELOEKLS (서열 번호:347), PLGEEMRDRARAHVDALRTHLA (서열 번호:348), PYSDELQRQLAARLEALKENGG (서열 번호:349), ARLAEYHAKATEHLSTLSEKAK (서열 번호:350), PALEDLROGLL (서열 번호:351), PVLESFKVSFLSALEEYTKKLN (서열 번호:352), PVLESFVSFLSALEEYTKKLN (서열 번호:353), PVLESFKVSFLSALEEYTKKLN (서열 번호:352), TVLLLTICSLEGALVRRQAKEPCV (서열 번호:354) QTVTDYGKDLME (서열 번호:355), KVKSPELOAEAKSYFEKSKE (서열 번호:356), VLTALVAVAGARAIEVSADOVATV (서열 번호:357), NNAKEAVEHLOKSELTOOLNAL (서열 번호:358), LPVLVWLSIVLEGPAPAOGTPDVSS (서열 번호:359), LPVLVVVLSIVLEGPAPAOGTPDVSS (서열 번호:360),

ALDKLKEFGNTLEDKARELIS (서열 번호:361), VVALLALLASARASEAEDASLL (서열 번호:362), HLRKLRKRLLRDADDLQKRLAVYOA (서열 번호:363), AQAWGERLRARMEEMGSRTDR (서열 번호:364), LDEVKEQVAEVRAKLEEQAQ (서열 번호:365), DWLKAFYDKVAEKLKEAF (서열 번호:236), DWLKAFYDKVAEKLKEAFDWAKAAYDKAAEKAKEAA (서열 번호:366), PVLDLFRELLNELLEALKQKL (서열 번호:367), PVLDLFRELLNELLEALKQKLA (서열 번호:368), PVLDLFRELLNELLEALKQKLK (서열 번호:4), PVLDLFRELLNELLEALKQKLA (서열 번호:369), PVLDLFRELLNELLEALKKLLK (서열 번호:370), PVLDLFRELLNELLEALKKLLA (서열 번호:371), PLLDLFRELLNELLEALKKLLA (서열 번호:372), 및 EVRSKLEEWFAAFREFAEEFLARLKS (서열 번호:373) 중 어느 것에 기재되어 있는 것인, 방법.

청구항 11

제2항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 면역관용성 항원은 3개 아미노산 내지 50개 아미노산 길이를 포함하는 면역관용성 항원인 것인, 방법.

청구항 12

제2항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 면역관용성 항원은 서열 번호: 375-796 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는 면역관용성 항원인 것인, 방법.

청구항 13

제2항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 면역관용성 항원은 인간 동종 이식 항원(human allograft transplantation antigen)인 것인, 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 인간 동종 이식 항원은 다양한 MHC 클래스 I 및 MHC 클래스 II 일배체형(haplotype) 단백질의 서브유닛, 및 RhCE, Kell, Kidd, Duffy 및 Ss를 포함하는 소수 혈액형 항원의 단일-아미노산 다형성으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 15

제2항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 면역관용성 항원은 1형 당뇨병에 특이적인 것인, 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 면역관용성 항원은 인슐린, 프로인슐린, 프리프로인슐린(preproinsulin), 글루탐산 탈탄산효소-65(GAD-65), GAD-67, 인슐린중-관련 단백질 2(IA-2), 인슐린중-관련 단백질 2β(IA-2β), ICA69, ICA12(SOX-13), 카복시펩티다제 H, 이모젠 38, GLIM A 38, 크로모그라닌-A, HSP-60, 카복시펩티다제 E, 페리페린, 포도당 수용체 2, 간암중-장-췌장/췌장 관련 단백질, S100β, 신경교섬유질산성단백질(glial fibrillary acidic protein), 재생 유전자(regenerating gene) II, 췌장 십이지장 호메오박스(pancreatic duodenal homeobox) 1, 근긴장증 이영양증 키나제(dystrophia myotonica kinase), 췌도-특이적 포도당-6-포스파타아제 촉매 서브유닛-관련 단백질(islet-specific glucose-6-phosphatase catalytic subunit-related protein), 및 SST G-단백질 결합 수용체 1-5로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 17

제2항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역관용성 항원은 류마티스 관절염, 다발성 경화증, 원발성 담즙성 담관염(primary biliary cholangitis), 원발성 경화성 담관염(primary sclerosing cholangitis), MOG 항체 질병, 당뇨병, 갑상선의 자가면역 질환, 갑상선-관련 안병증 및 피부병증, 부갑상선기능저하증(hypoparathyroidism), 애디슨병(Addison's disease), 조기 난소 부전(premature ovarian failure), 자가면역 뇌하수체염(autoimmune hypophysitis), 뇌하수체 자가면역 질환, 면역위염(immunogastritis), 악성 빈혈(pernicious anemia), 셀리악병(ceeliac disease), 백반증, 중증 근무력증, 심상성 천포창(pemphigus vulgaris) 및 변종, 수포성 유천포창(bullous pemphigoid), 듀링 포진상 피부염(dermatitis herpetiformis Duhring), 후천성 표피수포증(epidermolysis bullosa acquisita), 전신 경화증(systemic sclerosis), 혼합결합 조직병(mixed connective tissue disease), 쇼그렌 증후군(Sjogren's syndrome), 전신 홍반 루푸스(systemic

lupus erythematosus), 굿파스처 증후군(Goodpasture's syndrome), 류마티스성 심질환(rheumatic heart disease), 자가면역 다분비선 증후군 1형(autoimmune polyglandular syndrome type 1), 에카르디-구티에레스 증후군(Aicardi-Goutieres syndrome), 급성 췌장염 연령-의존성 황반변성(Acute pancreatitis Age-dependent macular degeneration), 알코올성 간질환(Alcoholic liver disease), 간섬유화(Liver fibrosis), 전이, 심근경색증, 비알코올성 지방간염(Nonalcoholic steatohepatitis, NASH), 파킨슨병, 다발관절염/태아 및 신생아 빈혈(Polyarthritis/fetal and neonatal anemia), 패혈증, 염증성 장질환, 이식 관련 질환, 하나 이상의 알레르기, 호흡기 질환(예를 들어, 천식), 및 GVHD와 같은 질환 중 하나 이상에 특이적인 것인, 방법.

청구항 18

제2항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 면역관용성 항원은 티로글로불린(TG), 갑상선 퍼옥시다제(TPO), 갑상선자극호르몬 수용체(TSHR), 나트륨 요오드 심포터(sodium iodine symporter, NIS), 메갈린(megalyn), TSHR을 포함한 갑상선 자가항원(autoantigen), 인슐린-유사 성장 인자 1 수용체, 칼슘 민감성 수용체(calcium sensitive receptor), 21-하이드록실라제, 17 α -하이드록실라제, 및 P450 측쇄 절단 효소(P450_{sc}), ACTH 수용체, P450c21, P450c17, FSH 수용체, α -에놀라제, 뇌하수체-특이적 단백질 인자(PGSF) 1a 및 2, 및 2형 요오드티로닌 탈요오드화효소(type 2 iodothyronine deiodinase), 미엘린 염기성 단백질(myelin basic protein), 미엘린 희소돌기아교세포 당단백질(myelin oligodendrocyte glycoprotein), 프로테오리피드 단백질(proteolipid protein), 콜라겐 II, H⁺, K⁺-ATPase, 조직 트랜스글루타미나제 및 글리아딘, 티로시나제, 티로시나제 관련 단백질 1 및 2, 아세틸콜린 수용체, 데스모글레인(desmoglein) 3, 1 및 4, 펌팍신(pemphaxin), 데스모콜린(desmocollin), 플라코글로빈(plakoglobin), 퍼플라킨(perplakin), 데스모플라킨(desmoplakin), 아세틸콜린 수용체, BP180, BP230, 플렉틴(plectin), 라미닌 5, 근내막(endomysium), 조직 트랜스글루타미나제, 콜라겐 VII, 기질 금속단백분해효소(matrix metalloproteinase) 1 및 3, 콜라겐-특이적 분자 샤페론 열충격 단백질 47, 피브릴린-1, PDGF 수용체, Sc1-70, U1 RNP, Th/To, Ku, Jo1, NAG-2, 동원체 단백질(centromere protein), 토포이소머라제 I, 핵소체 단백질(nucleolar protein), RNA 중합효소 I, II 및 III, PM-S1c, 피브릴라린(fibrillarlin), B23, U1snRNP, 핵 항원 SS-A 및 SS-B, 포드린, 폴리(ADP-리보스) 중합효소, 토포이소머라제, SS-A를 포함하는 핵 단백질, 하이 모빌리티 그룹 박스 1(high mobility group box 1, HMG1), 뉴클레오솜, 히스톤 단백질, 이중 가닥 DNA, 콜라겐 IV를 포함하는 사구체 기저막 단백질, 심장 미오신, 방향족 L-아미노산 탈탄산효소, 히스티딘 탈탄산효소, 시스테인 설핀산 탈탄산효소, 트립토판 하이드록실라제, 티로신 하이드록실라제, 페닐알라닌 하이드록실라제, 간 P450 사이토크롬 P4501A2 및 2A6, SOX-9, SOX-10, 칼슘-감지 수용체 단백질, 및 1형 인터페론인 인터페론 알파, 베타 및 오메가로부터 선택된 면역관용성 항원 중 하나 이상을 포함하는 것인, 방법.

청구항 19

제2항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 면역관용성 항원은 셀리악병에 특이적인 것인, 방법.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 면역관용성 항원은 면역 반응을 유도할 수 있는 글리아딘, 글루테닌, 및 이의 단편으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 면역관용성 항원은 글리아딘 또는 이의 단편으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 면역관용성 항원은 α , γ , 및 ω 글리아딘 또는 이의 단편으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 23

제21항 또는 제22항에 있어서, 상기 면역관용성 항원은 서열 번호: 375-580 중 어느 하나의 폴리펩타이드 서열과 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드를 포함하는 것인, 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 면역관용성 항원은 서열 번호: 375-580의 폴리펩타이드 서열 중 어느 하나와 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드를 포함하는 것인, 방법.

청구항 25

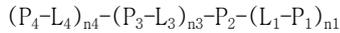
제24항에 있어서, 상기 면역관용성 항원은 서열 번호: 375-580 중 어느 하나의 폴리펩타이드 서열을 갖는 폴리펩타이드를 포함하는 것인, 방법.

청구항 26

제25항에 있어서, 상기 면역관용성 항원은 서열 번호: 375-580 중 어느 하나의 서열을 갖는 폴리펩타이드 서열을 2개 이상 포함하는 것인, 방법.

청구항 27

제2항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역관용성 항원은 다음의 N-말단에서 C-말단 구조를 포함하는 다량체 면역관용성 항원인 것인, 방법:



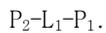
상기 식에서, P_1 , P_2 , P_3 , 및 P_4 는 각각 독립적으로 면역관용성 항원이고;

L_1 , L_3 , 및 L_4 는 각각 독립적으로 링커이며;

n_1 , n_3 , 및 n_4 는 각각 독립적으로 0 또는 1이고, 이때 n_1 , n_3 , 및 n_4 중 적어도 하나는 1이다.

청구항 28

제27항에 있어서, n_1 은 1이고, n_3 은 0이며, n_4 는 0이고, 상기 면역관용성 항원은 다음의 N-말단에서 C-말단 구조를 포함하는 것인, 방법:



청구항 29

제27항 또는 제28항에 있어서, L_1 은 2 내지 200개의 아미노산을 포함하는 펩타이드 링커인 것인, 방법.

청구항 30

제27항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, L_1 은 5 내지 50개 아미노산을 포함하는 펩타이드 링커인 것인, 방법.

청구항 31

제27항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, L_1 은 글리신(G) 및 세린(S) 잔기를 포함하는 펩타이드 링커인 것인, 방법.

청구항 32

제27항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, L_1 은 $(GS)_x$, $(GGS)_x$, 또는 $(GGGS)_x$ 의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 링커이되, 이때 x 는 1 내지 10의 정수인 것인, 방법.

청구항 33

제27항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, P_1 및 P_2 는 각각 서로 다른 면역관용성 항원을 포함하는 것인, 방법.

청구항 34

제27항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, P_1 및 P_2 는 각각 동일한 면역관용성 항원을 포함하는 것인, 방법.

청구항 35

제27항에 있어서, n_1 은 1이고, n_3 은 1이며, n_4 는 0이고, 상기 면역관용성 항원은 다음의 N-말단에서 C-말단 구조를 포함하는 것인, 방법:

P_3 - L_3 - P_2 - L_1 - P_1 .

청구항 36

제27항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, L_1 및 L_3 은 각각 독립적으로 2 내지 200개의 아미노산을 포함하는 펩타이드 링커로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 37

제27항에 있어서, L_1 및 L_3 은 각각 독립적으로 5 내지 50개의 아미노산을 포함하는 펩타이드 링커로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 38

제27항에 있어서, L_1 및 L_3 은 각각 독립적으로 글리신(G) 및 세린(S) 잔기를 포함하는 펩타이드 링커로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 39

제35항에 있어서, L_1 및 L_3 은 각각 독립적으로 $(GS)_x$, $(GGS)_x$, 또는 $(GGGS)_x$ 의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 링커로부터 선택되되, 이때 x 는 1 내지 10의 정수인 것인, 방법.

청구항 40

제35항에 있어서, P_1 , P_2 , 및/또는 P_3 은 각각 서로 다른 면역관용성 항원을 포함하는 것인, 방법.

청구항 41

제34항에 있어서, P_1 , P_2 , 및/또는 P_3 은 각각 동일한 면역관용성 항원을 포함하는 것인, 방법.

청구항 42

제27항에 있어서, n_1 은 1이고, n_3 은 1이며, n_4 는 1이고, 상기 면역관용성 항원은 다음의 N-말단에서 C-말단 구조를 포함하는 것인, 방법:

P_4 - L_4 - P_3 - L_3 - P_2 - L_1 - P_1 .

청구항 43

제42항에 있어서, L_1 및 L_2 는 각각 독립적으로 2 내지 200개의 아미노산을 포함하는 펩타이드 링커로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 44

제43항에 있어서, L_1 , L_2 , 및 L_3 은 각각 독립적으로 5 내지 50개의 아미노산을 포함하는 펩타이드 링커로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 45

제43항에 있어서, L_1 , L_2 , 및 L_3 은 각각 독립적으로 글리신(G) 및 세린(S) 잔기를 포함하는 펩타이드 링커로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 46

제42항에 있어서, L_1 , L_2 , 및 L_3 은 각각 독립적으로 $(GS)_x$, $(GGS)_x$, 또는 $(GGGS$ (서열 번호: 219)) $_x$ 의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 링커로부터 선택되되, 이때 x 는 1 내지 10의 정수인 것인, 방법.

청구항 47

제42항에 있어서, P_1 , P_2 , P_3 , 및/또는 P_4 는 각각 서로 다른 면역관용성 항원을 포함하는 것인, 방법.

청구항 48

제42항에 있어서, P_1 , P_2 , P_3 , 및 P_4 는 각각 동일한 면역관용성 항원을 포함하는 것인, 방법.

청구항 49

제2항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 특정 나노입자와 결합된 면역관용성 항원의 수는 나노입자당 1 내지 30개의 면역관용성 항원 집단을 포함하는 것인, 방법.

청구항 50

제49항에 있어서, 특정 나노입자와 결합된 면역관용성 항원의 수는 입자당 1 내지 10개의 면역관용성 항원 집단을 포함하는 것인, 방법.

청구항 51

제49항에 있어서, 특정 나노입자와 결합된 면역관용성 항원의 수는 입자당 6개의 면역관용성 항원 집단을 포함하는 것인, 방법.

청구항 52

제49항에 있어서, 특정 나노입자와 결합된 면역관용성 항원의 수는 입자당 8개의 면역관용성 항원 집단을 포함하는 것인, 방법.

청구항 53

제50항에 있어서, 특정 나노입자와 결합된 면역관용성 항원 집단은 동일한 면역관용성 항원인 것인, 방법.

청구항 54

제49항에 있어서, 특정 나노입자와 결합된 면역관용성 항원 집단은 1 내지 5개의 서로 다른 면역관용성 항원을 포함하는 것인, 방법.

청구항 55

제48항에 있어서, 특정 나노입자와 결합된 면역관용성 항원 집단은 3개 내지 4개의 서로 다른 면역관용성 항원을 포함하는 것인, 방법.

청구항 56

제54항에 있어서, 상기 면역관용성 항원 집단은 1 내지 3개의 다른 질병에 특이적인 것인, 방법.

청구항 57

제54항에 있어서, 상기 면역관용성 항원 집단은 동일한 질병에 특이적인 것인, 방법.

청구항 58

제2항에 있어서, 특정 나노입자와 결합된 면역관용성 항원 집단은 (i) 서열 번호: 406-588 중 어느 하나의 아미

노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제1 폴리펩타이드 집단, (ii) 서열 번호: 406-588 중 어느 하나의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제2 폴리펩타이드 집단, 및 (iii) 서열 번호: 406-588 중 어느 하나의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제3 폴리펩타이드 집단을 포함하는 것인, 방법.

청구항 59

제58항에 있어서, (i) 상기 제1 폴리펩타이드 집단은 서열 번호: 474의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하고, (ii) 상기 제2 폴리펩타이드 집단은 서열 번호: 406-588 중 어느 하나의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하며, (iii) 상기 제3 폴리펩타이드 집단은 서열 번호: 406-588 중 어느 하나의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 것인, 방법.

청구항 60

제58항에 있어서, 상기 특정 나노입자와 결합된 면역관용성 항원 집단은 (i) 서열 번호: 474의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제1 폴리펩타이드 집단, (ii) 서열 번호: 475의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제2 폴리펩타이드 집단, 및 (iii) 서열 번호: 406-588 중 어느 하나의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제3 폴리펩타이드 집단을 포함하는 것인, 방법.

청구항 61

제60항에 있어서, 상기 제3 폴리펩타이드 집단은 서열 번호: 476의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 것인, 방법.

청구항 62

제59항에 있어서, 상기 제2 폴리펩타이드 집단은 서열 번호: 477의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하고/하거나 상기 제3 폴리펩타이드 집단은 서열 번호: 478의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 것인, 방법.

청구항 63

제58항에 있어서, (i) 상기 제1 폴리펩타이드 집단은 서열 번호: 506의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하고, (ii) 상기 제2 폴리펩타이드 집단은 서열 번호: 406-588 중 어느 하나의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하며, (iii) 상기 제3 폴리펩타이드 집단은 서열 번호: 406-588 중 어느 하나의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 것인, 방법.

청구항 64

제63항에 있어서, 상기 특정 나노입자와 결합된 면역관용성 항원 집단은 (i) 서열 번호: 506의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제1 폴리펩타이드 집단, (ii) 서열 번호: 507의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제2 폴리펩타이드 집단, 및 (iii) 서열 번호: 406-588 중 어느 하나의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제3 폴리펩타이드 집단을 포함하는 것인, 방법.

청구항 65

제64항에 있어서, 상기 제3 폴리펩타이드 집단은 서열 번호: 508의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 것인, 방법.

청구항 66

제23항에 있어서, 상기 면역관용성 항원은 서열 번호: 374의 폴리펩타이드 서열과 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드를 포함하는 것인, 방법.

청구항 67

제66항에 있어서, 상기 면역관용성 항원은 서열 번호: 374의 폴리펩타이드와 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드를 포함하는 것인, 방법.

청구항 68

제67항에 있어서, 상기 면역관용성 항원은 서열 번호: 374의 폴리펩타이드와 적어도 97%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드를 포함하는 것인, 방법.

청구항 69

제68항에 있어서, 상기 면역관용성 항원은 서열 번호: 374의 폴리펩타이드 서열을 포함하는 것인, 방법.

청구항 70

제69항에 있어서, 상기 면역관용성 항원은 6 내지 12개 아미노산 잔기 길이를 포함하는, 서열 번호: 374의 단편을 포함하는 것인, 방법.

청구항 71

제2항에 있어서, 상기 면역관용성 항원은 C-말단에 아미드기를 포함하는 것인, 방법.

청구항 72

제2항에 있어서, 상기 면역관용성 항원은 N-말단에 피로글루탐산 잔기를 포함하는 것인, 방법.

청구항 73

제2항에 있어서, 상기 면역관용성 항원은 N-말단에 아세틸기를 포함하는 것인, 방법.

청구항 74

제2항에 있어서, 상기 면역관용성 항원은 N-말단에 피로글루탐산 잔기를 포함하고 C-말단에 아미드기를 포함하는 것인, 방법.

청구항 75

제2항에 있어서, 상기 면역관용성 항원은 N-말단에 아세틸기를 포함하고 C-말단에 아미드기를 포함하는 것인, 방법.

청구항 76

제2항에 있어서, 상기 면역관용성 항원은 링커에 결합된 시스테인 잔기로 변형된 N-말단 또는 C-말단을 포함하는 것인, 방법.

청구항 77

제2항에 있어서, 상기 면역관용성 항원은 링커에 결합된 시스테인 잔기로 변형된 N-말단 및 C-말단을 포함하는 것인, 방법.

청구항 78

제7항에 있어서, 상기 하나 이상의 면역관용성 항원은 상기 나노입자 인지질과 접합되어 있는 것인, 방법.

청구항 79

제7항에 있어서, 상기 하나 이상의 면역관용성 항원은 각 면역관용성 항원과 나노입자 인지질 사이에서 상기 나노입자 인지질과 접합되어 있는 것인, 방법.

청구항 80

제79항에 있어서, 상기 나노입자 인지질은,

N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디올레오일;

N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디스테아로일;

N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 1-팔미토일-2-올레오일;

N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디팔미토일; 및

N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디미리스토이;

로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 81

제7항에 있어서, 상기 하나 이상의 면역관용성 항원은 아민-매개된 상호작용을 통해 상기 나노입자 인지질과 결합되어 있는 것인, 방법.

청구항 82

제81항에 있어서, 상기 나노입자 인지질은 N-(석신이미딜옥시-글루타릴)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디올레오일(DOPE-NHS)인 것인, 방법.

청구항 83

제81항에 있어서, 상기 아민-매개된 상호작용은 자가-희생적 연결을 갖는 아민-반응성 인지질을 통해 이루어지는 것인, 방법.

청구항 84

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 나노입자는 면역조절제와 결합되어 있고, 면역관용성 항원과는 결합되어 있지 않거나; 또는

상기 나노입자는 면역관용성 항원과 결합되어 있으며, 면역조절제와도 결합되어 있는 것인, 방법.

청구항 85

제84항에 있어서, 상기 면역조절제는 핑골리모드(fingolimod); 라파마이신; 2-(1'H-인돌-3'-카보닐)-티아졸-4-카복실산 메틸 에스테르(ITE) 또는 관련 리간드; 트리코스타틴 A; 수베로일아닐리드 하이드록삼산(Suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA); 스타틴; mTOR 억제제; TGF- β 신호전달제; TGF- β 수용체 작용제; 히스톤 탈아세틸화효소 억제제; 코르티코스테로이드; 미토콘드리아 기능 억제제; NF- κ β 억제제; 아테노신 수용체 작용제; 프로스타글란딘 E2 작용제(PGE2); 포스포디에스테라제 억제제; 프로테아좀 억제제; 키나제 억제제; G-단백질 결합 수용체 작용제; G-단백질 결합 수용체 길항제; 글루코코르티코이드; 레티노이드; 사이토카인 억제제; 사이토카인 수용체 억제제; 사이토카인 수용체 활성화제; 퍼옥시좀 증식체-활성화 수용체 길항제(peroxisome proliferator-activated receptor antagonist); 퍼옥시좀 증식체-활성화 수용체 작용제; 히스톤 탈아세틸화효소 억제제; 칼시뉴린 억제제; 포스파타아제 억제제; PI3 KB 억제제; 자가포식 억제제; 아릴 탄화수소 수용체 억제제; 프로테아좀 억제제 I(PSI); 산화된 ATP IDO; 비타민 D3; 사이클로스포린; 아릴 탄화수소 수용체 억제제; 레스베라트롤; 아자티오퓨린(azathiopurine, Aza); 6-머캅토퓨린(6-MP); 6-티오구아닌(6-TG); FK506; 상글리페린(sagliptin) A; 살메테롤; 미코페놀레이트 모페틸(mycophenolate mofetil, MMF); 아스피린 및 기타 COX 억제제; 니플룸산(niflumic acid); 에스트리올; 트립톨리드(triptolide); OPN-305, OPN-401; 에리토란(Eritoran)(E5564); TAK-242; Cpn10; NI-0101; 1A6; AV411; IRS-954(DV-1079); IMO-3100; CPG-52363; CPG-52364; OPN-305; ATNC05; NI-0101; IMO-8400; 하이드록시클로로퀸; CU-CPT22; C29; 오르토-바닐린; SSL3 단백질; OPN-305; 5 SsnB; 비잔틴(Vizantin); (+)-N-페네틸노복시모르핀; VB3323; 단당류 3; (+)-날트렉손 및 (+)-날록손; HT52; HTB2; 화합물 4a; CNT02424; TH1020; INH-ODN; E6446; AT791; CpG ODN 2088; ODN TTAGGG; COV08-0064; 2R9; GpG 올리고뉴클레오티드; 2-아미노푸린; 암렉사녹스(Amlexanox); Bay11-7082; BX795; CH-223191; 클로로퀸; CLI-095; CU-CPT9a; 사이클로스포린 A; CTY387; 게피티닙(Gefitinib); 글리벤클라미드(Glybenclamide); H-89; H-131; 이소리퀴리티제닌(Isoliquiritigenin); MCC950; MRT67307; OxPAPC; 파르테놀리드(Parthenolide); Pepinh-MYD; Pepinh-TRIF; 폴리믹신(Polymyxin) B; R406; RU.521; VX-765; YM201636; Z-

VAD-FMK; 및 2,3,7,8-테트라클로로-디벤조-p-다이옥신(TCDD), 트립타민(TA), 및 6 포르밀인돌로[3,2 b]카바졸(FICZ)을 포함하되, 이에 국한되지 않는 AHR-특이적 리간드 중 하나 이상인 것인, 방법.

청구항 86

제84항에 있어서, 상기 면역조절제는 사이토카인인 것인, 방법.

청구항 87

제86항에 있어서, 상기 사이토카인은 인간 사이토카인인 것인, 방법.

청구항 88

제86항에 있어서, 상기 사이토카인은 TGF β , IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12A, IL12B, IL-15, IL-21 및 IL-18, 및 이의 임의의 변이(variation)/뮤테인(mutein)으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 89

제84항에 있어서, 상기 면역조절제는 인간 IL-2 또는 이의 변이체, 저용량 IL-2 또는 이의 변이체, PT101 또는 이의 변이체, IL-2 뮤테인, 및 IL-2: 항-IL-2 항체 면역 복합체(IL-2/IC)로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 90

제84항에 있어서, 상기 면역조절제는 확장된 약동학적(extended pharmacokinetic, PK) IL-2, 융합 단백질(예를 들어, 면역글로불린 단편, 인간 혈청 알부민, Fn3)을 포함하는 확장된-PK IL-2, 면역글로불린 Fc 도메인에 작동 가능하게 연결된 IL-2 모이어티, 비-단백질 폴리머(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜)에 접합된 IL-2 모이어티, 및 높은 친화성의 CD25 결합제로 기능하는 IL-2 뮤테인으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 91

제2항에 있어서, 상기 하나 이상의 질환은,

이식 관련 질환,

하나 이상의 알레르기,

호흡기 질환(예를 들어, 천식), GVHD, 및

류마티스 관절염, 다발성 경화증, 원발성 담즙성 담관염, 원발성 경화성 담관염, MOG 항체 질병, 당뇨병, 갑상선의 자가면역 질환, 갑상선-관련 안병증, 갑상선-관련 피부병증, 부갑상선기능저하증, 애디슨병, 조기 난소 부전, 자가면역 뇌하수체염, 뇌하수체 자가면역 질환, 면역위염, 악성 빈혈, 셀리악병, 백반증, 중증 근무력증, 심상성 천포창 및 변종, 수포성 유천포창, 듀링 포진상 피부염, 후천성 표피수포증, 전신 경화증, 혼합결합조직병, 쇼그렌 증후군, 전신 홍반 루푸스, 굿파스처 증후군, 류마티스성 심질환, 자가면역 다분비선 증후군 1형, 에카르디-구티에레스 증후군, 급성 췌장염 연령-의존성 황반변성, 알코올성 간질환, 간섬유화, 전이, 심근경색증, 비알코올성 지방간염(NASH), 파킨슨병, 다발관절염/태아 및 신생아 빈혈, 패혈증, 및 염증성 장질환으로부터 선택되는 자가면역 질환

으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 92

제91항에 있어서, 상기 하나 이상의 자가면역 질환은 단일 자가면역 질환인 것인, 방법.

청구항 93

제1항에 있어서, 상기 하나 이상의 면역조절제는 핑골리모드; 라파마이신; 2-(1'H-인돌-3'-카보닐)-티아졸-4-카복실산 메틸 에스테르(ITE) 또는 관련 리간드; 트리코스타틴 A; 수베로일아닐리드 하이드록삼산(SAHA); 스타틴; mTOR 억제제; TGF- β 신호전달제; TGF- β 수용체 작용제; 히스톤 탈아세틸화효소 억제제; 코르티코스테로이드; 미토콘드리아 기능 억제제; NF- κ β 억제제; 아데노신 수용체 작용제; 프로스타글란딘 E2 작용제(PGE2); 포스포디에스테라제 억제제; 프로테아좀 억제제; 키나제 억제제; G-단백질 결합 수용체 작용제; G-단백질 결합 수용체 길항제; 글루코코르티코이드; 레티노이드; 사이토카인 억제제; 사이토카인 수용체 억제제; 사이토카인 수용체

활성화제; 퍼옥시좀 증식체-활성화 수용체 길항제; 퍼옥시좀 증식체-활성화 수용체 작용제; 히스톤 탈아세틸화 효소 억제제; 칼시뉴린 억제제; 포스파타아제 억제제; PI3 KB 억제제; 자가포식 억제제; 아릴 탄화수소 수용체 억제제; 프로테아좀 억제제 I(PSI); 산화된 ATP IDO; 비타민 D3; 사이클로스포린; 아릴 탄화수소 수용체 억제제; 레스베라트롤; 아자티오프린(Aza); 6-머캅토프린(6-MP); 6-티오구아닌(6-TG); FK506; 상글리페린 A; 살메테롤; 미코페놀레이트 모페틸(MMF); 아스피린 및 기타 COX 억제제; 니플룸산; 에스트리올; 트립틀리드; OPN-305, OPN-401; 에리토란(E5564); TAK-242; Cpn10; NI-0101; 1A6; AV411; IRS-954(DV-1079); IMO-3100; CPG-52363; CPG-52364; OPN-305; ATNC05; NI-0101; IMO-8400; 하이드록시클로로퀸; CU-CPT22; C29; 오르토-바닐린; SSL3 단백질; OPN-305; 5 SsnB; 비잔틴; (+)-N-페네틸노복시모르폰; VB3323; 단당류 3; (+)-날트렉손 및 (+)-날록손; HT52; HTB2; 화합물 4a; CNT02424; TH1020; INH-ODN; E6446; AT791; CpG ODN 2088; ODN TTAGGG; COV08-0064; 2R9; GpG 올리고뉴클레오티드; 2-아미노푸린; 암렉사눅스; Bay11-7082; BX795; CH-223191; 클로로퀸; CLI-095; CU-CPT9a; 사이클로스포린 A; CTY387; 케피티닙; 글리벤클라미드; H-89; H-131; 이소리퀴리티게닌; MCC950; MRT67307; OxPAPC; 파르테놀리드; Pepinh-MYD; Pepinh-TRIF; 폴리믹신 B; R406; RU.521; VX-765; YM201636; Z-VAD-FMK; 및 2,3,7,8-테트라클로로-디벤조-p-다이옥신(TCDD), 트립타민(TA), 및 6 포르밀인돌로 [3,2 b]카바졸(FICZ)을 포함하되, 이에 국한되지 않는 AHR-특이적 리간드를 포함하는 그룹으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 94

제1항에 있어서, 상기 면역조절제는 사이토카인인 것인, 방법.

청구항 95

제94항에 있어서, 상기 사이토카인은 인간 사이토카인인 것인, 방법.

청구항 96

제94항에 있어서, 상기 사이토카인은 TGFβ, IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12A, IL12B, IL-15, IL-21 및 IL-18, 및 이의 임의의 변이 및/또는 뮤테인으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 97

제1항에 있어서, 상기 면역조절제는 인간 IL-2 또는 이의 변이체, 저용량 IL-2 또는 이의 변이체, PT101 또는 이의 변이체, 또는 뮤테인 IL-2 또는 이의 변이체로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 98

제1항에 있어서, 상기 면역조절제는 IL-2:항-IL-2 항체 면역 복합체(IL-2/IC)인 것인, 방법.

청구항 99

제1항에 있어서, 상기 Treg를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제를 포함하는 조성물은 상기 나노입자를 포함하는 조성물을 투여한 후, 예를 들어, 상기 나노입자를 포함하는 조성물을 투여하고 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후에 투여되는 것인, 방법.

청구항 100

제1항에 있어서, 상기 대상체는 인간 대상체인 것인, 방법.

청구항 101

제1항에 있어서, 상기 대상체는 자가면역 질환을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체인 것인, 방법.

청구항 102

제1항에 있어서, 상기 대상체 내의 T 세포 집단 내에서 CD3+FOXP3+ 세포의 양은 CD3+FOXP3- 세포의 양보다 적은 것인, 방법.

청구항 103

제2항 또는 제3항에 있어서,

상기 대상체의 하나 이상의 자가면역 질환을 치료, 예방 및/또는 완화하는 것은 특정 조직 영역에 특이적이고;

상기 대상체 내에서 자가면역 질병과 관련된 항원에 대한 강력한 면역 관용(immune tolerance)을 촉진하는 것은 특정 조직 영역에 특이적이며;

상기 대상체 내에서 Treg, 예를 들어, CD3+FOXP3+ 세포의 생체 내 증폭은 특정 조직 영역에 특이적이고;

상기 대상체 내의 T 세포 집단 내에서 CD3+FOXP3- 세포에 대한 CD3+FOXP3+ 세포의 비율을 증가시키는 것은 특정 조직 영역에 특이적인 것인, 방법.

청구항 104

제103항에 있어서, 상기 특정 조직 영역은 하나 이상의 자가면역 질환과 관련되어 있는 것인, 방법.

청구항 105

제103항 또는 제104항에 있어서,

하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 나노입자를 포함하는 조성물을 투여한 후 Treg를 확장할 수 있는 면역조절제를 포함하는 조성물을 투여하는 것은 이어서 하나 이상의 면역관용성 항원 및/또는 면역관용성 항원과 결합된 나노입자를 상기 특정 조직 영역에 투여하는 것이 추가로 뒤따르는 것인, 방법.

청구항 106

제105항에 있어서, 상기 하나 이상의 면역관용성 항원을 상기 특정 조직 영역에 투여하는 것은 주사, 국소 투여, 피하, 경구, 비강내, 흡입, 직장, 및 경피 투여로부터 선택된 하나 이상의 투여 기술에 의해 수행되는 것인, 방법.

청구항 107

제105항 또는 제106항에 있어서, 상기 하나 이상의 면역관용성 항원을 상기 특정 조직 영역에 투여하는 것은 상기 특정 조직 영역 내에서 면역 관용을 방지하는 것인, 방법.

청구항 108

제1항에 있어서, 상기 Treg를 확장할 수 있는 면역조절제를 포함하는 조성물은 항원-특이적 Treg를 확장할 수 있는 것인, 방법.

청구항 109

제1항에 기재된 나노입자를 포함하는 조성물; 및
 제1항에 기재된 Treg를 확장할 수 있는 면역조절제를 포함하는 조성물;
 을 포함하는 키트.

청구항 110

제1항에 기재된 나노입자를 포함하는 조성물;
 제1항에 기재된 Treg를 확장할 수 있는 면역조절제를 포함하는 조성물; 및
 국소 투여 및/또는 주사 투여를 위해 구성된 하나 이상의 면역관용성 항원;
 을 포함하는 키트.

발명의 설명

기술 분야

관련 출원에 대한 교차 참조

[0001]

[0002] 본 출원은 2022년 2월 22일에 출원된 미국 가특허 출원 일련 번호 제63/312,452호에 대한 우선권을 주장하며, 이의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0003] **연방 정부 지원 연구 또는 개발에 대한 성명**

[0004] 본 발명은 국립 보건원(National Institutes of Health)에서 수여한 R01 NS122536에 따른 정부 지원으로 만들어졌다. 정부는 본 발명에 대한 일정 권리를 갖는다.

[0005] **서열 목록**

[0006] 2023년 2월 22일에 생성되고, 파일 크기가 722,461바이트인 "40287_601_SequenceListing"이라는 제목으로 본 명세서와 함께 제출된 컴퓨터 판독 가능한 서열 목록의 텍스트는 그 전체가 본 명세서에 참조로 포함되어 있다.

[0007] 본 발명의 분야

[0008] 본 발명은 하나 이상의 면역관용성 항원(tolerogenic antigen)과 결합되거나 결합되지 않은 나노입자를 포함하는 조성물, 면역조절제(immunomodulatory agent)(예를 들어, 인간 인터류킨-2(IL-2), IL-2 뮤테인(mutein), IL-2 변이체, 또는 IL-2:항-IL-2 항체 면역 복합체(IL-2/IC))를 포함하는 조성물, 및 조절 T 세포(Treg)(예를 들어, 항원-특이적 조절 Treg)의 증폭을 유도하기 위한 목적으로 이러한 조성물을 공동-투여하는 것을 포함하는 관련 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 면역조절제를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하기 전에 대상체에게 자가면역 질환과 관련된 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합되거나 결합되지 않은 나노입자를 포함하는 조성물을 투여하여 자가면역 질환을 치료하는 방법을 제공한다.

배경 기술

[0009] 자가면역 질환은 원인을 찾을 수 없는 면역체계 이상으로 인해 신체의 면역체계가 자신의 정상 조직, 장기 또는 기타 생체 내 구성요소를 공격할 때 발생하는 질병이다. 이러한 자가면역 질환은 신경계, 위장계, 내분비계, 피부, 골격계 및 혈관 조직을 포함하여 신체의 거의 모든 부위에서 발생할 수 있는 전신성 질병이다. 자가면역 질환은 전 세계 인구의 약 5 내지 8%에 영향을 미치는 것으로 알려져 있지만, 자가면역 질환에 대한 이해와 이러한 질병을 진단하는 방법의 한계로 인해 보고된 자가면역 질환 유병률은 실제 수준보다 낮다.

[0010] 자가면역 질환을 치료하기 위한 개선된 조성물 및 방법이 필요하다.

[0011] 본 발명은 이러한 요구를 해결한다.

발명의 내용

[0012] 본 발명의 구현예를 개발하는 과정에서 수행된 실험은 세포의 체외 조작 없이 생체 내에서 항원-특이적 Treg의 높은 빈도를 유도하기 위한 새로운 전략의 개발로 이어졌다. 이러한 실험은 나노디스크를 변형된 IL-2와 결합하여 생체 내에서 전혀 없는 수준의 항원-특이적 Treg를 유도하는 새로운 전략의 개발 및 최적화로 이어졌다. 특히, IL-2:항-IL-2 항체(클론: JES6-1) 면역 복합체(IL-2/IC)는 다클론성 Treg를 선택적으로 유도하는 것으로 나타났다[14]. 유리 펩타이드 또는 펩타이드-테트라머와 함께 투여된 IL-2/IC는 항원-특이적 Treg를 유도하는 것으로 보고되었다[15,16]. 그러나 이러한 이전의 시도들은 CD4+ T 세포 구획(cell compartment)에서 항원-특이적 Treg 빈도가 0.25% 미만으로 다소 저조한 항원-특이적 Treg 반응을 가져왔다[15,16].

[0013] IL-2/IC와 함께 항원-특이적 Treg 유도를 극대화하기 위해 림프 조직에 펩타이드 항원을 전달하는 것이 바람직할 수 있다고 구상되었다. 본 명세서에 설명된 실험은 IL-2/IC 요법과 함께 림프를 표적으로 하는 나노디스크-매개된 펩타이드 전달이 IL-2/IC 단독과 비교했을 때 항원-특이적 Treg의 현저한 증폭을 초래했다는 것을 처음으로 보고한다.

[0014] 실제 치료 방법이 중요할 수 있다는 것도 예상되었다. 이러한 실험에서는 나노디스크를 먼저 투여(예를 들어, 피하 투여)하고, 그 다음에 IL-2 및/또는 뮤테인/조작된 IL-2를 전신 투여하는 것이 바람직하다는 것을 보여주었다. 이를 통해 항원-특이적 Treg가 먼저 프라이밍(priming) 및 생성되고, 그 후 뮤테인/조작된 IL-2를 투여하면 항원-특이적 Treg의 강력한 증식이 촉발되었다. 항원-특이적 Treg의 장기간 유지를 위해 나노디스크 및/또는 뮤테인/조작된 IL-2의 유지 용량을 투여하는 것도 추가로 고려되었다.

[0015] 따라서, 본 발명은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합(예를 들어, 복합체화, 접합, 캡슐화, 흡수, 흡착, 혼합)되거나 결합되지 않은 나노입자를 포함하는 조성물, 면역조절제(예를 들어, 인간 인터류킨-2(IL-2), IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2:항-IL-2 항체 면역 복합체(IL-2/IC))를 포함하는 조성물, 및 조절 T 세포

(Treg)(예를 들어, 항원-특이적 조절 Treg)의 증폭을 유도하기 위한 목적으로 이러한 조성물을 공동-투여하는 것을 포함하는 관련 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 면역조절제를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하기 전에, 자가면역 질환과 관련된 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합되거나 결합되지 않은 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하여 자가면역 질환을 치료하는 방법을 제공한다.

[0016] 특정 구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여한 다음(예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후) 대상체 내에서 Treg를 확장(expanding)할 수 있는 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC)를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체(예를 들어, 자가면역 질환을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체) 내에서 조절 Treg(예를 들어, $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+$)를 생체 내에서 증폭시키는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물은 mTOR 억제제(예를 들어, 라파마이신 또는 그 변이체)와 결합(예를 들어, 복합체화, 접합, 캡슐화, 흡수, 흡착, 혼합)된다. 일부 구현예에서, 대상체 내에서 항원-특이적 조절 Treg(예를 들어, $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+$)의 생체 내 증폭은 특정 조직 영역(예를 들어, 하나 이상의 자가면역 질환과 관련된 특정 조직 영역)에 특이적이다.

[0017] 특정 구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여한 다음(예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후) 항원-특이적 Treg를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC)를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체(예를 들어, 자가면역 질환을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체) 내에서 항원-특이적 조절 Treg(예를 들어, $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+$)를 생체 내에서 증폭시키는 방법을 제공하며, 이때 "항원-특이적"은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 나노입자와 결합된 하나 이상의 면역관용성 항원에 특이적이다. 일부 구현예에서, 대상체 내에서 항원-특이적 조절 Treg(예를 들어, $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+$)의 생체 내 증폭은 특정 조직 영역(예를 들어, 하나 이상의 자가면역 질환과 관련된 특정 조직 영역)에 특이적이다.

[0018] 특정 구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여한 다음(예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후) 대상체 내에서 Treg(예를 들어, $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+$)를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC)를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체(예를 들어, 자가면역 질환을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체) 내에서 자가면역 질환과 관련된 항원에 대한 강력한 면역 관용(immune tolerance)을 촉진하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물은 mTOR 억제제(예를 들어, 라파마이신 또는 이의 변이체)와 결합(예를 들어, 복합체화, 접합, 캡슐화, 흡수, 흡착, 혼합)된다. 일부 구현예에서, 대상체 내에서 자가면역 질환과 관련된 항원에 대한 강력한 면역 관용을 촉진하는 것은 특정 조직 영역(예를 들어, 하나 이상의 자가면역 질환과 관련된 특정 조직 영역)에 특이적이다.

[0019] 특정 구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여한 다음(예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후) 항원-특이적 Treg(예를 들어, $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+$)를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC)를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체(예를 들어, 자가면역 질환을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체) 내에서 자가면역 질환과 관련된 항원에 대한 강력한 면역 관용을 촉진하는 방법을 제공하며, 이때 "항원-특이적"은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 나노입자와 결합된 하나 이상의 면역관용성 항원에 특이적이다. 일부 구현예에서, 대상체 내에서 자가면역 질환과 관련된 항원에 대한 강력한 면역 관용을 촉진하는 것은 특정 조직 영역(예를 들어, 하나 이상의 자가면역 질환과 관련된 특정 조직 영역)에 특이적이다.

[0020] 특정 구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여한 다음(예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후) 대상체 내에서 Treg(예를 들어, $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+$)를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC)를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체(예를 들어, 자가면역 질환을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체) 내의 T 세포 집단 내에서 $CD3+FOXP3^-$ 세포에 대한 $CD3+FOXP3^+$ 세포의 비율을 증가시키는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물은 mTOR 억

제제(예를 들어, 라파마이신 또는 이의 변이체)와 결합(예를 들어, 복합체화, 접합, 캡슐화, 흡수, 흡착, 혼합)된다. 일부 구현예에서, 대상체 내의 T 세포 집단 내에서 CD3+FOXP3- 세포에 대한 CD3+FOXP3+ 세포의 비율을 증가시키는 것은 특정 조직 영역(예를 들어, 하나 이상의 자가면역 질환과 관련된 특정 조직 영역)에 특이적이다.

[0021] 특정 구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여한 다음(예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후) 항원-특이적 Treg(예를 들어, CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺)를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC)를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체(예를 들어, 자가면역 질환을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체) 내의 T 세포 집단 내에서 CD3+FOXP3- 세포에 대한 CD3+FOXP3+ 세포의 비율을 증가시키는 방법을 제공하며, 이때 "항원-특이적"은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 나노입자와 결합된 하나 이상의 면역관용성 항원에 특이적이다. 일부 구현예에서, 대상체 내의 T 세포 집단 내에서 CD3+FOXP3- 세포에 대한 CD3+FOXP3+ 세포의 비율을 증가시키는 것은 특정 조직에 특이적이다.

[0022] 특정 구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여한 다음(예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후) 대상체 내에서 Treg(예를 들어, CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺)를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC)를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체(예를 들어, 자가면역 질환, 예를 들어, 셀리악병(celiac disease)을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체)에게 투여하는 것을 포함하는 질환을 치료, 예방 및/또는 완화하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물은 mTOR 억제제(예를 들어, 라파마이신 또는 이의 변이체)와 결합(예를 들어, 복합체화, 접합, 캡슐화, 흡수, 흡착, 혼합)된다. 일부 구현예에서, 대상체의 하나 이상의 자가면역 질환을 치료, 예방 및/또는 완화하는 것은 특정 조직 영역(예를 들어, 자가면역 질환과 관련된 특정 조직 영역)에 특이적이다.

[0023] 특정 구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 면역관용성 항원(예를 들어, 자가면역 질환과 관련된 하나 이상의 면역관용성 항원)과 결합된 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체(예를 들어, 자가면역 질환, 예를 들어, 셀리악병을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체)에게 투여한 다음(예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후) 항원-특이적 Treg(예를 들어, CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺)를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC)를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 질환을 치료, 예방 및/또는 완화하는 방법을 제공하며, 이때 "항원-특이적"은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 나노입자와 결합된 하나 이상의 면역관용성 항원에 특이적이다. 일부 구현예에서, 대상체의 하나 이상의 질환을 치료, 예방 및/또는 완화하는 것은 특정 조직 영역(예를 들어, 질환과 관련된 특정 조직 영역)에 특이적이다.

[0024] 이러한 방법은 특정 질환을 치료하는 데만 국한되지 않는다.

[0025] 일부 구현예에서, 질환은 자가면역 질환이다. 이러한 방법은 특정 자가면역 질환을 치료하는 데 국한되지 않는다. 자가면역 질환의 예로는 다발성 경화증(MS), 셀리악병, 류마티스 관절염, 원발성 담즙성 담관염(primary biliary cholangitis), 원발성 경화성 담관염(primary sclerosing cholangitis), MOG 항체 질병, 당뇨병(예를 들어, 1형 당뇨병), 갑상선의 자가면역 질환(예를 들어, 하시모토 갑상선염(Hashimoto's thyroiditis), 그레이브스병(Graves' disease)), 갑상선-관련 안병증 및 피부병증, 부갑상선기능저하증(hypoparathyroidism), 애디슨병(Addison's disease), 조기 난소 부전(premature ovarian failure), 자가면역 뇌하수체염(autoimmune hypophysitis), 뇌하수체 자가면역 질환, 면역위염(immunogastritis), 악성 빈혈(pernicious anemia), 셀리악병, 백반증, 중증 근무력증, 심상성 천포창(pemphigus vulgaris) 및 변종, 수포성 유천포창(bullous pemphigoid), 듀링 포진상 피부염(dermatitis herpetiformis Duhring), 후천성 표피수포증(epidermolysis bullosa acquisita), 전신 경화증(systemic sclerosis), 혼합결합조직병(mixed connective tissue disease), 쇼그렌 증후군(Sjogren's syndrome), 전신 홍반 루푸스(systemic lupus erythematosus), 굿파스처 증후군(Goodpasture's syndrome), 류마티스성 심질환(rheumatic heart disease), 자가면역 다분비선 증후군 1형(autoimmune polyglandular syndrome type 1), 에카르디-구티에레스 증후군(Aicardi-Goutieres syndrome), 급성 췌장염 연령-의존성 황반변성(Acute pancreatitis Age-dependent macular degeneration), 알코올성 간질환(Alcoholic liver disease), 간섬유화(Liver fibrosis), 전이, 심근경색증, 비알코올성 지방간염(Nonalcoholic steatohepatitis, NASH), 파킨슨병, 다발관절염/태아 및 신생아 빈혈(Polyarthritis/fetal and neonatal

anemia), 폐혈증, 및 염증성 장질환이 포함되지만, 이에 국한되지 않는다.

- [0026] 일부 구현예에서, 질환은 이식 관련 질환이다. 일부 구현예에서, 질환은 하나 이상의 알레르기이다. 일부 구현예에서, 질환은 호흡기 질환(예를 들어, 천식)이다. 일부 구현예에서, 질환은 이식편대숙주병(graft-versus-host-disease, GvHD)이다.
- [0027] 일부 구현예에서, 이러한 방법(예를 들어, 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 나노입자를 포함하는 조성물을 투여한 다음 Treg를 확장할 수 있는 면역조절제를 포함하는 조성물을 투여하는 것)에 이어 특정 조직 영역(예를 들어, 하나 이상의 자가면역 질환과 관련된 특정 조직 영역)에 하나 이상의 면역관용성 항원을 투여하는 것이 추가로 이루어진다. 일부 구현예에서, 특정 조직 영역에 하나 이상의 면역관용성 항원을 투여하는 것은 주사 투여 및/또는 국소 투여 및/또는 피하 투여를 통해 이루어진다. 일부 구현예에서, 특정 조직 영역에 하나 이상의 면역관용성 항원을 투여하는 것은 특정 조직 영역 내에서 면역 관용을 방지한다.
- [0028] 일부 구현예에서, 나노입자는 면역조절제와 결합되어 있으며, 면역관용성 항원과는 결합되어 있지 않다. 일부 구현예에서는 나노입자가 면역관용성 항원과 결합되어 있으며, 추가로 면역조절제와도 결합될 수 있다.
- [0029] 본 명세서에 설명된 방법들은 Treg 및/또는 항원-특이적 Treg를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제를 포함하는 특정 유형이나 종류의 조성물에 국한되지 않는다.
- [0030] 일부 구현예에서, Treg를 확장할 수 있는 면역조절제를 포함하는 조성물은 나노입자 내에 포함되어, 나노입자가 Treg를 확장할 수 있는 면역조절제와 결합되어 있다(예를 들어, 이에 따라 Treg를 확장할 수 있는 면역조절제와 결합된 나노입자를 포함하는 조성물을 제공함).
- [0031] 이러한 구현예는 특정 면역조절제에 국한되지 않는다.
- [0032] 일부 구현예에서, 하나 이상의 면역조절제는 다음을 포함하는 그룹으로부터 선택된다: 핑골리모드(fingolimod); 라파마이신; 2-(1'H-인돌-3'-카보닐)-티아졸-4-카복실산 메틸 에스테르(ITE) 또는 관련 리간드; 트리코스타틴(Trichostatin A); 수베로일아닐리드 하이드록삼산(Suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA); 스타틴; mTOR 억제제; TGF- β 신호전달제; TGF- β 수용체 작용제; 히스톤 탈아세틸화효소 억제제; 코르티코스테로이드; 미토콘드리아 기능 억제제; NF- κ B 억제제; 아데노신 수용체 작용제; 프로스타글란딘 E2 작용제(PGE2); 포스포디에스테라제 억제제; 프로테아좀 억제제; 키나제 억제제; G-단백질 결합 수용체 작용제; G-단백질 결합 수용체 길항제; 글루코코르티코이드; 레티노이드; 사이토카인 억제제; 사이토카인 수용체 억제제; 사이토카인 수용체 활성화제; 퍼옥시좀 증식체-활성화 수용체 길항제(peroxisome proliferator-activated receptor antagonist); 퍼옥시좀 증식체-활성화 수용체 작용제; 히스톤 탈아세틸화효소 억제제; 칼시뉴린 억제제; 포스포디에스테라제 억제제; PI3 KB 억제제; 자가포식 억제제; 아릴 탄화수소 수용체 억제제; 프로테아좀 억제제 I(PSI); 산화된 ATP IDO; 비타민 D3; 사이클로스포린; 아릴 탄화수소 수용체 억제제; 레스베라트롤; 아자티오프린(azathiopurine, Aza); 6-머캅토프린(6-MP); 6-티오구아닌(6-TG); FK506; 상글리페린(sangliferin) A; 살메테롤; 미코페놀레이트 모페틸(mycophenolate mofetil, MMF); 아스피린 및 기타 COX 억제제; 니플룸산(niflumic acid); 에스트리올; 트립톨리드(triptolide); OPN-305, OPN-401; 에리토란(Eritoran)(E5564); TAK-242; Cpn10; NI-0101; 1A6; AV411; IRS-954(DV-1079); IMO-3100; CPG-52363; CPG-52364; OPN-305; ATNC05; NI-0101; IMO-8400; 하이드록시클로로퀸; CU-CPT22; C29; 오르토-바닐린; SSL3 단백질; OPN-305; 5 SsnB; 비잔틴(Vizantin); (+)-N-페네틸노록시모르폰; VB3323; 당당류 3; (+)-날트렉손 및 (+)-날록손; HT52; HTB2; 화합물 4a; CNT02424; TH1020; INH-ODN; E6446; AT791; CpG ODN 2088; ODN TTAGGG; COV08-0064; 2R9; GpG 올리고뉴클레오티드; 2-아미노퓨린; 암렉사녹스(Amlexanox); Bay11-7082; BX795; CH-223191; 클로로퀸; CLI-095; CU-CPT9a; 사이클로스포린 A; CTY387; 게피티닙(Gefitinib); 글리벤클라미드(Glybenclamide); H-89; H-131; 이소리퀴리티게닌(Isoliquiritigenin); MCC950; MRT67307; OxPAPC; 파르테놀리드(Parthenolide); Pepinh-MYD; Pepinh-TRIF; 폴리믹신(Polymyxin) B; R406; RU.521; VX-765; YM201636; Z-VAD-FMK; 및 AHR-특이적 리간드; 2,3,7,8-테트라클로로-디벤조-p-다이옥신(TCDD); 트립타민(TA); 및 6 포르밀인돌로[3,2 b]카바졸(FICZ)을 포함하지만, 이에 국한되지 않음.
- [0033] 일부 구현예에서, 면역조절제는 사이토카인이다. 일부 구현예에서, 사이토카인은 인간 사이토카인이다. 일부 구현예에서, 사이토카인은 TGF β , IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12A, IL12B, IL-15, IL-21 및 IL-18로부터 선택된다.
- [0034] 일부 구현예에서, 면역조절제는 인간 IL-2이다. 일부 구현예에서, 면역조절제는 저용량 IL-2이다. 일부 구현예에서, 면역조절제는 PT101 또는 이의 변이체이다. 일부 구현예에서, 면역조절제는 뮤테인 IL-2 및/또는

이의 변이(variation)이다. 일부 구현예에서, IL-2는 미국 특허 제11,091,527호, 제11,091,526호, 제11,077,195호, 제11,077,172호, 제10,960,079호, 제10,946,068호, 제10,766,938호, 제10,722,460호, 제10,174,092호, 제10,174,091호; EP 특허 제3808764호, 및/또는 미국 특허 출원 공개 번호 제US20120315245호에 기재된 IL-2 사이토카인, IL-2 뮤테인, 및/또는 IL-2 변이체 중 어느 것이다.

[0035] 일부 구현예에서, 면역조절제는 IL-2:항-IL-2 항체 면역 복합체(IL-2/IC)이다.

[0036] 일부 구현예에서, IL-2는 확장된 약동학적(extended pharmacokinetic, PK) IL-2이다. 일부 구현예에서, 확장된-PK IL-2는 융합 단백질을 포함한다. 일부 구현예에서, 융합 단백질은 IL-2 모이어티와, 면역글로불린 단편, 인간 혈청 알부민, 및 Fn3으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 융합 단백질은 면역글로불린 Fc 도메인에 작동가능하게 연결된 IL-2 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 융합 단백질은 인간 혈청 알부민에 작동가능하게 연결된 IL-2 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 확장된-PK IL-2는 비-단백질 폴리머에 접합된 IL-2 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 비-단백질 폴리머는 폴리에틸렌 글리콜이다.

[0037] 일부 구현예에서, 확장된 PK IL-2는 돌연변이되어 변형되지 않은 IL-2와 비교했을 때 IL-2R 알파 수용체에 대한 친화도가 변화된다(예를 들어, 더 높은 친화도). 부위 특이적 돌연변이유발은 야생형 IL-2와 비교하여 CD25, 즉 IL-2R α에 대한 높은 친화도 결합을 나타내는 IL-2 돌연변이를 단리하는 데 사용될 수 있다. 세포 표면에서 IL-2R α에 대한 IL-2의 친화력을 증가시키면 제한된 범위의 IL-2 농도 내에서 수용체 점유율이 증가하고, 세포 표면에서 IL-2의 국소 농도도 상승할 것이다.

[0038] 일부 구현예에서는 IL-2 돌연변이체가 제공되는데, 이는 실질적으로 정제될 수 있지만 반드시 그렇지는 않으며 높은 친화성의 CD25 결합체로 기능할 수 있다. IL-2는 항원에 의해 활성화된 T 세포의 증식과 NK 세포의 자극을 유도하는 T 세포 성장 인자이다. 높은 친화성 결합체인 예시적인 IL-2 돌연변이체에는 W02013/177187A2에 기재된 것들이 포함된다. CD25에 대한 친화도가 증가된 추가의 예시적인 IL-2 돌연변이체는 미국 특허 제7,569,215호에 개시되어 있으며, 이의 내용은 본원에 참조로 포함되어 있다.

[0039] 특정 구현예에서, 면역 조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC))를 포함하는 조성물은 대상체 또는 샘플 내에서 Treg 세포를 확장할 수 있다. 실제로, 면역조절제를 포함하는 이러한 조성물은 비-조절 T 세포에 대한 Treg의 비율을 증가시킬 수 있다. 비율은 T 세포 집단 내에서 CD3+FOXP3- 세포에 대한 CD3+FOXP3+ 세포의 비율을 결정하여 측정될 수 있다. 인간 혈액에서 일반적인 Treg 빈도는 전체 CD4+CD3+ T 세포의 5-10%이지만, 자가면역 질환의 경우 이 비율이 더 낮거나 더 높을 수 있다. 바람직한 구현예에서는 Treg의 비율이 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 100%, 적어도 200%, 적어도 300%, 적어도 400%, 적어도 500%, 적어도 600%, 적어도 700%, 적어도 800%, 적어도 900%, 또는 적어도 1000% 증가한다. Treg의 최대 배수 증가는 특정 질병에 따라 다를 수 있지만, IL-2 뮤테인 치료를 통해 얻을 수 있는 최대 Treg 빈도는 총 CD4+CD3+ T 세포의 50% 또는 60%이다. 특정 구현예에서, 면역 조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC))를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하면 대상체의 말초 혈액 내에서 비-조절 T 세포에 대한 조절 T 세포(Treg)의 비율이 증가한다.

[0040] 본 명세서에 기재된 방법은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합되거나 결합되지 않은 하나 이상의 나노입자를 포함하는 특정 조성물에 국한되지 않는다.

[0041] 이러한 조성물은 특정 나노입자에 국한되지 않는다. 일부 구현예에서, 나노입자는 sHDL 나노입자이다. 일부 구현예에서, 나노입자의 평균 크기는 6 내지 500 nm(예를 들어, 7 내지 20 nm, 21 내지 50 nm, 51 내지 100 nm, 101 내지 200 nm, 201 내지 300 nm, 301 내지 400 nm, 및 401 내지 500 nm)이다. 일부 구현예에서, sHDL 나노입자의 평균 입자 크기는 6 내지 70 nm(예를 들어, 7 내지 10 nm, 11 내지 20 nm, 21 내지 30 nm, 31 내지 40 nm, 41 내지 50 nm, 51 내지 60 nm, 및 61 내지 70 nm)이다.

[0042] 일부 구현예에서, 인지질은 1,2-디라우로일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디아라키도일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디베헤노일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디리그노세로일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디미리스톨레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디미리스텔라이도일(dimyristelaidoyl)-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디팔미톨레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디팔미텔라이도일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디페트로셀레노일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린;

1,2-디엘라이도일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디에이코세노일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디네르보노일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디라우로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 1,2-디펜타데카노일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 1,2-디팔미톨레오일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 1,2-디엘라이도일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 디올레오일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[3-(2-피리딜 디티오) 프로피오네이트]; 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포티오에탄올; 1,2-디-(9Z-옥타데세노일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[4-(p-말레이미도페닐)부티라미드]; 1,2-디헥사테카노일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[4-(p-말레이미도페닐)부티라미드]; 1,2-디헥사테카노일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[4-(p-말레이미도페닐)사이클로헥산-카복사미드]; 1,2-디-(9Z-옥타데세노일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[4-(p-말레이미도페닐)사이클로헥산-카복사미드]; N-[(3-말레이미드-1-옥소프로필)아미노프로필 폴리에틸렌글리콜-카바밀] 디스테아로일포스파티딜-에탄올아민; N-[(3-말레이미드-1-옥소프로필)아미노프로필 폴리에틸렌글리콜-카바밀] 디스테아로일포스파티딜-에탄올아민; N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디스테아로일; N-[(3-말레이미드-1-옥소프로필)아미노프로필 폴리에틸렌글리콜-카바밀] 디스테아로일포스파티딜-에탄올아민; N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디미리스토이(Dimyristoy); N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디올레오일; N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디팔미토일; N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 1-팔미토일-2-올레오일; 포스파티딜콜린; 포스파티딜이노시톨; 포스파티딜세린; 포스파티딜에탄올아민; N-(석신이미딜옥시-글루타릴)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디스테아로일; N-(석신이미딜옥시-글루타릴)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디올레오일; N-(석신이미딜옥시-글루타릴)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 1-팔미토일-2-올레오일; N-(석신이미딜옥시-글루타릴)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디팔미토일; N-(석신이미딜옥시-글루타릴)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디미리스토일; 3-(N-석신이미딜옥시글루타릴)아미노프로필, 및 폴리에틸렌글리콜-카바밀 디스테아로일포스파티딜-에탄올아민; N-(3-옥소프로폭시 폴리에틸렌글리콜)카바밀-디스테아로일-에탄올아민으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0043] 일부 구현예에서, the HDL 아포지질단백질 성분은 아포지질단백질 A-I(apo A-I), 아포지질단백질 A-II(apo A-II), 아포지질단백질 A-II xxx(apo A-II-xxx), 아포지질단백질 A4(apo A4), 아포지질단백질 Cs(apo Cs), 아포지질단백질 E(apo E), 아포지질단백질 A-I 밀라노(apo A-I-밀라노), 아포지질단백질 A-I 파리(apo A-I-파리), 아포지질단백질 M(apo M), HDL 아포지질단백질 모방체, 프리프로아포지질단백질(preproapolipoprotein), preproApoA-I, proApoA I, preproApoA-II, proApoA II, preproApoA-IV, proApoA-IV, ApoA-V, preproApoE, proApoE, preproApoA I_{밀라노}, proApoA-I_{밀라노}, preproApoA-I_{파리}, proApoA-I_{파리}, 및 이들의 혼합물로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0044] 일부 구현예에서, ApoA-I 모방체는 서열 번호: 1-336 및 WDRVKDLATVYVDVLKDSGRDYVSQF (서열 번호:341), LKLLDNWDSVTSTFSKLRLEOL (서열 번호:342), PVTOEFWDNLEKETEGLROEMS (서열 번호:343), KDLEEVKAKVQ (서열 번호: 344), KDLEEVKAKVO (서열 번호: 345), PYLDDFQKKWQEMELYRQKVE (서열 번호: 346), PLRAELQEGARQKLHELOEKLS (서열 번호: 347), PLGEMRDRARAHVDALRTHLA (서열 번호: 348), PYSDELRLQRLAARLEALKENGG (서열 번호: 349), ARLAEYHAKATEHLSTLSEKAK (서열 번호: 350), PALEDLROGLL (서열 번호: 351), PVLESFKVSFLSALEEYTKKLN (서열 번호:352), PVLESFVSFLSALEEYTKKLN (서열 번호:353), PVLESFKVSFLSALEEYTKKLN (서열 번호:352), TVLLLTICLEGALVRRQAKEPCV (서열 번호: 354) QVTVDYQKDLME (서열 번호:355), KVKSPLEOAEAKSYFEKSKE (서열 번호:356), VLTALVAVAGARAEVSADOVATV (서열 번호:357), NNAKEAVEHLOKSELTOOLNAL (서열 번호:358), LPVLVWLSIVLEGPAPAQGTDPVSS (서열 번호:359), LPVLVWLSIVLEGPAPAQGTDPVSS (서열 번호:360), ALDKLKEFGNTLEDKARELIS (서열 번호: 361), VVALLALLASARASEAEDASLL (서열 번호:362), HLRKLRKRLRDADDLQKRLAVYOA (서열 번호:363), AQAWGERLRARMEEMGRTRDR (서열 번호:364), LDEVKEQVAEVRALLEEQAQ (서열 번호:365), DWLKAFYDKVAEKLKEAF (서열 번호:236), DWLKAFYDKVAEKLKEAFPDWAKAAYDKAAEKAKEAA (서열 번호:366), PVLDLFRELLNELLEALKQKL (서열 번호:367), PVLDLFRELLNELLEALKQKLA (서열 번호:368), PVLDLFRELLNELLEALKQKLK (서열 번호:4), PVLDLFRELLNELLEALKQKLA (서열 번호:369), PVLDLFRELLNELLEALKKLLK (서열 번호:370), PVLDLFRELLNELLEALKKLLA (서열 번호:371), PLLDLFRELLNELLEALKKLLA (서열 번호:372), 및 EVRSKLEEFWFAAFREFAEEFLARLKS (서열 번호: 373) 중 어느 것에 기재되어 있다.

[0045] 일부 구현예에서, 하나 이상의 면역관용성 항원은 복수의 면역관용성 항원이다.

- [0046] 일부 구현예에서, 복수의 면역관용성 항원은 3개 아미노산 내지 50개 아미노산 길이(예를 들어, 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 약 20, 약 21, 약 22, 약 23, 약 24, 약 25, 약 26, 약 27, 약 28, 약 29, 약 30, 약 31, 약 32, 약 33, 약 34, 약 35, 약 36, 약 37, 약 38, 약 39, 약 40, 약 41, 약 42, 약 43, 약 44, 약 45, 약 46, 약 47, 약 48, 약 49, 또는 약 50개 아미노산 길이)를 포함하는 면역관용성 항원이다.
- [0047] 일부 구현예에서, 복수의 면역관용성 항원은 서열 번호: 375-796 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는 면역관용성 항원이다.
- [0048] 일부 구현예에서, 복수의 면역관용성 항원은 인간 동종 이식 항원(human allograft transplantation antigen)이다. 일부 구현예에서, 인간 동종 이식 항원은 다양한 MHC 클래스 I 및 MHC 클래스 II 일배체형(haplotype) 단백질의 서브유닛, 및 RhCE, Kell, Kidd, Duffy 및 Ss를 포함하는 소수 혈액형 항원의 단일-아미노산 다형성으로부터 선택된다.
- [0049] 일부 구현예에서, 복수의 면역관용성 항원은 1형 당뇨병에 특이적이다. 일부 구현예에서, 1형 당뇨병 면역관용성 항원은 인슐린, 프로인슐린, 프리프로인슐린(preproinsulin), 글루탐산 탈탄산효소-65 (GAD-65), GAD-67, 인슐린중-관련 단백질 2(IA-2), 인슐린중-관련 단백질 2β(IA-2β), ICA69, ICA12(SOX-13), 카복시펩티다제 H, 이모젠 38, GLIM1 38, 크로모그라닌-A, HSP-60, 카복시펩티다제 E, 페리페린(peripherin), 포도당 수송체 2, 간암중-장-췌장/췌장 관련 단백질, S100β, 신경교섬유질산성단백질(glial fibrillary acidic protein), 재생 유전자(regenerating gene) II, 췌장 십이지장 호메오박스(pancreatic duodenal homeobox) 1, 근긴장성 이영양증 키나제(dystrophin myotonia kinase), 췌도-특이적 포도당-6-포스파타아제 촉매 서브유닛-관련 단백질(islet-specific glucose-6-phosphatase catalytic subunit-related protein), 및 SST G-단백질 결합 수용체 1-5로부터 선택된다.
- [0050] 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 다음과 같은 자가면역 질환 중 하나 이상에 대해 특이적이다: 류마티스 관절염, 다발성 경화증, 원발성 담즙성 담관염, 원발성 경화성 담관염, MOG 항체 질병, 당뇨병(예를 들어, 1형 당뇨병), 갑상선의 자가면역 질환(예를 들어, 하시모토 갑상선염, 그레이브스병), 갑상선-관련 안병증 및 피부병증, 부갑상선기능저하증, 애디슨병, 조기 난소 부전, 자가면역 뇌하수체염, 뇌하수체 자가면역 질환, 면역위염, 악성 빈혈, 켈리악병, 백반증, 중증 근무력증, 심상성 천포창 및 변종, 수포성 유천포창, 듀링 포진상 피부염, 후천성 포피수포증, 전신 경화증, 혼합결합조직병, 쇼그렌 증후군, 전신 홍반 루푸스, 굿파스처 증후군, 류마티스성 심질환, 자가면역 다분비선 증후군 1형, 에카르디-구티에레스 증후군, 급성 췌장염 연령-의존성 황반변성, 알코올성 간질환, 간염유화, 전이, 심근경색증, 비알코올성 지방간염(NASH), 파킨슨병, 다발관절염/태아 및 신생아 빈혈, 패혈증, 및 염증성 장질환.
- [0051] 일부 구현예에서, 복수의 면역관용성 항원은 티로글로블린(TG), 갑상선 과옥시다제(TPO), 갑상선자극호르몬 수용체(TSHR), 나트륨 요오드 심포터(sodium iodine symporter, NIS), 메갈린(megalyn), TSHR을 포함한 갑상선 자가항원(autoantigen), 인슐린-유사 성장 인자 1 수용체, 칼슘 민감성 수용체(calcium sensitive receptor), 21-하이드록실라제, 17α-하이드록실라제, 및 P450 측쇄 절단 효소(P450_{scc}), ACTH 수용체, P450c21, P450c17, FSH 수용체, α-에놀라제, 뇌하수체-특이적 단백질 인자(PGSF) 1a 및 2, 및 2형 요오드티로닌 탈요오드화효소(type 2 iodothyronine deiodinase), 미엘린 염기성 단백질(myelin basic protein), 미엘린 희소돌기아교세포 당단백질(myelin oligodendrocyte glycoprotein), 프로테올리피드 단백질(proteolipid protein), 콜라겐 II, H⁺, K⁺-ATPase, 조직 트랜스글루타미나제 및 글리아딘, 티로시나제, 티로시나제 관련 단백질 1 및 2, 아세틸콜린 수용체, 데스모글레인(desmoglein) 3, 1 및 4, 펌팍신(pemphaxin), 데스모콜린(desmocollin), 플라코글로빈(plakoglobin), 퍼플라킨(periplakin), 데스모플라킨(desmoplakin), 아세틸콜린 수용체, BP180, BP230, 플렉틴(plectin), 라미닌 5, 근내막(endomysium), 조직 트랜스글루타미나제, 콜라겐 VII, 기질 금속단백분해효소(matrix metalloproteinase) 1 및 3, 콜라겐-특이적 분자 샤페론 열충격 단백질 47, 피브릴린-1, PDGF 수용체, Sc1-70, U1 RNP, Th/To, Ku, Jo1, NAG-2, 동원체 단백질(centromere protein), 토포이소머라제 I, 핵소체 단백질(nucleolar protein), RNA 중합효소 I, II 및 III, PM-Slc, 피브릴라린(fibrillarlin), B23, U1snRNP, 핵 항원 SS-A 및 SS-B, 포드린, 폴리(ADP-리보스) 중합효소, 토포이소머라제, SS-A를 포함하는 핵 단백질, 하이 모빌리티 그룹 박스 1(high mobility group box 1, HMGB1), 뉴클레오솜, 히스톤 단백질, 이중 가닥 DNA, 콜라겐 IV를 포함하는 사구체 기저막 단백질, 심장 미오신, 방향족 L-아미노산 탈탄산효소, 히스티딘 탈탄산효소, 시스테인 설핀산 탈탄산효소, 트립토판 하이드록실라제, 티로신 하이드록실라제, 페닐알라닌 하이드록실라제, 간 P450 사이토크롬 P4501A2 및 2A6, SOX-9, SOX-10, 칼슘-감지 수용체 단백질, 및 1형 인터페론인 인터페론 알파, 베타

및 오메가로부터 선택된 면역관용성 항원 중 하나 이상을 포함한다.

[0052]

이러한 조성물은 특정 면역관용성 항원에 국한되지 않는다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 환자에게 원치 않는 면역 반응을 일으키는 외래 항원이다. 일부 구현예에서, 복수의 면역관용성 항원은 셀리악병에 특이적이다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 면역 반응을 유도할 수 있는 글리아딘, 글루테닌, 및 이의 단편으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 글리아딘(예를 들어, α -, γ -, 및 ω -글리아딘) 또는 이의 단편으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 α , γ , 및 ω 글리아딘 또는 이의 단편으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 서열 번호: 375-580 중 어느 하나의 폴리펩타이드 서열과 적어도 90%(예를 들어, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%)의 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 서열 번호: 375-580의 폴리펩타이드 서열 중 어느 하나와 적어도 95%(예를 들어, 96%, 97%, 98%, 99%, or 100%)의 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 서열 번호: 375-580 중 어느 하나의 폴리펩타이드 서열을 갖는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 서열 번호: 375-580 중 어느 하나의 서열을 갖는 2개 이상(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 및 6개)의 폴리펩타이드 서열을 포함한다.

[0053]

일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 대상체(예를 들어, 인간 환자)가 자가면역 반응을 일으켰거나 자가면역 반응을 일으킬 수 있는 자가 항원이다. 예시로는 프로인슐린(예를 들어, 당뇨병을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 대상체의 경우), 콜라겐(예를 들어, 류마티스 관절염을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 대상체의 경우), 및 미엘린 염기성 단백질(예를 들어, 다발성 경화증을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 대상체의 경우)이 포함된다. 인간의 자가면역 단백질인 단백질은 많이 있는데, 자가면역 단백질이란 다양한 자가면역 질환을 지칭하는 용어로, 이 질환을 일으키는 단백질 또는 단백질들이 알려져 있거나 정기적인 검사를 통해 확인할 수 있는 경우를 말한다. 구현예에는 자가면역 단백질을 식별하기 위한 환자 테스트하는 것과 분자 융합에 사용할 항원을 생성하는 것, 및 단백질에 대한 면역관용을 생성하는 것이 포함된다. 구현예에는 다음 단백질들 중 하나 이상으로부터의 항원을 포함하거나 이러한 항원을 선택하는 것이 포함된다.

[0054]

1형 당뇨병에서는 다음과 같은 몇 가지 주요 항원이 식별되었고: 인슐린, 프로인슐린, 프리프로인슐린, 글루탐산 탈탄산효소-65(GAD-65), GAD-67, 인슐린중-관련 단백질 2(IA-2), 및 인슐린중-관련 단백질 2 β (IA-2 β); 다른 항원으로는 ICA69, ICA12 (SOX-13), 카복시펩티다제 H, 이모젠 38, GLIMA 38, 크로모그라닌-A, HSP-60, 카복시펩티다제 E, 페리페린, 포도당 수송체 2, 간암중-장-췌장/췌장 관련 단백질, S100 β , 신경교섬유질산성단백질, 재생 유전자 II, 췌장 십이지장 호메오박스 1, 근긴장성 이영양증 키나제, 췌도-특이적 포도당-6-포스파타아제 촉매 서브유닛-관련 단백질, 및 SST G-단백질 결합 수용체 1-5가 포함된다. 하시모토 갑상선염과 그레이브스병을 포함하는 갑상선의 자가면역 질환에서, 주요 항원은 티로글로불린(TG), 갑상선 퍼옥시다제(TPO) 및 갑상선자극호르몬 수용체(TSHR)를 포함하고; 다른 항원은 나트륨 요오드 심포터(NIS) 및 메갈린을 포함한다. 갑상선-관련 안병증 및 피부병증의 경우, TSHR을 포함한 갑상선 자가항원 외에도, 인슐린-유사 성장 인자 1 수용체가 항원으로 사용된다. 부갑상선기능저하증의 경우, 주요 항원은 칼슘 민감성 수용체이다. 애디슨병의 경우, 주요 항원은 21-하이드록실라제, 17 α -하이드록실라제, 및 P450 측쇄 절단 효소(P450scc)를 포함하고; 다른 항원은 ACTH 수용체, P450c21 및 P450c17을 포함한다. 조기 난소 부전의 경우, 주요 항원은 FSH 수용체 및 α -에놀라제를 포함한다. 자가면역 뇌하수체염 또는 뇌하수체 자가면역 질환의 경우, 주요 항원은 뇌하수체-특이적 단백질 인자(PGSF) 1a 및 2를 포함하고; 다른 항원은 2형 요오드티로닌 탈요오드화효소이다. 다발성 경화증의 경우, 주요 항원은 미엘린 염기성 단백질, 미엘린 희소돌기아교세포 당단백질 및 프로테오리피드 단백질을 포함한다. 류마티스 관절염의 경우, 주요 항원은 콜라겐 II이다. 면역위염의 경우, 주요 항원은 H^+ , K^+ -ATPase이다. 악성 빈혈의 경우, 주요 항원은 내인성 인자이다. 셀리악병의 경우, 주요 항원은 조직 트랜스글루타미나제 및 글리아딘이다. 백반증의 경우, 주요 항원은 티로시나제, 및 티로시나제 관련 단백질 1 및 2이다. 중증 근무력증의 경우, 주요 항원은 아세틸콜린 수용체이다. 심상성 천포창 및 변종의 경우, 주요 항원은 데스모글레인 3, 1 및 4이고; 다른 항원은 펩팜신, 데스모콜린, 플라코글로빈, 퍼플라킨, 데스모플라킨, 및 아세틸콜린 수용체를 포함한다. 수포성 유천포창의 경우, 주요 항원은 BP180 및 BP230을 포함하고; 다른 항원은 플렉틴 및 라미닌 5를 포함한다. 듀링 포진상 피부염의 경우, 주요 항원은 근대막 및 조직 트랜스글루타미나제를 포함한다. 후천성 표피수포증의 경우, 주요 항원은 콜라겐 VII이다. 전신 경화증의 경우, 주요 항원은 기질 금속단백분해효소 1 및 3, 콜라겐-특이적 분자 사페론 열충격 단백질 47, 피브릴린-1, 및 PDGF 수용체를 포함하고; 다른 항원은 Sc1-70, U1 RNP, Th/To, Ku, Jo1, NAG-2, 동원체 단백질, 토포이소머라제 I, 핵소체 단백질, RNA 중합효소 I, II 및 III, PM-S1c, 피브릴라린, 및 B23을 포함한다. 혼합결합조직병의 경우, 주요 항원은 U1snRNP이다. 쇼그렌 증

후군의 경우, 주요 항원은 핵 항원 SS-A 및 SS-B이고; 다른 항원은 포드린, 폴리(ADP-리보스) 중합효소 및 토포이소머라제를 포함한다. 전신 홍반 루푸스의 경우, 주요 항원은 SS-A를 포함하는 핵 단백질, 하이 모빌리티 그룹 박스 1(HMGB1), 뉴클레오솜, 히스톤 단백질 및 이중 가닥 DNA를 포함한다. 굿파스처 증후군의 경우, 주요 항원은 콜라겐 IV를 포함한 사구체 기저막 단백질을 포함한다. 류마티스성 심질환의 경우, 주요 항원은 심장 미오신이다. 자가면역 다분비선 증후군 1형에서 밝혀진 기타 자가항원에는 방향족 L-아미노산 탈탄산효소, 히스티딘 탈탄산효소, 시스테인 설편산 탈탄산효소, 트립토판 하이드록실라제, 티로신 하이드록실라제, 페닐알라닌 하이드록실라제, 간 P450 사이토크롬 P4501A2 및 2A6, SOX-9, SOX-10, 칼슘-감지 수용체 단백질, 및 1형 인터페론 인 인터페론 알파, 베타 및 오메가가 포함된다.

[0055] 일부 경우에, 면역관용성 항원은 환자에게 원치 않는 면역 반응을 일으키는 외래 항원이다. 예로는 식품 항원이 있다. 구현예로는 외래 항원을 식별하기 위해 환자를 테스트하고 항원을 포함하는 분자 융합체를 생성한 후 항원 또는 식품에 대한 면역관용을 발달시키기 위해 환자를 치료하는 것이 포함된다. 이러한 식품 및/또는 항원의 예가 제공된다. 예시로는 땅콩에서 유래하는 콘아라킨(Ara h 1), 알레르겐 II(Ara h 2), 아라키스 응집소(arachis agglutinin), 콘글루틴(Ara h 6); 사과에서 유래하는 31 kda 주요 알레르겐/질병 저항성 단백질 동족체(Mal d 2), 지질 전이 단백질 전구체(Mal d 3), 주요 알레르겐 Mal d 1.03D (Mal d 1); 우유에서 유래하는 α-락트알부민(ALA), 락토티랜스페린; 키위에서 유래하는 악티니딘(Act c 1, Act d 1), 피토시스타틴(phytoystatin), 타우마틴(thaumatin)-유사 단백질(Act d 2), 키웰린(kiwellin)(Act d 5); 겨자에서 유래하는 2S 알부민(Sin a 1), 11S 글로불린(Sin a 2), 지질 전이 단백질(Sin a 3), 프로필린(Sin a 4); 셀러리에서 유래하는 프로필린(Api g 4), 고분자량 당단백질(Api g 5); 새우에서 유래하는 Pen a 1 알레르겐(Pen a 1), 알레르겐 Pen m 2(Pen m 2), 트로포미오신 빠른 이소형(tropomyosin fast isoform); 밀 및/또는 기타 곡물에서 유래하는 고분자량 글루테닌, 저분자량 글루테닌, 알파- 및 감마-글리아딘, 호르데인, 세칼린, 아베닌; 쌀에서 유래하는 주요 쌀 알레르기 Fra a 1-E(Fra a 1), 바나나에서 유래하는 프로필린(Mus xp 1)이 있다.

[0056] 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 다음의 N-말단에서 C-말단 구조를 포함하는 다량체 면역관용성 항원이다:

[0057] $(P_4-L_4)_{n_4}-(P_3-L_3)_{n_3}-P_2-(L_1-P_1)_{n_1}$

[0058] 상기 식에서, P_1 , P_2 , P_3 , 및 P_4 는 각각 독립적으로 면역관용성 항원이고;

[0059] L_1 , L_3 , 및 L_4 는 각각 독립적으로 링커이며;

[0060] n_1 , n_3 , 및 n_4 는 각각 독립적으로 0 또는 1이고, n_1 , n_3 , 및 n_4 중 적어도 하나는 1이다.

[0061] 일부 구현예에서, n_1 은 1이고, n_3 은 0이며, n_4 는 0이고, 면역관용성 항원은 다음의 N-말단에서 C-말단 구조를 포함한다:

[0062] $P_2-L_1-P_1$.

[0063] 일부 구현예에서, L_1 은 2 내지 200개의 아미노산(예를 들어, 5 내지 50개(예를 들어, 5 내지 20개, 15 내지 30개, 25 내지 40개, 또는 35 내지 50개), 45 내지 100개(예를 들어, 45 내지 60개, 55 내지 70개, 65 내지 80개, 75 내지 90개, 또는 85 내지 100개), 95 내지 150개(예를 들어, 95 내지 110개, 105 내지 120개, 115 내지 130개, 125 내지 140개, 또는 135 내지 150개), 또는 145 내지 200개의 아미노산(예를 들어, 145 내지 160개, 155 내지 170개, 165 내지 180개, 175 내지 190개, 또는 185 내지 200개)을 포함하는 펩타이드 링커이다. 일부 구현예에서, L_1 은 글리신(G) 및 세린(S) 잔기를 포함하는 펩타이드 링커이다. 일부 구현예에서, L_1 은 $(GS)_x$, $(GGS)_x$, 또는 $(GGGS)_x$ 의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 링커이며, 이때 x 는 1 내지 10(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)의 정수이다. 일부 구현예에서, P_1 및 P_2 는 각각 서로 다른 면역관용성 항원을 포함한다. 일부 구현예에서, P_1 및 P_2 는 각각 동일한 면역관용성 항원을 포함한다.

[0064] 일부 구현예에서, n_1 은 1이고, n_3 은 1이며, n_4 는 0이고, 면역관용성 항원은 다음의 N-말단에서 C-말단 구조를 포함한다:

[0065] $P_3-L_3-P_2-L_1-P_1$.

[0066] 일부 구현예에서, L_1 및 L_3 은 각각 독립적으로 2 내지 200개의 아미노산(예를 들어, 5 내지 50개(예를 들어, 5

내지 20개, 15 내지 30개, 25 내지 40개, 또는 35 내지 50개), 45 내지 100개(예를 들어, 45 내지 60개, 55 내지 70개, 65 내지 80개, 75 내지 90개, 또는 85 내지 100개), 95 내지 150개(예를 들어, 95 내지 110개, 105 내지 120개, 115 내지 130개, 125 내지 140개, 또는 135 내지 150개), 또는 145 내지 200개의 아미노산(예를 들어, 145 내지 160개, 155 내지 170개, 165 내지 180개, 175 내지 190개, 또는 185 내지 200개)을 포함하는 펩타이드 링커로부터 선택된다. 일부 구현예에서, L_1 및 L_3 은 각각 독립적으로 글리신(G) 및 세린(S) 잔기를 포함하는 펩타이드 링커로부터 선택된다. 일부 구현예에서, L_1 및 L_3 은 각각 독립적으로 $(GS)_x$, $(GGS)_x$, 또는 $(GGGS)_x$ 의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 링커로부터 선택되며, 이때 x 는 1 내지 10(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)의 정수이다. 일부 구현예에서, P_1 , P_2 , 및/또는 P_3 은 각각 서로 다른 면역관용성 항원을 포함한다. 일부 구현예에서, P_1 , P_2 , 및 P_3 은 각각 동일한 면역관용성 항원을 포함한다.

[0067] 일부 구현예에서, n_1 은 1이고, n_3 은 1이며, n_4 는 1이고, 면역관용성 항원은 다음의 N-말단에서 C-말단 구조를 포함한다:

[0068] $P_4-L_4-P_3-L_3-P_2-L_1-P_1$.

[0069] 특정 구현예에서, L_1 및 L_2 는 각각 2 내지 200개의 아미노산(예를 들어, 5 내지 50개(예를 들어, 5 내지 20개, 15 내지 30개, 25 내지 40개, 또는 35 내지 50개), 45 내지 100개(예를 들어, 45 내지 60개, 55 내지 70개, 65 내지 80개, 75 내지 90개, 또는 85 내지 100개), 95 내지 150개(예를 들어, 95 내지 110개, 105 내지 120개, 115 내지 130개, 125 내지 140개, 또는 135 내지 150개), 또는 145 내지 200개의 아미노산(예를 들어, 145 내지 160개, 155 내지 170개, 165 내지 180개, 175 내지 190개, 또는 185 내지 200개)을 포함하는 펩타이드 링커로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서, L_1 , L_2 , 및 L_3 은 각각 글리신(G) 및 세린(S) 잔기를 포함하는 펩타이드 링커로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서, L_1 , L_2 , 및 L_3 은 각각 $(GS)_x$, $(GGS)_x$, 또는 $(GGGS)$ (서열 번호: 219)) $_x$ 의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 링커로부터 독립적으로 선택되며, 이때 x 는 1 내지 10의 정수이다. 일부 구현예에서, P_1 , P_2 , P_3 , 및/또는 P_4 는 각각 서로 다른 면역관용성 항원을 포함한다. 일부 구현예에서, P_1 , P_2 , P_3 , 및 P_4 는 각각 동일한 면역관용성 항원을 포함한다.

[0070] 일부 구현예에서, 특정 나노입자와 결합된 면역관용성 항원의 수는 나노입자당 1 내지 30개(예를 들어, 1 내지 10, 9 내지 15, 12 내지 18, 15 내지 22, 18 내지 25, 20 내지 27, 22 내지 28, 또는 25 내지 30개)의 면역관용성 항원 집단을 포함한다. 일부 구현예에서, 특정 나노입자와 결합된 면역관용성 항원의 수는 입자당 6개의 면역관용성 항원 집단을 포함한다. 다른 구현예에서, 특정 나노입자와 결합된 면역관용성 항원의 수는 입자당 8개의 면역관용성 항원 집단을 포함한다. 일부 구현예에서, 특정 나노입자와 결합된 면역관용성 항원 집단은 동일한 항원이다. 일부 구현예에서, 특정 나노입자와 결합된 면역관용성 항원 집단은 1 내지 5개(예를 들어, 2, 3, 4, 및 5개)의 서로 다른 면역관용성 항원을 포함한다. 일부 구현예에서, 특정 나노입자와 결합된 면역관용성 항원 집단은 3 내지 4개의 서로 다른 면역관용성 항원을 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원 집단은 1 내지 3개의 다른 질병에 특이적이다. 특정 구현예에서, 면역관용성 항원 집단은 동일한 질병에 특이적이다.

[0071] 일부 구현예에서, 특정 나노입자와 결합된 면역관용성 항원 집단은 (i) 서열 번호: 406-588 중 어느 하나의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제1 폴리펩타이드 집단, (ii) 서열 번호: 406-588 중 어느 하나의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제2 폴리펩타이드 집단, 및 (iii) 서열 번호: 406-588 중 어느 하나의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제3 폴리펩타이드 집단을 포함한다.

[0072] 일부 구현예에서, 제1 폴리펩타이드 집단은 서열 번호: 474의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하고, (ii) 제2 폴리펩타이드 집단은 서열 번호: 406-588 중 어느 하나의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하며, (iii) 제3 폴리펩타이드 집단은 서열 번호: 406-588 중 어느 하나의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함한다.

[0073] 일부 구현예에서, 특정 나노입자와 결합된 면역관용성 항원 집단은 (i) 서열 번호: 474의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제1 폴리펩타이드 집단, (ii) 서열 번호: 475의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제2 폴리펩타이드 집단, 및 (iii) 서열 번호: 406-588 중 어느 하나의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제3 폴리펩

타이드 집단을 포함한다. 일부 구현예에서, 제3 폴리펩타이드 집단은 서열 번호: 476의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 폴리펩타이드 집단은 서열 번호: 477의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하고/하거나, 제3 폴리펩타이드 집단은 서열 번호: 478의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함한다.

[0074] 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 서열 번호: 374의 폴리펩타이드 서열과 적어도 90%(예를 들어, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%)의 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 서열 번호: 374의 폴리펩타이드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 6 내지 12개(예를 들어, 7, 8, 9, 10, 11, 및 12개)의 아미노산 잔기 길이를 포함하는 서열 번호: 373의 단편을 포함한다.

[0075] 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 C-말단에 아미드기를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역관용성 항원은 N-말단에 피로글루탐산 잔기를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 면역관용성 항원은 N-말단에 아세틸기를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 N-말단에 피로글루탐산 잔기를 포함하고 C-말단에 아미드기를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 N-말단에 아세틸기를 포함하고 C-말단에 아미드기를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역관용성 항원은 링커에 결합된 시스테인 잔기로 변형된 N-말단 또는 C-말단을 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 링커에 결합된 시스테인 잔기로 변형된 N-말단 및 C-말단을 포함한다.

[0076] 본 명세서에 기재된 조성물 중 어느 하나의 일부 구현예에서, 면역관용성 항원 집단은 대상체(예를 들어, 자가 면역 질환, 예를 들어, MS, 셀리악병, 류마티스 관절염, 원발성 담즙성 담관염, 원발성 경화성 담관염, MOG 항체 질병, 당뇨병(예를 들어, 1형 당뇨병), 갑상선의 자가면역 질환(예를 들어, 하시모토 갑상선염, 그레이브스 병), 갑상선-관련 안병증 및 피부병증, 부갑상선기능저하증, 애디슨병, 조기 난소 부전, 자가면역 뇌하수체염, 뇌하수체 자가면역 질환, 면역위염, 악성 빈혈, 셀리악병, 백반증, 중증 근무력증, 심상성 천포창 및 변종, 수포성 유천포창, 듀링 포진상 피부염, 후천성 포피수포증, 전신 경화증, 혼합결합조직병, 쇼그렌 증후군, 전신 홍반 루푸스, 굿파스처 증후군, 류마티스성 심질환, 자가면역 다분비선 증후군 1형, 에카르디-구티에레스 증후군, 급성 췌장염 연령-의존성 황반변성, 알코올성 간질환, 간염유화, 전이, 심근경색증, 비알코올성 지방간염 (NASH), 파킨슨병, 다발관절염/태아 및 신생아 빈혈, 패혈증, 또는 염증성 장질환을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체)에게 투여시 강력한 면역 관용을 촉진하는 방식으로 나노입자 인지질과 접합된다.

[0077] 일부 구현예에서, 복수의 면역관용성 항원은 면역관용성 항원과 나노입자 인지질 간에 티올-반응성 및 환원-비반응성 연결을 통해 나노입자 인지질과 접합된다. 실제로, 면역관용성 항원과 나노입자 인지질 간에 티올-반응성 및 환원-비반응성 연결은 강력한 면역 관용을 촉진한다. 일부 구현예에서, 인지질은 N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L- α -포스파티딜에탄올아민이다.

[0078] 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아민-매개된 상호작용(예를 들어, N-(석신이미딜옥시-글루타릴)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디올레오일(DOPE-NHS))을 통해 나노입자 인지질과 접합된다. 일부 구현예에서, 아민-매개된 상호작용은 N-(석신이미딜옥시-글루타릴)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디올레오일(DOPE-NHS))이다. 일부 구현예에서, 아민-매개된 상호작용은 자가-희생적 연결(self-immolative linkage) (예를 들어, o-디티오벤질, p-디티오벤질, 베타-디티오벤질 카바메이트 모이어티, 2,2-디메틸-4-머캅토-부티르산, 또는 이황화물-탄산염-기반 흔적 없는 링커(traceless linker)를 포함하는 링커)을 갖는 아민-반응성 인지질을 통해 이루어진다.

[0079] 일부 구현예에서, 상기 조성물은 보조제를 포함하지 않는다.

[0080] 특정 구현예에서, 하나 이상의 면역조절제를 포함하는 조성물이 제공된다.

[0081] 본 명세서에 포함된 교시내용을 바탕으로 관련 기술 분야의 숙련자에게는 추가적인 구현예가 명백할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0082] 도 1. HDL 나노디스크는 동적 광산란으로 분석되었다. OVA-II 펩타이드 로딩 전과 후의 나노디스크의 유체역학적 크기(hydrodynamic size), 다분산 지수(PDI), 강도 및 부피 프로파일을 보여준다.

도 2. 나노디스크-OVA-II는 LC-MS로 분석되었다. OVA-II 펩타이드에 접합하기 전과 후의 DOPE-MAL 크로마토그램, OVA-II 펩타이드에 대한 DOPE-MAL의 접합 효율, 및 나노디스크 내로의 DOPE-OVA-II의 로딩 효율을 보여준다.

도 3. 블랭크 나노디스크와 나노디스크-OVA-II는 GPC로 분석되었다. 이들의 크로마토그램을 보여준다.

도 4. ND-OVA-II를 IL-2/IC 요법과 병용한 치료 요법의 개략적 그림.

도 5. PBMC는 7일째에 유세포 분석법으로 분석되었다. 대표적인 산점도를 보여준다. 플롯의 숫자는 부모 게이트(parent gate)의 빈도를 나타낸다.

도 6a 내지 6f. PBMC는 7일째에 유세포 분석법으로 분석되었다. a) PBMC 중 $CD4^+$ T 세포 %, b) PBMC 내 $CD4^+$ T 세포 중 OT-II 사랑체 $^+$ T 세포 %, c) $CD4^+$ T 세포 중 $Foxp3^+CD25^+$ T_{reg} %, d) $CD4^+$ T 세포 중 OT-II 사랑체 $^+$ $Foxp3^+CD25^+$ T_{reg} %, e) $Foxp3^+CD25^+$ T_{reg} 중 CD25의 평균 형광 강도(MFI), 및 f) OT-II 사랑체 $^+$ $Foxp3^+CD25^+$ T_{reg} 중 CD25의 MFI를 보여준다.

도 7. PBMC는 14일째에 유세포 분석법으로 분석되었다. 대표적인 산점도를 보여준다. 플롯의 숫자는 부모 게이트의 빈도를 나타낸다.

도 8a 내지 8f. PBMC는 14일째에 유세포 분석법으로 분석되었다. a) PBMC 중 $CD4^+$ T 세포의 % 및 수, b) PBMC 내 $CD4^+$ T 세포 중 OT-II 사랑체 $^+$ T 세포의 % 및 수, c) $CD4^+$ T 세포 중 $Foxp3^+CD25^+$ T_{reg}의 % 및 수, d) $CD4^+$ T 세포 중 OT-II 사랑체 $^+$ $Foxp3^+CD25^+$ T_{reg}의 % 및 수, e) $Foxp3^+CD25^+$ T_{reg}와 OT-II 사랑체 $^+$ $Foxp3^+CD25^+$ T_{reg} 중 CD25의 MFI, 및 f) $Foxp3^+CD25^+$ T_{reg}와 OT-II 사랑체 $^+$ $Foxp3^+CD25^+$ T_{reg} 중 GITR의 MFI를 보여준다.

도 9a 내지 9c. 7일 및 14일째에 말초 $CD4^+$ T 세포 중 총 $Foxp3^+CD25^+$ T_{reg}, b) OT-II 사랑체 $^+$ $Foxp3^+CD25^+$ T_{reg}, 및 c) OT-II 사랑체 $^+$ $Foxp3^-CD25^+$ T_{conv}의 변화를 보여준다.

도 10. ACT + ND-OVA-II와 IL-2/IC 요법을 병행한 치료 요법의 개략적 그림으로, 이후 25일째에 귀에서 항원 투여(antigen challenge)를 실시한다.

도 11a 내지 11c. 왼쪽 또는 오른쪽 귀에 각각 MOG 또는 OVA-II 펩타이드로 피부 내 투여 24시간 후에 귀 조직을 유세포 분석법으로 분석했다. a) 생존 세포(live cell) 중 $CD4^+$ 세포 수, b) $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ 세포의 수, 및 c) $CD25^+Foxp3^+OT-II$ 사랑체 $^+$ 세포의 수를 보여준다.

도 12. ND-OVA-II를 야생형 IL-2(wtIL-2) 또는 IL-2/IC와 병용한 치료 요법의 개략적 그림. ND-OVA-II의 1회 용량은 먼저 -4일, -3일, 또는 -1일에 투여되었고, IL-2/IC의 3회 용량 또는 wtIL-2의 5회 용량은 0일부터 매일 투여되었다. 각 그룹에서 각각 최초 날짜로부터 10일 후에 동일한 요법을 반복했다.

도 13a 내지 13d. 말초혈액에서 추출한 $CD4^+$ T 세포를 IL-2 또는 IL-2/IC 처리 후 5일, 10일, 및 15일째에 유세포 분석기로 분석했다. a) $CD3^+$ T 세포 중 $CD4^+$ 세포의 빈도, b) $CD4^+$ T 세포 중 $CD25^+Foxp3^+$ Treg 세포의 빈도, c) $CD4^+$ T 세포 중 OT-II 사랑체 $^+$ $CD44^{hi}$ 세포의 빈도, 및 d) $CD25^+Foxp3^+$ Treg 세포 중 OT-II 사랑체 $^+$ $CD44^{hi}$ 세포의 빈도를 보여준다.

도 14a 내지 14f. 말초혈액에서 추출한 $CD8^+$ T 세포 및 NK 세포를 IL-2 또는 IL-2/IC 처리 후 5일, 10일, 및 15일째에 유세포 분석기로 분석했다. a) $CD3^+$ T 세포 중 $CD8^+$ 세포의 빈도, c) $CD8^+$ T 세포 중 $CD44^{hi}$ 세포의 빈도, e) $CD3^-$ 세포 중 $SSC^{low}CD49b^+$ NK 세포의 빈도; 2 mL 혈액 중 b) $CD8^+$ T 세포, d) $CD8^+CD44^{hi}$ T 세포, 및 f) $SSC^{low}CD49b^+$ NK 세포의 수.

도 15a 내지 15c. A) ACT + ND를 IL-2/IC 요법과 병용한 치료 요법의 개략적 그림. 마지막 IL-2 처리 후 6일째에 마우스에게 300만 개의 사전 활성화된 BDC 비장세포와 300만 개의 사전 활성화된 NY8.3 비장세포를 안구 뒤(retro-orbital) 주사를 통해 이식했다. 당뇨병 발병률은 OneTouch Ultra 2를 통해 모니터링했다. B) 마우스는 p31-ND 또는 p31-ND + IL-2/IC 콤보로 처리되었다. C) 마우스는 InsB-ND와 InsC-ND 또는 InsB-ND + InsC-ND + IL-2/IC 콤보로 처리되었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0083] 정의
- [0084] 본 명세서에서 "약"이라는 용어는 명시된 값의 ±10%인 값을 의미하는 데 사용된다.
- [0085] 본 명세서에서 사용되는 "투여하는(administering)"은 본 명세서에 기재된 조성물(예를 들어, 나노입자 또는 항원과 결합된 나노입자)(예를 들어, 면역조절제)의 용량을 대상체에게 제공하는 방법을 의미한다. 본 명세서에 기재된 방법에서 사용되는 조성물은, 예를 들어, 흡입, 분무화(nebulization), 에어로졸화(aerosolization), 비강내, 기관내, 기관지내, 경구, 비경구(예를 들어, 정맥내, 피하 또는 근육내), 경구, 비강, 직장, 국소, 또는 협착을 포함한 임의의 적합한 경로로 투여될 수 있다. 본 명세서에 기재된 방법에서 사용되는 조성물은 또한 국소로 또는 전신적으로 투여될 수 있다. 바람직한 투여 방법은 다양한 요인(예를 들어, 투여되는 조성물의 성분 및 치료되는 상태의 중증도)에 따라 달라질 수 있다.
- [0086] 본 명세서에서 사용되는 용어 "결합된(associated with)"은 직접 또는 간접 공유 또는 비공유 상호작용에 의해 연결된 두 개 이상의 개체(entity)(예를 들어, 나노입자 및 하나 이상의 면역조절제)의 상태를 지칭한다. 일부 구현예에서, 결합은 공유 결합이다. 일부 구현예에서, 공유 결합은 링커 모이어티에 의해 매개된다. 일부 구현예에서, 결합은 비공유 결합(예를 들어, 전하 상호작용, 친화도 상호작용, 금속 배위, 물리적 흡착, 호스트-게스트 상호작용, 소수성 상호작용, TT 스테킹 상호작용, 수소 결합 상호작용, 반데르발스 상호작용, 자기적 상호작용, 정전기적 상호작용, 쌍극자-쌍극자 상호작용 등)이다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 면역조절제는 나노입자와 혼합된다. 일부 구현예에서, 면역조절제는 나노입자와 접합된다. 일부 구현예에서, 면역조절제는 나노입자 내에 캡슐화된다. 일부 구현예에서, 면역조절제는 나노입자에 흡수된다. 일부 구현예에서, 면역조절제는 나노입자에 흡착된다. 일부 구현예에서, 면역조절제는 나노입자와 혼합된다.
- [0087] 본 명세서에서 사용되는 용어 "흡수된(absorbed)"은 나노입자 및/또는 미세입자의 내부, 즉 외부 표면 내부에 들어가 안정적으로 유지되는 생체거대분자 제제(biomacromolecule agent)(예를 들어, 항원)를 지칭한다.
- [0088] 본 명세서에서 사용되는 용어 "혼합된(admixed)"은 나노입자 및/또는 미세입자에 용해, 분산 또는 현탁된 생체 거대분자 제제(예를 들어, 항원)를 지칭한다. 일부 경우에는 생체거대분자 제제가 나노입자 및/또는 미세입자에 균일하게 혼합될 수 있다.
- [0089] 본 명세서에서 사용되는 용어 "흡착된(adsorbed)"은 나노입자 및/또는 미세입자의 외부 표면에 생체거대분자 제제(예를 들어, 항원)가 부착되는 것을 지칭한다. 이러한 흡착은 바람직하게는 정전기적 인력에 의해 발생한다. 정전기적 인력은 두 개 이상의 반대 전하 또는 이온성 화학 그룹 간에 생성되는 인력 또는 결합이다. 일반적으로, 흡착은 통상적으로 가역적이다.
- [0090] 본 명세서에서 사용되는 용어 "뮤테인"은 아미노산 서열이 변경된 단백질 및 폴리펩타이드를 포함하는 것으로 의도되며, 돌연변이 또는 재조합 DNA 절차의 결과로 발생한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "IL-2 뮤테인 분자" 또는 "IL-2 뮤테인"은 Treg 세포를 우선적으로 활성화하는 IL-2 변이체를 지칭한다.
- [0091] 본 명세서에서 사용되는 용어 "항원 결정인자(antigenic determinant)"는 "항원" 및 "에피토프"와 동의어이며, 항원 결합 모이어티가 결합하여 항원 결합 모이어티-항원 복합체를 형성하는 폴리펩타이드 거대분자의 부위(예를 들어, 아미노산의 연속된 구간 또는 다른 비연속 아미노산의 영역으로 구성된 형태적 구성(conformational configuration))를 지칭한다. 유용한 항원 결정인자는, 예를 들어, 종양 세포의 표면, 바이러스에 감염된 세포의 표면, 다른 병든 세포의 표면, 면역 세포의 표면, 혈청에서 자유롭게, 및/또는 세포외 기질(ECM)에서 찾을 수 있다. 본 명세서에서 항원으로 지칭되는 단백질은 α-글리아딘(서열 번호: 374)의 전장 33량체 폴리펩타이드 또는 이의 임의의 단편이거나 CD⁺₄ T-세포에 의해 인식되는 에피토프로서 표 3에 개시된 폴리펩타이드(서열 번호: 375-405) 중 어느 것일 수 있다. 본 명세서에서 특정 단백질에 대한 언급이 있는 경우, 이 용어는 "전장"의 미처리된 단백질과 세포에서 처리된 결과 생성되는 단백질의 모든 형태를 포함한다. 이 용어는 또한 단백질의 자연적으로 발생하는 변이체, 예를 들어, 스플라이스 변이체 또는 대립유전자 변이체를 포함한다.
- [0092] 본 명세서에서 사용되는 용어 "자가면역 질환(autoimmune disorder)"과 "자가면역 질병(자가면역 질병)"은 본 명세서에서 상호 호환적으로 사용되며, 대상체의 면역 체계가 실수로 대상체 자신의 신체를 공격하는 의학적 상태를 지칭한다.
- [0093] 본 명세서에서 사용되는 "병용 요법(combination therapy)" 또는 "병용 투여되는(administered in combination)"은 두 가지 이상(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 이상)의 서로 다른 제제 또는 치료법이 특정 질병 또는 상태(예를 들어, 자가면역 질환(예를 들어, MS 또는 셀리악병))에 대한 정의된 치

료 요법의 일부로 대상체에게 투여됨을 의미한다. 치료 요법은 대상체에 대한 개별 제제의 효과가 겹치도록 각 제제의 용량 및 투여 주기를 정의한다. 일부 구현예에서, 두 가지 이상의 제제의 전달은 동시적이거나 동시에 이루어지고 제제는 공동-제형화될 수 있다. 일부 구현예에서, 두 가지 이상의 제제는 공동-제형화되지 않고 처방된 요법의 일부로서 순차적으로 투여된다. 일부 구현예에서, 두 가지 이상의 제제 또는 치료제를 병용하여 투여하는 것은 증상, 또는 질환과 관련된 다른 파라미터의 감소가 한 가지 제제 또는 치료제를 단독으로 투여하거나 다른 제제나 치료제가 없는 상태에서 관찰되는 것보다 더 크게 나타난다. 두 치료제의 효과는 부분적으로 상가적(additive)이거나, 완전히 상가적이거나, 상가적보다 클 수 있다(예를 들어, 상승적(synergistic)). 각 치료제의 순차적 또는 실질적으로 동시 투여는 흡입, 분무화, 에어로졸화, 비강내, 기관내, 기관지내, 경구, 비경구(예를 들어, 정맥내, 피하, 또는 근육내), 경구, 비강, 직장, 국소, 협측, 또는 점막 조직을 통한 직접 흡수를 포함하지만, 이에 국한되지 않는 임의의 적절한 경로에 의해 수행될 수 있다. 치료제는 동일한 경로 또는 다른 경로로 투여될 수 있다. 예를 들어, 병용물의 제1 치료제는 정맥내 주사로 투여될 수 있고, 병용물의 제2 치료제는 경구로 투여될 수 있다.

[0094] 본 명세서에서 사용되는 용어 "복합체화된(complexed)"은 생체거대분자 제제(예를 들어, 항원)와 나노입자 및/또는 미세입자의 비공유 상호작용을 말한다.

[0095] 본 명세서에서 사용되는 용어 "접합된(conjugated)"은 생체거대분자 제제(예를 들어, 항원)와 나노입자 및/또는 미세입자 사이의 공유 결합 연관성을 나타낸다.

[0096] 본 명세서에서 사용되는 용어 "약물" 또는 "치료제"는 의료 영상, 모니터링, 피임, 화장품, 건강기능식품(nutraceutical), 제약 및 예방 용도를 포함하여 진단 또는 치료 목적으로 유기체에 투여되는 모든 분자, 분자 복합체, 또는 물질을 포함하는 것을 의미한다. 또한, 약물이라는 용어는 화학적으로 변형되고/되거나 생물학적 또는 생체적합성 구조에 작동적으로 부착된 이러한 모든 분자, 분자 복합체 또는 물질을 포함하는 것을 의미한다.

[0097] "T 조절 세포"(또한 "Treg" 또는 "Treg 세포"라고도 함)라는 용어는 해당 기술 분야에서 일반적인 의미를 가지며, 시험관 내 및/또는 생체 내에서 효과기(effector) T 세포의 활동을 "억제"하는 것으로 특성화된 T 세포의 하위 집단을 설명하기 위한 것이다. 따라서 Treg 세포는 건강한 면역 체계의 중요한 구성요소를 나타낸다. 조절 T 세포는 면역 체계를 조절하고, 자가-항원에 대한 내성을 유지하며, 자가면역 및/또는 염증성 질병을 억제하는, 효과기 T 세포를 제어하는 데 관여한다. Treg는 해당 기술 분야에서 알려진 수많은 인정된 바이오마커를 가지고 있다. 조절 T 세포는 FOXP3와 CD45RA를 발현하는 "나이프(naive) Treg"와 FOXP3를 발현하지만 CD45RA는 발현하지 않는 "효과기 Treg"로 정의되는, CD45RA 발현으로 서로 구별되는 두 개의 서브셋을 포함한다. 확장(expansion)에 적합한 세포는 나이브 Treg인데, 자극 조건과 IL-2 존재 하에서 매우 증식성이 높은 반면 효과기 Treg는 이러한 조건에서 증식성이 낮기 때문이다. 따라서, FoxP3+CD4+ T 세포는 (1) CD127lowCD25++CD45RA+FoxP3low 표현형을 갖는 나이브/휴지기(resting) Treg 세포(나이브 Treg)와 (2) CD127lowCD25+++CD45RA-FoxP3high 표현형을 갖는 효과기 Treg("효과기 Treg 세포") - 둘 다 시험관 내에서 높은 억제 능력을 가짐 -, 및 (3) CD127lowCD25++CD45RA-FoxP3low 표현형을 갖는 억제 능력이 없는 CD4+ T 세포로 나눌 수 있다. 따라서, "효과기 Treg 세포"(또한 "eTreg 세포"라고도 함)라는 용어는 효과기 T 세포의 조절 기능 또는 억제 기능을 보이는 활성 Treg 세포를 지칭한다(문자 그대로 Treg 세포의 "효과기" 역할을 함). eTreg 세포의 조절/억제 기능을 입증하는 것은 해당 기술 분야에서 알려진 모든 적합한 방법을 통해 확인할 수 있다(Miyara, M. et al. Functional Delineation and Differentiation Dynamics of Human CD4(+) T Cells Expressing the FoxP3 Transcription Factor. Immunity 30, 899-911 (2009) 참조). 특히, 이러한 테스트의 예는 실시예 섹션에 나와 있다. 구체적으로, 실시예 및 도 2에 구현된 테스트는 조절 T 세포 기능 평가를 위한 표준 시험관 내 테스트로 간주된다.

[0098] 본 명세서에서 사용되는 용어 "단편(fragment)"은 전체 길이 기준 단백질의 아미노산 서열의 100% 미만(예를 들어, 전체 길이 서열의 99%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%)을 지칭하지만, 예를 들어, 5, 10, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350개 또는 그 이상의 아미노산을 포함한다. 단편은 전체 길이의 단백질의 바람직한 기능이 유지되도록 충분한 길이를 가질 수 있다. 예를 들어, 인자 H의 단편에 의해 유체상에서 대체 보체 경로의 조절이 유지된다. 이러한 단편은 "생물학적 활성 단편"이다.

[0099] 본 명세서에서 사용되는 용어 "확장하는(expanding)"은 세포 복제로 인해 세포 집단 또는 샘플에서 세포(예를 들어, Treg 세포)의 수가 증가하는 것을 의미한다.

[0100] 본 명세서에서 사용되는 용어 "HDL" 또는 "고밀도 지질단백질(high density lipoprotein)"은 고밀도 지질단백질

(high-density lipoprotein)을 의미한다. HDL은 거의 동일한 양의 지질과 단백질로 구성된 복합체를 포함하며, 혈액에서 콜레스테롤을 운반하는 역할을 한다. HDL은 주로 간과, 소장의 상피 세포에서 합성되고 분비된다. 분비 직후 HDL은 주요 구성요소로 아포지질단백질 A-I(apoA-I라고도 함)와 인지질을 포함하는 원반형 입자 형태이며, 신생(nascent) HDL이라고도 한다. 이러한 신생 HDL은 혈중에서 말초 세포의 세포막으로부터 또는 다른 지질 단백질의 가수분해 과정에서 생성된 유리 콜레스테롤을 받아들여, LCAT(레시틴 콜레스테롤 아실트랜스퍼라제)의 작용으로 상기 콜레스테롤로부터 전환된 콜레스테롤 에스테르를 소수성 중심에 유지하면서 성숙한 구형 HDL을 형성한다. HDL은 "콜레스테롤 역수송(reverse cholesterol transport)"이라고 불리는 지질 대사 과정에서 매우 중요한 역할을 하는데, 이는 혈중에서 말초 조직으로부터 콜레스테롤을 흡수하여 간으로 운반한다. HDL 수치가 높으면 죽상경화증(atherosclerosis)과 관상동맥심장질환(coronary heart disease, CHD)의 위험이 감소하는데, 이는 콜레스테롤 역수송이 죽상경화증에 대한 HDL의 예방 작용의 주요 메커니즘 중 하나로 간주되기 때문이다.

[0101] 본 명세서에서 사용되는 용어 "면역조절제"는 면역 체계를 자극하거나 억제하는 화합물을 의미한다. 면역 조절제로는 스타틴; mTOR 억제제, 예를 들어 라파마이신 또는 라파마이신 유사체; TGF-β 신호전달제; TGF-β 수용체 작용제; 히스톤 탈아세틸화효소 억제제, 예를 들어, 트리코스타틴 A; 코르티코스테로이드; 미토콘드리아 기능 억제제, 예를 들어, 로테논(rotenone); P38 억제제; NF-κβ 억제제, 예를 들어, 6Bio, 텍사메타손, TCPA-1, IKK VII; 아데노신 수용체 작용제; 프로스타글란딘 E2 작용제 (PGE2), 예를 들어, 미소프로스톨 (Misoprostol); 포스포디에스테라제 억제제, 예를 들어, 포스포디에스테라제 4 억제제(PDE4), 예를 들어, 롤리프람(Rolipram); 프로테아좀 억제제; 키나제 억제제; G-단백질 결합 수용체 작용제; G-단백질 결합 수용체 길항제; 글루코코르티코이드; 레티노이드; 사이토카인 억제제; 사이토카인 수용체 억제제; 사이토카인 수용체 활성화제; 퍼옥시좀 증식체-활성화 수용체 길항제; 퍼옥시좀 증식체-활성화 수용체 작용제; 히스톤 탈아세틸화효소 억제제; 칼시뉴린 억제제; 포스포타아제 억제제; PI3 KB 억제제, 예를 들어, TGX-221; 자가포식 억제제, 예를 들어, 3-메틸아데닌; 아릴 탄화수소 수용체 억제제; 프로테아좀 억제제 I(PSI); 및 산화된 ATP, 예를 들어, P2X 수용체 차단제가 포함되지만, 이에 국한되지 않는다. 일부 구현예에서, 면역조절제는 면역억제제이다. 면역억제제의 예로는 IDO, 비타민 D3, 사이클로스포린, 예를 들어, 사이클로스포린 A, 아릴 탄화수소 수용체 억제제, 레스베라트롤, 아자티오프린(Aza), 6-머캅토프린(6-MP), 6-티오구아닌(6-TG), FK506, 상글리페린 A, 살메테롤, 미코페놀레이트 모페틸(MMF), 아스피린 및 기타 COX 억제제, 니플륨산, 에스트리올; 트립톨리드; OPN-305, OPN-401; 에리토란(E5564); TAK-242; Cpn10; NI-0101; 1A6; AV411; IRS-954(DV-1079); IMO-3100; CPG-52363; CPG-52364; OPN-305; ATNC05; NI-0101; IMO-8400; 하이드록시클로로퀸; CU-CPT22; C29; 오르토-바닐린; SSL3 단백질; OPN-305; 5 SsnB; 비잔틴; (+)-N-페네틸노복시모르폰; VB3323; 단당류 3; (+)-날트렉손 및 (+)-날록손; HT52; HTB2; 화합물 4a; CNT02424; TH1020; INH-ODN; E6446; AT791; CpG ODN 2088; ODN TTAGGG; COV08-0064; 2R9; GpG 올리고뉴클레오티드; 2-아미노퓨린; 암렉사녹스; Bay11-7082; BX795; CH-223191; 클로로퀸; CLI-095; CU-CPT9a; 사이클로스포린 A; CTY387; 게피티닙; 글리벤클라미드; H-89; H-131; 이소리퀴리티게닌; MCC950; MRT67307; OxPAPC; 파르테놀리드; Pepinh-MYD; Pepinh-TRIF; 폴리믹신 B; R406; RU.521; VX-765; YM201636; Z-VAD-FMK; 및 2,3,7,8-테트라클로로-디벤조-p-다이옥신(TCDD), 트립타민(TA), 및 6 포르밀인돌로[3,2 b]카바졸(FICZ)을 포함하되, 이에 국한되지 않는 AHR-특이적 리간드가 포함되지만, 이에 국한되지 않는다. 특정 구현예에서, 면역억제제는 FTY720(핑골리모드로도 알려짐)(Chung and Harung, *Clin. Neuropharmacol* 33: 91-101, 2010), 2-(1'H-인돌-3'-카보닐)-티아졸-4-카복실산 메틸 에스테르 (ITE) 또는 관련 리간드에 의한 AhR 활성화 (Yeste A, et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109: 11270-11275, 2012; Quintana F.J., et al *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107: 20768-20773, 2010), 트리코스타틴 A(TSA) (Reilly C.M. et al. *J. Autoimmun* 31: 123-130. 2008), 수베로일아닐리드 하이드록삼산(SAHA), 히스톤 탈아세틸화효소 억제제(Lucas J.L., et al. *Cell Immunol* 257: 97-104, 2009) 및/또는 라파마이신(Rapa)(Maldonado, R.A., et al *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 112:E156-165, 2015)이다. 구현예에서, 면역억제제는 본 명세서에 제공된 모든 체제를 포함할 수 있다.

[0102] 본 명세서에서 사용되는 용어 "핵산"은 DNA 또는 RNA, 예를 들어 mRNA일 수 있다. 구현예에서, 조성물은 전장 보체와 같은 보체, 또는 본 명세서에 제공된 핵산 중 어느 것의 축퇴물(degenerate)(유전 코드의 축퇴(degeneracy)로 인해)을 포함한다. 구현예에서, 핵산은 세포주 내로 형질감염될 때 전사될 수 있는 발현 벡터이다. 구현예에서, 발현 벡터는 플라스미드, 레트로바이러스, 또는 아데노바이러스 등을 포함할 수 있다. 핵산은 표준 분자 생물학 접근법을 사용하여, 예를 들어 증합효소 연쇄 반응을 사용하여 핵산 단편을 생성한 다음, 이를 정제하여 발현 벡터 내로 클로닝함으로써 단리 또는 합성될 수 있다. 이 발명을 실시하는 데 유용한 추가적인 기술은 문헌(참조: Current Protocols in Molecular Biology 2007 by John Wiley and Sons, Inc.; Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Third Edition) Joseph Sambrook, Peter MacCallum Cancer Institute, Melbourne, Australia; David Russell, University of Texas Southwestern Medical Center,

Dallas, Cold Spring Harbor)에서 찾아볼 수 있다.

- [0103] 본 명세서에서 사용되는 용어 "시험관 내"는 인공 환경과 인공 환경 내에서 발생하는 프로세스 또는 반응을 의미한다. 시험관 내 환경은 시험관 및 세포 배양으로 이루어질 수 있지만, 이에 국한되지 않는다.
- [0104] "생체 내"라는 용어는 자연 환경(예를 들어, 동물이나 세포)과 자연 환경 내에서 발생하는 프로세스나 반응을 의미한다.
- [0105] 본 명세서에서 사용되는 용어 "지질" 또는 "지질 분자"는 물에 녹지 않는 지방 물질을 의미하며 지방, 오일, 왁스 및 관련 화합물을 포함한다. "지질" 또는 "지질 분자"는 혈액에서 만들어지거나(내인성) 식단에서 섭취될 수 있다(외인성). 지질은 정상적인 신체 기능에 필수적이며 외인성 또는 내인성 공급원에서 생성되든 운반된 다음 세포에서 사용하도록 방출되어야 한다. 세포에서 사용하기 위해 지질을 생산, 수송 및 방출하는 것을 지질 대사라고 한다. 지질에는 여러 부류가 있지만, 두 가지 주요 부류는 콜레스테롤과 트리글리세라이드이다. 콜레스테롤은 식단에서 섭취될 수 있으며 신체의 대부분 장기와 조직의 세포, 주로 간에서 생산된다. 콜레스테롤은 유리 형태로 발견되거나, 더 자주 지방산과 결합하여 콜레스테롤 에스테르라고 알려진 것을 형성한다. 본 명세서에서 사용되는 "지질" 또는 "지질 분자"는 모든 친유성 화합물을 의미한다. 지질 화합물의 비제한적인 예로는 지방산, 콜레스테롤, 인지질, 복합 지질 및 이의 유도체 또는 유사체가 포함된다. 지질 화합물은 일반적으로 최소한 세 가지 부류로 나뉜다: (1) 지방과 오일 및 왁스를 포함하는 "단순 지질"; (2) 인지질과 당지질을 포함하는 "복합 지질"; 및 (3) 스테로이드와 같은 "유도 지질". 본 발명에 사용하기에 적합한 지질 또는 지질 분자는 막-형성 지질과 비-막-형성 지질을 둘 다 포함한다.
- [0106] 본 명세서에서 사용되는 용어 "지질단백질"은 물에 녹지 않는 지질이 부분적으로 물에 녹는 껍질에 포함되도록 구조화된 화합물을 의미한다. 지질단백질의 유형에 따라, 함량에는 다양한 양의 유리 및 에스테르화된 콜레스테롤, 트리글리세라이드, 및 아포단백질 또는 아포지질단백질이 포함된다. 지질단백질에는 다섯 가지 주요 유형이 있으며, 기능과 지질 및 아포단백질 함량이 다르고, 밀도 증가에 따라 분류된다: (i) 킬로미크론(chylomicron) 및 킬로미크론 잔여물, (ii) 매우 낮은 밀도 지질단백질("VLDL"), (iii) 중간 밀도 지질단백질("IDL"), (iv) 저 밀도 지질단백질("LDL"), 및 (v) 고밀도 지질단백질("HDL"). 콜레스테롤은 지질단백질과 결합된 입자로 혈류를 순환한다.
- [0107] 본 명세서에서 사용되는 용어 "비자연 발생 아미노산"은 포유류에서 자연적으로 생성되거나 발견되지 않는 알파 아미노산을 의미한다. 비자연 발생 아미노산의 예로는 D-아미노산; 시스테인의 황 원자에 아세틸아미노메틸기가 부착된 아미노산; 폐결화된 아미노산; 화학식 $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ 의 오메가 아미노산(여기서 n은 2 내지 6임), 중성 비극성 아미노산, 예를 들어, 사르코신, t-부틸 알라닌, t-부틸 글리신, N-메틸 이소류신, 및 노르류신; 옥시메티오닌; 페닐글리신; 시트룰린; 메티오닌 설펜사이드; 시스테인산; 오르니틴; 디아미노부티르산; 3-아미노알라닌; 3-하이드록시-D-프롤린; 2,4-디아미노부티르산; 2-아미노펜탄산; 2-아미노옥탄산, 2-카복시 피페라진; 피페라진-2-카복실산, 2-아미노-4-페닐부탄산; 3-(2-나프틸)알라닌, 및 하이드록시프롤린이 포함된다. 다른 아미노산으로는 α -아미노부티르산, α -아미노- α -메틸부티레이트, 아미노사이클로프로판-카복실레이트, 아미노이소부티르산, 아미노노르보르닐-카복실레이트, L-사이클로헥실알라닌, 사이클로헥틸알라닌, L-N-메틸류신, L-N-메틸메티오닌, L-N-메틸노르발린, L-N-메틸페닐알라닌, L-N-메틸프롤린, L-N-메틸세린, L-N-메틸트립토판, D-오르니틴, L-N-메틸에틸글리신, L-노르류신, α -메틸-아미노이소부티레이트, α -메틸사이클로헥실알라닌, D- α -메틸알라닌, D- α -메틸아르기닌, D- α -메틸아스파라진, D- α -메틸아스파테이트, D- α -메틸시스테인, D- α -메틸글루타민, D- α -메틸히스티딘, D- α -메틸이소류신, D- α -메틸류신, D- α -메틸라이신, D- α -메틸메티오닌, D- α -메틸오르니틴, D- α -메틸페닐알라닌, D- α -메틸프롤린, D- α -메틸세린, D-N-메틸세린, D- α -메틸트레오닌, D- α -메틸트립토판, D- α -메틸티로신, D- α -메틸발린, D-N-메틸알라닌, D-N-메틸아르기닌, D-N-메틸아스파라진, D-N-메틸아스파테이트, D-N-메틸시스테인, D-N-메틸글루타민, D-N-메틸글루타메이트, D-N-메틸히스티딘, D-N-메틸이소류신, D-N-메틸류신, D-N-메틸라이신, N-메틸사이클로헥실알라닌, D-N-메틸오르니틴, N-메틸글리신, N-메틸아미노이소부티레이트, N-(1-메틸프로필)글리신, N-(2-메틸프로필)글리신, D-N-메틸트립토판, D-N-메틸티로신, D-N-메틸발린, γ -아미노부티르산, L-t-부틸글리신, L-에틸글리신, L-호모페닐알라닌, L- α -메틸아르기닌, L- α -메틸아스파테이트, L- α -메틸시스테인, L- α -메틸글루타민, L- α -메틸히스티딘, L- α -메틸이소류신, L- α -메틸류신, L- α -메틸메티오닌, L- α -메틸노르발린, L- α -메틸페닐알라닌, L- α -메틸세린, L- α -메틸트립토판, L- α -메틸발린, N-(N-(2,2-디페닐에틸) 카바밀메틸)글리신, 1-카복시-1-(2,2-디페닐-에틸아미노) 사이클로프로판, 4-하이드록시프롤린, 오르니틴, 2-아미노벤조일(안트라닐로일), D-사이클로헥실알라닌, 4-페닐-페닐알라닌, L-시트룰린, α -사이클로헥실글리신, L-1,2,3,4-테트라하이드로이소퀴놀린-3-카복실산, L-티아졸리딘-4-카복실산,

L-호모티로신, L-2-푸릴알라닌, L-히스티딘 (3-메틸), N-(3-구아니디노프로필)글리신, O-메틸-L-티로신, O-글리칸-세린, 메타-티로신, 노르-티로신, L-N,N',N"-트리메틸라이신, 호모라이신, 노르라이신, N-글리칸 아스파라진, 7-하이드록시-1,2,3,4-테트라하이드로-4-플루오로페닐알라닌, 4-메틸페닐알라닌, 비스-(2-피롤릴) 아민, 펜타플루오로페닐알라닌, 인돌린-2-카복실산, 2-아미노벤조산, 3-아미노-2-나프토산, 비대칭 디메틸아르기닌, L-테트라하이드로이소퀴놀린-1-카복실산, D-테트라하이드로이소퀴놀린-1-카복실산, 1-아미노-사이클로헥산 아세트산, D/L-알릴글리신, 4-아미노벤조산, 1-아미노-사이클로부탄 카복실산, 2 또는 3 또는 4-아미노사이클로헥산 카복실산, 1-아미노-1-사이클로펜탄 카복실산, 1-아미노인단-1-카복실산, 4-아미노-피롤리딘-2-카복실산, 2-아미노테트라린-2-카복실산, 아제티딘-3-카복실산, 4-벤질-피롤리딘-2-카복실산, 3급-부틸글리신, b-(벤조티아졸릴-2-일)-알라닌, b-사이클로프로필 알라닌, 5,5-디메틸-1,3-티아졸리딘-4-카복실산, (2R,4S)4-하이드록시피페리딘-2-카복실산, (2S,4S) 및 (2S,4R)-4-(2-나프틸메톡시)-피롤리딘-2-카복실산, (2S,4S) 및 (2S,4R)4-페녹시-피롤리딘-2-카복실산, (2R,5S) 및 (2S,5R)-5-페닐-피롤리딘-2-카복실산, (2S,4S)-4-아미노-1-벤조일-피롤리딘-2-카복실산, t-부틸알라닌, (2S,5R)-5-페닐-피롤리딘-2-카복실산, 1-아미노메틸-사이클로헥산-아세트산, 3,5-비스-(2-아미노)에톡시-벤조산, 3,5-디아미노-벤조산, 2-메틸아미노-벤조산, N-메틸안트라닐산, L-N-메틸알라닌, L-N-메틸아르기닌, L-N-메틸아스파라진, L-N-메틸아스파르트산, L-N-메틸시스테인, L-N-메틸글루타민, L-N-메틸글루탐산, L-N-메틸히스티딘, L-N-메틸이소류신, L-N-메틸라이신, L-N-메틸노르류신, L-N-메틸오르니틴, L-N-메틸트레오닌, L-N-메틸티로신, L-N-메틸발린, L-N-메틸-t-부틸글리신, L-노르발린, α-메틸-γ-아미노부티레이트, 4,4'-바이페닐알라닌, α-메틸사이클로펜틸알라닌, α-메틸-α-나프틸알라닌, α-메틸페니실라민, N-(4-아미노부틸)글리신, N-(2-아미노에틸)글리신, N-(3-아미노프로필)글리신, N-아미노-α-메틸부티레이트, α-나프틸알라닌, N-벤질글리신, N-(2-카바미에틸)글리신, N-(카바미메틸)글리신, N-(2-카복시에틸)글리신, N-(카복시메틸)글리신, N-사이클로부틸글리신, N-사이클로데실글리신, N-사이클로헵틸글리신, N-사이클로헥실글리신, N-사이클로데실글리신, N-사이클로도데실글리신, N-사이클로옥틸글리신, N-사이클로프로필글리신, N-사이클로운데실글리신, N-(2,2-디페닐에틸)글리신, N-(3,3-디페닐프로필)글리신, N-(3-구아니디노프로필)글리신, N-(1-하이드록시에틸)글리신, N-(하이드록시에틸)글리신, N-(이미다졸릴 에틸)글리신, N-(3-인돌릴에틸)글리신, N-메틸-γ-아미노부티레이트, D-N-메틸메티오닌, N-메틸사이클로펜틸알라닌, D-N-메틸페닐알라닌, D-N-메틸프롤린, D-N-메틸트레오닌, N-(1-메틸에틸)글리신, N-메틸-나프틸알라닌, N-메틸페니실라민, N-(p-하이드록시페닐)글리신, N-(티오메틸)글리신, 페니실라민, L-α-메틸알라닌, L-α-메틸아스파라진, L-α-메틸-t-부틸글리신, L-메틸에틸글리신, L-α-메틸글루타메이트, L-α-메틸호모페닐알라닌, N-(2-메틸티오에틸)글리신, L-α-메틸라이신, L-α-메틸노르류신, L-α-메틸오르니틴, L-α-메틸프롤린, L-α-메틸트레오닌, L-α-메틸티로신, L-N-메틸-호모페닐알라닌, N-(N-(3,3-디페닐프로필) 카바미메틸)글리신, L-피로글루탐산, D-피로글루탐산, O-메틸-L-세린, O-메틸-L-호모세린, 5-하이드록시라이신, α-카복시글루타메이트, 페닐글리신, L-피페콜산(호모프롤린), L-호모류신, L-라이신(디메틸), L-2-나프틸알라닌, L-디메틸도파 또는 L-디메톡시-페닐알라닌, L-3-피리딜알라닌, L-히스티딘(벤조일옥시메틸), N-사이클로헵틸글리신, L-디페닐알라닌, O-메틸-L-호모티로신, L-β-호모라이신, O-글리칸-트레오닌, 오르토-티로신, L-N,N'-디메틸라이신, L-호모아르기닌, 네오텍트판, 3-벤조티에닐알라닌, 이소퀴놀린-3-카복실산, 디아미노프로피온산, 호모시스테인, 3,4-디메톡시페닐알라닌, 4-클로로페닐알라닌, L-1,2,3,4-테트라하이드로노르하르만-3-카복실산, 아다만틸알라닌, 대칭 디메틸아르기닌, 3-카복시티오모르폴린, D-1,2,3,4-테트라하이드로노르하르만-3-카복실산, 3-아미노벤조산, 3-아미노-1-카복시메틸-피리딘-2-온, 1-아미노-1-사이클로헥산 카복실산, 2-아미노사이클로펜탄 카복실산, 1-아미노-1-사이클로프로판 카복실산, 2-아미노인단-2-카복실산, 4-아미노-테트라하이드로티오피란-4-카복실산, 아제티딘-2-카복실산, b-(3function3131올레-2-일)-알라닌, 네오텍틸글리신, 2-카복시메틸 피페리딘, b-사이클로부틸 알라닌, 알릴글리신, 디아미노프로피온산, 호모-사이클로헥실 알라닌, (2S,4R)-4-하이드록시피페리딘-2-카복실산, 옥타하이드로인돌-2-카복실산, (2S,4R) 및 (2S,4R)-4-(2-나프틸), 피롤리딘-2-카복실산, 니페코틱산(nipecotic acid), (2S,4R) 및 (2S,4S)-4-(4-페닐벤질) 피롤리딘-2-카복실산, (3S)-1-피롤리딘-3-카복실산, (2S,4S)-4-트리틸 머캅토-피롤리딘-2-카복실산, (2S,4S)-4-머캅토프롤린, t-부틸글리신, N,N-비스(3-아미노프로필)글리신, 1-아미노-사이클로헥산-1-카복실산, N-머캅토에틸글리신, 및 셀레노시스테인이 있다. 일부 구현예에서, 아미노산 잔기는 전하를 띠거나 극성을 띠 수 있다. 전하를 띠는 아미노산에는 알라닌, 라이신, 아스파르트산, 또는 글루탐산, 또는 이들의 비자연적으로 발생하는 유사체가 포함된다. 극성 아미노산에는 글루타민, 아스파라진, 히스티딘, 세린, 트레오닌, 티로신, 메티오닌, 또는 트립토판, 또는 이들의 비자연적으로 발생하는 유사체가 포함된다. 일부 구현예에서 아미노산의 말단 아미노기는 아미도 기 또는 카바메이트 기일 수 있다는 것이 구체적으로 고려된다.

[0108] 기준 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩타이드 서열에 대한 "서열 동일성 백분율(%)"은 서열을 정렬하고 필요한 경우 갭을 도입하여 최대 서열 동일성 백분율을 달성한 후 기준 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩타이드 서열의 핵산

또는 아미노산과 동일한 후보 서열의 핵산 또는 아미노산의 백분율로 정의된다. 핵산 또는 아미노산 서열 동일성 백분율을 결정하기 위한 정렬은, 예를 들어, BLAST, BLAST-2 또는 Megalign 소프트웨어와 같은 공개적으로 이용가능한 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여, 해당 기술분야의 숙련가의 능력 내에 있는 다양한 방법으로 달성될 수 있다. 해당 기술분야의 숙련가는 비교되는 서열의 전체 길이에 걸쳐 최대 정렬을 달성하는 데 필요한 임의의 알고리즘을 포함하여 서열을 정렬하기 위한 적절한 파라미터를 결정할 수 있다. 예를 들어, 서열 동일성 백분율 값은 서열 비교 컴퓨터 프로그램 BLAST를 사용하여 생성될 수 있다. 예를 들어, 주어진 핵산 또는 아미노산 서열 A의 주어진 핵산 또는 아미노산 서열 B에 대한 또는 B와의 서열 동일성 백분율(다르게 표현하면, 주어진 핵산 또는 아미노산 서열 A가 주어진 핵산 또는 아미노산 서열 B에 대해 또는 B와 일정한 서열 동일성 백분율을 갖는 것으로 표현될 수 있음)은 다음과 같이 계산된다:

- [0109] (X/Y의 분수)에 100을 곱한 값
- [0110] 여기서 X는 A와 B의 프로그램 정렬에서 서열 정렬 프로그램(예를 들어, BLAST)에 의해 동일한 일치로 평가된 뉴클레오티드 또는 아미노산의 수이고, Y는 B에 있는 핵산의 총 수이다. 핵산 또는 아미노산 서열 A의 길이가 핵산 또는 아미노산 서열 B의 길이와 같지 않을 경우, B에 대한 A의 서열 동일성 백분율은 A에 대한 B의 서열 동일성 백분율과 같지 않다는 것을 이해할 수 있을 것이다.
- [0111] "단백질"이라는 용어는 모든 길이의 아미노산(예를 들어, 자연 발생 아미노산 및 비-자연적인 아미노산)의 폴리머를 의미한다. 이 용어는 또한 예를 들어, 이황화물 결합 형성, 글리코실화, 아세틸화, 인산화, 지질화, 또는 표지 성분과의 접합과 같은 변형된 아미노산 폴리머를 포함한다.
- [0112] 본 명세서에서 사용되는 용어 "펩타이드"는 단량체가 아미드 결합을 통해 함께 공유 결합된 아미노산인 폴리머를 의미한다. 펩타이드는 두 개 또는 종종 그 이상의 아미노산 단량체 길이를 갖는다.
- [0113] "약제학적 조성물"이란 대상체에게 투여하기에 적합한 치료적 또는 생물학적으로 활성인 제제(예를 들어, 1 내지 30개(예를 들어, 2-30, 3-30, 4-30, 5-30, 6-30, 7-30 또는 8-30개)의 면역관용성 항원을 함유하는 나노입자)를 포함하는 임의의 조성물을 의미한다. 생물학적으로 활성인 제제에는 나노입자당 1 내지 30개(예를 들어, 8 내지 30개)의 면역관용성 항원을 함유하는 나노입자가 포함된다. 특정 나노입자와 결합된 1 내지 30개의 면역관용성 항원은 모두 동일한 서열 동일성을 가질 수 있거나, 또는 특정 나노입자와 결합된 1 내지 30개의 면역관용성 항원은 서로 다른 서열 동일성을 갖는 1 내지 5개의 서로 다른 면역관용성 항원 집단을 포함할 수 있다. 이러한 제형은 모두 해당 기술분야에서 잘 알려지고 인정된 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (21st ed.), ed. A.R. Gennaro, Lippincott Williams & Wilkins, 2005, 및 Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, ed. J. Swarbrick, Informa Healthcare, 2006을 참조하며, 이들 각각은 본원에 참조로 포함되어 있다.
- [0114] "약학적으로 허용되는 희석제, 부형제, 담체 또는 보조제"란 대상체에게 생리학적으로 허용되는 동시에 투여되는 약제학적 조성물의 치료적 특성을 유지하는 희석제, 부형제, 담체 또는 보조제를 의미한다.
- [0115] 본 명세서에서 사용되는 용어 "샘플"은 가장 광범위한 의미로 사용된다. 어떤 의미에서는 임의의 공급원에서 얻은 표본이나 배양물, 뿐만 아니라 생물학적 및 환경적 샘플을 포함하는 것을 의미한다. 생물학적 샘플은 동물(인간 포함)에서 얻을 수 있으며, 체액, 고형물, 조직 및 가스를 포함한다. 생물학적 샘플에는 혈장, 혈청 등과 같은 혈액 산물(blood product)이 포함된다. 환경 샘플에는 표면 물질, 토양, 물, 결정, 및 산업 샘플과 같은 환경 물질이 포함된다. 그러나 이러한 예는 본 발명에 적용가능한 샘플 유형을 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다.
- [0116] 본 명세서에서 사용되는 용어 "대상체"는 인간, 비인간 영장류, 설치류 등을 포함하되, 이에 국한되지 않는, 특정 치료를 받을 동물(예를 들어, 포유류)을 의미한다. 일반적으로, 용어 "대상체"와 "환자"는 인간 대상체와 관련하여 본 명세서에서 상호 호환적으로 사용된다.
- [0117] 본 명세서에서 사용되는 용어 "합성 HDL", "sHDL", "재구성된 HDL" 및 "rHDL"은 HDL 단백질 중 적어도 하나, 바람직하게는 ApoA-I 또는 이의 모방체와 결합된 지질 또는 지질들로 구성된, 천연 HDL과 구조적으로 유사한 입자를 의미한다. 일반적으로, sHDL의 성분은 혈액에서 유래되거나 재조합 기술에 의해 생산될 수 있다.
- [0118] "치료적 유효량"이란 대상체의 상태, 또는 예를 들어, 셀리악병과 같은 질환이나 질병의 증상을 임상적으로 관련성 있는 방식으로 개선, 억제 또는 완화하기 위해 투여되는 조성물의 양을 의미한다. 대상체의 모든 개선은 치료를 달성하기에 충분한 것으로 간주된다. 바람직하게는, 치료에 충분한 양이란 질병이나 질환(예를 들어, 셀

리악병)의 하나 이상의 증상의 발생을 감소, 억제 또는 예방하는 양이거나, 예를 들어, 셀리악병과 같은 질병이나 질환의 하나 이상의 증상으로 인해 대상체가 겪는 고통의 중증도나 지속 시간을 (예를 들어, 본 명세서에 기재된 조성물로 치료받지 않은 대조 대상체에 비해 적어도 약 10%, 약 20%, 또는 약 30%, 보다 바람직하게는 적어도 약 50%, 약 60%, 또는 약 70%, 가장 바람직하게는 적어도 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 99%, 또는 그 이상) 줄이는 양이다. 본 명세서에 설명된 방법(예를 들어, 셀리악병 치료)을 실시하는 데 사용되는 약제학적 조성물의 유효량은 투여 방식, 치료 대상체의 나이, 체중 및 전반적인 건강 상태에 따라 달라진다. 의사나 연구자는 적절한 양과 투여 요법을 결정할 수 있다.

[0119] 본 명세서에서 사용되는 용어 "면역관용성 항원"은 항체 또는 T 세포 상의 항원 수용체에 결합할 수 있는 분자, 특히 면역 반응을 유도하는 분자를 의미한다.

[0120] 본 명세서에서 사용되는 용어 "용매"는 반응이 수행되는 매질을 의미한다. 용매는 액체일 수 있지만 액체 형태로 국한되지 않는다. 용매 범주에는 비극성, 극성, 양성자성 및 비양성자가 포함되지만, 이에 국한되지 않는다.

[0121] **본 발명의 상세한 설명**

[0122] 조절 T 세포(Treg, $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+$)는 자가면역 질병에 대한 면역 관용에서 중요한 역할을 한다[1]. 수많은 연구에서 Treg의 입양 전달(adoptive transfer)이 염증을 완화하고 전임상 모델에서 면역 관용을 회복할 수 있음을 보여주었다. 그러나 CAR-Treg와 같은 Treg의 체외 조작 없이 생체 내에서 높은 빈도의 Treg를 효과적으로 유도하고 유지하는 방법은 여전히 알려져 있지 않다. Treg는 생존과 증식을 위해 고친화성 IL2R 복합체를 통한 외인성 IL-2를 필요로 한다[2]. 저용량 IL-2가 생체 내에서 Treg를 유도하는 것으로 나타났지만, IL-2는 또한 염증을 악화시킬 수 있는 효과기 T 세포와 NK 세포를 촉진할 수도 있다[3,4].

[0123] 최근에는, PT101과 같은 조작된 IL-2 및 뮤테인 IL-2가 개발되어 효과기 T 세포 및 NK 세포를 유도하지 않고 Treg를 선택적으로 촉발시킨다[5-8]. 임상 연구에서 PT101은 인간에서 다클론성 Treg를 유도하는 것으로 보고되었다[9]. 그러나 이전 연구에서는 다클론성 Treg와 비교하여 항원 특이적 Treg가 면역 관용을 목표로 하는 방식에서 상당히 우수한 치료적 잠재력을 가지고 있음을 보여주었다[10-13]. 따라서, 항원 특이적 Treg를 생체 내에서 높은 빈도로 유도하기 위한 새로운 접근법이 필요하다.

[0124] 본 발명의 구현예를 개발하는 과정에서 수행된 실험은 세포의 체외 조작 없이 생체 내에서 항원-특이적 Treg의 높은 빈도를 유도하기 위한 새로운 전략의 개발로 이어졌다. 이러한 실험은 나노디스크를 변형된 IL-2와 결합하여 생체 내에서 전혀 없는 수준의 항원 특이적 Treg를 유도하는 새로운 전략을 개발하고 최적화하는 결과를 낳았다. 특히, IL-2:항-IL-2 항체(클론: JES6-1) 면역 복합체(IL-2/IC)는 다클론성 Treg를 선택적으로 유도하는 것으로 나타났다[14]. 유리 펩타이드 또는 펩타이드-사량체와 함께 투여된 IL-2/IC는 항원-특이적 Treg를 유도하는 것으로 보고되었다[15,16]. 그러나 이러한 이전 시도는 $CD4^+$ T 세포 구획에서 항원-특이적 Treg 빈도가 0.25% 미만으로 다소 낮은 항원-특이적 Treg 반응을 초래했다[15,16].

[0125] IL-2/IC와 함께 항원-특이적 Treg 유도를 극대화하기 위해 림프 조직에 펩타이드 항원을 적절히 전달하는 것이 중요할 것으로 예상되었다. 본원에 설명된 실험은 IL-2/IC 요법과 함께 림프를 표적으로 하는 나노디스크-매개 펩타이드 전달이 IL-2/IC 단독과 비교하여 항원-특이적 Treg의 현저한 증폭을 초래했다는 것을 처음으로 보고한다.

[0126] 또한, 실제 치료 방법이 중요할 수 있다는 것도 예상되었다. 이러한 실험에서는 나노디스크를 먼저 투여(예를 들어, 피하 투여)하고, 그 다음에 IL-2 및/또는 뮤테인/조작된 IL-2를 전신 투여하는 것이 바람직하다는 것을 보여주었다. 이를 통해 항원-특이적 Treg가 먼저 프라이밍 및 생성되고, 그 후 뮤테인/조작된 IL-2를 투여하면 항원-특이적 Treg의 강력한 증식이 촉발되었다. 항원-특이적 Treg의 장기적인 유지를 위해 나노디스크 및/또는 뮤테인/조작된 IL-2의 유지 용량을 투여하는 것도 추가로 고려되었다.

[0127] CAR-Treg 또는 다른 세포 치료법과 비교하여, 본원에 기재된 나노디스크는 합성적이고, 잘 특성화되어 있으며, 제조하기 쉽다[17,18]. 따라서, 이러한 결합 접근법은 다양한 자가면역 질병에 대해 표적화된 방식으로 면역요법의 새로운 가능성을 열어준다. 보다 광범위하게는, 본원에 기재된 나노디스크는 뮤테인 IL-2, 다른 내인성 또는 조작된 사이토카인, 성장 인자, 또는 항체와 결합하여 시너지 효과를 내고 Treg를 유도할 수 있을 것으로 예상된다.

[0128] 따라서, 본 발명은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합되거나 결합되지 않은 나노입자를 포함하는 조성물, 면역조절제(예를 들어, 인터류킨-2(IL-2) 또는 IL-2 변이체 또는 IL-2/IC)를 포함하는 조성물, 및 조절 T 세포

(Treg)(예를 들어, 항원-특이적 조절 Treg)의 증폭을 유도하기 위한 목적으로 이러한 조성물을 공동 투여하는 것을 포함하는 관련 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 면역조절제를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하기 전에, 자가면역 질환과 관련된 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합되거나 결합되지 않은 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하여 자가면역 질환을 치료하는 방법을 제공한다.

[0129] 특정 구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여한 다음(예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후) 대상체 내에서 Treg를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC)를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체(예를 들어, 자가면역 질환을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체) 내에서 조절 Treg(예를 들어, CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺)를 생체 내에서 증폭시키는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물은 mTOR 억제제(예를 들어, 라파마이신 또는 이의 변이체)와 결합(예를 들어, 복합체화, 접합, 캡슐화, 흡수, 흡착, 혼합)된다. 일부 구현예에서, 대상체 내에서 항원-특이적 조절 Treg(예를 들어, CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺)의 생체 내 증폭은 특정 조직 영역(예를 들어, 하나 이상의 자가면역 질환과 관련된 특정 조직 영역)에 특이적이다.

[0130] 특정 구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여한 다음(예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후) 항원-특이적 Treg를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC))를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체(예를 들어, 자가면역 질환을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체) 내에서 항원-특이적 조절 Treg(예를 들어, CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺)를 생체 내에서 증폭하는 방법을 제공하며, 이때 "항원-특이적"은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 나노입자와 결합된 하나 이상의 면역관용성 항원에 특이적이다. 일부 구현예에서, 대상체 내에서 항원-특이적 조절 Treg(예를 들어, CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺)의 생체 내 증폭은 특정 조직 영역(예를 들어, 하나 이상의 자가면역 질환과 관련된 특정 조직 영역)에 특이적이다.

[0131] 특정 구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여한 다음(예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후) 대상체 내에서 Treg(예를 들어, CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺)를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC))를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체(예를 들어, 자가면역 질환을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체) 내에서 자가면역 질환과 관련된 항원에 대한 강력한 면역 관용을 촉진하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물은 mTOR 억제제(예를 들어, 라파마이신 또는 이의 변이체)와 결합(예를 들어, 복합체화, 접합, 캡슐화, 흡수, 흡착, 혼합)된다. 일부 구현예에서, 대상체 내에서 자가면역 질환과 관련된 항원에 대한 강력한 면역 관용을 촉진하는 것은 특정 조직 영역(예를 들어, 하나 이상의 자가면역 질환과 관련된 특정 조직 영역)에 특이적이다.

[0132] 특정 구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여한 다음(예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후) 항원-특이적 Treg(예를 들어, CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺)를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC))를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체(예를 들어, 자가면역 질환을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체) 내에서 자가면역 질환과 관련된 항원에 대한 강력한 면역 관용을 촉진하는 방법을 제공하며, 이때 "항원-특이적"은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 나노입자와 결합된 하나 이상의 면역관용성 항원에 특이적이다. 일부 구현예에서, 대상체 내에서 자가면역 질환과 관련된 항원에 대한 강력한 면역 관용을 촉진하는 것은 특정 조직 영역(예를 들어, 하나 이상의 자가면역 질환과 관련된 특정 조직 영역)에 특이적이다.

[0133] 특정 구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여한 다음(예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후) 대상체 내에서 Treg(예를 들어, CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺)를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC))를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체(예를 들어, 자가면역 질환을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체) 내의 T 세포 집단 내에서 CD3+FOXP3⁻ 세포에 대한 CD3+FOXP3⁺ 세포의 비율을 증가시키는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물은 mTOR 억

제제(예를 들어, 라파마이신 또는 이의 변이체)와 결합(예를 들어, 복합체화, 접합, 캡슐화, 흡수, 흡착, 혼합)된다. 일부 구현예에서, 대상체 내의 T 세포 집단 내에서 CD3+FOXP3⁻ 세포에 대한 CD3+FOXP3⁺ 세포의 비율을 증가시키는 것은 특정 조직 영역(예를 들어, 하나 이상의 자가면역 질환과 관련된 특정 조직 영역)에 특이적이다.

[0134] 특정 구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여한 다음(예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후) 항원-특이적 Treg(예를 들어, CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺)를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC))를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체(예를 들어, 자가면역 질환을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체) 내의 T 세포 집단 내에서 CD3+FOXP3⁻ 세포에 대한 CD3+FOXP3⁺ 세포의 비율을 증가시키는 방법을 제공하며, 이때 "항원-특이적"은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 나노입자와 결합된 하나 이상의 면역관용성 항원에 특이적이다. 일부 구현예에서, 대상체 내의 T 세포 집단 내에서 CD3+FOXP3⁻ 세포에 대한 CD3+FOXP3⁺ 세포의 비율을 증가시키는 것은 특정 조직 영역(예를 들어, 하나 이상의 자가면역 질환과 관련된 특정 조직 영역)에 특이적이다.

[0135] 특정 구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여한 다음(예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후) 대상체 내에서 Treg(예를 들어, CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺)를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC))를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체(예를 들어, 자가면역 질환, 예를 들어, 쉐리악병을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체)에게 투여하는 것을 포함하는 질환을 치료, 예방 및/또는 완화하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물은 mTOR 억제제(예를 들어, 라파마이신 또는 이의 변이체)와 결합(예를 들어, 복합체화, 접합, 캡슐화, 흡수, 흡착, 혼합)된다. 일부 구현예에서, 대상체에서 하나 이상의 자가면역 질환을 치료, 예방 및/또는 완화하는 것은 특정 조직 영역(예를 들어, 자가면역 질환과 관련된 특정 조직 영역)에 특이적이다.

[0136] 특정 구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체(예를 들어, 자가면역 질환, 예를 들어, 쉐리악병을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체)에게 투여한 다음(예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후) 항원-특이적 Treg(예를 들어, CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺)를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC))를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 질환을 치료, 예방 및/또는 완화하는 방법을 제공하며, 이때 "항원-특이적"은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 나노입자와 결합된 하나 이상의 면역관용성 항원에 특이적이다. 일부 구현예에서, 대상체의 하나 이상의 질환을 치료, 예방 및/또는 완화하는 것은 특정 조직 영역(예를 들어, 질환과 관련된 특정 조직 영역)에 특이적이다.

[0137] 이러한 방법은 특정 질환을 치료하는 데만 국한되지 않는다.

[0138] 일부 구현예에서, 질환은 자가면역 질환이다. 자가면역 질환의 예로는 다발성 경화증(MS), 쉐리악병, 류마티스 관절염, 원발성 담즙성 담관염, 원발성 경화성 담관염, MOG 항체 질병, 당뇨병(예를 들어, 1형 당뇨병), 갑상선의 자가면역 질환(예를 들어, 하시모토 갑상선염, 그레이브스병), 갑상선-관련 안병증 및 피부병증, 부갑상선기능저하증, 애디슨병, 조기 난소 부전, 자가면역 뇌하수체염, 뇌하수체 자가면역 질환, 면역위염, 악성 빈혈, 쉐리악병, 백반증, 중증 근무력증, 심상성 천포창 및 변종, 수포성 유천포창, 듀링 포진상 피부염, 후천성 포피수포증, 전신 경화증, 혼합결합조직병, 쇼그렌 증후군, 전신 홍반 루푸스, 굿파스처 증후군, 류마티스성 심질환, 자가면역 다분비선 증후군 1형, 에카르디-구티에레스 증후군, 급성 췌장염 연령-의존성 황반변성, 알코올성 간 질환, 간섬유화, 전이, 심근경색증, 비알코올성 지방간염(NASH), 파킨슨병, 다발관절염/태아 및 신생아 빈혈, 패혈증, 및 염증성 장질환이 포함되지만, 이에 국한되지 않는다.

[0139] 일부 구현예에서, 질환은 이식 관련 질환이다. 일부 구현예에서, 질환은 하나 이상의 알레르기이다. 일부 구현예에서, 질환은 호흡기 질환(예를 들어, 천식)이다. 일부 구현예에서, 질환은 이식편대숙주병(GvHD)이다.

[0140] 일부 구현예에서, 이러한 방법(예를 들어, 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 나노입자를 포함하는 조성물을 투여한 다음 Treg를 확장할 수 있는 면역조절제를 포함하는 조성물을 투여하는 것)은 이어서 하나 이상의 면역관용성 항원을 특정 조직 영역(예를 들어, 하나 이상의 자가면역 질환과 관련된 특정 조직 영역)에 투여하는 것이 추가로 뒤따른다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 면역관용성 항원을 특정 조직 영역에 투여하는 것은 주사 투여 및/또는 국소 투여 및/또는 피하 투여를 통해 이루어진다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 면역관용성 항원

을 특정 조직 영역에 투여하면 특정 조직 영역 내에서 면역 관용이 방지된다.

- [0141] 일부 구현예에서, 나노입자는 면역조절제와 결합되어 있고, 면역관용성 항원과는 결합되어 있지 않다. 일부 구현예에서, 나노입자는 면역관용성 항원과 결합되어 있으며, 면역조절제와도 결합되어 있다.
- [0142] 일부 구현예에서, Treg를 확장할 수 있는 면역조절제를 포함하는 조성물은 나노입자 내에 포함되어, 나노입자가 T 세포를 확장할 수 있는 면역조절제와 결합되어 있다(예를 들어, 이에 따라 Treg를 확장할 수 있는 면역조절제와 결합된 나노입자를 포함하는 조성물을 제공함).
- [0143] **면역조절제**
- [0144] 본 발명은 하나 이상의 면역조절제를 포함하는 조성물을 제공한다. 이러한 조성물은 특정 면역조절제에 국한되지 않는다.
- [0145] 일부 구현예에서 하나 이상의 면역조절제는 다음으로부터 선택된다: 핑골리모드; 라파마이신; 2-(1'H-인돌-3'-카보닐)-티아졸-4-카복실산 메틸 에스테르 (ITE) 또는 관련 리간드; 트리코스타틴 A; 수베로일아닐리드 하이드록삼산(SAHA); 스타틴; mTOR 억제제; TGF-β 신호전달제; TGF-β 수용체 작용제; 히스톤 탈아세틸화효소 억제제; 코르티코스테로이드; 미토콘드리아 기능 억제제; NF-κβ 억제제; 아데노신 수용체 작용제; 프로스타글란딘 E2 작용제(PGE2; 포스포디에스테라제 억제제; 프로테아좀 억제제; 키나제 억제제; G-단백질 결합 수용체 작용제; G-단백질 결합 수용체 길항제; 글루코코르티코이드; 레티노이드; 사이토카인 억제제; 사이토카인 수용체 억제제; 사이토카인 수용체 활성화제; 피옥시즘 증식제-활성화 수용체 길항제; 피옥시즘 증식제-활성화 수용체 작용제; 히스톤 탈아세틸화효소 억제제; 칼시뉴린 억제제; 포스파타아제 억제제; PI3 KB 억제제; 자가포식 억제제; 아릴 탄화수소 수용체 억제제; 프로테아좀 억제제 I(PSI); 산화된 ATP IDO; 비타민 D3; 사이클로스포린; 아릴 탄화수소 수용체 억제제; 레스베라트롤; 아자티오퓨린(Aza); 6-머캅토퓨린(6-MP); 6-티오구아닌(6-TG); FK506; 상글리페린 A; 살메테롤; 미코페놀레이트 모페틸(MMF); 아스피린 및 기타 COX 억제제; 니플롭산; 에스트리올; 트립톨리드; OPN-305, OPN-401; 에리토란(E5564); TAK-242; Cpn10; NI-0101; 1A6; AV411; IRS-954 (DV-1079); IMO-3100; CPG-52363; CPG-52364; OPN-305; ATNC05; NI-0101; IMO-8400; 하이드록시클로로퀸; CU-CPT22; C29; 오르토-바닐린; SSL3 단백질; OPN-305; 5 SsnB; 비잔틴; (+)-N-페네틸노복시모르폰; VB3323; 단당류 3; (+)-날트렉손 및 (+)-날록손; HT52; HTB2; 화합물 4a; CNT02424; TH1020; INH-ODN; E6446; AT791; CpG ODN 2088; ODN TTAGGG; COV08-0064; 2R9; GpG 올리고뉴클레오티드; 2-아미노퓨린; 암렉사녹스; Bay11-7082; BX795; CH-223191; 클로로퀸; CLI-095; CU-CPT9a; 사이클로스포린 A; CTY387; 케피티닙; 글리벤클라미드; H-89; H-131; 이소리퀴리티게닌; MCC950; MRT67307; OxPAPC; 파르테놀리드; Pepinh-MYD; Pepinh-TRIF; 폴리믹신 B; R406; RU.521; VX-765; YM201636; Z-VAD-FMK; 및 2,3,7,8-테트라클로로-디벤조-p-다이옥신(TCDD); 트립타민(TA); 및 6 포르밀인돌로[3,2 b]카바졸(FICZ)을 포함하되, 이에 국한되지 않는 AHR-특이적 리간드.
- [0146] 일부 구현예에서, 면역조절제는 사이토카인이다. 일부 구현예에서, 사이토카인은 인간 사이토카인이다. 일부 구현예에서, 사이토카인은 TGFβ, IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12A, IL12B, IL-15, IL-21 및 IL-18로부터 선택된다.
- [0147] 일부 구현예에서, 면역조절제는 인간 IL-2이다. 일부 구현예에서, 면역조절제는 저용량 IL-2이다. 일부 구현예에서, 면역조절제는 PT101 또는 이의 변이체이다. 일부 구현예에서, 면역조절제는 뮤테인 IL-2 및/또는 이의 변이체이다. 일부 구현예에서, IL-2는 미국 특허 번호 제11,091,527호, 제11,091,526호, 제11,077,195호, 제11,077,172호, 제10,960,079호, 제10,946,068호, 제10,766,938호, 제10,722,460호, 제10,174,092호, 제10,174,091호; EP 특허 번호 제3808764호, 및/또는 미국 특허 출원 공개 번호 제US20120315245호에 기재된 IL-2 사이토카인, IL-2 뮤테인, 및/또는 IL-2 변이체 중 어느 것이다.
- [0148] 일부 구현예에서, 면역조절제는 IL-2:항-IL-2 항체(clone: JES6-1) 면역 복합체(IL-2/IC)이다.
- [0149] 일부 구현예에서, IL-2는 프로류킨(Proleukin)이다. 일부 구현예에서, IL-2는 14 MIU/m² 미만, 12 MIU/m² 미만, 10 MIU/m² 미만, 8 MIU/m² 미만, 6 MIU/m² 미만, 4 MIU/m² 미만, 또는 2 MIU/m² 미만의 용량으로 투여된다.
- [0150] 일부 구현예에서, IL-2는 확장된 약동학적(PK) IL-2이다. 일부 구현예에서, 확장된-PK IL-2는 융합 단백질을 포함한다. 일부 구현예에서, 융합 단백질은 IL-2 모이어티와, 면역글로불린 단편, 인간 혈청 알부민, 및 Fn3으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 융합 단백질은 면역글로불린 Fc 도메인에 작동가능하게 연결된 IL-2 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 융합 단백질은 인간 혈청 알부민에 작동가능하게 연결된 IL-2 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 확장된-PK IL-2는 비-단백질 폴리머에 접합된

IL-2 모이어티를 포함한다. 일부 구현예에서, 비-단백질 폴리머는 폴리에틸렌 글리콜이다.

- [0151] 특정 구현예에서, 확장된-PK IL-2는 변형되지 않은 IL-2와 비교하여 IL-2R 알파 수용체에 대한 친화도가 변경되도록(예를 들어, 친화도가 증가하도록) 돌연변이된다. 부위 특이적 돌연변이유발은 야생형 IL-2와 비교하여 CD25, 즉 IL-2R α 에 대한 높은 친화도 결합을 나타내는 IL-2 돌연변이를 단리하는 데 사용될 수 있다. 표면에서 IL-2R α 에 대한 IL-2의 친화력을 증가시키면 제한된 범위의 IL-2 농도 내에서 수용체 점유율이 증가하고, 세포 표면에서 IL-2의 국소 농도도 상승할 것이다.
- [0152] 특정 구현예에서는 IL-2 돌연변이체가 제공되는데, 이는 실질적으로 정제될 수 있지만 반드시 그렇지 않은 높은 친화성의 CD25 결합제로 기능할 수 있다.
- [0153] IL-2는 항원에 의해 활성화된 T 세포의 증식과 NK 세포의 자극을 유도하는 T 세포 성장 인자이다. 높은 친화성 결합체인 예시적인 IL-2 돌연변이체에는 W02013/177187A2에 기재된 것들이 포함된다. CD25에 대한 친화도가 증가된 추가의 예시적인 IL-2 돌연변이체는 미국 특허 제7,569,215호에 개시되어 있으며, 이의 내용은 본원에 참조로 포함되어 있다.
- [0154] IL-2 돌연변이체는 야생형 IL-2(이의 전구체 형태 또는 바람직하게는 성숙한 형태)와 아미노산 서열이 적어도 또는 약 50%, 적어도 또는 약 65%, 적어도 또는 약 70%, 적어도 또는 약 80%, 적어도 또는 약 85%, 적어도 또는 약 87%, 적어도 또는 약 90%, 적어도 또는 약 95%, 적어도 또는 약 97%, 적어도 또는 약 98%, or 적어도 또는 약 99% 동일할 수 있다. 돌연변이는 아미노산 잔기의 수 또는 함량이 변화된 것으로 이루어질 수 있다. 예를 들어, IL-2 돌연변이체는 야생형 IL-2보다 더 많거나 적은 수의 아미노산 잔기를 가질 수 있다. 대안적으로, 또는 추가로, IL-2 돌연변이체는 야생형 IL-2에 존재하는 하나 이상의 아미노산 잔기의 치환을 포함할 수 있다.
- [0155] IL-2 돌연변이체를 만드는 데 필요한 기술은 해당 기술분야에서 일상적이며, 해당 기술분야의 숙련가라면 불필요한 실험에 의존하지 않고도 수행될 수 있다. 예를 들어, IL-2의 아미노산 잔기 중 하나 이상을 치환하는 돌연변이는 PCR-지원 돌연변이유발 기술(예를 들어, 해당 기술분야에서 알려져 있고/있거나 IL-2 돌연변이체를 만들기 위해 본 명세서에 설명된 기술)을 사용하여 만들 수 있다. 아미노산 잔기를 결실시키거나 IL-2 폴리펩타이드에 아미노산 잔기를 추가하는 돌연변이도 표준 제조 기술에 의해 만들어질 수 있다. 결실 또는 추가가 발생하는 경우, IL-2를 인코딩하는 핵산 분자는 적절한 제한 엔도뉴클레아제에 간단히 절단된다. 생성된 단편은 직접 발현되거나, 예를 들어, 두 번째 단편에 연결함으로써 추가로 조작될 수 있다. 핵산 분자의 두 끝에 서로 겹치는 상보적 뉴클레오티드가 포함되어 있으면 연결이 용이해질 수 있지만, 블런트-말단(blunt-ended) 단편도 연결될 수 있다. PCR에서 생성된 핵산도 다양한 돌연변이 서열을 생성하는 데 사용될 수 있다.
- [0156] 제조합 분자생물학 기술을 사용하여 변형된 핵산 분자의 발현을 통해 IL-2 돌연변이체를 생성하는 것 외에도, IL-2 돌연변이체는 화학적으로 합성될 수 있다. 화학적으로 합성된 폴리펩타이드는 당해 분야의 숙련가에 의해 일상적으로 생성된다.
- [0157] 위에서 언급했듯이, IL-2는 IL-2와 이종 폴리펩타이드(즉, IL-2가 아닌 폴리펩타이드)를 포함하는 융합 또는 키메라 폴리펩타이드로 제조될 수도 있다. 이종 폴리펩타이드는 생체 내에서 키메라 폴리펩타이드의 순환 반감기를 증가시킬 수 있으며, 따라서 IL-2의 특성을 더욱 향상시킬 수 있다.
- [0158] 특정 구현예에서, 키메라 폴리펩타이드는 IL-2, 및 항원 태그로 기능하는 폴리펩타이드, 예를 들어 FLAG 서열을 포함할 수 있다. FLAG 서열은 본 명세서에 설명된 바와 같이 비오티화된, 매우 특이적인 항-FLAG 항체에 의해 인식된다(또한 Blonar et al., Science 256: 1014, 1992; LeClair et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:8145, 1992 참조). 특정 구현예에서, 키메라 폴리펩타이드는 C-말단 c-myc 에피토프 태그를 추가로 포함한다.
- [0159] 키메라 폴리펩타이드는 기존의 분자생물학적 기술만을 사용하여 구축될 수 있으며, 이는 해당 기술분야의 숙련가가 충분히 수행할 수 있는 범위 내에 있다.
- [0160] 특정 구현예에서, 면역 조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC))를 포함하는 조성물은 대상체 또는 샘플 내에서 Treg 세포를 확장할 수 있다. 실제로, 면역조절제를 포함하는 이러한 조성물은 비-조절 T 세포에 대한 Treg의 비율을 증가시킬 수 있다. 이 비율은 T 세포 집단 내에서 CD3+FOXP3 $^-$ 세포에 대한 CD3+FOXP3 $^+$ 세포의 비율을 결정하여 측정될 수 있다. 인간 혈액에서 일반적인 Treg 빈도는 전체 CD4+CD3 $^+$ T 세포의 5-10%이지만, 자가면역 질환의 경우 이 비율이 더 낮거나 더 높을 수 있다. 바람직한 구현예에서는 Treg의 비율이 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 100%, 적어도 200%, 적어도 300%, 적어도 400%, 적어

도 500%, 적어도 600%, 적어도 700%, 적어도 800%, 적어도 900%, 또는 적어도 1000% 증가한다. Treg의 최대 배수 증가는 특정 질병에 따라 다를 수 있지만, IL-2 뮤테인 치료를 통해 얻을 수 있는 최대 Treg 빈도는 총 CD4+CD3+ T 세포의 50% 또는 60%이다. 특정 구현예에서, 면역 조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC))를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하면 대상체의 말초 혈액 내에서 비-조절 T 세포에 대한 조절 T 세포(Treg)의 비율이 증가한다.

[0161] 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC))를 포함하는 이러한 조성물은 다른 세포 유형보다 Treg를 우선적으로 확장하기 때문에, 대상체의 말초혈액 내 조절 T 세포(Treg) 대 자연 살해(NK) 세포의 비율을 증가시키는 데에도 유용하다. 이 비율은 CD3+FOXP3+ 세포 대 CD19- 및 CD3-인 CD16+ 및/또는 CD56+ 림프구의 비율을 결정함으로써 측정될 수 있다.

[0162] 나노입자

[0163] 본 발명은 다양한 유형의 자가면역 질환(예를 들어, 쉘리악병)을 치료, 예방 또는 완화하기 위해 면역관용성 항원과 결합(예를 들어, 복합체화, 접합, 캡슐화, 흡수, 흡착, 혼합)되거나 결합되지 않은 특정 유형 또는 종류의 나노입자에 국한되지 않는다.

[0164] 나노입자의 예로는 풀러렌(일명 C₆₀, C₇₀, C₇₆, C₈₀, C₈₄), 풀러렌 케이지 내부에 추가 원자, 이온, 또는 클러스터를 포함하는 엔도헤드럴 메탈로풀러렌(endohedral metallofullerene, EMI's) 버키볼(buckyball), 삼금속 질화물 주형 엔도헤드럴 메탈로풀러렌(trimetallic nitride templated endohedral metallofullerene, TNT EME; 탄소 케이지 내부의 삼금속 질화물 주형에서 형성되는 고-대칭 4원자 분자 클러스터 엔도헤드럴), 단일벽 및 다중벽 탄소 나노튜브, 분지형 및 수지상 탄소 나노튜브, 금 나노로드(nanorod), 은 나노로드, 단일벽 및 다중벽 붕소/질산염 나노튜브, 탄소 나노튜브 피포드(peapod)(내부 메탈로-풀러렌 및/또는 기타 내부 화학 구조를 갖는 나노튜브), 탄소 나노혼, 탄소 나노혼 피포드, 리포솜, 나노셸, 덴드리머, 양자점, 초상자성 나노입자, 나노로드, 셀룰로스 나노입자가 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다. 입자 구현예는 또한 유효성 또는 선택성을 향상시킬 수 있는 능력을 갖는 미립자를 포함할 수 있다. 다른 비제한적인 예시적인 나노입자로는 유리 및 폴리머 마이크로구 및 나노구, 생분해성 PLGA 마이크로구 및 나노구, 금, 은, 탄소 및 철 나노입자가 포함된다.

[0165] 일부 구현예에서, 나노입자는 변형된 미셀(micelle)이다. 이러한 구현예에서, 변형된 미셀은 소수성 폴리머 블록을 함유하도록 변형된 폴리올 폴리머를 포함한다. 본 개시에서 사용되는 용어 "소수성 폴리머 블록"은 그 자체로 소수성인 폴리머의 세그먼트를 나타낸다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "미셀"은 액체에 분산된 분자의 응집체를 지칭한다. 수용액 내의 일반적인 미셀은 주변 용매와 접촉하는 친수성 "헤드" 영역과 응집체를 형성하여, 미셀 중심에 소수성 단일 테일 영역을 격리한다. 일부 구현예에서, 헤드 영역은, 예를 들어, 폴리올 폴리머의 표면 영역일 수 있으며, 테일 영역은, 예를 들어, 폴리올 폴리머의 소수성 폴리머 블록 영역일 수 있다.

[0166] 본 발명은 나노미터 규모에 더하여 마이크로미터 규모의 입자를 사용하는 것을 추가로 포함한다. 미세입자가 사용되는 경우, 1 내지 50 마이크로미터 정도의 비교적 작은 것이 바람직하다. 논의의 편의를 위해, 여기에서 "나노입자"라는 용어는 진정한 나노입자(약 1nm에서 약 1000nm까지의 크기), 미세입자(예를 들어, 약 1µm에서 약 50µm까지의 크기) 또는 둘 다를 포함한다.

[0167] 나노입자의 예로는 예시적이지만 제한 없이, 상자성 나노입자, 초상자성 나노입자, 금속 나노입자, 풀러렌-유사 물질, 무기 나노튜브, 덴드리머, 공유 결합된 금속 킬레이트가 있는 덴드리머, 나노섬유, 나노혼, 나노-어니언(nano-onion), 나노로드, 나노로프, 및 양자점이 포함된다. 일부 구현예에서, 나노입자는 금속 나노입자(예를 들어, 금, 팔라듐, 백금, 은, 구리, 니켈, 코발트, 이리듐, 또는 이들 중 두 개 이상의 합금의 나노입자)이다. 나노입자는 코어, 또는 코어-셸 나노입자처럼 코어와 셸을 포함할 수 있다.

[0168] 일부 구현예에서, 나노입자는 sHDL 나노입자이다. 일반적으로, sHDL 나노입자는 HDL 아포지질단백질과 양친매성 지질의 혼합물로 구성된다.

[0169] 본 발명은 특정 유형 또는 종류의 HDL 아포지질단백질의 사용에 한정되지 않는다. HDL 아포지질단백질로는, 예를 들어 아포지질단백질 A-I(apo A-I), 아포지질단백질 A-II(apo A-II), 아포지질단백질 A4(apo A4), 아포지질단백질 Cs(apo Cs), 아포지질단백질 M(apo M), 및 아포지질단백질 E(apo E)가 포함된다. 일부 구현예에서, HDL 아포지질단백질은 프리프로아포지질단백질, preproApoA-I, proApoA-I, ApoA-I, preproApoA-II, proApoA-II, ApoA-II, 아포지질단백질 A-II xxx(apo A-II-xxx), preproApoA-IV, proApoA-IV, ApoA-IV, ApoA-V, preproApoE, proApoE, ApoE, preproApoA-I 밀라노, proApoA-I 밀라노, ApoA-I 밀라노, preproApoA-I 파리,

proApoA-I과리, ApoA-I과리, 및 이들 단백질들의 펩타이드 모방체 및 이들의 혼합물로부터 선택된다. 바람직하게는, 운반체 입자는 ApoA-I 또는 ApoA-II로 구성되지만, 아포지질단백질 A4, 아포지질단백질 Cs 또는 아포지질단백질 E를 포함한 다른 지질단백질도 단독으로 또는 조합하여 치료제를 전달하기 위한 운반체 입자 혼합물을 제형화하는 데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서는 이러한 HDL 아포지질단백질의 모방체가 사용된다.

[0170] ApoA-I은 간과 소장에서 프리프로아포지질단백질로 합성되고, 이는 프로단백질로 분비되어 빠르게 절단되어 243개의 아미노산 잔기를 갖는 성숙한 폴리펩타이드를 생성한다. ApoA-I은 주로 6 내지 8개의 서로 다른 22개 아미노산 반복부와 2개의 서로 다른 11개 아미노산 반복부로 구성되며, 각각은 양친매성 α 나선의 나선형 헬 시그니처를 가지고 있으며, 종종 프롤린인 링커 모이어티로 간격을 두고 있으며, 일부 경우에는 여러 개의 잔기로 구성된 스트레치(stretch)로 구성된다. ApoA-I은 지질과 세 가지 유형의 안정한 복합체를 형성한다: 프리-베타-1 HDL이라고 하는 작고 지질이 부족한 복합체; 프리-베타-2 HDL이라고 하는 극성 지질(인지질과 콜레스테롤)을 함유한 납작한 원반형 입자; 및 구형 또는 성숙한 HDL(HDL₃ 및 HDL₂)이라고 하는 극성과 비극성 지질을 모두 함유한 구형 입자. 순환하는 대부분의 HDL은 ApoA-I과 ApoA-II(두 번째 주요 HDL 단백질)를 모두 포함한다.

[0171] 일부 구현예에서, ApoA-I 작용제 또는 모방체가 제공된다. 일부 구현예에서, 이러한 ApoA-I 모방체는 ApoA-I의 활성을 모방하는 양친매성 α-나선을 형성할 수 있으며, 천연 분자의 활성에 근접하거나 이를 초과하는 특정 활성을 갖는다. 일부에서, ApoA-I 모방체는 양친매성 나선을 형성하고(지질 존재 하에서), 지질과 결합하고, 프리-β-유사 또는 HDL-유사 복합체를 형성하고, 레시틴: 콜레스테롤 아실트랜스퍼라제(LCAT)를 활성화하고, HDL 분획의 혈청 수치를 증가시키고, 콜레스테롤 유출을 촉진하는 펩타이드 또는 펩타이드 유사체이다.

[0172] 본 발명은 특정 ApoA-I 모방체의 사용에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서는 Srinivasa, et al., 2014 Curr. Opinion Lipidology Vol. 25(4): 304-308에 기술된 ApoA-I 모방체 중 어느 것이 사용된다. 일부 구현예에서는 미국 특허 출원 공개 번호 제20110046056호 및 제20130231459호에 기술된 ApoA-I 모방체 중 어느 것이 사용된다.

[0173] 일부 구현예에서는 "22A" ApoA-I 모방체가 사용된다(PVLDLFRELLNELLEALKQKCLK) (서열 번호: 4) (예를 들어, 미국 특허 번호 제7,566,695호 참조). 일부 구현예에서는 미국 특허 번호 제7,566,695호에 기술된 바와 같이 표 1에 나와 있는 다음 ApoA-I 모방체 중 어느 것이 사용된다:

표 1

ApoA-I 모방체

서열 번호	아미노산 서열
(서열 번호:1)	PVLDLFRELLNELLEZLKQKCLK
(서열 번호:2)	GVLDLFRELLNELLEALKQKCLK
(서열 번호:3)	PVLDLFRELLNELLEWLKQKCLK
(서열 번호:4)	PVLDLFRELLNELLEALKQKCLK
(서열 번호:5)	PVLDLFRELLNELLEALKQKCLK
(서열 번호:6)	PVLDLFRELLNEXLEALKQKCLK
(서열 번호:7)	PVLDLFKELLNELLEALKQKCLK
(서열 번호:8)	PVLDLFRELLNEGLEALKQKCLK
(서열 번호:9)	PVLDLFRELLGNELLEALKQKCLK
(서열 번호:10)	PVLDLFRELLNELLEAZKQKCLK
(서열 번호:11)	PVLDLFKELLQELLEALKQKCLK
(서열 번호:12)	PVLDLFRELLNELLEAGKQKCLK
(서열 번호:13)	GVLDLFRELLNEGLEALKQKCLK
(서열 번호:14)	PVLDLFRELLNELLEALOQOLO
(서열 번호:15)	PVLDLFRELLWELLEALKQKCLK
(서열 번호:16)	PVLDLLRELLNELLEALKQKCLK

[0174]

서열 번호	아미노산 서열
(서열 번호:17)	PVLELFKELLQELLEALKQKLK
(서열 번호:18)	GVLDLFRELLNELLEALKQKLK
(서열 번호:19)	PVLDLFRELLNEGLEALKQKLK
(서열 번호:20)	PVLDLFREGLNELLEALKQKLK
(서열 번호:21)	PVLDLFRELLNELLEALKQKLK
(서열 번호:22)	PVLDLFRELLNELLEGLKQKLK
(서열 번호:23)	PLLELFKELLQELLEALKQKLK
(서열 번호:24)	PVLDLFRELLNELLEALQKCLK
(서열 번호:25)	PVLDFFRELLNEXLEALKQKLK
(서열 번호:26)	PVLDLFRELLNELLELLKQKLK
(서열 번호:27)	PVLDLFRELLNELZEALKQKLK
(서열 번호:28)	PVLDLFRELLNELWEALKQKLK
(서열 번호:29)	AVLDLFRELLNELLEALKQKLK
(서열 번호:30)	PVLDLPRELLNELLEALKQKLK ¹
(서열 번호:31)	PVLDLFLELLNEXLEALKQKLK
(서열 번호:32)	XVLDLFRELLNELLEALKQKLK
(서열 번호:33)	PVLDLFREKLNELLEALKQKLK
(서열 번호:34)	PVLDZFRELLNELLEALKQKLK
(서열 번호:35)	PVLDWFRELLNELLEALKQKLK
(서열 번호:36)	PLLELLKELLQELLEALKQKLK
(서열 번호:37)	PVLDLFREWLNELLEALKQKLK
(서열 번호:38)	PVLDLFRELLNEXLEAWKQKLK
(서열 번호:39)	PVLDLFRELLEELLKALKKCLK
(서열 번호:40)	PVLDLFNELLRELLEALQKCLK
(서열 번호:41)	PVLDLWRELLNEXLEALKQKLK
(서열 번호:42)	PVLDEFREKLNEXWEALKQKLK
(서열 번호:43)	PVLDEFREKLWEXLEALKQKLK
(서열 번호:44)	PVLDEFREKLNEXLEALKQKLK
(서열 번호:45)	PVLDEFREKLNEXLEALKQKLK
(서열 번호:46)	PVLDLFREKLNEXLEALKQKLK
(서열 번호:47)	~VLDLFRELLNEGLEALKQKLK
(서열 번호:48)	PVLDLFRELLNELLEALKQKLK
(서열 번호:49)	PVLDLFRNLEKLEALEQKLK
(서열 번호:50)	PVLDLFRELLWEXLEALKQKLK
(서열 번호:51)	PVLDLFWELLNEXLEALKQKLK
(서열 번호:52)	PVWDEFREKLNEXLEALKQKLK
(서열 번호:53)	VVLDLFRELLNELLEALKQKLK
(서열 번호:54)	PVLDLFRELLNEWLEALKQKLK
(서열 번호:55)	P---LFRELLNELLEALKQKLK
(서열 번호:56)	PVLDLFRELLNELLEALKQKCK
(서열 번호:57)	PVLDLFRNLEELLKALEQKLK

[0175]

서열 번호	아미노산 서열
(서열 번호:58)	PVLDEFREKLNEXLEALKQKL~
(서열 번호:59)	LVLDFRELLNELLEALKQKCLK
(서열 번호:60)	PVLDFRELLNELLEALKQ~~~
(서열 번호:61)	PVLDEFRWKLNEXLEALKQKCLK
(서열 번호:62)	PVLDEWREKLNEXLEALKQKCLK
(서열 번호:63)	PVLDFFREKLNEXLEALKQKCLK
(서열 번호:64)	PWLDEFREKLNEXLEALKQKCLK
(서열 번호:65)	~VLDEFREKLNEXLEALKQKCLK
(서열 번호:66)	PVLDFRNLLLEELLEALQKCLK
(서열 번호:67)	~VLDFRELLNELLEALKQKCLK
(서열 번호:68)	PVLDEFRELLKEXLEALKQKCLK
(서열 번호:69)	PVLDEFRRKLNEXLEALKQKCLK
(서열 번호:70)	PVLDEFRELLYEXLEALKQKCLK
(서열 번호:71)	PVLDEFREKLNELXEALKQKCLK
(서열 번호:72)	PVLDFRELLNEXLWALKQKCLK
(서열 번호:73)	PVLDEFWEKLNEXLEALKQKCLK
(서열 번호:74)	PVLDKFREKLNEXLEALKQKCLK
(서열 번호:75)	PVLDEFREKLNEELEALKQKCLK
(서열 번호:76)	PVLDEFRELLFEXLEALKQKCLK
(서열 번호:77)	PVLDEFREKLNKXLEALKQKCLK
(서열 번호:78)	PVLDEFRDKLNEXLEALKQKCLK
(서열 번호:79)	PVLDEFRELLNELLEALKQKCLK
(서열 번호:80)	PVLDFFERLLNELLEALQKCLK
(서열 번호:81)	PVLDEFREKLNWXLEALKQKCLK
(서열 번호:82)	~~LDEFREKLNEXLEALKQKCLK
(서열 번호:83)	PVLDEFREKLNEXLEALWQKCLK
(서열 번호:84)	PVLDEFREKLNELLEALKQKCLK
(서열 번호:85)	P-LDLFRELLNELLEALKQKCLK
(서열 번호:86)	PVLELFRLLDELLNALQKCLK
(서열 번호:87)	PLLELLKELLQELLEALKQKCLK
(서열 번호:88)	PVLDKFRELLNEXLEALKQKCLK
(서열 번호:89)	PVLDEFREKLNEXLWALKQKCLK
(서열 번호:90)	~~~DEFREKLNEXLEALKQKCLK
(서열 번호:91)	PVLDEFRELLNEXLEALKQKCLK
(서열 번호:92)	PVLDEFRELYNEXLEALKQKCLK
(서열 번호:93)	PVLDEFREKLNEXLKALKQKCLK
(서열 번호:94)	PVLDEFREKLNLEALKQKCLK
(서열 번호:95)	PVLDFRELLNLXLEALKQKCLK
(서열 번호:96)	PVLDFRELLNEXLEALKQKCLK
(서열 번호:97)	PVLDFRELLNELLE~~~~~
(서열 번호:98)	PVLDFRELLNEELEALKQKCLK

[0176]

서열 번호	아미노산 서열
(서열 번호:99)	KLKQKLAELLENLLERFLDLVP
(서열 번호:100)	PVLDFRELLNELLEALKQKLK
(서열 번호:101)	PVLDFRELLNWXLEALKQKLK
(서열 번호:102)	PVLDFRELLNLXLEALKEKLK
(서열 번호:103)	PVLDEFRELLNEELEALKQKLK
(서열 번호:104)	P~~~~~LLNELLEALKQKLK
(서열 번호:105)	PAADAFREAAEAAEAAKQKAK
(서열 번호:106)	PVLDFREKLNEELEALKQKLK
(서열 번호:107)	KLKQKLAELLENLLERFLDLVP
(서열 번호:108)	PVLDFRWLLNEXLEALKQKLK
(서열 번호:109)	PVLDEFREKLNERLEALKQKLK
(서열 번호:110)	PVLDEFREKLNEXXEALKQKLK
(서열 번호:111)	PVLDEFREKLWEXWEALKQKLK
(서열 번호:112)	PVLDEFREKLNEXSEALKQKLK
(서열 번호:113)	PVLDEFREKLNEPLEALKQKLK
(서열 번호:114)	PVLDEFREKLNEXMEALKQKLK
(서열 번호:115)	PKLDEFREKLNEXLEALKQKLK
(서열 번호:116)	PHLDEFREKLNEXLEALKQKLK
(서열 번호:117)	PELDEFREKLNEXLEALKQKLK
(서열 번호:118)	PVLDEFREKLNEXLEALEQKLK
(서열 번호:119)	PVLDEFREKLNEELEAXKQKLK
(서열 번호:120)	PVLDEFREKLNEELEXLKQKLK
(서열 번호:121)	PVLDEFREKLNEEALWQKLK
(서열 번호:122)	PVLDEFREKLNEEELWLKQKLK
(서열 번호:123)	QVLDFRELLNELLEALKQKLK
(서열 번호:124)	PVLDFOELLNELLEALOQOLO
(서열 번호:125)	NVLDFRELLNELLEALKQKLK
(서열 번호:126)	PVLDFRELLNELGEALKQKLK
(서열 번호:127)	PVLDFRELLNELLELLKQKLK
(서열 번호:128)	PVLDFRELLNELLEFLKQKLK
(서열 번호:129)	PVLELFNDLLRELLEALKQKLK
(서열 번호:130)	PVLELFNDLLRELLEALKQKLK
(서열 번호:131)	PVLELFKELNELLDALRQKLK
(서열 번호:132)	PVLDFRELLNLEALKQKLK
(서열 번호:133)	PVLELFERLLEDLLQALNKKLK
(서열 번호:134)	PVLELFERLLEDLLKALNOKLK
(서열 번호:135)	DVLDFRELLNELLEALKQKLK
(서열 번호:136)	PALELFKDLLQELLEALKQKLK
(서열 번호:137)	PVLDFRELLNEGLEAZKQKLK
(서열 번호:138)	PVLDFRELLNEGLEWLKQKLK
(서열 번호:139)	PVLDFRELWNEGLEALKQKLK

[0177]

서열 번호	아미노산 서열
(서열 번호:140)	PVLDLFRELLNEGLEALOQOLO
(서열 번호:141)	PVLDFFRELLNEGLEALKQKCLK
(서열 번호:142)	PVLELFRELLNEGLEALKQKCLK
(서열 번호:143)	PVLDLFRELLNEGLEALKQKCLK*
(서열 번호:144)	PVLELFENLLERLLDALQKCLK
(서열 번호:145)	GVLELFENLLERLLDALQKCLK
(서열 번호:146)	PVLELFENLLERLLDALQKCLK
(서열 번호:147)	PVLELFENLLERLFDALQKCLK
(서열 번호:148)	PVLELFENLLERLGDALQKCLK
(서열 번호:149)	PVLELFENLWERLLDALQKCLK
(서열 번호:150)	PLLELFENLLERLLDALQKCLK
(서열 번호:151)	PVLELFENLGERLLDALQKCLK
(서열 번호:152)	PVFELFENLLERLLDALQKCLK
(서열 번호:153)	AVLELFENLLERLLDALQKCLK
(서열 번호:154)	PVLELFENLLERGLDALQKCLK
(서열 번호:155)	PVLELFLNLWERLLDALQKCLK
(서열 번호:156)	PVLELFLNLLERLLDALQKCLK
(서열 번호:157)	PVLEFFENLLERLLDALQKCLK
(서열 번호:158)	PVLELFLNLLERLLDWLQKCLK
(서열 번호:159)	PVLDLFENLLERLLDALQKCLK
(서열 번호:160)	PVLELFENLLERLLDWLQKCLK
(서열 번호:161)	PVLELFENLLERLLEALQKCLK
(서열 번호:162)	PVLELFENWLERLLDALQKCLK
(서열 번호:163)	PVLELFENLLERLWDALQKCLK
(서열 번호:164)	PVLELFENLLERLLDAWQKCLK
(서열 번호:165)	PVLELFENLLERLLDLLQKCLK
(서열 번호:166)	PVLELFLNLEKLLDALQKCLK
(서열 번호:167)	PVLELFENGLERLLDALQKCLK
(서열 번호:168)	PVLELFEQLLEKLLDALQKCLK
(서열 번호:169)	PVLELFENLLEKLLDALQKCLK
(서열 번호:170)	PVLELFENLLEOLLDALQOLO
(서열 번호:171)	PVLELFENLLEKLLDLLQKCLK
(서열 번호:172)	PVLELFLNLLERLGDALQKCLK
(서열 번호:173)	PVLDLFDNLLDRLLDLLNKKCLK
(서열 번호:174)	PVLELFENLLERLLDALQKCLK
(서열 번호:175)	PVLELFENLLERLLELLNKKCLK
(서열 번호:176)	PVLELWENLLERLLDALQKCLK
(서열 번호:177)	GVLELFLNLLERLLDALQKCLK
(서열 번호:178)	PVLELFDNLEKLLLEALQKCLR
(서열 번호:179)	PVLELFDNLLERLLDALQKCLK
(서열 번호:180)	PVLELFDNLLDKLLDALQKCLR

[0178]

서열 번호	아미노산 서열
(서열 번호:181)	PVLELFENLLERWLDALQKKLK
(서열 번호:182)	PVLELFENLLEKLLLEALQKKLK
(서열 번호:183)	PILELFENLLEKLLDALQKKLK
(서열 번호:184)	PVLELFLNLLERLLDAWQKKLK
(서열 번호:185)	PVLELFENLLERLLDALQOOLO
(서열 번호:186)	PVLELFEQLLERLLDALQKKLK
(서열 번호:187)	PVLELFENLLERLLDALNKKKLK
(서열 번호:188)	PVLELFENLLDRLLDALQKKLK
(서열 번호:189)	DVLELFENLLERLLDALQKKLK
(서열 번호:190)	PVLEFWDNLLDKLLDALQKKLR
(서열 번호:191)	PVLDLRELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:192)	PVLDLFEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:193)	PVLDLFRELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:194)	PVLELFEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:195)	PVLELFEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:196)	PVLDLFEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:197)	PLLDLFEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:198)	GVLDLFEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:199)	PVLDLFEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:200)	NVLDLFEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:201)	PLLDLFEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:202)	PALELFEKELLEELRQKQR* [*]
(서열 번호:203)	AVLDLFEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:204)	PVLDLFEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:205)	PVLDLFEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:206)	PILELLEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:207)	PVLELLEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:208)	PALELFEKELLEELRQKQR* [*]
(서열 번호:209)	PVLDLFEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:210)	PVLDLFEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:211)	PVLDLFEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:212)	PVLDLFEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:213)	PALELFEKELLEELRQKQR* [*]
(서열 번호:214)	PVLDLFEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:215)	PVLDLFEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:216)	PVLELFEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:217)	PVLDLFEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:218)	PVLDLFEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:219)	PVLDLFEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:220)	PVLDLFEKELLEELKQKQK* [*]
(서열 번호:221)	DVLDLFEKELLEELKQKQK* [*]

[0179]

서열 번호	아미노산 서열
(서열 번호:222)	PVLDAFRELLEALLQLKK
(서열 번호:223)	PVLDAFRELLEALAQLKK
(서열 번호:224)	PVLDFREGWEELKQKLK
(서열 번호:225)	PVLDAFRELAEALAQLKK
(서열 번호:226)	PVLDAFRELGEALLQLKK
(서열 번호:227)	PVLDFRELGEELKQKLK*
(서열 번호:228)	PVLDFREGLEELKQKLK*
(서열 번호:229)	PVLDFRELLEEGKQKLK*
(서열 번호:230)	PVLELLEFRELLEDLQKQK
(서열 번호:231)	PVLDFRELLEKLEKQK
(서열 번호:232)	PLLELFKELLEELKQKLK*
(서열 번호:233)	LDDLLQKWAEAFNQLLKK
(서열 번호:234)	EWLKAFYKVKLEKLELKF*
(서열 번호:235)	EWLEAFYKVKVLEKLELKF*
(서열 번호:236)	DWLKAFYDKVAEKLKEAF*
(서열 번호:237)	DWFKAFYDKVFEKFEFF
(서열 번호:238)	GIKKFLGSIWKFIKAFVG
(서열 번호:239)	DWFKAFYDKVAEKFEAF
(서열 번호:240)	DWLKAFYDKVAEKLKEAF
(서열 번호:241)	DWLKAFYDKVFEKFEFF
(서열 번호:242)	EWLEAFYKVKVLEKLELKP
(서열 번호:243)	DWFKAFYDKFFEKFEFF
(서열 번호:244)	EWLKAFYKVKLEKLELKF
(서열 번호:245)	EWLKAIEYKVEEKLELKF*
(서열 번호:246)	EWLKAIEYKVKLEKLELKF*
(서열 번호:247)	EWLKAFYKVKVLEKLELKF*
(서열 번호:248)	PVLDFRELLEOKLK*
(서열 번호:249)	PVLDFRELLEELKQK*
(서열 번호:250)	PVLDFRELLEKLEKQK*
(서열 번호:251)	PVLDFRELLEKLEKQK*
(서열 번호:252)	PVLDFRELLEALKQK*
(서열 번호:253)	PVLDFENLLERLQKQ*
(서열 번호:254)	PVLDFRELLNELKQK*

[0180]

[0181]

*는 N-말단이 아세틸화되고 C-말단이 아미드화된 펩타이드를 나타내고; N-말단이 단실화된 펩타이드를 나타내며; sp는 실험 조건에서 용해도 문제를 나타내는 펩타이드를 나타내고; X는 Aib이며; Z는 NaI이고; O는 Orn이며; ~는 결실된 아미노산을 나타낸다.

[0182]

일부 구현예에서는 미국 특허 번호 제6,743,778호에 기술된 바와 같이 다음 서열을 갖는 ApoA-I 모방체가 사용된다: Asp Trp Leu Lys Ala Phe Tyr Asp Lys Val Ala Glu Lys Leu Lys Glu Ala Phe (서열 번호: 255).

[0183]

일부 구현예에서는 미국 특허 출원 공개 번호 제2003/0171277호에 기술된 바와 같이 표 2에 나와 있는 다음 ApoA-I 모방체 중 어느 것이 사용된다:

표 2

ApoA-I 모방체

서열 번호	아미노산 서열
(서열 번호:256)	D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-A-F
(서열 번호:257)	Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:258)	Ac-D-W-F-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:259)	Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:260)	Ac-D-W-F-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:261)	Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:262)	Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-F-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:263)	Ac-D-W-F-K-A-F-Y-D-K-F-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:264)	Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:265)	Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:266)	Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-L-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:267)	Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:268)	Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:269)	Ac-E-W-L-K-L-F-Y-E-K-V-L-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:270)	Ac-E-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:271)	Ac-E-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:272)	Ac-E-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:273)	Ac-E-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-L-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:274)	Ac-E-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:275)	Ac-E-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:276)	Ac-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:277)	Ac-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:278)	Ac-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:279)	Ac-A-F-Y-D-K-F-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:280)	Ac-A-F-Y-D-K-F-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂

[0184]

서열 번호	아미노산 서열
(서열 번호:281)	Ac-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:282)	Ac-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:283)	Ac-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:284)	Ac-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-L-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:285)	Ac-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:286)	Ac-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-K-E-F-NH ₂
(서열 번호:287)	Ac-L-F-Y-E-K-V-L-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:288)	Ac-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:289)	Ac-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:290)	Ac-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:291)	Ac-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-L-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:292)	Ac-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:293)	Ac-A-F-Y-D-K-V-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:294)	Ac-D-W-L-K-A-L-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-A-L-NH ₂
(서열 번호:295)	Ac-D-W-F-K-A-F-Y-E-K-V-A-E-K-L-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:296)	Ac-D-W-F-K-A-F-Y-E-K-F-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:297)	Ac-E-W-L-K-A-L-Y-E-K-V-A-E-K-L-K-E-A-L-NH ₂
(서열 번호:298)	Ac-E-W-L-K-A-F-Y-E-K-V-A-E-K-L-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:299)	Ac-E-W-F-K-A-F-Y-E-K-V-A-E-K-L-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:300)	Ac-E-W-L-K-A-F-Y-E-K-V-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:301)	Ac-E-W-L-K-A-F-Y-E-K-F-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:302)	Ac-E-W-F-K-A-F-Y-E-K-F-F-E-K-F-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:303)	Ac-D-F-L-K-A-W-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-A-W-NH ₂
(서열 번호:304)	Ac-E-F-L-K-A-W-Y-E-K-V-A-E-K-L-K-E-A-W-NH ₂
(서열 번호:305)	Ac-D-F-W-K-A-W-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-W-W-NH ₂
(서열 번호:306)	Ac-E-F-W-K-A-W-Y-E-K-V-A-E-K-L-K-E-W-W-NH ₂
(서열 번호:307)	Ac-D-K-L-K-A-F-Y-D-K-V-F-E-W-A-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:308)	Ac-D-K-W-K-A-V-Y-D-K-F-A-E-A-F-K-E-F-L-NH ₂
(서열 번호:309)	Ac-E-K-L-K-A-F-Y-E-K-V-F-E-W-A-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:310)	Ac-E-K-W-K-A-V-Y-E-K-F-A-E-A-F-K-E-F-L-NH ₂
(서열 번호:311)	Ac-D-W-L-K-A-F-V-D-K-F-A-E-K-F-K-E-A-Y-NH ₂
(서열 번호:312)	Ac-E-K-W-K-A-V-Y-E-K-F-A-E-A-F-K-E-F-L-NH ₂
(서열 번호:313)	Ac-D-W-L-K-A-F-V-Y-D-K-V-F-K-L-K-E-F-F-NH ₂

[0185]

서열 번호	아미노산 서열
(서열 번호:314)	Ac-E-W-L-K-A-F-V-Y-E-K-V-F-K-L-K-E-F-F-NH ₂
(서열 번호:315)	Ac-D-W-L-R-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:316)	Ac-E-W-L-R-A-F-Y-E-K-V-A-E-K-L-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:317)	Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-R-V-A-E-K-L-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:318)	Ac-E-W-L-K-A-F-Y-E-R-V-A-E-K-L-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:319)	Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-R-L-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:320)	Ac-E-W-L-K-A-F-Y-E-K-V-A-E-R-L-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:321)	Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-R-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:322)	Ac-E-W-L-K-A-F-Y-E-K-V-A-E-K-L-R-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:323)	Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-R-V-A-E-R-L-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:324)	Ac-E-W-L-K-A-F-Y-E-R-V-A-E-R-L-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:325)	Ac-D-W-L-R-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-R-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:326)	Ac-E-W-L-R-A-F-Y-E-K-V-A-E-K-L-R-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:327)	Ac-D-W-L-R-A-F-Y-D-R-V-A-E-K-L-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:328)	Ac-E-W-L-R-A-F-Y-E-R-V-A-E-K-L-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:329)	Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-R-L-R-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:330)	Ac-E-W-L-K-A-F-Y-E-K-V-A-E-R-L-R-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:331)	Ac-D-W-L-R-A-F-Y-D-K-V-A-E-R-L-K-E-A-F-NH ₂
(서열 번호:332)	Ac-E-W-L-R-A-F-Y-E-K-V-A-E-R-L-K-E-A-F-NH ₂

[0186]

[0187]

일부 구현예에서는 미국 특허 출원 공개 번호 제2006/0069030호에 기술된 바와 같은 다음 서열을 갖는 Apo A-I 모방체가 사용된다: F-A-E-K-F-K-E-A-V-K-D-Y-F-A-K-F-W-D (서열 번호:333).

[0188]

일부 구현예에서는 미국 특허 출원 공개 번호 제2009/0081293호에 기술된 바와 같은 다음 서열을 갖는 Apo A-I 모방체가 사용된다: DWFKAFYDKVAEKFKAEF (서열 번호: 334); DWLKAIFYDKVAEKLKEAF (서열 번호: 335); PALEDLRQGLLPVLESFKVFLSALEEYTKKLNTQ (서열 번호: 336).

[0189]

일부 구현예에서는 다음 서열 중 하나를 갖는 Apo A-I 모방체가 사용된다: WDRVKDLATVYVDVLKDSGRDYVSQF (서열 번호:341), LKLLDNWDSVTSTFSKLRLOL (서열 번호:342), PVTOEFDWNLEKETEGLOEMS (서열 번호:343), KDLEEVKAKVQ (서열 번호: 344), KDLEEVKAKVO (서열 번호: 345), PYLDDFQKKWQEMELYRQKVE (서열 번호: 346), PLRAELQEGARQKLHELOEKLS (서열 번호: 347), PLGEEMRDRARAHVDALRTHLA (서열 번호: 348), PYSDELQRQLAARLEALKENGG (서열 번호: 349), ARLAEYHAKATEHLSTLSEKAK (서열 번호: 350), PALEDLROGLL (서열 번호: 351), PVLESFKVSFLSALEEYTKKLN (서열 번호:352), PVLESFVSFLSALEEYTKKLN (서열 번호:353), PVLESFKVSFLSALEEYTKKLN (서열 번호:352), TVLLLTICSLEGALVRRQAKEPCV (서열 번호: 354) QVTVDYGKDLME (서열 번호:355), KVKSPELOAEAKSYFEKSKE (서열 번호:356), VLTALVAVAGARAEVSADOVATV (서열 번호:357), NNAKEAVEHLOKSELTOOLNAL (서열 번호:358), LPVLVWLSIVLEGPAPAOGTPDVSS (서열 번호:359), LPVLVWLSIVLEGPAPAOGTPDVSS (서열 번호:360), ALDKLKEFGNTLEDKARELIS (서열 번호: 361), VVALLALLASARASEAEDASLL (서열 번호:362), HLRKLRKRLRDADDLQKRLAVYOA (서열 번호:363), AQAWGERLRARMEEMGSRTRDR (서열 번호:364), LDEVKEQVAEVRAKLEEQAQ (서열 번호:365), DWLKAIFYDKVAEKLKEAF (서열 번호:236), DWLKAIFYDKVAEKLKEAFPDWAKAAYDKAAEKAKAAA (서열 번호:366), PVLDFRELLNELLEALKQKL (서열 번호:367), PVLDFRELLNELLEALKQKLA (서열 번호:368), PVLDFRELLNELLEALKQKLK (서열 번호:4), PVLDFRELLNELLEALKQKLA (서열 번호:369), PVLDFRELLNELLEALKKLLK (서열 번호:370), PVLDFRELLNELLEALKKLLA (서열 번호:371), PLLDFRELLNELLEALKKLLA (서열 번호:372), and EVRSKLEEWFAAFREFAEFLARLKS (서열 번호: 373).

[0190]

양친매성 지질은, 예를 들어, 소수성 모이어티와 친수성 모이어티를 둘 다 가지고 있는 모든 지질 분자를 포함한다. 예로는 인지질 또는 당지질이 포함된다. sHDL-면역관용성 항원 나노입자에 사용될 수 있는 인지질의 예로는 1,2-디라우로일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디아라키도일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디베헤노일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디리그노세로일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디미리

스틀레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디미리스텔라이도일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디팔미톨레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디팔미텔라이도일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디페트로셀레노일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디엘라이도일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디에이코세노일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디네르보노일-sn-글리세로-3-포스포콜린; 1,2-디라우오일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 1,2-디헨타테카노일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 1,2-디팔미톨레오일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 1,2-디엘라이도일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민; 디올레오일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[3-(2-피리디디티오) 프로피오네이트]; 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포티오에탄올; 1,2-디-(9Z-옥타데세노일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[4-(p-말레이미도페닐)부티라미드]; 1,2-디헥사테카노일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[4-(p-말레이미도페닐)부티라미드]; 1,2-디헥사테카노일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[4-(p-말레이미도메틸)사이클로hex산-카복사미드]; 1,2-디-(9Z-옥타데세노일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[4-(p-말레이미도메틸)사이클로hex산-카복사미드]; N-[(3-말레이미드-1-옥소프로필)아미노프로필 폴리에틸렌글리콜-카바밀] 디스테아로일포스파티딜-에탄올아민; N-[(3-말레이미드-1-옥소프로필)아미노프로필 폴리에틸렌글리콜-카바밀] 디스테아로일포스파티딜-에탄올아민; N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디미리스토이; N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디올레오일; N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디팔미토일; N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 1-팔미토일-2-올레오일; 포스파티딜콜린; 포스파티딜이노시톨; 포스파티딜세린; 포스파티딜에탄올아민; N-(석신이미딜옥시-글루타릴)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디스테아로일; N-(석신이미딜옥시-글루타릴)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디올레오일; N-(석신이미딜옥시-글루타릴)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 1-팔미토일-2-올레오일; N-(석신이미딜옥시-글루타릴)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디팔미토일; N-(석신이미딜옥시-글루타릴)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디미리스토일; 3-(N-석신이미딜옥시글루타릴)아미노프로필, 및 폴리에틸렌글리콜-카바밀 디스테아로일포스파티딜-에탄올아민; N-(3-옥소프로폭시 폴리에틸렌글리콜)카바밀-디스테아로일-에탄올아민이 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다.

[0191] 일부 구현예에서, sHDL 나노입자는 인지질/ HDL 아포지질단백질의 몰 비율이 2 내지 250(예를 들어, 10 내지 200, 20 내지 100, 20 내지 50, 30 내지 40)이다.

[0192] 일반적으로, 이렇게 형성된 sHDL 나노입자는 구형 또는 원반형이며 직경이 약 5nm 내지 약 20nm(예: 4-75nm, 4-60nm, 4-50nm, 4-22nm, 6-18nm, 8-15nm, 8-10nm 등)이다. 일부 구현예에서, sHDL 나노입자는 크기 배제 크로마토그래피에 적용되어 보다 균일한 제제를 생성한다.

[0193] 이러한 조성물은 자가면역 질병(예를 들어, MS 또는 셀리악병)과 관련된 특정 면역관용성 항원에 국한되지 않는다.

[0194] **면역관용성 항원**

[0195] 본 발명은 자가면역 질병(예를 들어, MS 또는 셀리악병)과 관련된 복수의 면역관용성 항원(예를 들어, 1 내지 30개의 면역관용성 항원(예를 들어, 나노입자당 8 내지 30개의 면역관용성 항원)과 결합된 나노입자를 포함하는 자가면역 질병(예를 들어, MS 또는 셀리악병)을 치료하기 위한 조성물 및 방법뿐만 아니라 이러한 나노입자를 사용하는 방법을 포함한다. 본 발명에서 면역관용성 항원은 자가면역 질병(예를 들어, MS 또는 셀리악병)에서 역할을 하는 것으로 확인된 항원이다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 약 3개 아미노산 내지 약 50개 아미노산 길이(예를 들어, 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, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 50개 아미노산 길이)를 갖는다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 약 3개 내지 약 50개의 아미노산 길이를 갖는 단일 면역관용성 항원이다.

[0196] 셀리악병의 경우, 주요 항원은 조직 트랜스글루타미나제 및 글리아딘(예를 들어, α -, γ -, 및 ω -글리아딘)이다. 조직 트랜스글루타미나제 또는 글리아딘 항원으로 식별된 모든 항원을 사용할 수 있다.

[0197] 일부 구현예에서, 나노입자와 결합된 항원에는 글리아딘 폴리펩타이드, 예를 들어, 전장의 글리아딘 폴리펩타이드 또는 글리아딘 폴리펩타이드의 모든 에피토프가 포함된다. 일부 구현예에서, 나노입자와 결합된 항원은 α 2-글리아딘으로부터의 33량체 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 33량체 글리아딘 폴리펩타이드는

LQLQPFQPELPYPQPELPYPQPELPYPQPF (서열 번호: 374)의 폴리펩타이드 서열과 적어도 90%(적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, or 100%)의 서열 동일성을 갖는다. 일부 구현예에서, 나노입자와 결합된 항원은 33량체 글리아딘 폴리펩타이드의 에피토프를 포함한다. 33량체 글리아딘 폴리펩타이드의 에피토프는 33량체 폴리펩타이드보다 짧은 길이를 갖는 폴리펩타이드일 수 있으며, 예를 들어 에피토프는 25 내지 3개(예를 들어, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4 또는 3개)의 아미노산 잔기, 20 내지 5개(예를 들어, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 또는 5개)의 아미노산 잔기, 12 내지 6개(예를 들어, 12, 11, 10, 9, 8, 7 또는 6개)의 아미노산 잔기, 또는 9개 아미노산 길이를 포함할 수 있다. 나노입자와 결합될 수 있는 33-글리아딘의 에피토프의 추가 예로는 서열 번호: 375-405를 포함하여, 표 3에 설명된 에피토프 중 어느 하나가 포함된다. 일부 구현예에서, 나노입자와 결합된 면역관용성 항원은 서열 번호: 406-580을 포함하여, 표 4에 설명된 항원 중 어느 하나를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 나노입자와 결합된 항원은 서열 번호: 375-580 중 어느 하나와 적어도 85% (예를 들어, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 95%, or 100%)의 서열 동일성을 갖는 폴리펩타이드 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 나노입자와 결합된 면역관용성 항원은 서열 번호: 375-580 중 어느 두 개의 폴리펩타이드 서열을 갖는 2개 이상(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 폴리펩타이드를 포함하는 항원을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 나노입자와 결합된 복수의 면역관용성 항원(예를 들어, 나노입자당 1 내지 30개(예를 들어, 6 내지 30개, 또는 8 내지 30개(예를 들어, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30개))의 면역관용성 항원)은 나노입자와 결합된 다른 모든 면역관용성 항원과 동일한 정체성(identity)을 갖는다. 일부 구현예에서, 나노입자와 결합된 복수의 면역관용성 항원은 동일한 질병과 관련된 2 내지 10개(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개)의 서로 다른 항원 서열 집단을 포함하며; 예를 들어, 나노입자는 3 내지 8개(예를 들어, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개), 4 내지 6개(예를 들어, 4, 5, 또는 6개), 또는 3 내지 4개의 서로 다른 폴리펩타이드 항원 서열과 결합될 수 있다. 일부 구현예에서, 나노입자는 (i) 서열 번호: 406-580 중 어느 하나의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제1 폴리펩타이드 집단, (ii) 서열 번호: 406-580 중 어느 하나의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제2 폴리펩타이드 집단, 및 (iii) 서열 번호: 406-580 중 어느 하나의 아미노산 서열, 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제3 폴리펩타이드 집단과 결합될 수 있다. 일부 경우에, 제1, 제2 및 제3 폴리펩타이드 집은 서로 다른 아미노산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 나노입자는 (i) 아미노산 서열 LQFPQPELPYPQ (서열 번호: 474), 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제1 폴리펩타이드, (ii) 아미노산 서열 QFPQPELPYPQ (서열 번호: 475), 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제2 폴리펩타이드, 및 (iii) 아미노산 서열 PEQPIEQPYPQ (서열 번호: 476), 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제3 폴리펩타이드와 결합될 수 있다. 일부 구현예에서, 나노입자는 (i) 아미노산 서열 LQFPQPELPYPQ (서열 번호: 474), 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제1 폴리펩타이드, (ii) 아미노산 서열 PQFPQPELPYPQ (서열 번호: 477), 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제2 폴리펩타이드, 및 (iii) 아미노산 서열 FEQPIEQPYPQ (서열 번호: 478), 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제3 폴리펩타이드와 결합될 수 있다. 일부 구현예에서, 나노입자는 (i) 아미노산 서열 ELQFPQPELPYPQ (서열 번호: 506), 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제1 폴리펩타이드, (ii) 아미노산 서열 EQFPQPELPYPQ (서열 번호: 507), 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제2 폴리펩타이드, 및 (iii) 아미노산 서열 EPEQPIEQPYPQ (서열 번호: 508), 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제3 폴리펩타이드와 결합될 수 있다. 일부 구현예에서, 서열 번호: 506, 507, 및 508의 폴리펩타이드 서열을 갖는 면역관용성 항원은 N-말단 피로글루탐산(pyroE)을 포함한다. 본 명세서에 기재된 일부 구현예에서, 서열 번호: 506, 507, 및 508의 폴리펩타이드 서열을 갖는 면역관용성 항원은 C-말단 아미드기를 포함한다. 본 명세서에 기재된 일부 구현예에서, 서열 번호: 506, 507, 및 508의 폴리펩타이드 서열을 갖는 면역관용성 항원은 N-말단 pyroE 잔기 및 C-말단 아미드기를 포함한다. 일부 구현예에서, 나노입자는 (i) 아미노산 서열 QLQFPQPELPYPQ (서열 번호: 509), 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제1 폴리펩타이드, (ii) 아미노산 서열 QQFPQPELPYPQ (서열 번호: 510), 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제2 폴리펩타이드, 및 (iii) 아미노산 서열 FEQPIEQPYPQ (서열 번호: 511), 또는 이의 생물학적 활성 단편 또는 변이체를 포함하는 제3 폴리펩타이드와 결합될 수 있다. 일부 구현예에서, 서열 번호: 509, 510, 및 511의 폴리펩타이드 서열을 갖는 면역관용성 항원은 N-말단 아세틸기를 포함한다. 본 명세서에 기재된 일부 구현예에서, 서열 번호: 509, 510, 및 511의 폴리펩타이드 서열을 갖는 면역관용성 항원은 C-말단 아미드기를 포함한다. 본 명세서에 기재된 일부 구현예에서, 서열 번호: 509, 510, 및 511의 폴리펩타이드 서열을 갖는 면역관용성 항원은 N-말단 아세틸기와 C-말단 아미드기를 포함한다. 본 명세서에 기재된 구현예 중 어느

것에서, 나노입자와 결합된 항원 집단은 완전히 또는 부분적으로 탈아미드화될 수 있다. 본 명세서에 기재된 일부 구현예에서, 나노입자와 결합된 면역관용성 항원은 N-말단 피로글루탐산(pyroE)을 포함할 수 있다. 본 명세서에 기재된 일부 구현예에서, 나노입자와 결합된 면역관용성 항원은 N-말단 아세틸기를 포함할 수 있다. 본 명세서에 기재된 일부 구현예에서, 나노입자와 결합된 면역관용성 항원은 N-말단 아미드기를 포함할 수 있다. 본 명세서에 기재된 일부 구현예에서, 나노입자와 결합된 면역관용성 항원은 C-말단 아미드기를 포함할 수 있다.

표 3

CD4⁺ T 세포에 의해 인식되는 셀리악병과 관련된 T-세포 에피토프

서열 번호:	서열
375	PFQPELPY
376	PYPPELPY
377	QPELPYPQ
378	FRPEQPYPQ
379	PQQSFPEQQ
380	IQPEQPAQL
381	QQPEQPYPQ
382	SQPEQEFQ
383	PQPEQEFQ
384	QQPEQPFQ

[0198]

서열 번호:	서열
385	PQPEQFCQ
386	QQPFPEQPQ
387	PFQPEQPF
388	PQPEQFPW
389	PFSEQQPV
390	FSQQESPF
391	QQPIPEQPQ
392	PQPEQFPQ
393	PIPEQPQPY
394	EQPIPEQPQ
395	PQPEQFPQ
396	PYPEQEEP
397	PYPEQEPF
398	PFSEQQPV
399	EGSFQPSQE
400	EQPQQFPQ
401	EQPQQPYE
402	QGYPTSPQ
403	EGSFQPSQE
404	PQQSFPEQE
405	QGYPTSPQ

[0199]

표 4

면역관용성 항원

서열 번호:	서열	서열 번호:	서열
406	QFPQPQFPW	498	YSPYQPQFPQ
407	QFPQPQPIV	499	QLPLQPQFPQ
408	QFPQPEQFPW	500	QQPQPFLQPQVP
409	PFQPEQPIV	501	IIPQPQFPFL

[0200]

서열 번호:	서열	서열 번호:	서열
410	QPFQPPELFPQ	502	PEQIIPQQPQQP
411	LPYPQPQLPYPQ	503	FLLQPQQPFSQ
412	LPYPQPPELPYPQ	504	IISQQPQQPFPL
413	QPFQPQLPYPQ	505	PFQRPQQPFQ
414	QPFQPPELPYPQ	506	ELQPFQPPELPYPQPQ
415	QPFQPQQPFSQ	507	EQPFQPPEQPFPWQP
416	QPFQPPEQPFSQ	508	EPEQPIPEQPQYPQQ
417	QPFQPQQPFCQ	509	QLQPFQPPELPYPQPQ
418	QPFQPPEQPFCQ	510	QQPFQPPEQPFPWQP
419	QPFQPQLPYSQ	511	FPEQPIPEQPQYPQQ
420	QPFQPPELPYSQ	512	PELP
421	LQQQCSVPAMPQRLAR	513	QPELPYP
422	QPFQPQLPYLQ	514	PQPELPY
423	QPFQPPELPYLQ	515	FPQPELP
424	QQFIQPQQPFPQ	516	PELPYPQP
425	QQFIQPPEPFPQ	517	QPELPYPQ
426	LERPWQQQLPP	518	PQPELPYP
427	LERPWQEQLPP	519	FPQPELPY
428	PIPQQPEQPFL	520	PFQPELP
429	QGQQGYYPISPQQSGQ	521	PELPYPQPQ
430	QGQPGYYPTSPQQIGQ	522	QPELPYPQP
431	PGQGQSGYYPTSPQQS	523	FPQPELPYP
432	PQQTFPQQPQLP	524	PFQPELPY
433	PQQTFPEQPQLP	525	QPFQPPELP
434	GQGQSGYYPTSPQQSG	526	QPELPYPQPQ
435	QYEVIRSLVLRITLPMN	527	PQPELPYPQP
436	QVDPSGQVQWPQ	528	FPQPELPYPQ
437	QVDPSGEVQWPQ	529	PFQPELPYP
438	QPFQPQQPFPL	530	QPFQPPELPY
439	QPFQPPEQPFL	531	LQPFQPPELP
440	QPFQPQQPIPY	532	PQPELPYPQPQ
441	QPFQPPEQPIPY	533	FPQPELPYPQP

[0201]

서열 번호:	서열	서열 번호:	서열
442	PQQPVPQQPQPY	534	PFQPELPYPQ
443	PQQPVPEQPQPY	535	QPFQPELPYP
444	PQPFQPIPQQPQPY	536	LQPFQPELPY
445	QQPIPQQPQPY	537	FPQPELPYPQPQ
446	QQPIEQPQPY	538	PFQPELPYPQP
447	QQFPQPPQFPQ	539	LQPFQPELPYP
448	QQFPQPEQFPQ	540	PFQPELPYPQPQ
449	PQQPIPQQPYPQQP	541	LQPFQPELPYPQ
450	QQPFQPPQPPQPY	542	QPEQPF
451	QPFQPPQPFWS	543	QPEQPF
452	QPFQPEQPFWS	544	PQPEQPF
453	PQQPFQPPQYPQQP	545	QPEQPFWS
454	QPFQPPQPIPQ	546	PQPEQPF
455	QPFQPEQPIPQ	547	FPQPEQPF
456	QPFQPPQFPQ	548	QPEQPFWS
457	QPFQPEQFPQ	549	FPQPEQPF
458	QPFQPPQPTPI	550	QPEQPFWSQP
459	QPFQPEQPTPI	551	PQPEQPFWS
460	PAPIQPPQFPQ	552	FPQPEQPFWS
461	PAPIQPEQFPQ	553	PFQPEQPF
462	PQQPFQPEQI	554	QPFQPEQPF
463	PQQPFPEQPEQI	555	PQPEQPFWSQP
464	PQQPFQPPQI	556	FPQPEQPFWS
465	PQQPFPEQPPQI	557	PFQPEQPFWS
466	PFQPEQIISQ	558	QPFQPEQPF
467	PFQPEQIISQ	559	FPQPEQPFWSQP
468	PFQPEQIIPQ	560	PFQPEQPFWS
469	PFQPEQIIPQ	561	PFQPEQPFWSQP
470	QPFQPPQQLPL	562	QPFQPEQPFWS
471	QPFQPEQQLPL	563	PIPEQPQ
472	LFPLQPPQFPQ	564	PIPEQPQ
473	LFPLPEQPPQ	565	QPIEQPQ

[0202]

서열 번호:	서열	서열 번호:	서열
474	LQPFQPELPYPQPQ	566	QPIPEQPQP
475	QPFQPELPFPWQP	567	PIPEQPQPYP
476	PEQPIEQPQPYPQQ	568	QPIEQPQPYP
477	PQQPFQPELPFPWQP	569	EQPIEQPQP
478	FPEQPIEQPQPYPQQ	570	PEQPIEQPQP
479	PEQPIEQPQPYPQQ	571	PIPEQPQPYPQQ
480	PQPFLPQLPYPQ	572	QPIEQPQPYPQ
481	QAFPQPQTFPH	573	EQPIEQPQPYP
482	TPIQPQQPFQ	574	PEQPIEQPQPYP
483	PFPLQPQQPFQ	575	QPIEQPQPYPQQ
484	PFTQPQQPTPI	576	EQPIEQPQPYPQ
485	QPFQLQQPQP	577	PEQPIEQPQPYP
486	VAHAIIIMHQQQQQQE	578	EQPIEQPQPYPQQ
487	SYPVQPQQPFQ	579	PEQPIEQPQPYPQ
488	PQQPQPFQPPVPPQ	580	PDLP
489	PFQWQPQQPFQ	581	PELPYPQ
490	PFPLQPQQPFQ	582	QPFQPELPYPQP
491	QQPFQPQQPFQ	583	QPFQPELPYPQPQ
492	NPLQPQQPFPLQPQP	584	LQPFQPELPYPQP
493	PLQPQQPFPLQPQPQ	585	PIPEQPQPYPQ
494	PNPLQPQQPFPLQ	586	QPIEQPQPYP
495	TIPQPQQPFPL	587	EQPIEQPQPYP
496	SFSQPQQPFPL	588	PEQPIEQPQP
497	SFSEQPQQPFPL		

[0203]

[0204]

일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 서열 번호: 474의 생물학적 활성 단편이다. 일부 경우에, 서열 번호: 474의 생물학적 활성 단편은 서열 번호: 512의 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 경우에, 서열 번호: 474의 생물학적 활성 단편은 서열 번호: 580의 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다.

[0205]

일부 경우에, 면역관용성 항원은 서열 번호: 475의 생물학적 활성 단편이다. 일부 경우에, 서열 번호: 475의 생물학적 활성 단편은 서열 번호: 542의 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다.

[0206]

일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 서열 번호: 476의 생물학적 활성 단편이다. 일부 경우에, 서열 번호: 476의 생물학적 활성 단편은 서열 번호: 563의 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다.

[0207]

일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 PFPQPELPY (서열 번호: 375)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 PYPQPELPY (서열 번호: 376)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 PQPELPYPQ (서열 번호: 377)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 FRPEQPYPQ (서열 번호: 378)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 PQQSFPEQQ (서열 번호: 379)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 IQPEQPAQL (서열 번호: 380)을 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 QQPEQPYPQ (서열 번호: 381)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 SQPEQEFPQ (서열 번호: 382)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 PQPEQEFPQ (서열 번호: 383)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 QQPEQPFPQ (서열 번호: 384)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 PQPEQPFCQ (서열 번호: 385)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 QPFPEQPQ (서열 번호: 386)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 PFPQPEQPF (서열 번호: 387)를 포함하는 폴리

PEQPIEQPQ (서열 번호: 570)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 PIPEQPQPYPQ (서열 번호: 571)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 QPIEQPQPYPQ (서열 번호: 572)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 EQPIEQPQPYP (서열 번호: 573)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 PEQPIEQPQPYPY (서열 번호: 574)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 QPIEQPQPYPQ (서열 번호: 575)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 EQPIEQPQPYPQ (서열 번호: 576)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 PEQPIEQPQPYP (서열 번호: 577)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 EQPIEQPQPYPQ (서열 번호: 578)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 PEQPIEQPQPYPQ (서열 번호: 579)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 PDLP (서열 번호: 580)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 PELPYPQ (서열 번호: 581)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 QPFPQPELPYPQP (서열 번호: 582)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 QPFPQPELPYPQP (서열 번호: 583)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 LQFPQPELPYPQP (서열 번호: 584)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 PIPEQPQPYPQ (서열 번호: 585)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 QPIEQPQPYP (서열 번호: 586)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 EQPIEQPQPYPY (서열 번호: 587)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아미노산 서열 PEQPIEQPQP (서열 번호: 588)를 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다.

[0208] 일부 구현예에서, 이러한 면역관용성 항원은 인간 동종 이식 항원을 포함한다. 이러한 인간 동종 이식 항원의 예로는 다양한 MHC 클래스 I 및 MHC 클래스 II 일배체형 단백질의 서브유닛, 및 RhCE, Kell, Kidd, Duffy 및 Ss를 포함하는 소수 혈액형 항원의 단일-아미노산 다형성이 포함되지만, 이에 국한되지 않는다.

[0209] 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 대상체(예를 들어, 인간 환자)가 자가면역 반응을 일으켰거나 자가면역 반응을 일으킬 수 있는 자가 항원이다. 예시로는 프로인슐린(예를 들어, 당뇨병을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 대상체의 경우), 콜라겐(예를 들어, 류마티스 관절염을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 대상체의 경우), 및 미엘린 염기성 단백질(예를 들어, 다발성 경화증을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 대상체의 경우)이 포함된다. 인간의 자가면역 단백질인 단백질은 많이 있는데, 자가면역 단백질이란 다양한 자가면역 질환을 지칭하는 용어로, 이 질환을 일으키는 단백질 또는 단백질들이 알려져 있거나 정기적인 검사를 통해 확인할 수 있는 경우를 말한다. 구현예에는 자가면역 단백질을 식별하기 위한 환자 테스트하는 것과 분자 융합에 사용할 항원을 생성하는 것, 및 단백질에 대한 면역관용을 생성하는 것이 포함된다. 구현예에는 다음 단백질들 중 하나 이상으로부터의 항원을 포함하거나 이러한 항원을 선택하는 것이 포함된다. 1형 당뇨병에서는 다음과 같은 몇 가지 주요 항원이 식별되었고: 인슐린, 프로인슐린, 프리프로인슐린, 글루탐산 탈탄산효소-65 (GAD-65), GAD-67, 인슐린중-관련 단백질 2 (IA-2), 및 인슐린중-관련 단백질 2β (IA-2β); 다른 항원으로는 ICA69, ICA12 (SOX-13), 카복시펩티다제 H, 이모젠 38, GLIMA 38, 크로모그라닌-A, HSP-60, 카복시펩티다제 E, 페리페린, 포도당 수송체 2, 간암 종-장-췌장/췌장 관련 단백질, S100β, 신경교섬유질산성단백질, 재생 유전자 II, 췌장 십이지장 호메오박스 1, 근긴장성 이영양증 키나제, 췌도-특이적 포도당-6-포스파타아제 촉매 서브유닛-관련 단백질, 및 SST G-단백질 결합 수용체 1-5를 포함한다. 하시모토 갑상선염과 그레이브스병을 포함하는 갑상선의 자가면역 질환에서, 주요 항원은 티로글로불린(TG), 갑상선 퍼옥시다제(TPO) 및 갑상선자극호르몬 수용체 (TSHR)를 포함하고; 다른 항원은 나트륨 요오드 심포터(NIS) 및 메갈린을 포함한다. 갑상선-관련 안병증 및 피부병증의 경우, TSHR을 포함한 갑상선 자가항원 외에도, 인슐린-유사 성장 인자 1 수용체가 항원으로 사용된다. 부갑상선기능저하증의 경우, 주요 항원은 칼슘 민감성 수용체이다. 에디슨병의 경우, 주요 항원은 21-하이드록실라제, 17α-하이드록실라제, 및 P450 측쇄 절단 효소(P450scc)를 포함하고; 다른 항원은 ACTH 수용체, P450c21 및 P450c17을 포함한다. 조기 난소 부전의 경우, 주요 항원은 FSH 수용체 및 α-에놀라제를 포함한다. 자가면역 뇌하수체염 또는 뇌하수체 자가면역 질환의 경우, 주요 항원은 뇌하수체-특이적 단백질 인자(PGSF) 1a 및 2를 포함하고; 다른 항원은 2형 요오드티로닌 탈요오드화효소이다. 다발성 경화증의 경우, 주요 항원은 미엘린 염기성 단백질, 미엘린 희소돌기 아교세포 당단백질 및 프로테오리피드 단백질을 포함한다. 류마티스 관절염의 경우, 주요 항원은 콜라겐 II이다. 면역위염의 경우, 주요 항원은 H⁺, K⁺-ATPase이다. 악성 빈혈의 경우, 주요 항원은 내인성 인자이다. 셀 리악병의 경우, 주요 항원은 조직 트랜스글루타미나제 및 글리아딘이다. 백반증의 경우, 주요 항원은 티로시나

제, 및 티로시나제 관련 단백질 1 및 2이다. 중증 근무력증의 경우, 주요 항원은 아세틸콜린 수용체이다. 심상성 천포창 및 변종의 경우, 주요 항원은 데스모글레인 3, 1 및 4이고; 다른 항원은 펩톡신, 데스모콜린, 플라코글로빈, 퍼플라킨, 데스모플라킨, 및 아세틸콜린 수용체를 포함한다. 수포성 유천포창의 경우, 주요 항원은 BP180 및 BP230을 포함하고; 다른 항원은 플렉틴 및 라미닌 5를 포함한다. 듀링 포진상 피부염의 경우, 주요 항원은 근내막 및 조직 트랜스글루타미나제를 포함한다. 후천성 표피수포증의 경우, 주요 항원은 콜라겐 VII이다. 전신 경화증의 경우, 주요 항원은 기질 금속단백분해효소 1 및 3, 콜라겐-특이적 분자 샤페론 열충격 단백질 47, 피브릴린-1, 및 PDGF 수용체를 포함하고; 다른 항원은 Sc1-70, U1 RNP, Th/To, Ku, Jo1, NAG-2, 동원체 단백질, 토포이소머라제 I, 핵소체 단백질, RNA 중합효소 I, II 및 III, PM-S1c, 피브릴라린, 및 B23을 포함한다. 혼합결합조직병의 경우, 주요 항원은 U1snRNP이다. 쇼그렌 증후군의 경우, 주요 항원은 핵 항원 SS-A 및 SS-B이고; 다른 항원은 포드린, 폴리(ADP-리보스) 중합효소 및 토포이소머라제를 포함한다. 전신 홍반 루푸스의 경우, 주요 항원은 SS-A를 포함하는 핵 단백질, 하이 모빌리티 그룹 박스 1(HMGB1), 뉴클레오솜, 히스톤 단백질 및 이중 가닥 DNA를 포함한다. 굿파스처 증후군의 경우, 주요 항원은 콜라겐 IV를 포함한 사구체 기저막 단백질을 포함한다. 류마티스성 심질환의 경우, 주요 항원은 심장 미오신이다. 자가면역 다분비선 증후군 1형에서 밝혀진 기타 자가항원에는 방향족 L-아미노산 탈탄산효소, 히스티딘 탈탄산효소, 시스테인 설핀산 탈탄산효소, 트립토판 하이드록실라제, 티로신 하이드록실라제, 페닐알라닌 하이드록실라제, 간 P450 사이토크롬 P4501A2 및 2A6, SOX-9, SOX-10, 칼슘-감지 수용체 단백질, 및 1형 인터페론인 인터페론 알파, 베타 및 오메가가 포함된다.

[0210]

일부 경우에, 면역관용성 항원은 환자에게 원치 않는 면역 반응을 일으키는 외래 항원이다. 예로는 식품 항원이 있다. 구현예로는 외래 항원을 식별하기 위해 환자를 테스트하고 항원을 포함하는 분자 융합체를 생성한 후 항원 또는 식품에 대한 면역관용을 발달시키기 위해 환자를 치료하는 것이 포함된다. 이러한 식품 및/또는 항원의 예가 제공된다. 예시로는 땅콩에서 유래하는 콘아라킨(Ara h 1), 알레르겐 II(Ara h 2), 아라키스 응집소, 콘글루틴(Ara h 6); 사과에서 유래하는 31 kDa 주요 알레르겐/질병 저항성 단백질 동족체(Mal d 2), 지질 전이 단백질 전구체(Mal d 3), 주요 알레르겐 Mal d 1.03D (Mal d 1); 우유에서 유래하는 α-락트알부민(ALA), 락토티랜스페린; 키위에서 유래하는 악티니딘(Act c 1, Act d 1), 피토시스타틴, 타우마틴-유사 단백질(Act d 2), 키웰린(Act d 5); 겨자에서 유래하는 2S 알부민(Sin a 1), 11S 글로불린(Sin a 2), 지질 전이 단백질(Sin a 3), 프로필린(Sin a 4); 셀러리에서 유래하는 프로필린(Api g 4), 고분자량 당단백질(Api g 5); 새우에서 유래하는 Pen a 1 알레르겐(Pen a 1), 알레르겐 Pen m 2(Pen m 2), 트로포미오신 빠른 이소형; 밀 및/또는 기타 곡물에서 유래하는 고분자량 글루테닌, 저분자량 글루테닌, 알파- 및 감마-글리아딘, 호르데인, 세칼린, 아베닌; 딸기에서 유래하는 주요 딸기 알레르기 Fra a 1-E(Fra a 1), 바나나에서 유래하는 프로필린(Mus xp 1)이 있다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 서열 번호: 589-742(표 5) 중 어느 하나의 항원성 펩타이드이다.

표 5

면역관용성 항원 (계속)

서열 번호:	서열	기원
589	Ser Gln Gln Pro Tyr Leu Gln Leu Gln	글리아딘
590	Ala Leu Ala Leu Val Arg Met Leu Ile	ATP-결합 카세트 수송체 다약제 내성-관련 단백질 7
591	Tyr Leu Leu Pro Arg Arg Gly Pro Arg Leu	HCV 코어
592	Ala Ile Ser Pro Arg Thr Leu Asn Ala	HIV-1 의 p24 단백질
593	Val Met Ala Pro Arg Thr Leu Ile Leu	(HCMV) UL40 또는 HLA-Cw3
594	Ser Gln Ala Pro Leu Pro Cys Val Leu	엡스타인-바 바이러스(Epstein-Barr virus, EBC) BZLF-1
595	Gln Met Arg Pro Val Ser Arg Val Leu	인간 HSP60 의 리더 서열
596	His Ala Val Ser Glu Gly Thr Lys Ala Val Thr Lys Tyr Thr Ser Ser	히스톤 H2B 유형 1-L

[0211]

서열 번호:	서열	기원
597	Pro Ala Glu Thr Ala Thr Pro Ala Pro Val Glu Lys Ser Pro Ala Lys	히스톤 H1.5
598	Ala Tyr Val Arg Leu Ala Pro Asp Tyr Asp Ala Leu Asp Val Ala Asn	60S 리보솜 단백질 L23a
599	His Ala Val Ser Glu Gly Thr Lys Ala Val Thr Lys Tyr Thr Ser Ala	히스톤 H2B 유형 1-J
600	Ala Val Ser Asp Gly Val Ile Lys Val Phe Asn Asp Met Lys Val Arg	코펠린(Cofilin)-1
601	His Ala Val Ser Glu Gly Thr Lys Ala Val Thr Lys Tyr Thr Ser Ser	히스톤 H2B 유형 1-L
602	Gln Leu Leu Gln Ala Asn Pro Ile Leu Glu Ala Phe Gly Asn Ala Lys	미오손(Myosin)-9
603	Lys Ser Ala Asp Thr Leu Trp Asp Ile Gln Lys Asp Leu Lys Asp Leu	L-락테이트 탈수소효소 B 사슬
604	Ala Tyr Val Arg Leu Ala Pro Asp Tyr Asp Ala Leu Asp Val Ala Asn	60S 리보솜 단백질 L23a
605	His Ala Val Ser Glu Gly Thr Lys Ala Val Thr Lys Tyr Thr Ser Ala	히스톤 H2B 유형 1-J
606	Thr Gly Leu Ile Lys Gly Ser Gly Thr Ala Glu Val Glu Leu Lys Lys	피루베이트 키나제 아이소자임 M1/M2
607	Val Ser Asp Gly Val Ile Lys Val Phe Asn Asp Met Lys Val Arg Lys	코펠린-1
608	Ala Ser Gly Asn Tyr Ala Thr Val Ile Ser His Asn Pro Glu Thr Lys	60S 리보솜 단백질 L8
609	Thr Ala Glu Ile Leu Glu Leu Ala Gly Asn Ala Ala Arg Asp Asn Lys	히스톤 H2A 유형 1-D
610	His Ala Val Ser Glu Gly Thr Lys Ala Val Thr Lys Tyr Thr Ser Ala	히스톤 H2A 유형 1-J
611	Pro Ala Pro Val Glu Lys Ser Pro Ala Lys Lys Lys Ala Thr Lys	히스톤 H1.5

[0212]

서열 번호:	서열	기원
612	Ser Ala Asp Thr Leu Trp Asp Ile Gln Lys Asp Leu Lys Asp Leu	L-락테이트 탈수소효소 B 사슬
613	Thr Gly Leu Ile Lys Gly Ser Gly Thr Ala Glu Val Glu Leu Lys	피루베이트 키나제 아이소자임 M1/M2
614	Lys Ser Ala Asp Thr Leu Trp Gly Ile Gln Lys Glu Leu Gln Phe	L-락테이트 탈수소효소 A 사슬
615	His Gly Ser Tyr Glu Asp Ala Val His Ser Gly Ala Leu Asn Asp	T-복합체 단백질 1 서브유닛 알파
616	Ser Asp Gly Val Ile Lys Val Phe Asn Asp Met Lys Val Arg Lys	코펠린-1
617	Ala Gly Asn Leu Gly Gly Gly Val Val Thr Ile Glu Arg Ser Lys	60S 리보솜 단백질 L22
618	Ala Gln Ala Ala Ala Pro Ala Ser Val Pro Ala Gln Ala Pro Lys	60S 리보솜 단백질 L29
619	Pro Arg Lys Ile Glu Glu Ile Lys Asp Phe Leu Leu Thr Ala Arg	60S 리보솜 단백질 L38
620	Ser Glu Gly Thr Lys Ala Val Thr Lys Tyr Thr Ser Ser Lys	히스톤 H2B 유형 1-L
622	Ser Trp Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Gln Ile Thr Gln Arg	HLA 부류 1 조직적합성 항원, Cw-1 알파 사슬
623	Phe Ile Ser Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg	HLA 부류 1 조직적합성 항원, Cw-1 알파 사슬
624	Asn Ile Asp Asp Gly Thr Ser Asp Arg Pro Tyr Ser His Ala	60S 리보솜 단백질 L27
625	Val Leu Lys Gln Val His Pro Asp Thr Gly Ile Ser Ser Lys	히스톤 H2B 유형 1-J
626	Arg Lys Thr Val Thr Ala Met Asp Val Val Tyr Ala Leu Lys	히스톤 H4

[0213]

서열 번호:	서열	기원
627	Ser Ala Asp Thr Leu Trp Gly Ile Gln Lys Glu Leu Gln Phe	L-락테이트 탈수소효소 A 사슬
628	Ala Ser Ala Glu Thr Val Asp Pro Ala Ser Leu Trp Glu Tyr	파신(Fascin)
629	Thr Val Val Asn Lys Asp Val Phe Arg Asp Pro Ala Leu	60S 리보솜 단백질 L27
630	Lys Thr Val Thr Ala Met Asp Val Val Tyr Ala Leu Lys	히스톤 H4
631	Glu Gly Ile Pro Ala Leu Asp Asn Phe Leu Asp Lys Leu	연장 인자(Elongation factor) 2
632	Arg Val Thr Ile Met Pro Lys Asp Ile Gln Leu Ala Arg	히스톤 H3.3C
633	Pro Val Ala Val Met Ala Glu Ser Ala Phe Ser Phe Lys	COP9 시그날로솜(signalosome) 복합체 서브유닛 8
634	Gln Thr Val Ala Val Gly Val Ile Lys Ala Val Asp Lys	연장 인자 1-알파 1
635	Ile Leu Glu Leu Ala Gly Asn Ala Ala Arg Asp Asn Lys	히스톤 H2A 유형 1-D
637	Lys Gln Val His Pro Asp Thr Gly Ile Ser Ser Lys	히스톤 H2B 유형 1-J
638	Val Gly Gly Thr Ser Asp Val Glu Val Asn Glu Lys	60 kDa 열충격 단백질, 미토콘드리아
639	Asn Ser Val Val Glu Ala Ser Glu Ala Ala Tyr Lys	14-3-3 단백질 에타
640	Ala Leu Arg Tyr Pro Met Ala Val Gly Leu Asn Lys	60S 리보솜 단백질 L36
641	Ser Leu Val Ser Lys Gly Thr Leu Val Gln Thr Lys	히스톤 H1.5

[0214]

서열 번호:	서열	기원
642	Pro Glu Leu Ala Lys Ser Ala Pro Ala Pro Lys	히스톤 H2B 유형 1-L
643	Ser Glu Met Glu Val Gln Asp Ala Glu Leu Lys	증식-관련 단백질 2G4
644	Gln Thr Tyr Ser Thr Glu Pro Asn Asn Leu Lys	60S 리보솜 단백질 L28
645	Pro Met Phe Ile Val Asn Thr Asn Val Pro Arg	대식세포 이동 억제 인자
646	Ala Gly Phe Ala Gly Asp Asp Ala Pro Arg	액틴, 세포질 1
647	Arg Val Asn Ala Gly Thr Leu Ala Val Leu	폰 빌레브란트 인자 A 도메인을 포함하는 단백질 8
648	Ile Gly Gln Ser Lys Val Phe Phe Arg	미오존-9
649	Thr Ala Glu Ile Leu Glu Leu Ala Gly Asn Ala Ala Arg Asp Asn Lys	히스톤 H2A 유형 1-D
650	Ile Leu Glu Leu Ala Gly Asn Ala Ala Arg Asp Asn Lys	히스톤 H2A 유형 1-D
651	Ala Leu Ala Gly Cys His Leu Glu Asp Thr Gln Arg Lys Leu Gln Lys Gly	폴리아민-조절 인자 1-결합 단백질 1
652	Met Gln Leu Ile Thr Arg Gly Lys Gly Ala Gly Thr Pro Asn Leu Ile	이스트민(Isthmin)-1
653	Lys Met Lys Leu Arg Asn Thr Val His Leu Ser Tyr Leu Thr Val	미각 수용체 유형 2 구성원 50
654	Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Ser Tyr Leu Asp Trp Tyr Gln	Ig 카파 사슬 V-I 영역 OU
655	Pro Ala Ala Leu Thr Asn Lys Gly Asn Thr Val Phe Ala	섬모내(Intraflagellar) 수송 단백질 88 유사체
656	Trp Thr Pro Gly Pro Ser Ala Gly Val Thr Gly Ile Ala	뮤신-19

[0215]

서열 번호:	서열	기원
657	Ile Leu Arg Thr Ile Gly Lys Glu Ala Phe	이동 단백질(Trafficking protein) 입자 복합체 서브유닛 8
658	Arg Ser Cys Gly Tyr Ala Cys Thr Ala	이스트민-1
659	Phe Pro Asn Gly Phe Ser Phe Ile His	폰 빌레브란트 인자 A, EGF, 및 펜트랙신 도메인-함유 단백질 1
660	Ser His Gly Pro Tyr Ile Lys Leu Ile	주요 촉진자(facilitator) 슈퍼패밀리 도메인-함유 단백질 2A
661	Ala Gln Ala Ala Ala Pro Ala Ser Val Pro Ala Gln Ala Pro Lys	60S 리보솜 단백질 L29
662	Ala Tyr Val Arg Leu Ala Pro Asp Tyr Asp Ala Leu Asp Val Ala Asn Lys	60S 리보솜 단백질 L23a
663	Ala Tyr Val Arg Leu Ala Pro Asp Tyr Asp Ala Leu Asp Val Ala Asn	60S 리보솜 단백질 L23a
664	Ala Ser Gly Asn Tyr Ala Thr Val Ile Ser His Asn Pro Glu Thr Lys	60S 리보솜 단백질 L8
665	Ala Gly Asn Leu Gly Gly Gly Val Val Thr Ile Glu Arg Ser Lys	60S 리보솜 단백질 L22
666	Pro Arg Lys Ile Glu Glu Ile Lys Asp Phe Leu Leu Thr Ala Arg	60S 리보솜 단백질 L38
667	Asn Ile Asp Asp Gly Thr Ser Asp Arg Pro Tyr Ser His Ala	60S 리보솜 단백질 L27
668	Thr Val Val Asn Lys Asp Val Phe Arg Asp Pro Ala Leu	60S 리보솜 단백질 L27
669	Ala Leu Arg Tyr Pro Met Ala Val Gly Leu Asn Lys	60S 리보솜 단백질 L36
670	Gln Thr Tyr Ser Thr Glu Pro Asn Asn Leu Lys	60S 리보솜 단백질 L28
671	Pro Glu Leu Ala Lys Ser Ala Pro Ala Pro Lys	히스톤 H2B 유형 1-L

[0216]

서열 번호:	서열	기원
672	Lys Gln Val His Pro Asp Thr Gly Ile Ser Ser Lys	히스톤 H2B 유형 1-J
673	Val Leu Lys Gln Val His Pro Asp Thr Gly Ile Ser Ser Lys	히스톤 H2B 유형 1-J
674	Ser Glu Gly Thr Lys Ala Val Thr Lys Tyr Thr Ser Ser Lys	히스톤 H2B 유형 1-L
675	His Ala Val Ser Glu Gly Thr Lys Ala Val Thr Lys Tyr Thr Ser Ala	히스톤 H2B 유형 1-J
676	His Ala Val Ser Glu Gly Thr Lys Ala Val Thr Lys Tyr Thr Ser Ser	히스톤 H2B 유형 1-L
677	His Ala Val Ser Glu Gly Thr Lys Ala Val Thr Lys Tyr Thr Ser Ala Lys	히스톤 H2B 유형 1-J
678	His Ala Val Ser Glu Gly Thr Lys Ala Val Thr Lys Tyr Thr Ser Ser Lys	히스톤 H2B 유형 1-L
679	His Ala Val Ser Glu Gly Thr Lys Ala Val Thr Lys Tyr Thr Ser Ala	히스톤 H2B 유형 1-J
680	Ala Gly Phe Ala Gly Asp Asp Ala Pro Arg	액틴, 세포질 1
681	Ser Gln Ala Pro Leu Pro Cys Val Leu	엡스타인-바 바이러스 (EBC) BZLF-1
682	Val Met Ala Pro Arg Thr Leu Phe Leu	HLA-G 리더 펩타이드
683	Pro Lys Lys Thr Glu Ser His His Lys Ala Lys Gly Lys	히스톤 H2A type 3
684	Ala Ala Val Leu Glu Tyr Leu	히스톤 H2A type 2-B
685	Ala Gln Ala Ala Ala Pro Ala Ser Val Pro Ala Gln Ala Pro Lys Arg Thr Gln Ala Pro Thr Lys Ala Ser Glu	60S 리보솜 단백질 L29
686	Lys Leu Glu Lys Glu Glu Glu Glu Gly Ile Ser Gln Glu Ser Ser Glu Glu Glu Gln	고이동성 그룹 단백질 HMG-I/HMG-Y

[0217]

서열 번호:	서열	기원
687	Gly Asp Arg Ser Glu Asp Phe Gly Val Asn Glu Asp Leu Ala Asp Ser Asp Ala Arg	아넥신 A1
688	Val Ala Pro Glu Glu His Pro Val Leu Leu Thr Glu Ala Pro Leu Asn Pro Lys	액틴, 세포질 1
689	Ser Thr Ala Gly Asp Thr His Leu Gly Gly Glu Asp Phe Asp Asn Arg	열충격 동족 71kDa 단백질
690	Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg	혈청 알부민
691	Pro Asp Pro Ala Lys Ser Ala Pro Ala Pro Lys Lys Gly Ser Lys	히스톤 H2B 유형 1-H
692	Leu Gln Ala Glu Ile Glu Gly Leu Lys Gly Gln Arg	케라틴, 유형 II 세포골격 8
693	Pro Asp Pro Ala Lys Ser Ala Pro Ala Pro Lys	히스톤 H2B 유형 1-H
694	Pro Glu Leu Ala Lys Ser Ala Pro Ala Pro Lys	히스톤 H2B 유형 1-L
695	Pro Glu Pro Val Lys Ser Ala Pro Val Pro Lys	히스톤 H2B 유형 1-M
696	Ala Ala Pro Ala Thr Arg Ala Ala Leu	용질 운반체 패밀리 15 구성원 4
697	Ser Ala Pro Ser Arg Ala Thr Ala Leu	BTB/POZ 도메인-함유 단백질 KCTD18
698	Ile Leu Asn Phe Pro Pro Pro Pro	카프린(Caprin)-2
699	Ile Ala Pro Thr Gly His Ser Leu	셉틴(Septin)-6
700	Ile Ser Pro His Gly Asn Ala Leu	ATP-의존적 Clp 프로테아제 ATP- 결합 서브유닛 clpx-유사, 미토콘드리아
701	Pro Asp Pro Ala Lys Ser Ala Pro Ala Pro Lys Lys Gly Ser Lys	히스톤 H2B 유형 1-H

[0218]

서열 번호:	서열	기원
702	Pro Asp Pro Ala Lys Ser Ala Pro Ala Pro Lys	히스톤 H2B 유형 1-H
703	Pro Glu Leu Ala Lys Ser Ala Pro Ala Pro Lys	히스톤 H2B 유형 1-L
704	Pro Glu Pro Val Lys Ser Ala Pro Val Pro Lys	히스톤 H2B 유형 1-M
705	Val Ala Pro Glu Glu His Pro Val Leu Leu Thr Glu Ala Pro Leu Asn Pro Lys	액틴, 세포질 1
706	Pro Leu Leu Ala Leu Leu Ala Leu Trp Gly Pro Asp Pro	인슐린
707	Pro Lys Thr Arg Arg Glu Ala Glu Val Gly Gln	인슐린
708	Arg Arg Glu Ala Glu Asp Leu Gln Gly Ser Leu	인슐린
709	Arg Arg Glu Ala Glu Asp Leu Glu Gly Ser Leu	인슐린
710	Asp Leu Gln Val Gly Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro	인슐린
711	Asp Leu Gln Val Gly Glu Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro	인슐린
712	Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cys	인슐린
713	Met Asn Ile Leu Leu Glu Tyr Val Val Lys Ser	인슐린
714	Asn Met Phe Thr Tyr Glu Ile Ala Pro Val Phe Val Leu Leu Glu Tyr Val	인슐린
715	Asn Val Cys Phe Trp Tyr Ile Pro Pro Ser Leu Arg Thr Leu Glu Asp Asn	인슐린

[0219]

서열 번호:	서열	기원
716	Phe Asn Gln Leu Ser Thr Gly Leu Asp Met Val Gly Leu Ala Ala Asp Trp	인슐린
717	Gly Arg Thr Gly Thr Tyr Ile Leu Ile Asp Met Val Leu Asn Arg Met Ala	인슐린
718	Pro Lys Ala Ala Arg Pro Pro Val Thr Pro Val Leu Leu Glu Lys Lys Ser	인슐린
719	Leu Leu Ala Leu Leu Ala Leu Trp Gly Pro Asp	인슐린
720	Lys Lys Lys Lys Tyr Val Ser Ile Asp Val Thr Leu Gln Gln Leu Glu Ser His Lys Lys Lys	갑상선 자극 호르몬 수용체
721	Gly Leu Lys Met Phe Pro Asp Leu Thr Lys Val Tyr Ser Thr Asp	갑상선 자극 호르몬 수용체
722	H-Pro-Arg-His-Arg-Asp-Thr-Gly-Ile- Leu-Asp-Ser-Ile- Gly-Arg-Phe-NH2	미엘린 염기성 단백질
723	H-Glu-Asn-Pro-Val-Val-His-Phe- Phe-Lys-Asn-Ile-Val- Thr-Pro-Arg- Thr-Pro-NH2	미엘린 염기성 단백질
724	H-Ala-Ser-Asp-Tyr-Lys-Ser-Ala-His- Lys-Gly-Phe-Lys- Gly-Val-Asp-NH2	미엘린 염기성 단백질
725	H-Gly-Phe-Lys-Gly-Val-Asp-Ala- Gln-Gly-Thr-Leu-Ser- Lys-Ile-Phe- NH2	미엘린 염기성 단백질
726	Thr Gln Gln Ile Arg Leu Gln Ala Glu Ile Phe Gln Ala Arg	Apo E
727	Ala Gln Gln Ile Arg Leu Gln Ala Glu Ala Phe Gln Ala Arg	Apo E
728	Thr Ala Gln Ile Arg Leu Gln Ala Glu Ile Phe Gln Ala Arg	Apo E

[0220]

서열 번호:	서열	기원
729	Thr Gln Ala Ile Arg Leu Gln Ala Glu Ile Phe Gln Ala Arg	Apo E
730	Thr Gln Gln Ala Arg Leu Gln Ala Glu Ile Phe Gln Ala Arg	Apo E
731	Thr Gln Gln Ile Ala Leu Gln Ala Glu Ile Phe Gln Ala Arg	Apo E
732	Gln Thr Gln Gln Ile Arg Leu Gln Ala Glu Ile Phe Gln Ala Arg	Apo E
733	Gln Gln Ile Arg Leu Gln Ala Glu Ile Phe Gln Ala Arg	Apo E
734	Asn Ile Asp Ala Leu Asn Glu Asn Lys	베타기 호-락토글로불린
735	Asn Val Leu Val Leu Asp Thr Asp Tyr Lys Lys	베타기 호-락토글로불린
736	Asn Thr Pro Glu Val Asp Asp Glu Ala Leu Glu Lys Phe Asp Lys	베타기 호-락토글로불린
737	Leu Glu Asp Ala Arg Arg Leu Lys Ala Ile Tyr Glu Lys Lys Lys	λ cI 억제 단백질(repressor protein)
738	His Ser Leu Gly Lys Trp Leu Gly His Pro Asp Lys Phe	미엘린 프로테오리피드 단백질
739	Asn Thr Trp Thr Thr Cys Gln Ser Ile Ala Phe Pro Ser Lys	미엘린 프로테오리피드 단백질
740	Ile Ala Ala Thr Tyr Asn Phe Ala Val Leu Lys Leu Met Gly Arg Gly	미엘린 프로테오리피드 단백질
741	Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr Pro	주요 염기성 단백질
742	Asp Glu Gly Gly Tyr Thr Cys Phe Phe Arg Asp His Ser Tyr Gln	미엘린 희소돌기아교세포 당단백질

[0221]

[0222]

일부 경우에, 자가면역 질병은 1형 당뇨병이고, 면역관용성 항원은 카복시펩티다제 H, 크로마그라닌 (Chromagranin) A, 글루타메이트 탈탄산효소, 이모젠-38, 인슐린, 인슐린중 항원-2 및 2 β , 웨도-특이적 포도당 -6-포스파타아제 촉매 서브유닛 관련 단백질(IGRP), 췌장 베타-세포 항원 또는 프로인슐린으로부터 유래한다.

[0223]

일부 경우에, 자가면역 질병은 MS이고, 면역관용성 항원은 α -에놀라제, 아쿠아포린-4, β -아레스틴, 미엘린 염기성 단백질, 미엘린 희소돌기아교세포 당단백질, 프로테오리피드 단백질, 또는 S100- β 로부터 유래한다.

[0224]

일부 경우에, 자가면역 질병은 류마티스 관절염이고, 면역관용성 항원은 시트룰린화 단백질(citrullinated protein), 콜라겐 II, 열충격 단백질, gp130-RAPS, 또는 인간 연골 당단백질 39로부터 유래한다.

[0225]

일부 경우에, 자가면역 질병은 전신 홍반 루푸스이고, 면역관용성 항원은 La 항원, 뉴클레오솜 히스톤 및 리보핵산단백질(snRNP), 인지질- β -2 당단백질 I 복합체, 폴리(ADP-리보스) 중합효소, 당단백질 gp70, 또는 U-1 소형 리보핵산단백질 복합체의 Sm 항원으로부터 유래한다.

[0226]

일부 경우에, 자가면역 질병은 경피증(scleroderma)이고, 면역관용성 항원은 피브릴라린 또는 작은 핵소체 단백질(small nucleolar protein, snoRNP)로부터 유래한다.

[0227]

일부 구현예에서, 자가면역 질병은 그레이브스병이고, 면역관용성 항원은 갑상선 자극 인자 수용체(TSH-R)로부터 유래한다.

- [0228] 일부 경우에, 자가면역 질병은 담즙성 간경변이고, 면역관용성 항원은 피루브산 탈수소효소 디하이드로리포아미드 아세틸트랜스퍼라제(PCD-E2)로부터 유래한다.
- [0229] 일부 구현예에서, 자가면역 질병은 원형 탈모이고, 면역관용성 항원은 모낭 항원으로부터 유래한다.
- [0230] 일부 경우에, 자가면역 질병은 궤양성 대장염이고, 면역관용성 항원은 인간 트로포미오신 이소형 5(hTM5)로부터 유래한다.
- [0231] 일부 경우에, 면역관용성 항원은 17-하이드록실라제, 21-하이드록실라제, ADAMTS13, 아넥신 A5, apoH, AQP4, 방향족산 카복실라제, 기저막 콜라겐 유형 IV, BP-1, BP-2, 탄산탈수효소, 카복시펩티다제 H, 카디오리핀, 카디오리핀, 크로모그라닌 A, 보체 성분 3, 데스모글레인 3, 에놀라제, 표피 트랜스글루타미나제, GD1a, 글리아딘, 글루타메이트 수용체, 글루탐산 탈탄산효소, 당단백질 Iib-IIIa 또는 Ib-IX, GMCSF, gpIIb-IIIa 또는 Ib-IX, GQ1b, GQ1b, 히스티딘-tRNA, 히스톤, HPA-1a, HPA-5b, HSP60, HSP70, HSP90, Hu, IA-2베타, IAPP, ICA69, IFN-감마, IGRP, IL-1, 인슐린, 인슐린종 항원-2, 인터페론 오메가, Jo1, 케라틴, Kir4.1, LA, LKM-1, LKM-1, LKM-2, LKM-3, LP, 주요 말초 미엘린 단백질 P0, Mi-2, 무스카린 아세틸콜린 수용체 M1, MuSK 단백질; 히포크레틴(hypocretin), 미엘린 관련 당단백질(MAG), 미엘린 염기성 단백질(MBP), 미엘린 희소돌기아교세포 당단백질(MOG), 미엘린-관련 희소돌기아교세포 염기성 단백질 심장 미오신, 골수세포형과산화효소(myeloperoxidase), 신경필라멘트(neurofilament), 니코틴성 아세틸콜린 수용체, 오렉신, 외부 표면 단백질(OSP), p62, 포스파티딜세린, 프로테오리피드 단백질(PLP), 피루브산 탈수소효소, Q-유형 칼슘 채널, Ro, sc170, 신호 인식 펩타이드, SMA, 가용성 간 항원, sp100, 시냅토타그민(synaptogagmin), 티로글로불린, 갑상선 퍼옥시다제, 조직 트랜스글루타미나제, TNF-알파, 토포이소머라제, 트랜스글루타미나제, 유형 XVII 콜라겐, U1-RNP, 전압 개폐형 칼슘 채널, Yo, ZnT8, $\beta 2$ 당단백질 I, 또는 $\beta 2$ 당단백질 I로 이루어진 그룹으로부터 선택된 항원으로부터 유래한다.
- [0232] 면역관용성 항원은 또한 hInsB₁₀₋₁₈ (HLVEALYLV (서열 번호: 743)), hIGRP₂₂₈₋₂₃₆ (LNIDLLWSV (서열 번호: 744)), hIGRP₂₆₅₋₂₇₃ (VLFGLGFAI (서열 번호: 745)), IGRP₂₀₆₋₂₁₄ (VYLKTNVFL (서열 번호: 746)), NRP-A7 (KYNKANAFI (서열 번호: 747)), NRP-I4 (KYNIANVFL (서열 번호: 748)), NRP-V7 (KYNKANVFL (서열 번호: 749)), YAI/Db (FQDENLYLV (서열 번호: 750)) 및/또는 INS B₁₅₋₂₃ (LYLVCGERG (서열 번호: 751)), 뿐만 아니라 펩타이드 및 미국 공개공보 제20050202032호에 개시된 단백질을 포함할 수 있지만, 이에 국한되지는 않는다.
- [0233] 특정 측면에서, 1형 당뇨병 치료에 사용되는 펩타이드 항원은 GAD65₁₁₄₁₂₃, VMNILLQYVV (서열 번호: 752); GAD65₅₃₆₋₅₄₅, RMMEYGTMTV (서열 번호: 753); GFAP₁₄₃₋₁₅₁, NLAQTDLATV (서열 번호: 754); GFAP₂₁₄₋₂₂₂, QLARQQVHV (서열 번호: 755); IA-2₁₇₂₋₁₈₀, SLSPLQAEI (서열 번호: 756); IA-2₄₈₂₋₄₉₀, SLAAGVKLL (서열 번호: 757); IA-2₈₀₅₋₈₁₃, VIVMLTPLV (서열 번호: 758); ppIAPP₅₋₁₃, KLQVFLIVL (서열 번호: 759); ppIAPP₉₋₁₇, FLIVLSVAL (서열 번호: 760); IGRP₁₅₂₋₁₆₀, FLWSVFMLI (서열 번호: 761); IGRP₂₁₁₋₂₁₉, NLFVFLFAV (서열 번호: 762); IGRP₂₁₅₋₂₂₃, FLFAVGFYL (서열 번호: 763); IGRP₂₂₂₋₂₃₀, YLLLRVLNI (서열 번호: 764); IGRP₂₂₈₋₂₃₆, LNIDLLWSV (서열 번호: 744); IGRP₂₆₅₋₂₇₃, VLFGLGFAI (서열 번호: 745); IGRP₂₉₃₋₃₀₁, RLLCALTSI (서열 번호: 765); 프로-인슐린_{L2-10}, ALWMRLPL (서열 번호: 766); 프로-인슐린_{L3-11}, LWMRLPLL (서열 번호: 767); 프로-인슐린_{L6-14}, RLLPLLALL (서열 번호: 768); 프로-인슐린_{B5-14}, HLCGSHLVEA (서열 번호: 769); 프로-인슐린_{B10-18}, HLVEALYLV (서열 번호: 743); 프로인슐린_{B14-22}, ALYLVCGER (서열 번호: 770); 프로-인슐린_{B15-24}, LYLVCGERG (서열 번호: 771); 프로-인슐린_{B17-25}, LVCGERGFF (서열 번호: 772); 프로-인슐린_{B18-27}, VCGERGFYF (서열 번호: 773); 프로-인슐린_{B20-27}, GERGFYF (서열 번호: 774); 프로-인슐린_{B21-29}, ERGFYTPK (서열 번호: 775); 프로-인슐린_{B25-C1}, FYTPKTRRE (서열 번호: 776); 프로인슐린_{B27-C5}, TPKTRREAEDL (서열 번호: 777); 프로-인슐린_{C20-28}, SLQPLALEG (서열 번호: 778); 프로-인슐린_{C25-33}, ALEGLQKR (서열 번호: 779); 프로-인슐린_{C29-A5}, SLQKRGIVEQ (서열 번호: 780); 프로-인슐린_{A1-10}, GIVEQCCTSI (서열 번호: 781); 프로-인슐린_{A2-10}, IVEQCCTSI (서열 번호: 782); 프로-인슐린_{A12-20}, SLYQLENYC (서열 번호: 783), 또는 이들의 조합이다.
- [0234] 또 다른 측면에서, 다발성 경화증(MS)과 관련된 면역관용성 항원이 사용될 수 있으며, 여기에는 다음이 포함된다: MAG₂₈₇₋₂₉₅, SLLLEEEV (서열 번호: 784); MAG₅₀₉₋₅₁₇, LMWAKIGPV (서열 번호: 785); MAG₅₅₆₋₅₆₄, VLFSSDFRI (서열 번호: 786); MBP₁₁₀₋₁₁₈, SLSRFSWGA (서열 번호: 787); MOG₁₁₄₋₁₂₂, KVEDPFYWV (서열 번호: 788); MOG₁₆₆₋₁₇₅,

RTFDPHFRLV (서열 번호: 789); MOG₁₇₂₋₁₈₀, FLRVPCWKI (서열 번호: 790); MOG₁₇₉₋₁₈₈, KITLFFVIVPV (서열 번호: 791); MOG₁₈₈₋₁₉₆, VLGPLVALI (서열 번호: 792); MOG₁₈₁₋₁₈₉, TLFVIVPVL (서열 번호: 793); MOG₂₀₅₋₂₁₄, RLAGQFLEEL (서열 번호: 794); PLP₈₀₋₈₈, FLYGALLA (서열 번호: 795), 또는 이들의 조합.

[0235] 일부 경우에, 전신 홍반 루푸스와 관련된 면역관용성 항원이 사용될 수 있으며, 여기에는 FIEWNKLRFQGLEW (서열 번호: 796)가 포함되지만, 이에 국한되지 않는다. 일부 경우에, 서열 번호: 796의 서열을 갖는 폴리펩타이드를 포함하는 면역관용성 항원은 D-아미노산인 아미노산 모이어티를 적어도 하나 포함한다.

[0236] 다량체 면역관용성 항원

[0237] 특정 구현예에서, 본 명세서에 제공된 면역관용성 항원은 다량체 면역관용성 항원이다. 일 예로, 다량체 면역관용성 항원은 링커(예를 들어, 펩타이드 링커)에 의해 연결된 2개 이상의 면역관용성 항원(예를 들어, 본 명세서에 기재된 면역관용성 항원)을 포함한다. 일부 경우에, 면역관용성 항원은 다음의 N-말단에서 C-말단 구조를 포함한다:

[0238] $(P_4-L_4)_{n_4}-(P_3-L_3)_{n_3}-P_2-(L_1-P_1)_{n_1}$

[0239] 상기 식에서, P_1 , P_2 , P_3 , 및 P_4 는 각각 독립적으로 본 명세서에 기재된 임의의 면역관용성 항원(예를 들어, 표 3-5의 임의의 면역관용성 항원)으로부터 선택되고; L_1 , L_3 , 및 L_4 는 각각 독립적으로 링커이며; n_1 , n_3 , 및 n_4 는 각각 독립적으로 0 또는 1이고, 이때 n_1 , n_3 , 및 n_4 중 적어도 하나는 1이다.

[0240] 일부 경우에, n_1 은 1이고, n_3 은 0이며, n_4 는 0이고, 면역관용성 항원은 다음의 N-말단에서 C-말단 구조를 포함한다:

[0241] $P_2-L_1-P_1$.

[0242] 일부 경우에, 펩타이드 링커는 2 내지 200개의 아미노산(예를 들어, 5 내지 50개(예를 들어, 5 내지 20개, 15 내지 30개, 25 내지 40개, 또는 35 내지 50개), 45 내지 100개(예를 들어, 45 내지 60개, 55 내지 70개, 65 내지 80개, 75 내지 90개, 또는 85 내지 100개), 95 내지 150개(예를 들어, 95 내지 110개, 105 내지 120개, 115 내지 130개, 125 내지 140개, 또는 135 내지 150개), 또는 145 내지 200개(예를 들어, 145 내지 160개, 155 내지 170개, 165 내지 180개, 175 내지 190개, 또는 185 내지 200개)의 아미노산)을 포함한다. 일부 경우에, 펩타이드 링커는 글리신(Gly) 및 세린(Ser) 아미노산을 포함한다. 일부 경우에, 펩타이드 링커는 $(GS)_x$, $(GGS)_x$, $(GGGS)$ (서열 번호: 797) $_x$, $(GGSG)_x$, $(SGGG)_x$ 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 이때 x 는 1 내지 10의 정수이다. 특정 구현예에서 링커는 $(GGGS)$ (서열 번호: 797) $_x$ 의 아미노산 서열을 포함하며, 이때 x 는 2 내지 5의 정수이다. 일부 경우에, P_2 및 P_1 은 서로 다른 면역관용성 항원이다. 일부 경우에, P_2 및 P_1 은 동일한 면역관용성 항원이다.

[0243] 일부 경우에, n_1 은 1이고, n_3 은 1이며, n_4 는 0이고, 면역관용성 항원은 다음의 N-말단에서 C-말단 구조를 포함한다:

[0244] $P_3-L_3-P_2-L_1-P_1$.

[0245] 일부 경우에, 각각의 펩타이드 링커는 독립적으로 2 내지 200개의 아미노산(예를 들어, 5 내지 50개(예를 들어, 5 내지 20개, 15 내지 30개, 25 내지 40개, 또는 35 내지 50개), 45 내지 100개(예를 들어, 45 내지 60개, 55 내지 70개, 65 내지 80개, 75 내지 90개, 또는 85 내지 100개), 95 내지 150개(예를 들어, 95 내지 110개, 105 내지 120개, 115 내지 130개, 125 내지 140개, 또는 135 내지 150개), 또는 145 내지 200개(예를 들어, 145 내지 160개, 155 내지 170개, 165 내지 180개, 175 내지 190개, 또는 185 내지 200개)의 아미노산)을 포함한다. 일부 경우에, 펩타이드 링커는 글리신(Gly) 및 세린(Ser) 아미노산을 포함한다. 일부 경우에, 펩타이드 링커는 $(GS)_x$, $(GGS)_x$, $(GGGS)$ (서열 번호: 797) $_x$, $(GGSG)_x$, $(SGGG)_x$ 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 이때 x 는 1 내지 10의 정수이다. 특정 구현예에서 링커는 $(GGGS)$ (서열 번호: 797) $_x$ 의 아미노산 서열을 포함하며, 이때 x 는 2 내지 5의 정수이다. 일부 경우에, P_3 , P_2 , 및/또는 P_1 은 서로 다른 면역관용성 항원이다. 일부 경우에, P_3 , P_2 , 및/또는 P_1 은 동일한 면역관용성 항원이다.

- [0246] 일부 경우에, n_1 은 1이고, n_3 은 1이며, n_4 는 1이고, 면역관용성 항원은 다음의 N-말단에서 C-말단 구조를 포함한다:
- [0247] $P_4-L_4-P_3-L_3-P_2-L_1-P_1$.
- [0248] 일부 경우에, 각각의 펩타이드 링커는 독립적으로 2 내지 200개의 아미노산(예를 들어, 5 내지 50개(예를 들어, 5 내지 20개, 15 내지 30개, 25 내지 40개, 또는 35 내지 50개), 45 내지 100개(예를 들어, 45 내지 60개, 55 내지 70개, 65 내지 80개, 75 내지 90개, 또는 85 내지 100개), 95 내지 150개(예를 들어, 95 내지 110개, 105 내지 120개, 115 내지 130개, 125 내지 140개, 또는 135 내지 150개), 또는 145 내지 200개(예를 들어, 145 내지 160개, 155 내지 170개, 165 내지 180개, 175 내지 190개, 또는 185 내지 200개)의 아미노산)을 포함한다. 일부 경우에, 펩타이드 링커는 글리신(Gly) 및 세린(Ser) 아미노산을 포함한다. 일부 경우에, 펩타이드 링커는 $(GS)_x$, $(GGS)_x$, $(GGGS)$ (서열 번호: 797) $_x$, $(GSG)_x$, $(SGGG)_x$ 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며, 이때 x 는 1 내지 10의 정수이다. 특정 구현예에서 링커는 $(GGGS)$ (서열 번호: 797) $_x$ 의 아미노산 서열을 포함하며, 이때 x 는 2 내지 5의 정수이다. 일부 경우에, P_4 , P_3 , P_2 , 및/또는 P_1 은 서로 다른 면역관용성 항원이다. 일부 경우에, P_4 , P_3 , P_2 , 및/또는 P_1 은 동일한 면역관용성 항원이다.
- [0249] 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 is conjugated with the 나노입자 인지질 in such a manner that facilitates 강력한 면역 관용 upon administration to a 대상체(예를 들어, 자가면역 질환을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체 (예를 들어, MS 또는 켈리악병)).
- [0250] 일부 구현예에서, the 면역관용성 항원 is conjugated with the 나노입자 인지질 via a 티올-반응성 및 환원-비반응성 연결 between the 면역관용성 항원 and the 나노입자 인지질. 실제로, 면역관용성 항원과 나노입자 인지질 간에 티올-반응성 및 환원-비반응성 연결은 강력한 면역 관용을 촉진한다. 일부 구현예에서, the 인지질 is 예를 들어, N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L- α -포스파티딜에탄올아민.
- [0251] 일부 구현예에서, the 면역관용성 항원 is conjugated with the 나노입자 인지질 via an 아민-매개된 상호작용. For example, 일부 구현예에서, the 아민-매개된 상호작용 is through an 아민-반응성 인지질(예를 들어, N-(석신이미딜옥시-글루타릴)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디올레오일(DOPE-NHS)). 일부 구현예에서, 아민-매개된 상호작용은 자가-희생적 연결(예를 들어, o-디티오벤질, p-디티오벤질, 베타-디티오벤질 카바메이트 모이어티, 2,2-디메틸-4-머캅토-부티르산, 또는 이황화물-탄산염-기반 흔적 없는 링커를 포함하는 링커)을 갖는 아민-반응성 인지질을 통해 이루어진다.
- [0252] 일부 구현예에서, 특정 나노입자와 결합된 면역관용성 항원의 수는 대상체(예를 들어, 자가면역 질환(예를 들어, MS 또는 켈리악병)을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체)에게 투여시 강력한 면역 관용을 촉진하는 임의의 양이다. 일부 구현예에서, 특정 나노입자와 결합된 면역관용성 항원의 양은 1 내지 30개(예를 들어, 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, 28, 29, 또는 30개)이다.
- [0253] 면역관용성 항원은 분자의 특성에 따라 해당 기술 분야에 알려진 여러 가지 기술에 의해 제조될 수 있다. 폴리뉴클레오티드, 폴리펩타이드 및 탄수화물 항원은 이들이 풍부한 처리하고자 하는 종의 세포에서 단리될 수 있다. 짧은 펩타이드는 아미노산 합성에 의해 편리하게 제조될 수 있다. 서열이 알려진 더 긴 단백질은 인코딩 서열을 합성하거나 천연 공급원 또는 벡터에서 인코딩 서열을 PCR 증폭한 다음, 적합한 박테리아 또는 진핵 숙주 세포에서 인코딩 서열을 발현시켜 제조될 수 있다.
- [0254] 본 명세서에 기재된 조성물의 일부 구현예에서, 복수의 면역관용성 항원을 갖는 나노입자는 면역관용성 항원과 나노입자 사이에 링커를 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 면역관용성 항원과 나노입자의 인지질 기 사이의 공유 결합 또는 연결을 의미한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원의 N-말단 및/또는 C-말단은 링커에 부착된 말단 시스템인 잔기로 변형된다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원의 N-말단 및/또는 C-말단은 말단 $C(S)_n$ 폴리펩타이드로 변형되되, 이때 n 은 1 내지 10(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)개의 세린 잔기이고, 말단 세린 잔기는 링커에 부착된다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원의 N-말단 및/또는 C-말단은 링커에 부착된 말단 CSS 폴리펩타이드로 변형된다. 일부 구현예에서, 링커는 티올 반응성 가교제이다. 일부 구현예에서, 링커는 말레이미드 링커이다. 일부 구현예에서, 링커는 피리딜 링커이다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원의 N-말단 및/또는 C-말단은 말레이미드 링커에 부착된 말단 시스템인 잔기로 변형된다. 일부 구현예에

서, 면역관용성 항원의 N-말단 및/또는 C-말단은 피리딜 링커에 부착된 말단 시스템인 잔기로 변형된다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원의 N-말단 및/또는 C-말단은 말레이미드 링커에 부착된 말단 CSS 폴리펩타이드로 변형된다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원의 N-말단 및/또는 C-말단은 피리딜 링커에 부착된 말단 CSS 폴리펩타이드로 변형된다. 링커는 첫 번째 단부에서는 핵염기(nucleobase) 또는 당 모이어티 상의 변형된 뉴클레오사이드 또는 뉴클레오티드(예를 들어, Cys 및 Ser)에 부착될 수 있고, 두 번째 단부에서는 페이로드, 예를 들어, 지질, 예를 들어, 인지질에 부착될 수 있다.

[0255] 링커는 당업자에게 알려진 화학적 링커일 수 있다. 링커는 대안적으로 펩타이드 링커일 수 있다. 링커는 폴리펩타이드 서열 또는 지질 모이어티를 방해하지 않을 만큼 충분한 길이일 수 있다. 링커에 통합될 수 있는 화학기(chemical group)의 예로는 알킬, 알케닐, 알킬닐, 아미도, 아미노, 에테르, 티오에테르, 에스테르, 알킬렌, 헥테로알킬렌, 아릴, 또는 헥테로사이클릴 기가 포함되지만, 이에 국한되지 않으며, 이들 각각은 선택적으로 치환될 수 있다. 링커는, 예를 들어, 합성 폴리머(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 폴리머)에서 유래된 합성기를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 D- 또는 L-아미노산 잔기와 같은 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 유용한 링커의 추가 예로는 마이클 수용체(Michael acceptor)(예를 들어, 말레이미드), 활성화된 에스테르, 전자-결핍 카보닐 화합물, 및 알데히드 등과 같은 친전자체를 포함하는 링커가 포함되며, 이는 항체, 항원-결합 단편, 단백질, 펩타이드, 및 아민 및 티올 모이어티와 같은 소분자 내에 존재하는 친핵성 치환체와 반응하기에 적합하다.

[0256] 본 발명에서, 다량체 면역관용성 항원들(예를 들어, L₁, L₃, 및/또는 L₄) 사이의 링커는 2 내지 200개의 아미노산(예를 들어, 5 내지 50개(예를 들어, 5 내지 20개, 15 내지 30개, 25 내지 40개, 또는 35 내지 50개), 45 내지 100개(예를 들어, 45 내지 60개, 55 내지 70개, 65 내지 80개, 75 내지 90개, 또는 85 내지 100개), 95 내지 150개(예를 들어, 95 내지 110개, 105 내지 120개, 115 내지 130개, 125 내지 140개, 또는 135 내지 150개), 또는 145 내지 200개(예를 들어, 145 내지 160개, 155 내지 170개, 165 내지 180개, 175 내지 190개, 또는 185 내지 200개)의 아미노산)을 포함하는 폴리펩타이드일 수 있다. 일부 구현예에서, 다량체 면역관용성 항원들(예를 들어 L₁, L₃, 및/또는 L₄) 사이의 링커는 적어도 12개의 아미노산, 예를 들어, 12 내지 200개의 아미노산(예를 들어, 12-200, 12-180, 12-160, 12-140, 12-120, 12-100, 12-90, 12-80, 12-70, 12-60, 12-50, 12-40, 12-30, 12-20, 12-19, 12-18, 12-17, 12-16, 12-15, 12-14, 또는 12-13개의 아미노산) (예를 들어, 14-200, 16-200, 18-200, 20-200, 30-200, 40-200, 50-200, 60-200, 70-200, 80-200, 90-200, 100-200, 120-200, 140-200, 160-200, 180-200, 또는 190-200개의 아미노산)을 함유하는 폴리펩타이드이다. 일부 구현예에서, 다량체 면역관용성 항원들(예를 들어, L₁, L₃, 및/또는 L₄) 사이의 링커는 12-30개의 아미노산(예를 들어, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30개의 아미노산)을 함유하는 폴리펩타이드이다.

[0257] 적합한 펩타이드 링커는 해당 기술분야에 알려져 있으며, 예를 들어, 글리신 및 세린과 같은 유연한 아미노산 잔기를 함유하는 펩타이드 링커를 포함한다. 특정 구현예에서, 링커는 모티프, 예를 들어, GS, GGS, GGGGS (서열 번호: 797), GGSG (서열 번호: 798), 또는 SGGG (서열 번호: 799)의 다중 또는 반복 모티프를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 링커는 GS, 예를 들어, GS, GSGS (서열 번호: 800), GSGSGS (서열 번호: 801), GSGSGSGS (서열 번호: 802), GSGSGSGSGS (서열 번호: 803), 또는 GSGSGSGSGSGS (서열 번호: 804)의 모티프를 포함하는 2 내지 12개의 아미노산을 포함할 수 있다. 다른 특정 구현예에서, 링커는 GGS, 예를 들어, GGS, GGSGGS (서열 번호: 805), GGSGGSGGS (서열 번호: 806), 및 GGSGGSGSGGS (서열 번호: 807)의 모티프를 포함하는 3 내지 12개의 아미노산을 포함할 수 있다. 또 다른 구현예에서, 링커는 GGSG (서열 번호: 808), 예를 들어, GGSGGGSG (서열 번호: 809), 또는 GGSGGGSGGGSG (서열 번호: 810)의 모티프를 포함하는 4 내지 12개의 아미노산을 포함할 수 있다. 다른 구현예에서, 링커는 GGGGS (서열 번호: 797), 예를 들어, GGGSGGGSGGGGS (서열 번호: 811)의 모티프를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 링커는 SGGSGGGSGGGSGGGSGGG (서열 번호: 812)이다.

[0258] 바람직한 구현예에서, 펩타이드 링커(예를 들어, L₁, L₃, 및/또는 L₄)는 (GS)_x, (GGS)_x, (GGGS)_x, (GGSG)_x, (SGGG)_x 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드 링커이며, 이때 x는 1 내지 50(예를 들어, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10, 또는 1-5)의 정수이다. 바람직한 구현예에서, 펩타이드 링커는 아미노산 서열 (GGGS)_x를 가지며, 이때 x는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10으로부터 선택된 정수이다.

[0259] 일부 구현예에서, 펩타이드 링커는 글리신 잔기, 예를 들어, 적어도 4개의 글리신 잔기(예를 들어, 4-200, 4-180, 4-160, 4-140, 4-40, 4-100, 4-90, 4-80, 4-70, 4-60, 4-50, 4-40, 4-30, 4-20, 4-19, 4-18, 4-17, 4-

16, 4-15, 4-14, 4-13, 4-12, 4-11, 4-10, 4-9, 4-8, 4-7, 4-6 또는 4-5개의 글리신 잔기)(예를 들어, 4-200, 6-200, 8-200, 10-200, 12-200, 14-200, 16-200, 18-200, 20-200, 30-200, 40-200, 50-200, 60-200, 70-200, 80-200, 90-200, 100-200, 120-200, 140-200, 160-200, 180-200, 또는 190-200개의 글리신 잔기)만을 포함한다. 특정 구현예에서, 링커는 4 내지 30개의 글리신 잔기(예를 들어, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30개의 글리신 잔기)를 갖는다. 일부 구현예에서, 글리신 잔기만을 포함하는 링커는 글리코실화(예를 들어, 0-연결 글리코실화, 0-글리코실화라고도 함)되지 않을 수 있거나, 또는 예를 들어, 하나 이상의 세린 잔기를 포함하는 링커와 비교하여 글리코실화 수준이 감소할 수 있다(예를 들어, 0-글리코실화 수준이 감소할 수 있다) (예를 들어, 자일로스, 만노스, 시알산, 푸코스(Fuc) 및/또는 갈락토스(Gal) (예를 들어, 자일로스)와 같은 글리칸에 의한 0-글리코실화 수준이 감소할 수 있다).

[0260] 일부 구현예에서, 글리신 잔기만을 포함하는 링커는 0-글리코실화(예를 들어, 0-자일로실화)되지 않을 수 있거나 또는 예를 들어, 하나 이상의 세린 잔기를 포함하는 링커와 비교하여 0-글리코실화 수준이 감소할 수 있다 (예를 들어, 0-자일로실화 수준이 감소할 수 있다).

[0261] 일부 구현예에서, 글리신 잔기만을 포함하는 링커는 단백질분해(proteolysis)를 겪지 않거나, 예를 들어, 하나 이상의 세린 잔기를 포함하는 링커와 비교하여 단백질분해 속도가 감소할 수 있다.

[0262] 특정 구현예에서, 링커는 GGGG (서열 번호: 813), 예를 들어, GGGGGGGG (서열 번호: 814), GGGGGGGGGGGG (서열 번호: 815), GGGGGGGGGGGGGGGG (서열 번호: 816), 또는 GGGGGGGGGGGGGGGGGGGG (서열 번호: 817)의 모티프를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 링커는 GGGGG (서열 번호: 818), 예를 들어, GGGGGGGGGG (서열 번호: 819), GGGGGGGGGGGGGGGG (서열 번호: 820), 또는 GGGGGGGGGGGGGGGGGGGG (서열 번호: 821)의 모티프를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 링커는 GGGGGGGGGGGGGGGGGGGG (서열 번호: 822)이다.

[0263] 다른 구현예에서, 링커는 또한 글리신 및 세린 이외의 아미노산, 예를 들어, GENLYFQSGG (서열 번호:823), SACYCELS (서열 번호: 824), RSIAT (서열 번호: 825), RPACKIPNDLKQKVMNH (서열 번호:826), GGSAGGSGSGSSGSSGSGTGTAGGTGSGSGTGSG (서열 번호: 827), AAANSSIDLISVPVDSR (서열 번호: 828), 또는 GGSGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGG (서열 번호: 829)를 포함할 수 있다.

[0264] *면역관용성 항원 변이체*

[0265] 특정 구현예에서, 본 발명의 면역관용성 항원의 아미노산 서열 변이체가 고려된다. 예를 들어, 상기 변이체는 면역관용성 항원의 면역관용성 항원성(tolerogenic antigenicity) 및/또는 다른 생물학적 특성을 개선하는 것이 바람직할 수 있다. 면역관용성 항원의 아미노산 서열 변이체는 면역관용성 항원을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열에 적절한 변형을 도입하거나, 또는 펩타이드 합성에 의해 제조될 수 있다. 이러한 변형에는, 예를 들어, 면역관용성 항원의 아미노산 서열 내 잔기의 결실 및/또는 삽입 및/또는 치환이 포함된다. 최종 작제물이, 예를 들어, 항원 관용(antigen tolerance)을 유도하는 것과 같이 원하는 특성을 보유하는 한, 최종 작제물에 도달하기 위해 결실, 삽입, 및 치환의 임의의 조합을 사용할 수 있다.

[0266] 특정 구현예에서, 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는 면역관용성 항원 변이체가 제공된다. 보존적 치환은 표 6의 "바람직한 치환"이라는 제목 아래에 표시된다. 보다 실질적인 변화는 표 6의 "예시적인 치환"이라는 제목 아래에 제공되며, 아미노산 측쇄 클래스와 관련하여 아래에 추가로 설명된다. 아미노산 치환은 관심 대상 면역관용성 항원에 도입될 수 있으며, 생성물은 원하는 활성, 예를 들어, 유지/개선된 면역관용성 항원성에 대해 스크리닝된다.

표 6

예시적인 및 바람직한 아미노산 치환

최초 잔기	예시적인 치환	바람직한 치환
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg I	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys I	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu I	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 노르류신	Leu
Leu (L)	노르류신; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 노르류신	Leu

[0267]

[0268]

아미노산은 일반적인 측쇄 특성에 따라 그룹화될 수 있다:

[0269]

(1) 소수성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

[0270]

(2) 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

[0271]

(3) 산성: Asp, Glu;

[0272]

(4) 염기성: His, Lys, Arg;

[0273]

(5) 사슬 방향에 영향을 미치는 잔기: Gly, Pro;

[0274]

(6) 방향족: Trp, Tyr, Phe.

[0275]

비-보존적 치환은 이들 클래스 중 하나의 구성원을 다른 클래스로 교환하는 것을 수반할 것이다.

[0276]

돌연변이유발을 위해 표적이 될 수 있는 면역관용성 항원의 잔기 또는 영역을 식별하는 데 유용한 방법은 Cunningham and Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085에서 설명한 "알라닌 스캐닝 돌연변이유발"이라고 불린다. 이 방법에서는 표적 잔기들(예를 들어, Arg, Asp, His, Lys, 및 Glu와 같은 하전된 잔기) 중 잔기 또는 기를 식별하고 중성 또는 음전하 아미노산(예를 들어, 알라닌 또는 폴리알라닌)으로 대체하여 항체와 항원의 상

호작용에 영향을 미치는지 여부를 확인한다. 추가 치환은 초기 치환에 대한 기능적 민감성을 입증하는 아미노산 위치에 도입될 수 있다. 대안적으로, 또는 추가적으로, 항체와 항원 사이의 접촉점을 식별하기 위해 항원-항체 복합체의 결정 구조를 확인할 수 있다. 이러한 접촉 잔기와 이웃 잔기는 치환 후보로서 표적화되거나 제거될 수 있다. 면역관용성 항원 변이체는 원하는 특성을 포함하고 있는지 확인하기 위해 스크리닝될 수 있다.

[0277] 아미노산 서열 삽입에는 1개 잔기에서 100개 이상의 잔기를 포함하는 폴리펩티드에 이르기까지 길이가 다양한 아미노- 및/또는 카복실-말단 융합은 물론, 하나 또는 여러 개의 아미노산 잔기의 서열 내 삽입이 포함된다.

[0278] 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 C-말단에 아미드기를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역관용성 항원은 N-말단에 피로글루탐산 잔기를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 면역관용성 항원은 N-말단에 아세틸기를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 N-말단에 피로글루탐산 잔기를 포함하고, C-말단에 아미드기를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 N-말단에 아세틸기를 포함하고, C-말단에 아미드기를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역관용성 항원은 링커에 결합된 시스테인 잔기로 변형된 N-말단 또는 C-말단을 포함한다. 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 링커에 결합된 시스테인 잔기로 변형된 N-말단 및 C-말단을 포함한다.

[0279] 본 명세서에 기재된 조성물 중 어느 하나의 일부 구현예에서, 면역관용성 항원 집단은 대상체(예를 들어, 자가 면역 질환, 예를 들어, MS, 셀리악병, 류마티스 관절염, 원발성 담즙성 담관염, 원발성 경화성 담관염, MOG 항체 질병, 당뇨병(예를 들어, 1형 당뇨병), 갑상선의 자가면역 질환(예를 들어, 하시모토 갑상선염, 그레이브스 병), 갑상선-관련 안병증 및 피부병증, 부갑상선기능저하증, 애디슨병, 조기 난소 부전, 자가면역 뇌하수체염, 뇌하수체 자가면역 질환, 면역위염, 악성 빈혈, 셀리악병, 백반증, 중증 근무력증, 심상성 천포창 및 변종, 수포성 유천포창, 듀링 포진상 피부염, 후천성 포피수포증, 전신 경화증, 혼합결합조직병, 쇼그렌 증후군, 전신 홍반 루푸스, 굿파스처 증후군, 류마티스성 심질환, 자가면역 다분비선 증후군 1형, 에카르디-구티에레스 증후군, 급성 췌장염 연령-의존성 황반변성, 알코올성 간질환, 간섬유화, 전이, 심근경색증, 비알코올성 지방간염(NASH), 파킨슨병, 다발관절염/태아 및 신생아 빈혈, 폐혈증, 또는 염증성 장질환을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체)에게 투여시 강력한 면역 관용을 촉진하는 방식으로 나노입자 인지질과 접합된다.

[0280] 일부 구현예에서, 복수의 면역관용성 항원은 면역관용성 항원과 나노입자 인지질 간에 티올-반응성 및 환원-비반응성 연결을 통해 나노입자 인지질과 접합된다. 실제로, 면역관용성 항원과 나노입자 인지질 간에 티올-반응성 및 환원-비반응성 연결은 강력한 면역 관용을 촉진한다. 일부 구현예에서, 인지질은 N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L- α -포스파티딜에탄올아민이다.

[0281] 일부 구현예에서, 면역관용성 항원은 아민-매개된 상호작용(예를 들어, N-(석신이미딜옥시-글루타릴)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디올레오일(DOPE-NHS))을 통해 나노입자 인지질과 접합된다. 일부 구현예에서, 아민-매개된 상호작용은 N-(석신이미딜옥시-글루타릴)-L- α -포스파티딜에탄올아민, 디올레오일(DOPE-NHS))이다. 일부 구현예에서, 아민-매개된 상호작용은 자가-희생적 연결(예를 들어, o-디티오벤질, p-디티오벤질, 베타-디티오벤질 카바메이트 모이어티, 2,2-디메틸-4-머캅토-부티르산, 또는 이황화물-탄산염-기반 흔적 없는 링커를 포함하는 링커)을 갖는 아민-반응성 인지질을 통해 이루어진다.

[0282] **나노입자 특성화**

[0283] 본 발명의 나노입자는 모든 적합한 분석 기술에 의해 크기와 균일성에 대해 특성화될 수 있다. 이러한 분석 기술로는 원자력 현미경(AFM), 전기분무-이온화 질량 분석법, MALDI-TOF 질량 분석법, LC-MS/MS, ¹³C 핵자기 공명 분광법, 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC), 크기 배제 크로마토그래피(SEC)(다각 레이저 광 산란, 이중 UV 및 굴절률 검출기가 장착됨), 모세관 전기영동, 및 겔 전기영동이 포함되지만, 이에 국한되지 않는다. 이러한 분석 방법은 sHDL 나노입자 집단의 균일성을 보장하며, 향후 생체 내 응용에서의 사용을 위한 생산 품질 관리를 위해 중요하다.

[0284] 일부 구현예에서는 sHDL 나노입자를 리포솜과 유리 ApoA-I 모방체 펩타이드에서 분리할 수 있는 겔 투과 크로마토그래피(GPC)를 사용하여 sHDL-면역관용성 항원 나노입자를 분석한다. 일부 구현예에서, 크기 분포와 제타-전위는, 예를 들어, Malven Nanosizer 기기를 사용한 동적 광산란(DLS)에 의해 측정된다.

[0285] **사용 방법**

[0286] 특정 구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여한 다음(예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후) 대상체 내에서 Treg를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC))를 포함하는 조

성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 대상체(예를 들어, 자가면역 질환을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체) 내에서 조절 Treg(예를 들어, $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+$)를 생체 내에서 증폭하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물은 mTOR 억제제(예를 들어, 라파마이신 또는 이의 변이체)와 결합(예를 들어, 복합체화, 접합, 캡슐화, 흡수, 흡착, 혼합)된다.

[0287] 특정 구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여한 다음(예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후) 항원-특이적 Treg를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC))를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 대상체(예를 들어, 자가면역 질환을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체) 내에서 항원-특이적 조절 Treg(예를 들어, $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+$)를 생체 내 증폭하는 방법을 제공하며, 이때 "항원-특이적"은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 나노입자와 결합된 하나 이상의 면역관용성 항원에 특이적이다.

[0288] 특정 구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여한 다음(예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후) 대상체 내에서 Treg(예를 들어, $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+$)를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC))를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 대상체(예를 들어, 자가면역 질환을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체) 내에서 자가면역 질환과 관련된 항원에 대한 강력한 면역 관용을 촉진하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물은 mTOR 억제제(예를 들어, 라파마이신 또는 이의 변이체)와 결합(예를 들어, 복합체화, 접합, 캡슐화, 흡수, 흡착, 혼합)된다.

[0289] 특정 구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여한 다음(예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후) 항원-특이적 Treg(예를 들어, $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+$)를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC))를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체(예를 들어, 자가면역 질환을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체) 내에서 자가면역 질환과 관련된 항원에 대한 강력한 면역 관용을 촉진하는 방법을 제공하며, 이때 "항원-특이적"은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 나노입자와 결합된 하나 이상의 면역관용성 항원에 특이적이다.

[0290] 특정 구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여한 다음(예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후) 대상체 내에서 Treg(예를 들어, $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+$)를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC))를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체(예를 들어, 자가면역 질환을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체) 내의 T 세포 집단 내에서 $CD3+FOXP3^-$ 세포에 대한 $CD3+FOXP3^+$ 세포의 비율을 증가시키는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물은 mTOR 억제제(예를 들어, 라파마이신 또는 이의 변이체)와 결합(예를 들어, 복합체화, 접합, 캡슐화, 흡수, 흡착, 혼합)된다.

[0291] 특정 구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여한 다음(예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후) 항원-특이적 Treg(예를 들어, $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+$)를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC))를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체(예를 들어, 자가면역 질환을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체) 내의 T 세포 집단 내에서 $CD3+FOXP3^-$ 세포에 대한 $CD3+FOXP3^+$ 세포의 비율을 증가시키는 방법을 제공하며, 이때 "항원-특이적"은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 나노입자와 결합된 하나 이상의 면역관용성 항원에 특이적이다.

[0292] 특정 구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여한 다음(예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후) 대상체 내에서 Treg(예를 들어, $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+$)를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC))를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체(예를 들어, 자가면역 질환, 예를 들어, 셀리악병을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체)에게 투여하는 것을 포함하는 질환을 치료, 예방 및/또는 완화하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물은 mTOR 억

제제(예를 들어, 라파마이신 또는 이의 변이체)와 결합(예를 들어, 복합체화, 접합, 캡슐화, 흡수, 흡착, 혼합)된다. 일부 구현예에서, 대상체의 하나 이상의 자가면역 질환을 치료, 예방 및/또는 완화하는 것은 특정 조직 영역(예를 들어, 자가면역 질환과 관련된 특정 조직 영역)에 특이적이다.

[0293] 특정 구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물을 대상체(예를 들어, 자가면역 질환, 예를 들어, 쉐리악병을 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 인간 대상체)에게 투여한 다음(예를 들어, 1초, 2초, 1분, 1시간, 1일, 1주, 1개월, 1년 등 후) 항원-특이적 Treg(예를 들어, CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺)를 확장할 수 있는 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC))를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 질환을 치료, 예방 및/또는 완화하는 방법을 제공하며, 이때 "항원-특이적"은 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 나노입자와 결합된 하나 이상의 면역관용성 항원에 특이적이다. 일부 구현예에서, 대상체의 하나 이상의 질환을 치료, 예방 및/또는 완화하는 것은 특정 조직 영역(예를 들어, 질환과 관련된 특정 조직 영역)에 특이적이다.

[0294] 면역 체계는 기능적 하위 체계, 즉 선천적 면역 체계와 후천적 면역 체계로 분류될 수 있다. 선천적 면역 체계는 감염에 대한 첫 번째 방어선이며, 대부분의 잠재적 병원균은, 예를 들어, 눈에 띄는 감염을 일으키기 전에 이 체계에 의해 빠르게 무력화된다. 후천적 면역 체계는 침입하는 유기체의 항원이라고 하는 분자 구조에 반응한다. 후천적 면역 반응에는 체액성 면역 반응(humoral immune reaction)과 세포-매개된 면역 반응을 포함하는 두 가지 유형이 있다. 체액성 면역 반응에서 B 세포가 체액으로 분비한 항체는 병원체-유래 항원에 결합하여 예를 들어 보체-매개된 용해와 같은 다양한 메커니즘을 통해 병원체를 제거한다. 세포-매개된 면역 반응에서는 다른 세포를 파괴할 수 있는 T-세포가 활성화된다. 예를 들어, 질병(예를 들어, MS 또는 쉐리악병)과 관련된 단백질이 세포에 존재하는 경우, 이들은 단백질분해에 의해 세포내의 펩타이드로 단편화된다. 그런 다음 특정 세포 단백질이 이런 방식으로 형성된 항원이나 펩타이드에 부착되어 세포 표면으로 운반되고, 그곳에서 신체의 분자 방어 메커니즘, 특히 T-세포에 제시된다. 세포독성 T 세포는 이러한 항원을 인식하고 항원을 품고 있는 세포를 죽인다.

[0295] 세포 표면에서 펩타이드를 운반하고 제시하는 분자를 주요 조직적합성 복합체(MHC) 단백질이라고 하며, 인간의 경우 인간 백혈구 항원(HLA) 복합체로 알려져 있다. MHC 단백질은 MHC 클래스 I과 MHC 클래스 II라는 두 가지 유형으로 분류된다. 두 MHC 클래스의 단백질 구조는 매우 유사하지만, 기능은 매우 다르다. MHC 클래스 I 단백질은 대부분의 종양 세포를 포함하여 신체의 거의 모든 세포 표면에 존재한다. MHC 클래스 I 단백질은 일반적으로 내인성 단백질이나 세포내부에 존재하는 병원체에서 유래한 항원으로 적재되어 I 또는 세포독성 T-림프구(CTL)에 제시된다. MHC 클래스 II 단백질은 수지상 세포, B-림프구, 대식세포, 및 기타 항원-제시 세포에 존재한다. 이는 주로 외부 항원 공급원, 즉 세포 외부에서 처리된 펩타이드를 T-헬퍼(Th) 세포에 제시한다. MHC 클래스 I 단백질에 결합된 대부분의 펩타이드는 유기체 자체의 건강한 숙주 세포에서 생성된 세포질 단백질에서 유래하며 일반적으로 면역 반응을 자극하지 않는다. 따라서, 이러한 클래스 I의 자가-펩타이드-제시 MHC 분자를 인식하는 세포독성 T-림프구는 흉선에서 제거되거나(중추 관용(central tolerance)) 또는 흉선에서 방출된 후 제거되거나 불활성화되고, 즉 관용화(tolerizing)된다(말초 관용(peripheral tolerance)). MHC 분자는 관용화되지 않은 T-림프구에 펩타이드를 제시할 때 면역 반응을 자극할 수 있다. 세포독성 T-림프구는 표면에 T-세포 수용체(TCR)와 CD8 분자를 모두 가지고 있다. T-세포 수용체는 MHC 클래스 I 분자와 복합체를 이룬 펩타이드를 인식하고 결합할 수 있다. 각 세포독성 T-림프구는 특정 MHC/펩타이드 복합체에 결합할 수 있는 고유한 T-세포 수용체를 발현한다.

[0296] 본 발명의 구현예를 개발하는 과정에서 수행된 실험들은 세포의 체외 조작 없이 생체 내에서 높은 빈도의 항원-특이적 Treg를 유도하기 위한 새로운 전략의 개발로 이어졌다. 이러한 실험은 나노디스크를 변형된 IL-2와 결합하여 생체 내에서 전혀 없는 수준의 항원-특이적 Treg를 유도하는 새로운 전략의 개발 및 최적화로 이어졌다. 특히, IL-2:항-IL-2 항체(클론: JES6-1) 면역 복합체(IL-2/IC)는 다클론성 Treg를 선택적으로 유도하는 것으로 나타났다[14]. 유리 펩타이드 또는 펩타이드-사량체와 함께 투여된 IL-2/IC는 항원-특이적 Treg를 유도하는 것으로 보고되었다[15,16]. 그러나 이러한 이전 시도들은 CD4⁺ T 세포 구획에서 항원-특이적 Treg 빈도가 0.25% 미만으로, 비교적 낮은 항원-특이적 Treg 반응을 초래했다[15,16].

[0297] IL-2/IC와 함께 항원-특이적 Treg 유도를 극대화하기 위해 림프 조직에 펩타이드 항원을 적절히 전달하는 것이 중요할 것으로 예상되었다. 여기에 설명된 실험에서는 IL-2/IC 요법과 함께 림프를 표적으로 하는 나노디스크 매개된 펩타이드 전달이 IL-2/IC 단독과 비교하여 항원-특이적 Treg의 현저한 증폭을 초래했다는 사실이 처음으로 보고되었다.

- [0298] 또한, 실제 치료 방법이 중요하다는 것도 예상되었다. 이러한 실험에서는 나노디스크를 먼저 피하 주사하고, 그 다음에 IL-2 및/또는 뮤테인/조작된 IL-2를 투여해야 한다는 것을 보여주었다. 이를 통해 항원-특이적 Treg가 먼저 프라이밍 및 생성되었고, 그 후 뮤테인/조작된 IL-2를 투여하면 항원-특이적 Treg의 강력한 증식이 촉발되었다. 항원-특이적 Treg의 장기적인 유지를 위해 나노디스크 및/또는 뮤테인/조작된 IL-2의 유지 용량을 투여하는 것도 추가로 고려되었다.
- [0299] 이러한 방법은 특정 질환을 치료하는 데만 국한되지 않는다.
- [0300] 일부 구현예에서, 질환은 자가면역 질환이다. 이러한 방법은 특정 자가면역 질환을 치료하는 데 국한되지 않는다. 자가면역 질환의 예로는 다발성 경화증(MS), 셀리아병, 류마티스 관절염, 원발성 담즙성 담관염, 원발성 경화성 담관염, MOG 항체 질병, 당뇨병(예를 들어, 1형 당뇨병), 갑상선의 자가면역 질환(예를 들어, 하시모토 갑상선염, 그레이브스병), 갑상선-관련 안병증 및 피부병증, 부갑상선기능저하증, 애디슨병, 조기 난소 부전, 자가면역 뇌하수체염, 뇌하수체 자가면역 질환, 면역위염, 악성 빈혈, 셀리아병, 백반증, 중증 근무력증, 심상성 천포창 및 변종, 수포성 유천포창, 듀링 포진상 피부염, 후천성 표피수포증, 전신 경화증, 혼합결합조직병, 쇼그렌 증후군, 전신 홍반 루푸스, 굿파스처 증후군, 류마티스성 심질환, 자가면역 다분비선 증후군 1형, 에카르디-구티에레스 증후군, 급성 췌장염 연령-의존성 황반변성, 알코올성 간질환, 간섬유화, 전이, 심근경색증, 비알코올성 지방간염(NASH), 파킨슨병, 다발관절염/태아 및 신생아 빈혈, 패혈증, 및 염증성 장질환이 포함되지만, 이에 국한되지 않는다.
- [0301] 일부 구현예에서, 질환은 이식 관련 질환이다. 일부 구현예에서, 질환은 하나 이상의 알레르기이다. 일부 구현예에서, 질환은 호흡기 질환(예를 들어, 천식)이다. 일부 구현예에서, 질환은 이식편대숙주병(GvHD)이다.
- [0302] 일부 구현예에서, 자가면역 질환을 치료하거나 예방하기 위한 이러한 방법은 또한 추가적인 치료제를 공동 투여(예를 들어, 동시에 또는 다른 시간에)하는 것을 포함한다. 이러한 치료제의 예로는 질병-조절 항류마티스 약물(예를 들어, 레플루노마이드, 메토틱세이트, 설파살라진, 하이드록시클로로퀸), 생물학적 제제(예를 들어, 리툽시맙, 인플릭시맙, 에타네르셉트, 아달리무맙, 골리무맙), 비스테로이드성 항염증제(예를 들어, 이부프로펜, 셀레콕시브, 케토프로펜, 나프록센, 피록시카, 디클로페낙), 진통제(예를 들어, 아세트아미노펜, 트라마돌), 면역조절제(예를 들어, 아나킨라(anakinra), 아바타셉트(abatacept)), 글루코코르티코이드(예를 들어, 프레드니손, 메틸프레드니손), TNF- α 억제제(예를 들어, 아달리무맙, 세르톨리주맙 페골, 에타네르셉트, 골리무맙, 인플릭시맙), IL-1 억제제, 및 메탈로프로테아제 억제제가 포함되지만, 이에 국한되지 않는다. 일부 구현예에서, 치료제는 인플릭시맙, 아달리무맙, 에타네르셉트, 또는 비경구 금 또는 경구 금을 포함하지만, 이에 국한되지 않는다. 일부 경우에, 치료제는 면역조절제 또는 면역억제제(예를 들어, 스타틴; mTOR 억제제, 예를 들어, 라파마이신 또는 라파마이신 유사체; TGF- β 신호전달제; TGF- β 수용체 작용제; 히스톤 탈아세틸화효소 억제제, 예를 들어, 트리코스타틴 A; 코르티코스테로이드; 미토콘드리아 기능 억제제, 예를 들어, 로테논; P38 억제제; NF- κ β 억제제, 예를 들어, 6Bio, 텍사메타손, TCPA-1, IKK VII; 아데노신 수용체 작용제; 프로스타글란딘 E2 작용제 (PGE2), 예를 들어, 미소프로스톨; 포스포디에스테라제 억제제, 예를 들어, 포스포디에스테라제 4 억제제(PDE4), 예를 들어, 롤리프람; 프로테아좀 억제제; 키나제 억제제; G-단백질 결합 수용체 작용제; G-단백질 결합 수용체 길항제; 글루코코르티코이드; 레티노이드; 사이토카인 억제제; 사이토카인 수용체 억제제; 사이토카인 수용체 활성화제; 피옥시즘 증식체-활성화 수용체 길항제; 피옥시즘 증식체-활성화 수용체 작용제; 히스톤 탈아세틸화효소 억제제; 칼시뉴린 억제제; 포스포타아제 억제제; PI3 KB 억제제, 예를 들어, TGX-221; 자가포식 억제제, 예를 들어, 3-메틸아데닌; 아릴 탄화수소 수용체 억제제; 프로테아좀 억제제 I (PSI); 및 산화된 ATP, 예를 들어, P2X 수용체 차단제이다. 면역억제제는 또한 IDO, 비타민 D3, 사이클로스포린, 예를 들어, 사이클로스포린 A, 아릴 탄화수소 수용체 억제제, 레스베라트롤, 아자티오피린(Aza), 6-머캅토피린(6-MP), 6-티오구아닌(6-TG), FK506, 상글리페린 A, 살메테롤, 미코페놀레이트 모페틸(MMF), 아스피린 및 기타 COX 억제제, 니플룸산, 에스트리올, 트립톨리드; OPN-305, OPN-401; 에리토란(E5564); TAK-242; Cpn10; NI-0101; 1A6; AV411; IRS-954(DV-1079); IMO-3100; CPG-52363; CPG-52364; OPN-305; ATNC05; NI-0101; IMO-8400; 하이드록시클로로퀸; CU-CPT22; C29; 오르토-바닐린; SSL3 단백질; OPN-305; 5 SsnB; 비잔틴; (+)-N-페네틸노복시모르폰; VB3323; 단당류 3; (+)-날트렉손 및 (+)-날복손; HT52; HTB2; 화합물 4a; CNT02424; TH1020; INH-ODN; E6446; AT791; CpG ODN 2088; ODN TTAGGG; COV08-0064; 2R9; GpG 올리고뉴클레오티드; 2-아미노퓨린; 암렉사독스; Bay11-7082; BX795; CH-223191; 클로로퀸; CLI-095; CU-CPT9a; 사이클로스포린 A; CTY387; 게피티닙; 글리벤클라미드; H-89; H-131; 이소리퀴리티게닌; MCC950; MRT67307; OxPAPC; 파르테놀리드; Pepinh-MYD; Pepinh-TRIF; 폴리믹신 B; R406; RU.521; VX-765; YM201636; Z-VAD-FMK; 및 2,3,7,8-테트라클로로-디벤조-p-다이옥신(TCDD), 트립타민(TA), 및 6 포르밀인돌로[3,2 b]카바졸(FICZ)을 포함하되, 이에 국한되지 않는 AHR-특이적 리간드를 포

함한다. 특정 구현예에서, 면역억제제는 핑골리모드; 라파마이신; 2-(1'H-인돌-3'-카보닐)-티아졸-4-카복실산 메틸 에스테르(ITE) 또는 관련 리간드; 트리코스타틴 A; 및/또는 수베로일아닐리드 하이드록삼산(SAHA)이다.

[0303] 이러한 방법은 면역관용성 항원과 관련되거나 관련되지 않은 나노입자를 포함하는 조성물 및/또는 면역조절제 (예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC))를 포함하는 조성물을 투여하는 특정 방식에 국한되지 않는다. 실제로, 해당 기술분야의 숙련자에게 알려진 모든 허용가능한 방법을 사용하여 두 조성물 중 하나를 대상체에게 투여할 수 있다. 투여는 국소적(즉, 특정 영역, 생리적 시스템, 조직, 기관, 또는 세포 유형)이거나 전신적일 수 있다. 이러한 조성물은 경구, 흡입(비강 또는 폐), 정맥내, 복강내, 근육내, 경피, 피하, 국소, 피하, 설하, 또는 직장 수단을 포함하되, 이에 국한되지 않는 여러 경로로 투여될 수 있다. 주사는, 예를 들어, 정맥내, 피내, 피하, 근육내 또는 복강내일 수 있다. 일부 구현예에서, 주사는 여러 위치에 투여될 수 있다.

[0304] 제형의 투여는 조성물 중 어느 것의 유효량이 원하는 효과를 달성할 수 있도록 하는 모든 허용 가능한 방법으로 달성될 수 있다. 선택된 특정 모드는 특정 제형, 치료받는 대상체의 상태의 중증도, 및 효과적인 면역 반응을 유도하는 데 필요한 투여량과 같은 요인에 따라 달라질 것이다. 일반적으로 본 명세서에서 사용되는 "유효량"은 항원-특이적 조절 Treg(예를 들어, CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺)의 생체 내 증폭을 유도하고/하거나 자가면역 질환과 관련된 항원에 대한 강력한 면역 관용을 촉진하고/하거나 치료 대상에서 면역 반응을 유도할 수 있는 양이다. 이러한 조성물 중 하나의 실제 유효량은 사용되는 특정 항원 또는 이의 조합, 제형화된 특정 조성물, 투여 방식, 백신접종하고자 하는 개인의 나이, 체중, 상태, 뿐만 아니라 투여 경로 및 질병 또는 질환에 따라 달라질 수 있다.

[0305] 약제학적 조성물

[0306] 임상적 적용이 고려되는 경우, 본 발명의 일부 구현예에서는 면역관용성 항원과 결합되거나 결합되지 않은 나노입자를 포함하는 조성물 및/또는 하나 이상의 면역 조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC))를 포함하는 조성물이 의도된 적용에 적합한 형태의 약제학적 조성물의 일부로 제조된다. 일반적으로, 이는 본질적으로 발열원, 뿐만 아니라 인간 또는 동물에게 해로울 수 있는 다른 불순물이 없는 조성물을 제조하는 것을 수반한다. 그러나, 본 발명의 일부 구현예에서, 면역관용성 항원과 결합되거나 결합되지 않은 나노입자를 포함하는 직선 조성물 및/또는 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC))를 포함하는 조성물은 본 명세서에 기술된 경로 중 하나 이상을 사용하여 투여될 수 있다.

[0307] 바람직한 구현예에서, 상기 조성물은 적절한 염 및 버퍼와 함께 사용되어 조성물이 안정적으로 전달되고, 표적 세포에 흡수될 수 있도록 한다. 또한, 조성물 중 어느 것이 환자에게 도입될 때도 버퍼가 사용된다.

[0308] 수성 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체 또는 수성 매질에 분산된 세포에 대한 유효량의 sHDL 나노입자를 포함한다. 이러한 조성물은 또한 접종물이라고도 한다.

[0309] "약제학적으로 또는 약리학적으로 허용되는"이라는 문구는 동물이나 인간에게 투여했을 때 부작용, 알레르기 또는 기타 불리한 반응을 일으키지 않는 분자적 실체(molecular entity) 및 조성물을 의미한다. 본 명세서에서 사용되는 "약제학적으로 허용되는 담체"에는 임의의 및 모든 용매, 분산 매질, 코팅, 항균제 및 항진균제, 등장화제 및 흡수 지연제 등이 포함된다. 본 발명의 벡터 또는 세포와 양립할 수 없는 임의의 통상적인 매질 또는 제제를 제외하고는, 치료 조성물에서의 사용이 고려된다. 보충 활성 성분도 조성물에 포함될 수 있다.

[0310] 본 발명의 일부 구현예에서, 활성 조성물은 고전적인 약제학적 제제를 포함한다. 본 발명에 따른 이러한 조성물의 투여는 표적 조직이 해당 경로를 통해 이용 가능하지만 하면 모든 일반적인 경로를 통해 이루어진다. 이러한 경로에는 경구, 비강, 협측, 직장, 질, 피하, 또는 국소가 포함된다. 대안적으로, 투여는 정위적(orthotopic), 피내, 피하, 근육내, 복강내, 또는 정맥내 주사에 의해 이루어질 수 있다.

[0311] 활성 조성물은 비경구 또는 복강내 또는 종양내 투여될 수도 있다. 활성 화합물의 용액은 유리 염기 또는 약리학적으로 허용되는 염으로서, 하이드록시프로필 셀룰로스 및 같은 계면활성제와 적절히 혼합된 물에서 제조된다. 분산액은 또한 글리세롤, 액상 폴리에틸렌 글리콜, 및 이들의 혼합물과 오일에서 제조될 수 있다. 일반적인 보관 및 사용 조건에서, 이러한 제제는 미생물의 성장을 방지하기 위한 방부제를 함유한다.

[0312] 주사용으로 적합한 약제학적 형태에는 멸균 수용액 또는 분산액 및 멸균 주사용 용액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 멸균 분말이 포함된다. 담체는, 예를 들어, 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌

글리콜, 및 액상 폴리에틸렌 글리콜 등), 이들의 적합한 혼합물, 및 식물성 오일을 포함하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 적절한 유동성은, 예를 들어, 레시틴과 같은 코팅을 사용하거나 분산액의 경우 필요한 입자 크기를 유지하거나 계면활성제를 사용하여 유지될 수 있다. 미생물 작용의 예방은 다양한 항균제 및 항진균제, 예를 들어, 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 소르브산, 티메로살 등에 의해 이루어질 수 있다. 많은 경우, 등장화제, 예를 들어, 당 또는 염화나트륨을 포함하는 것이 바람직할 수 있다. 주사 조성물의 장기 흡수는 조성물에 흡수를 지연시키는 제제, 예를 들어, 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴을 사용함으로써 이루어질 수 있다.

[0313] 평균 주사용 용액은 필요한 양의 조성물 중 어느 것을 적절한 용매에, 필요에 따라 위에 열거된 다양한 다른 성분과 함께 혼합한 다음 여과 멸균하여 제조된다. 일반적으로, 분산액은 다양한 멸균 활성 성분을, 기본 분산 매질과 위에 열거된 성분 중 필요한 다른 성분을 포함하는 멸균된 비히클에 혼합하여 제조된다. 평균 주사용 용액을 제조하기 위한 멸균 분말의 경우, 바람직한 제조 방법은 진공-건조 및 동결-건조 기술이며, 이는 사전에 멸균 여과된 용액에서 활성 성분과 원하는 임의의 추가 성분을 포함하는 분말을 생성한다.

[0314] 제형화 시, 조성물 중 어느 것이든 투여 제형에 적합한 방식으로 그리고 치료적으로 효과적인 양으로 투여된다. 제형은 주사 용액, 약물 방출 캡슐 등과 같은 다양한 투여 형태로 쉽게 투여된다. 예를 들어, 수용액으로 비경구 투여하는 경우, 필요한 경우, 용액을 적절히 완충하고, 액체 희석제를 충분한 식염수 또는 포도당으로 먼저 등장화한다. 이러한 특정 수용액은 정맥내, 근육내, 피하, 및 복강내 투여에 특히 적합하다. 예를 들어, 한 용량을 등장성 NaCl 용액 1ml에 녹인 다음 1000ml의 피하주사액(hypodermoclysis fluid)에 첨가하거나, 또는 제안된 주입 부위에 주사할 수 있다(예를 들어, "Remington's Pharmaceutical Sciences" 15th Edition, pages 1035-1038 및 1570-1580 참조). 본 발명의 일부 구현예에서, 활성 입자 또는 활성제는 치료 혼합물 내에서 약 0.0001 내지 1.0mg, 또는 약 0.001 내지 0.1mg, 또는 약 0.1 내지 1.0mg 또는 심지어 약 10mg/용량 등을 포함하도록 제형화된다. 여러 번 투여할 수도 있다.

[0315] 다른 투여 방식에 적합한 추가 제형에는 질 좌약과 페서리가 포함된다. 직장 페서리나 좌약도 사용될 수 있다. 좌약은 다양한 무게와 모양의 고체 투여 형태로, 보통 약물을 직장, 질 또는 요도에 삽입하여 투여된다. 삽입 후, 좌약은 체강 내 액체에 의해 부드러워지거나 녹거나 용해된다. 일반적으로, 좌약의 경우, 통상적인 결합제 및 담체로는, 예를 들어, 폴리알킬렌 글리콜 또는 트리글리세라이드가 포함될 수 있으며; 이러한 좌약은 활성 성분을 0.5% 내지 10%, 바람직하게는 1% 내지 2% 범위로 함유하는 혼합물로부터 형성될 수 있다. 질 좌약 또는 페서리는 일반적으로 구형 또는 난형이며, 각각 무게가 약 5g 정도 된다. 질 약물은 크림, 젤 또는 액체와 같이 다양한 물리적 형태로 제공되는데, 이는 좌약의 고전적 개념에서 벗어난다. 조성물은 또한 흡입제로 제형화될 수 있다.

[0316] **키트**

[0317] 일부 구현예에서, 본 발명은 또한 하나 이상의 면역관용성 항원과 결합된 하나 이상의 나노입자를 포함하는 조성물 및/또는 본 명세서에 기재된 하나 이상의 면역조절제(예를 들어, 인간 사이토카인(예를 들어, IL-2, IL-2 뮤테인, IL-2 변이체, 또는 IL-2/IC))를 포함하는 조성물을 포함하는 키트를 제공한다. 일부 구현예에서, 키트는 조성물 중 어느 것을 생성하는 데 필요한 하나 이상의 시약 및 도구와 이러한 조성물 중 어느 것을 사용하는 방법을 포함한다.

[0318] **실시예**

[0319] 다음 실시예는 본 발명의 특정한 바람직한 구현예 및 측면을 입증하고 추가로 설명하기 위해 제공된 것으로, 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다. "우리", "우리의" 및 "나"와 같은 대명사의 사용은 발명 주체를 지칭한다.

[0320] **실시예 I.**

[0321] 항원-로딩된 나노디스크의 제조:

[0322] DMPC(1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린)와 DOPE-MAL(N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L- α -포스파티딜 에탄올아민)은 NOF AMERICA CORPORATION에서 구입했다. DMPC와 ApoA1-모방체 펩타이드 22A(PVLDLFRELLBELLKQK) 분말을 10mM 인산나트륨 버퍼(DMPC: 22A = 2 : 1, 질량비)에서 혼합하고 수화시킨 다음, 가열과 냉각 사이클을 거쳐 블랭크 합성 HDL 나노디스크를 얻은 다음, 실온에서 5분간 초음파 처리했다. 항원 펩타이드를 블랭크 나노디스크에 로딩하기 위해, 시스테인-말단화된 항원 펩타이드를 먼저 DOPE-MAL(항원 펩타이드: DOPE-MAL = 2 : 1, 몰 비율)과 접합했다. 그런 다음 DOPE-펩타이드를 블랭크 나노디스크(22A: 항원 펩타이드 = 5 : 1, 질량 비율)에 첨가하고 오비탈 진탕기(orbital shaker)에서 가볍게 진탕시키면서

실온에서 1시간 동안 인큐베이션했다. 반응하지 않은 항원 펩타이드는 Zeba Spin 탈염 컬럼(Pierce)을 사용하여 제거되었다. 이 연구에서 사용된 항원 펩타이드는 OVA-II(OVA323-339) 펩타이드, CSS-ISQAVHAAHAEINEAGR이었다. 펩타이드 로딩 효율은 LC-MS로 측정했다. 나노디스크-OVA-II는 TSKgel G3000SWx1 컬럼(7.8 mm ID × 30 cm, Tosoh Bioscience LLC)이 장착된 겔 투과 크로마토그래피(GPC)로 분석했다. 나노디스크 샘플의 유체역학적 크기와 제타 전위는 동적 광산란(DLS, Zetasizer Nano ZSP)으로 측정되었다.

[0323] 마우스 IL-2: 항-IL-2 면역 복합체(IL-2/IC)의 제조:

[0324] IL-2/항-IL-2 mAb 면역 복합체(IL-2/IC)는 이전에 보고된 바와 같이 제조되었다[15]. 항-IL-2 mAb(JES6-1A12, InVivoMab, BioX-Cell, Lebanon, NH) 0.1mg을 HBSS(Mediatech, Herndon, VA) 2mL에서 재조합 무린 IL-2(20 μg, PeproTech, Rocky Hill, NJ)와 시험관 내에서 혼합하고, 실온에서 10분 동안 인큐베이션했다. 그런 다음 생성된 IL-2/IC를 1 μg의 무린 IL-2와 5 μg의 IL-2 mAb를 함유한 0.1mL 단일 주사 용량으로 투여했다.

[0325] 동물 연구

[0326] 동물은 연방, 주 및 지방 지침에 따라 관리되었다. 동물에 대해 수행된 모든 작업은 미시간 대학교(Ann Arbor 소재)의 동물실험윤리위원회(Institutional Animal Care & Use Committee, IACUC)의 승인을 받아 수행되었다. 7주령 암컷 C57BL/6 마우스를 각 그룹에 5마리씩 무작위로 5개 그룹으로 나누었다. 0일, 7일 및 14일째에 그룹 1, 2 및 3의 마우스의 꼬리 부분에 나노디스크-OVA-II(0.1mg OVA-II 펩타이드 포함) 0.1mL를 피하로 주사했다. 또한, 그룹 1은 각 나노디스크-OVA-II 주사 후 1일, 2일 및 3일째에 준비된 IL-2/IC 용액(위에서 설명됨) 0.1mL를 복강 내(i.p.)로 투여받았다. 그룹 2는 각 나노디스크-OVA-II 주사 후 3일, 4일 및 5일째에 준비된 IL-2/IC 용액(위에서 설명됨) 0.1mL를 복강 내(i.p.)로 투여받았다. 그룹 3 마우스는 IL-2/IC를 투여받지 않았다. 그룹 4 마우스는 0주, 1주, 2주 동안 1일, 2일, 3일째에 IL-2/IC만을 투여받았다(나노디스크-OVA-II 주입이 없는 그룹 1과 유사). 그룹 5는 PBS를 투여받았다. 7일, 14일, 21일, 28일째에 말초혈액을 채취하여 유세포 분석을 실시했다.

[0327] 유세포 분석

[0328] 지정된 시간 지점에서, 150 내지 200uL의 혈액을 개별 마우스에서 수집하여 EDTA 코팅된 튜브에 넣었다. 적혈구 용해를 위해 상기 혈액량을 1.5mL 에펜도르프 튜브로 옮겼다. 각 혈액량에 ACK 용해 버퍼 1mL를 첨가하여 적혈구를 용해시키고 튜브를 실온에서 5분 동안 진탕시켰다. 5분 후, 튜브를 600g에서 5분 동안 회전시키고 상청액을 버렸다. 펠렛을 ACK 용해 버퍼 1mL에 다시 현탁시키고 즉시 600g에서 5분 동안 회전시켰다. 상청액을 버리고, PBMC를 PBS에 재현탁하여 96웰 플레이트로 옮겨 PBS로 한 번 세척한 다음 FACS 염색을 진행했다. 표면 염색을 위해, 세포를 먼저 실온에서 어두운 곳에서 PBS 중에서 eBioscience Fixable Viability Dye eFluor450 과 함께 10분 동안 인큐베이션했다. PBMC를 PBS 200uL로 세척하고 600g에서 5분 동안 회전시켰다. 상청액을 버리고, 샘플을 FACS 버퍼(PBS + 1% BSA) 중에서 Fc Block(항-CD16/32)에 현탁했다. 어두운 곳에서 실온에서 10분 동안 차단을 진행한 후, OT-II 사량체를 FACS 버퍼에 최종 희석도 1:40으로 희석하여 웰에 첨가했다. OT-II 사량체(NIH Tetramer Core Facility, Atlanta, GA)를 어두운 곳에서 실온에서 1시간 동안 PBMC와 함께 인큐베이션했다. OT-II 사량체 인큐베이션이 끝나기 20분 전에 표면 항체를 최종 희석도 1:100으로 샘플에 첨가했다. 사량체와 표면 항체 인큐베이션 후, PBMC를 FAC 버퍼 200uL로 세척하고 600g에서 5분 동안 회전시켰다. Foxp3 세포내 염색을 위해, 키트의 지침에 따라 eBioscience™ Foxp3/전사 인자 염색 버퍼 세트를 사용했다. 총 세포 수를 측정하기 위해, BioRad ZE5 분석기에서 수집 전에 완전히 염색된 PBMC 샘플에 Life Technologies Absolute Counting Beads 50 uL를 첨가했다. FSC 파일은 FlowJo를 사용하여 분석했다.

[0329] 항원-로딩된 나노디스크의 특성화:

[0330] HDL 나노디스크-OVA-II의 합성 및 특성화

[0331] 블랭크 HDL 나노디스크는 평균 직경이 $8.9 \pm 2.1\text{nm}$ (PDI = 0.137)인 반면, OVA-II-로딩된 HDL 나노디스크는 평균 직경이 $10.4 \pm 2.6\text{ nm}$ (PDI = 0.095, **도 1**)였다. sHDL 나노디스크에서 OVA-II의 로딩 효율은 LC-MS로 정량화한 결과 약 99%였다(**도 2**). 그리고 합성된 블랭크 나노디스크 및 나노디스크-OVA-II는 겔 투과 크로마토그래피(GPC) 분석에 의해 추가로 특성화되고, 나노디스크-OVA-II는 GPC 분석에서 균일한 단일 피크를 보여주었고, 더 짧은 체류 시간을 나타냈다(0.8mL/분, PBS를 이동상으로 사용, 컬럼: TSKgel G3000SWx1, TOSOH Bioscience).

[0332] 마우스에서 항원-특이적 T 세포의 분석:

- [0333] C57BL/6 마우스에게 나노디스크-OVA-II(ND-OVA-II)를 피하 주사(s.c.)로 투여하고, 도 4에 나와 있는 투약 계획을 사용하여 IL-2/IC를 복강 내(i.p.) 경로로 처리했다. 대조 그룹에는 ND-OVA-II, IL-2/IC, 또는 PBS 치료만 포함되었다. 전신 면역 반응은 초기 ND-OVA-II 투여 후 7일과 14일에 유세포 분석법으로 측정되었다.
- [0334] 7일까지, 3, 4, 5일(D3,4,5)에 IL-2/IC와 함께 ND-OVA-II를 투여받거나 IL-2/IC만을 투여받은 그룹 2와 4의 동물은 PBMC 가운데 CD4⁺ T 세포의 빈도가 증가한 것으로 나타났다(도 5, 도 6a). 1, 2, 3일(D1,2,3)에 IL-2/IC와 함께 ND-OVA-II를 투여받은 그룹 1의 동물은 OT-II 사랑체⁺ 항원-특이적 CD4⁺ T 세포의 빈도가 유의하게 더 높게 유도되었다(도 5, 도 6b). IL-2/IC와 함께 ND-OVA-II를 투여받거나 IL-2/IC만을 투여받은 그룹 1, 2 및 4의 마우스는 ND-OVA-II 또는 PBS로 치료받은 그룹 3 및 5의 마우스와 비교하여 총 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ T 조절 세포(Treg)가 5배 증가한 것으로 나타났다(도 6c). 중요한 점은 ND-OVA-II + IL-2/IC(D1,2,3)가 OT-II 사랑체⁺ CD25⁺Foxp3⁺ T_{reg}의 강력한 확장을 유도했다는 것이며(도 6d); 이러한 OVA-특이적 T_{reg}는 전체 T_{reg}의 약 10%를 차지했다. ND-OVA-II + IL-2/IC(D3,4,5) 처리를 받은 그룹 2의 마우스는 항원-특이적 Treg가 적게 확장되었지만(도 6d), 이러한 세포는 ND-OVA-II + IL-2/IC (D1,2,3) 또는 IL-2/IC만으로 유도된 Treg와 비교하여 전체 CD25⁺Foxp3⁺ T_{reg}와 OT-II 사랑체⁺ CD25⁺Foxp3⁺ T_{reg} 사이에서 CD25의 발현이 유의하게 높은 것으로 나타났다(도 6e,f).
- [0335] 14일까지, IL-2/IC(D1,2,3)를 투여받은 마우스는 다른 그룹과 비교하여 PBMC 가운데 CD4⁺ T 세포가 증가했다(도 7, 도 8a). 3, 4, 5일(D3,4,5)에 IL-2/IC와 함께 ND-OVA-II를 투여하거나 IL-2/IC를 투여한 경우 PBMC 가운데 CD4⁺ T 세포의 빈도가 증가한 것으로 나타났다(도 7, 도 8a). 7일째와 마찬가지로, ND-OVA-II + IL-2/IC(D1,2,3)로 처리된 동물은 항원-특이적 OT-II 사랑체⁺ CD4⁺ T 세포가 더욱 확장되어 CD4⁺ T 세포의 약 20%에 도달했다(도 7, 도 8b). 총 T_{reg}는 ND-OVA-II 및 PBS 대조군과 비교하여, ND OVA-II + IL-2/IC(D1,2,3)와 ND-OVA-II + IL-2/IC(D3,4,5)에서 각각 5배와 10배 증가했다(도 7, 8c). 7일째와 마찬가지로, ND-OVA-II + IL-2/IC (D1,2,3)로 처리된 동물은 항원-특이적 T_{reg}의 추가적인 확장을 보였으며, 이제 전체 T_{reg}의 약 22%가 OT-II 사랑체에 대해 양성으로 염색되었다(도 8d).
- [0336] 14일째 샘플의 경우, 세포 집단 빈도를 평가하는 것 외에도, Life Technologies Absolute Counting Beads를 유동 샘플에 추가하여 세포 수를 측정했다. ND-OVA-II + IL-2/IC (D3,4,5) 동물은 가장 많은 총 T_{reg} 수를 나타냈으며, 혈액 2mL당 평균 약 99,000개의 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ 세포가 계산되었다(도 8c). ND-OVA-II + IL-2/IC (D1,2,3) 마우스는 항원 특이적 T_{reg}의 수가 가장 많았으며, 혈액 2mL당 약 16,400개의 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺OT-II 사랑체⁺ 세포가 계산되었다(도 8d). 또한, 전체 T_{reg}와 OT-II 사랑체⁺ T_{reg}에서 CD25 및 GITR 발현을 측정했다. 7일째 데이터와 유사하게, ND-OVA-II + IL-2/IC (D3,4,5) 처리는 다른 모든 그룹과 비교하여 전체 T_{reg}와 OT-II 사랑체⁺ T_{reg}에서 CD25와 GITR의 발현이 가장 높게 나타났다(도 8e,f)
- [0337] 이러한 연구 결과의 요약은 도 9에 나와 있다. ND-OVA-II + IL-2/IC (D1,2,3) 처리로 인해 PBMC 가운데 CD4⁺ T 세포의 전체 T_{reg}가 7일 및 14일째에 약 30%로 확장되었다. ND-OVA-II + IL-2/IC (D1,2,3) 처리로 인해 PBMC 가운데 CD4⁺ T 세포 중 항원-특이적 OT-II 사랑체⁺ Foxp3⁺CD25⁺ T_{reg}가 7일 및 14일째에 약 3%에서 약 6.5%로 증가했으며(도 9b), 이는 IL-2/IC 단독 처리에 비해 6배 및 20배 개선되었음을 나타낸다. 특히, ND-OVA-II + IL-2/IC (D1,2,3) 처리로 인해 전체 CD4⁺ T 세포 중 항원-특이적 OT-II 사랑체⁺ Foxp3⁻CD25⁺ T_{conv}도 7일 및 14일째에 각각 약 1%에서 약 3.3%로 확장되었다(도 9c).
- [0338] 반면, ND-OVA-II + IL-2/IC (D3,4,5) 처리로 PBMC의 CD4⁺ T 세포 중 총 T_{reg}가 7일째에 약 35%에서 14일째에 약 50%로 증가했다(도 9a). ND-OVA-II + IL-2/IC (D3,4,5) 처리로 인해 PBMC의 CD4⁺ T 세포 중 항원-특이적 OT-II 사랑체⁺ Foxp3⁺CD25⁺ T_{reg}가 7일 및 14일째에 각각 약 0.2%에서 약 2%로 증가했으며(도 9b), 이는 14일까지 IL-2/IC 단독 처리에 비해 6배 증가한 것이었다. ND-OVA-II + IL-2/IC (D3,4,5) 처리로 인해 총 CD4⁺ T 세포 중

항원-특이적 OT-II 사랑체⁺ Foxp3⁻CD25⁺ T_{conv}도 7일 및 14일째에 각각 약 0.1%에서 약 0.6%로 증가했다(도 9c).

[0339] ND-OVA-II + IL-2/IC (D3,4,5) 동물은 더 적은 수와 비율의 항원 특이적 T_{reg}를 획득했지만(도 9b), ND-OVA-II + IL-2/IC (D1,2,3) 및 IL-2/IC (D3,4,5) 단독 처리 그룹과 비교하여 CD4⁺ 세포 중 총 T_{reg}의 유의미한 증가(도 9a)와 더 높은 CD25 및 GITR 발현(도 6e, f, 도 8e, f)을 보여주었다. CD25 및 GITR의 발현 증가는 ND-OVA-II + IL-2/IC (D3,4,5) 요법으로 자극된 T_{reg}가 더 기능적일 수 있음을 시사한다.

[0340] **실시예 II.**

[0341] T_{reg}는 염증이 있는 조직에서 면역 관용의 강력한 매개체이다. 그러나 특정 조직으로의 T_{reg} 이동을 촉진하고 제어하는 방법은 여전히 알려지지 않았다. 순환하는 T_{reg}는 국소 조직에 동족 항원을 적용하여 특정 조직으로 동원될 수 있다고 생각되었다. 우리는 국소 조직의 항원-제시 세포에 표시된 펩타이드-MHC-II 복합체가 T 세포 반응을 유발하여, 케모카인을 분비하고 조직으로 T_{reg}를 동원할 것으로 예상된다. 따라서, 이러한 접근법은 T_{reg}를 국소 조직으로 동원하고 국소 면역 관용을 매개하는 데 유익할 수 있다.

[0342] 또한, 이 접근법은 미확인 자가항원이 있는 자가면역 질병에도 광범위하게 적용될 수 있다. 자가항원은 자가면역 질병의 하위 집합에서 잘 정의되어 있지만, 많은 자가면역 질병에는 정의되지 않은 자가항원이 있다. 따라서, 일반 순환계에서 T_{reg}를 유도하고 특정 조직이나 기관으로의 조직 침투를 촉진하는 항원 비특이적 접근법을 개발하는 것이 유익할 것이다.

[0343] 실시예 I에서, 우리는 항원-로딩된 나노디스크가 IL-2/IC 처리와 함께 결합되어 혈액 순환에서 항원-특이적 Treg를 강력하게 유도한다는 것을 보고했다. 이 실시예(실시예 II)에서는 항원이 적용된 귀 피부 조직으로 혈액 순환 내의 항원-특이적 Treg가 모집될 수 있음을 보여준다. 따라서, 항원-나노디스크를 IL-2/IC 또는 뮤테인 IL-2 처리와 함께 사용한 후 자가항원을 적용(주사 또는 국소 적용)하면 특정 조직 및 기관으로 T_{reg} 침투를 유도할 수 있다고 생각된다.

[0344] 항원-로딩된 나노디스크의 제조:

[0345] DMPC(1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린)와 DOPE-MAL(N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L-α-포스파티딜 에탄올아민)은 NOF AMERICA CORPORATION에서 구입했다. DMPC와 ApoA1-모방체 펩타이드 22A(PVLDLFRELLBELLEALKQK) 분말을 10mM 인산나트륨 버퍼(DMPC: 22A = 2 : 1, 질량비)에서 혼합하고 수화시킨 다음, 가열과 냉각 사이클을 거쳐 블랭크 합성 HDL 나노디스크를 얻은 다음, 실온에서 5분간 초음파 처리했다. 항원 펩타이드를 블랭크 나노디스크에 로딩하기 위해, 시스테인-말단화된 항원 펩타이드를 먼저 DOPE-MAL(항원 펩타이드: DOPE-MAL = 2 : 1, 몰 비율)과 접합했다. 그런 다음 DOPE-펩타이드를 블랭크 나노디스크(22A: 항원 펩타이드 = 5 : 1, 질량 비율)에 첨가하고 오비탈 진탕기에서 가볍게 진탕시키면서 실온에서 1시간 동안 인큐베이션했다. 반응하지 않은 항원 펩타이드는 Zeba Spin 탈염 컬럼(Pierce)을 사용하여 제거되었다. 이 연구에서 사용된 항원 펩타이드는 OVA-II(OVA323-339) 펩타이드, CSS-ISQAVHAAHAEINEAGR이었다. 펩타이드 로딩 효율은 LC-MS로 측정했다. 나노디스크-OVA-II는 TSKgel G3000SWx1 컬럼(7.8 mm ID × 30 cm, Tosoh Bioscience LLC)이 장착된 겔 투과 크로마토그래피(GPC)로 분석했다. 샘플의 유체역학적 크기와 제타 전위는 동적 광산란(DLS, Zetasizer Nano ZSP)으로 측정되었다.

[0346] 마우스 IL-2: 항-IL-2 면역 복합체(IL-2/IC)의 제조:

[0347] IL-2/항-IL-2 mAb 면역 복합체(IL-2/IC)는 이전에 보고된 바와 같이 제조되었다[1]. 항-IL-2 mAb(JES6-1A12, InVivoMab, BioX-Cell, Lebanon, NH) 0.1mg을 HBSS(Mediatech, Herndon, VA) 2mL에서 재조합 무린 IL-2(20 μg, PeproTech, Rocky Hill, NJ)와 시험관 내에서 혼합하고, 실온에서 10분 동안 인큐베이션했다. 그런 다음 생성된 IL-2/IC를 1μg의 무린 IL-2와 5μg의 IL-2 mAb를 함유한 0.1mL 단일 주사 용량으로 투여했다.

[0348] 동물 연구

[0349] 동물은 연방, 주 및 지방 지침에 따라 관리되었다. 동물에 대해 수행된 모든 작업은 미시간 대학교(Ann Arbor 소재)의 동물실험윤리위원회(Institutional Animal Care & Use Committee, IACUC)의 승인을 받아 수행되었다. 7주령 암컷 C57BL/6 마우스를 각 그룹에 5마리씩 무작위로 3개 그룹으로 나누었다. 0일째에 마우스는 9 내지 12 주령 OT-II 형질전환 마우스에서 유래한 2.8 X 10⁶ CD4⁺ T 세포를 안구 뒤 주사로 입양 세포 이식(adoptive cell

transfer, ACT)을 받았다. 다음으로, 0일, 7일 및 14일째에 그룹 1 및 2의 마우스는 꼬리 기저부에 0.1mL 나노디스크-OVA-II(0.1mg OVA-II 펩타이드 포함)를 피하 주사로 투여받았다. 또한, 그룹 1은 각 나노디스크-OVA-II 주사 후 3일, 4일 및 5일째에 준비된 IL-2/IC 용액(위에서 설명됨) 0.1mL를 복강 내(i.p.)로 투여받았다. 그룹 2의 마우스는 ACT + 나노디스크-OVA-II 처리만을 받았고, 그룹 3의 마우스는 대조 그룹으로 ACT + PBS 처리를 받았다. 25일째에 마우스를 이소플루란 흡입으로 마취하고, 왼쪽과 오른쪽 귀에 각각 PBS 중 OVA-II 펩타이드 또는 무관한 MOG35-55 펩타이드 10mg을 29G-바늘 주사기(BD SAFETYGLIDE 0.5ML INSULIN SYRINGE 29G X 0.5")를 사용하여 피내 투여하였다. 24시간 후, 마우스를 안락사시키고, 귀에서 세포 현탁액을 준비했다. 간단히 말해서, 귀를 제거하고 등쪽과 배쪽 반쪽으로 나누고 연골을 제거했다. 피부를 작은 조각으로 자르고 2% FBS가 포함된 5mg/ml DNase I(Sigma-Aldrich)과 3mg/ml 콜라게나제 유형 III(Sigma-Aldrich)를 포함한 RPMI 1640 용액에서 37°C에서 90분 동안 분해했다. 세포 현탁액을 70-um 스트레이너(strainer)로 통과시키고 유세포 분석 전에 세척했다.

[0350] 유세포 분석

[0351] 표면 염색을 위해, 각 귀의 분해로부터 얻은 전체 세포를 96웰 플레이트로 옮긴 후, PBS 중 eBioscience Fixable Viability Dye eFluor450과 함께 어두운 곳에서 실온에서 10분 동안 인큐베이션했다. 샘플을 200 uL PBS로 세척하고 600g에서 5분 동안 회전시켰다. 상청액을 버리고, 세포를 FACS 버퍼(PBS + 1% BSA) 중 Fc Block(항-CD16/32)에 현탁했다. 어두운 곳에서 실온에서 10분 동안 차단을 진행한 후, OT-II 사량체를 FACS 버퍼에 최종 희석도 1:40으로 희석하여 웰에 첨가했다. OT-II 사량체(NIH Tetramer Core Facility, Atlanta, GA)를 어두운 곳에서 실온에서 1시간 동안 FACs 샘플과 함께 인큐베이션했다. OT-II 사량체 인큐베이션이 끝나기 20분 전에 표면 항체를 최종 희석도 1:100으로 희석하여 샘플에 첨가했다. 사량체와 표면 항체 인큐베이션 후, 세포를 200 uL FACs 버퍼로 세척하고, 600g에서 5분 동안 회전시켰다. Foxp3 세포내 염색을 위해, 키트의 지침에 따라 eBioscience™ Foxp3/전사 인자 염색 버퍼 세트를 사용했다. 총 세포 수를 측정하기 위해, BioRad ZE5 분석기에서 수집 전에 완전히 염색된 샘플에 Life Technologies Absolute Counting Beads 25uL를 첨가했다. FSC 파일은 FlowJo를 사용하여 분석했다.

[0352] 귀에서 항원 투여 후 항원-특이적 T 세포의 분석.

[0353] C57BL/6 마우스에게 안구 뒤 정맥 주사를 통해 2.8×10^6 CD4⁺ OVA-II T 세포(ACT)를 투여했다. 하루 후, 나노디스크-OVA-II(ND-OVA-II)를 피하로 투여하고 마우스를 도 10에 나와 있는 요법을 사용하여 복강 내 경로를 통해 IL-2/IC로 처리했다. 대조 그룹에는 ACT+ND-OVA-II 또는 ACT+PBS 처리가 포함되었다. 초기 ND 백신접종 후 25일째에 마우스는 오른쪽 귀에 OVA-II 펩타이드 10ug을, 왼쪽 귀에는 무관한 MOG 펩타이드를 피내 주사로 투여했다. 24시간 후, 왼쪽과 오른쪽 귀를 절개하여 단일 세포 현탁액으로 처리하고, 유세포 분석을 위해 염색했다. ACT + ND-OVA-II + IL-2/IC(D3,4,5)로 처리한 마우스에서 OVA-II 특이적 펩타이드가 투여된 귀에는 평균 13,000개의 총 CD4⁺ T 세포가 포함되어 있었으며, 이는 MOG-투여 귀에서 발견된 4,300개와 비교된다(도 11a). 또한, OVA-II 펩타이드가 투여된 귀는 ACT + ND-OVA-II + IL-2/IC(D3,4,5) 또는 ACT + ND-OVA-II로 처리된 마우스에서 총 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T_{reg} 및 항원-특이적 OT-II-사량체⁺CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T_{reg}의 수가 증가한 것으로 나타났다(도 11b, 11c). ACT + ND-OVA-II + IL-2/IC(D3,4,5)로 처리된 마우스에서 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T_{reg}와 OT-II 사량체⁺T_{reg}의 수는 무관한 MOG 펩타이드가 투여된 귀와 비교하여 OVA-II 투여된 귀에서 각각 3.2배 및 3.8배 증가했다(도 11b, 11c). OVA-II 펩타이드가 투여된 ACT + ND-OVA-II 또는 ACT + PBS 대조군과 비교하여, ACT + ND-OVA-II + IL-2/IC(D3,4,5) 마우스는 평균적으로 귀 조직으로 이동하는 항원-특이적 T_{reg}의 총 수가 5배 또는 1000배 증가한 것으로 나타났다(도 11c).

[0354] 실시예 III.

[0355] 재료 및 방법

[0356] 항원-로딩된 나노디스크의 제조

[0357] DMPC(1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린)와 DOPE-MAL(N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L-α-포스포티딜 에탄올아민)은 NOF AMERICA CORPORATION과 Avanti Polar Lipids에서 각각 구입했다. DMPC와 ApoA1-모방체 펩타이드 22A(PVLDFRELLBELLEALKQKLLK) 분말을 10mM 인산나트륨 버퍼(DMPC: 22A = 2 : 1, 질량비)에서 혼합하고 수화시킨 다음, 가열과 냉각 사이클을 거쳐 블랭크 합성 HDL 나노디스크(ND)를 얻은 다음, 실온에서 2분간 초음파

처리했다. 항원 펩타이드를 블랭크 나노디스크에 로딩하기 위해, 시스테인-말단화된 항원 펩타이드를 먼저 DOPE-MAL(항원 펩타이드: DOPE-MAL = 1.5 : 1, 몰비)과 접합했다. 그런 다음 DOPE-펩타이드를 블랭크 나노디스크(22A: 항원 펩타이드 = 5 : 1, 질량 비율)에 첨가하고 오비탈 진탕기에서 가볍게 진탕시키면서 실온에서 1시간 동안 인큐베이션했다. 반응하지 않은 항원 펩타이드는 Zeba Spin 탈염 컬럼(Pierce)을 사용하여 제거되었다. 이 연구에 사용된 항원 펩타이드는 OVA-II (OVA323-339) 펩타이드, ISQVHAAHAEINEAGR이었다. 펩타이드 로딩 효율은 LC-MS로 측정했다.

[0358] **마우스 IL-2:항-IL-2 면역 복합체(IL-2/IC)의 제조**

[0359] IL-2/항-IL-2 mAb 면역 복합체(IL-2/IC)는 이전에 보고된 바와 같이 제조되었다 [15]. 항-IL-2 mAb(JES6-1A12, InVivoMab, BioX-Cell, Lebanon, NH) 1mg을 HBSS (Mediatech, Herndon, VA) 20mL 중 제조할 무린 IL-2(PeproTech, Rocky Hill, NJ) 0.2mg과 시험관 내에서 혼합하고, 실온에서 10분 동안 인큐베이션했다. 그런 다음 생성된 IL-2/IC를 1µg의 무린 IL-2와 5µg의 IL-2 mAb를 함유한 0.1mL 단일 주사 용량으로 실험 동물에게 투여했다.

[0360] **동물 연구**

[0361] 동물은 연방, 주 및 지방 지침에 따라 관리되었다. 동물에 대해 수행된 모든 작업은 미시간 대학교(Ann Arbor 소재)의 동물실험윤리위원회(Institutional Animal Care & Use Committee, IACUC)의 승인을 받아 수행되었다. 7주령 암컷 C57BL/6 마우스를 각 그룹에 5마리씩 무작위로 6개 그룹으로 나누었다. 그룹 1(ND-OVA_D-3,+7 + IL2/IC_D3,4,5)의 경우: ND-OVA(0.1mg OVA-II 펩타이드 함유) 0.1mL를 각 마우스의 꼬리 기저부에 피하로 -3일과 7일째에 주입하고; IL2/IC(1µg 무린 IL-2 및 5µg IL-2 mAb 함유) 0.1mL를 각 마우스에게 복강내로(i.p.) 0, 1, 2일째와 10, 11, 12일째에 주입했다. 그룹 2(ND-OVA_D-4,+6 + IL2/IC_D4,5,6)의 경우: ND-OVA(0.1mg OVA-II 펩타이드 함유) 0.1mL를 각 마우스의 꼬리 기저부에 피하로 -4일과 6일째에 주입하고; IL2/IC(1µg 무린 IL-2 및 5µg IL-2 mAb 함유) 0.1mL를 각 마우스에게 복강내로(i.p.) 0, 1, 2일째와 10, 11, 12일째에 주입했다. 그룹 3(ND-OVA_D-3,+7 + IL2/IC_D3,4,5,6,7)의 경우: ND-OVA(0.1mg OVA-II 펩타이드 함유) 0.1mL를 각 마우스의 꼬리 기저부에 피하로 -3일과 7일째에 주입하고; IL2(1µg 무린 IL-2 함유) 0.1mL를 각 마우스에게 복강내로(i.p.) 0,1,2,3,4일째와 10,11,12,13,14일째에 주입했다. 그룹 4(ND-OVA_D-1,+9 + IL2/IC_D1,2,3,4,5)의 경우: ND-OVA(0.1mg OVA-II 펩타이드 함유) 0.1mL를 각 마우스의 꼬리 기저부에 피하로 -1일과 9일째에 주입하고; IL2(1µg 무린 IL-2 함유) 0.1mL를 각 마우스에게 복강내로(i.p.) 0,1,2,3,4일째와 10,11,12,13,14일째에 주입했다. 그룹 5(IL2/IC_D3,4,5)의 경우: IL2/IC(1µg 무린 IL-2 및 5µg IL-2 mAb 함유) 0.1mL를 각 마우스에게 복강내로(i.p.) 0,1,2일째와 10,11,12일째에 주입했다. 그룹 6(IL2/IC_D1,2,3,4,5)의 경우: 도 12에 나타낸 바와 같이 IL2(1µg 무린 IL-2 함유) 0.1mL를 각 마우스에게 복강내로(i.p.) 0,1,2,3,4일째와 10,11,12,13,14일째에 주입했다. 주입에는 29G-바늘 주사기(BD SAFETYGLIDE 0.5ML INSULIN SYRINGE 29G X 0.5")가 사용되었다. 5일, 15일 및 25일째에는 유세포 분석을 위해 마우스 말초혈액을 수집했다.

[0362] **유세포 분석**

[0363] 지정된 시간 지점에서, 150 내지 200µL의 혈액을 개별 마우스에서 수집하여 EDTA 코팅된 튜브에 넣었다. 적혈구 용해를 위해 상기 혈액량을 1.5mL 에펜도르프 튜브로 옮겼다. 각 혈액량에 ACK 용해 버퍼 1 mL를 첨가하여 적혈구를 용해시키고 튜브를 실온에서 5분 동안 진탕시켰다. 5분 후, 튜브를 600g에서 5분 동안 회전시키고 상청액을 버렸다. 펠렛을 ACK 용해 버퍼 1mL에 다시 현탁시키고 즉시 600g에서 5분 동안 회전시켰다. 상청액을 버리고, PBMC를 PBS에 다시 현탁시키고, 96웰 플레이트로 옮기고, FACS 염색을 진행하기 전에 PBS로 한 번 세척했다. 표면 염색을 위해, 세포를 먼저 실온에서 어두운 곳에서 PBS 중에서 eBioscience Fixable Viability Dye eFluor450과 함께 10분 동안 인큐베이션했다. PBMC를 PBS 200µL로 세척하고 600g에서 5분 동안 회전시켰다. 상청액을 버리고, 샘플을 FACS 버퍼(PBS + 1% BSA) 중에서 Fc Block(항-CD16/32)에 현탁했다. 어두운 곳에서 실온에서 10분 동안 차단을 진행한 후, OT-II 사당체를 FACS 버퍼에 최종 희석도 1:40으로 희석하여 웰에 첨가했다. OT-II 사당체(NIH Tetramer Core Facility, Atlanta, GA)를 어두운 곳에서 실온에서 1시간 동안 PBMC와 함께 인큐베이션했다. OT-II 사당체 인큐베이션이 끝나기 20분 전에 표면 항체를 최종 희석도 1:100으로 샘플에 첨가했다. 사당체와 표면 항체 인큐베이션 후, PBMC를 FAC 버퍼 200µL로 세척하고 600g에서 5분 동안 회전시켰다. Foxp3 세포내 염색을 위해, 키트의 지침에 따라 eBioscience™ Foxp3/전사 인자 염색 버퍼 세트를 사용했다. BioRad ZE5 분석기에서 수집 전에 완전히 염색된 PBMC 샘플에 Life Technologies Absolute Counting Beads 50 µL를 첨가했다. FSC 파일은 FlowJo를 사용하여 분석했다.

[0364] **결과**

[0365] **투여 요법의 최적화 및 ND + wtIL2 대 ND + IL2/IC 비교**

[0366] C57BL/6 마우스에 나노디스크-OVA-II(ND-OVA)를 피하로 투여하고, **도 12**에 도시된 요법에 따라 IL-2 면역 복합체(IL-2/IC) 또는 야생형 IL-2 단백질(IL-2)을 복강내 경로로 처리했다. 우리는 실시예 I에서 초기 ND-OVA 백신 접종에 더 가까운 시점에 투여된 IL-2/IC 주사가 OT-II 사랑체+ Foxp3-CD25+ Tconv 세포를 확장할 수 있다는 것을 발견했다(**실시예 I, 도 9c**). ND 백신접종과 IL-2/IC 병용 요법을 최적화하기 위해, 우리는 다음과 같은 두 가지 요법을 테스트했다: 백신접종 후 3일째(그룹 1) 또는 4일째(그룹 2)에 시작하여 3일 연속으로 IL-2/IC를 투여했다. 우리는 이 두 가지 요법을 ND 백신접종과 wtIL-2 단백질 치료 병용 요법과 비교했다. 생체 내에서 IL-2 단백질의 반감기는 IL-2/IC보다 상당히 짧다. 따라서, 우리는 ND-OVA 백신접종 후 3일째(그룹 3) 또는 1일째(그룹 4)에 시작하는 5회의 IL-2 투약을 포함시켰다. 대조 그룹에는 IL-2/IC(그룹 5) 및 IL-2(그룹 6) 처리만 포함되었다(**도 12**). 전신 면역 반응은 IL-2/IC 또는 IL-2의 첫 번째 주사 후 5일, 15일 및 25일째에 유세포 분석법에 의해 측정되었다.

[0367] 백신 투여 기간 동안, 림프구 중 CD4+ T 세포의 빈도는 백신 그룹 간에 유사했으며, IL-2/IC 단독 대조군에서만 15일째에 CD4+T 세포가 감소한 것으로 나타났다(**도 13a**). D3,4,5 또는 D4,5,6에 ND-OVA + IL-2/IC를 투여받은 그룹 1 및 2의 마우스는 PBMC 간에 거의 동일한 CD4+ T 세포 반응을 보였다.

[0368] 5일 및 15일째에, D3,4,5 또는 D4,5,6에 ND-OVA + IL-2/IC를 투여받은 동물은 ND-OVA + IL-2를 투여받은 그룹 3 및 4의 동물에 비해 CD4+CD25+Foxp3+ T 조절 세포(T_{reg})가 4.5배 증가한 것으로 나타났다(**도 13b**). 중요한 점은 ND-OVA + IL-2/IC를 병용한 경우 IL-2/IC만을 투여했을 때보다 총 T_{reg} 가 약 1.6배 더 증가했지만, ND-OVA + IL-2와 IL-2를 단독으로 투여한 경우 T_{reg} 의 빈도가 10% 이상 증가하지 못했다는 것이다(**도 13b**). 마지막 백신 주기 10일 후, IL-2/IC로 처리된 동물의 T_{reg} 는 기준선으로 돌아왔다(**도 13b**).

[0369] 총 T_{reg} 외에도, 그룹 1과 2의 동물은 다른 모든 그룹에 비해 강력한 항원-특이적 OT-II 반응을 유발했다. 한 번의 백신 주기 후, 총 OT-II 사랑체+ 및 OT-II 사랑체+ Foxp3+CD25+ T_{reg} 세포는 각각 총 CD4+ 세포의 약 0.76% 및 약 0.44%를 차지했다(**도 13c,d**). 2차 백신접종은 총 CD4+ 세포 중 총 및 T_{reg} 항원-특이적 세포를 각각 약 2.5% 및 약 1.5%로 더욱 증가시켜 5일째에 비해 3.3배 증가했다(**도 13c,d**). 주목할 만한 점은, 15일째까지 ND-OVA + IL-2/IC 마우스의 항원-특이적 OT-II T_{reg} 가 ND-OVA + IL-2 또는 IL-2를 단독으로 처리한 마우스에 비해 약 55배 증가했다는 것이다(**도 13d**).

[0370] 백신 요법이 다른 면역 세포 하위 집단에 미치는 영향을 조사하기 위해, 우리는 PBMC 가운데 CD8+ T 세포, 활성화된 CD8+CD44hi T 세포, 및 NK 세포의 빈도와 절대 수를 측정했다(**도 14**). 그룹 간 CD8+ 세포의 빈도는 비슷했으며, 5일에서 25일까지 평균 40 내지 50% 범위였다(**도 14a**). 15일째에 IL-2/IC 단독 처리 그룹의 4마리 마우스 중 2마리는 CD8+ T 세포가 64% 이상으로 유의하게 증가한 반면, 다른 2마리의 마우스는 평균 범위 내의 CD8+ T 세포 빈도를 보였다. 5일에서 25일까지 혈액 2mL당 CD8+ T 세포의 절대 수는 0.38 내지 1.0×10^6 이었다(**도 14b**). 활성화된 CD8+CD44hi의 빈도는 총 CD8+ T 세포의 24 내지 60%인 반면, 절대 수는 5일에서 25일까지 혈액 2mL당 0.10 내지 0.33×10^6 인 것으로 밝혀졌다(**도 14c,d**). 마지막으로, NK 세포의 빈도는 CD3-CD45+ 세포의 16 내지 42% 범위였고, 절대 수는 혈액 2mL당 1.6 내지 2.8×10^6 범위였다(**도 14e,f**).

[0371] 이러한 결과는 세 가지 중요한 결과를 강조한다: (1) IL-2/IC 요법에 ND를 추가하면 IL-2/IC 단독에 비해 총 T_{reg} 의 빈도가 증가할 수 있음(**도 13b**), (2) IL-2 단백질은 총 T_{reg} 및 항원-특이적 T_{reg} 를 확장하지 못함(**도 13b,d**), 및 (3) ND-OVA 백신접종 후 주사 시점을 D3,4,5에서 D4,5,6로 지연시키는 것은 총 T_{reg} 또는 항원-특이적 T_{reg} 의 확장에 큰 영향을 미치지 않음.

[0372] **실시예 IV**

[0373] 재료 및 방법

[0374] **항원-로딩된 나노디스크의 제조**

[0375] DMPC(1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린)와 DOPE-MAL(N-(3-말레이미드-1-옥소프로필)-L- α -포스파티딜 에탄올아민)은 NOF AMERICA CORPORATION에서 구입했다. DMPC와 ApoA1-모방체 펩타이드

22A(PVLDLFRELLBELLEALKQK) 분말을 10mM 인산나트륨 버퍼(DMPC: 22A = 2 : 1, 질량비)에서 혼합하고 수화시킨 다음, 가열과 냉각 사이클을 거쳐 블랭크 합성 HDL 나노디스크를 얻은 다음, 실온에서 5분간 초음파 처리했다. 항원 펩타이드를 블랭크 나노디스크에 로딩하기 위해, 시스테인-말단화된 항원 펩타이드를 먼저 DOPE-MAL(항원 펩타이드: DOPE-MAL = 2 : 1, 몰 비율)과 접합했다. 그런 다음 DOPE-펩타이드를 블랭크 나노디스크(22A: 항원 펩타이드 = 5 : 1, 질량 비율)에 첨가하고 오비탈 진탕기에서 가볍게 진탕시키면서 실온에서 1시간 동안 인큐베이션했다. 반응하지 않은 항원 펩타이드는 Zeba Spin 탈염 컬럼(Pierce)을 사용하여 제거되었다. 이 연구에 사용된 항원 펩타이드는 p31 펩타이드 (YVRPLWVRME), InsB9-23 펩타이드, 및 전장 C-펩타이드였다. 펩타이드 로딩 효율은 LC-MS로 측정했다. 나노디스크는 TSKgel G3000SWx1 컬럼(7.8 mm ID X 30 cm, Tosoh Bioscience LLC)이 장착된 겔 투과 크로마토그래피(GPC)로 분석되었다. 샘플의 유체역학적 크기와 제타 전위는 동적 광산란(DLS, Zetasizer Nano ZSP)으로 측정되었다.

[0376] **마우스 IL-2:항-IL-2 면역 복합체(IL-2/IC)의 제조**

[0377] IL-2/항-IL-2 mAb 면역 복합체(IL-2/IC)는 이전에 보고된 바와 같이 제조되었다[15]. 항-IL-2 mAb(JES6-1A12, InVivoMab, BioX-Cell, Lebanon, NH) 0.1mg을 HBSS(Mediatech, Herndon, VA) 2mL에서 재조합 뮤린 IL-2(20 μg, PeproTech, Rocky Hill, NJ)와 시험관 내에서 혼합하고, 실온에서 10분 동안 인큐베이션했다. 그런 다음 생성된 IL-2/IC를 1 μg의 뮤린 IL-2와 5 μg의 IL-2 mAb를 함유한 0.1mL 단일 주사 용량으로 투여했다.

[0378] **동물 연구**

[0379] 동물은 연방, 주 및 지방 지침에 따라 관리되었다. 동물에 대해 수행된 모든 작업은 미시간 대학교(Ann Arbor 소재)의 동물실험윤리위원회(Institutional Animal Care & Use Committee, IACUC)의 승인을 받아 수행되었다. 7주령 내지 9주령 수컷 NOD 마우스를 각 그룹에 5 내지 10마리씩 무작위로 4개 그룹으로 나누었다. 0일에, 그룹 1과 2의 마우스는 꼬리 기저부에 나노디스크-p31(p31 펩타이드 0.1mg 포함) 0.1mL를 피하로 주입했다. 또한, 그룹 1은 각 나노디스크-p31 주사 후 3, 4, 5일째에 준비된 IL-2/IC 용액(위에서 설명됨) 0.1mL를 복강내로(i.p.) 투여받았다. 그룹 2의 마우스는 나노디스크-p31만을 투여받았고, 그룹 3과 그룹 4의 마우스는 대조 그룹으로 각각 IL-2/IC와 PBS를 투여받았다. 11일째에 마우스에게 각각 200만 개의 사전 활성화된 BDC2.5 비장세포와 200만 개의 사전 활성화된 NY8.3 비장세포를 정맥내 주입했다. 그 후 마우스는 꼬리 정맥을 통해 OneTouch Ultra2 포도당 측정기를 사용하여 당뇨병 발병 여부를 모니터링했으며, 두 번 연속 측정에서 혈당 수치가 250mg/dl 이상인 동물은 당뇨병으로 간주되었다.

[0380] **결과**

[0381] **이식된 T1D 모델에서 ND와 IL-2/IC 조합의 치료 효능.**

[0382] NOD 마우스는 도 15a에 도시된 요법에 따라 나노디스크-p31(ND-p31)을 피하로 투여한 후, IL-2/IC를 복강내 경로로 투여했다. 대조 그룹에는 PBS 또는 IL-2/IC 또는 ND만이 포함되었다. 마지막 IL-2/IC 처리 후 6일째에, 마우스에게 300만 개의 사전 활성화된 BDC2.5 비장세포와 300만 개의 사전 활성화된 NY8.3 비장세포를 안구 뒤 주사를 통해 이식했다(도 15a). IL-2/IC로 처리된 마우스에서 당뇨병 유발 T 세포를 이식한 결과, PBS 그룹과 마찬가지로 빠르게 당뇨병이 발병했다(도 15b). 또한, p31-ND 단독 처리를 받은 마우스 중 한 마리는 당뇨병으로부터 보호되었다. 이에 반해, p31-ND와 IL-2/IC 조합을 투여받은 마우스의 70% 이상은 질병으로부터 보호되었다.

[0383] 우리는 또한 동일한 실험 설정을 사용하여 InsB9-23 및 InsC 펩타이드를 사용한 ND+IL-2/IC 조합의 치료 효능을 평가했다(도 15a). IL-2/IC 또는 PBS로 처리된 마우스에서 당뇨병 유발 BDC2.5 및 NY8.3 T 세포를 이식한 결과 1주일 이내에 고혈당이 발생했다(도 15c). InsB-ND + InsC-ND 처리를 받은 마우스 중 한 마리는 당뇨병으로부터 보호되었다. 이에 반해, InsB-ND + InsC-ND + IL-2/IC 조합을 투여받은 마우스의 70% 이상은 당뇨병이 없었다.

[0384] 종합해 보면, 이러한 결과는 IL-2/IC와 함께 단일 라운드의 ND 치료가 T1D의 입양 전달 모델에서 강력한 방관 억제효과(bystander suppression)와 질병에 대한 강력한 효능을 나타낸다는 것을 보여준다.

[0385] **동등물**

[0386] 본 발명은 이의 정신 또는 본질적인 특성에서 벗어나지 않고 다른 구체적인 형태로 구현될 수 있다. 따라서 전술한 구현예는 본 명세서에 설명된 발명을 제한하기보다는 모든 면에서 예시로 간주되어야 한다. 따라서 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아닌 첨부된 청구범위에 의해 명시되며, 청구항의 의미와 동등 범위 내에 속하는 모

든 변화도 본원에 포함되는 것으로 의도된다.

- [0387] **참조에 의한 포함**
- [0388] 본 명세서에 언급된 각 특허 문헌 및 과학 논문의 전체 개시내용은 모든 목적을 위해 참조로 포함되어 있다. 다음의 참조문헌은 그 전문이 본원에 참조로 포함되어 있다:
- [0389] 1. Sakaguchi, S., Yamaguchi, T., Nomura, T. & Ono, M. Regulatory T cells and immune tolerance. *cell* **133**, 775-787, 2008.
- [0390] 2. Shevach, E.M. Application of IL-2 therapy to target T regulatory cell function. *Trends in immunology* **33**, 626-632, 2012.
- [0391] 3. Hirakawa, M., Matos, T., Liu, H., Koreth, J., Kim, H.T., Paul, N.E., Murase, K., Whangbo, J., Alho, A.C. & Nikiforow, S. Low-dose IL-2 selectively activates subsets of CD4+ Tregs and NK cells. *JCI insight* **1**2016.
- [0392] 4. Rosenzweig, M., Lorenzon, R., Cacoub, P., Pham, H.P., Pitoiset, F., El Soufi, K., Ribet, C., Bernard, C., Aractingi, S. & Banneville, B. Immunological and clinical effects of low-dose interleukin-2 across 11 autoimmune diseases in a single, open clinical trial. *Annals of the rheumatic diseases* **78**, 209-217, 2019.
- [0393] 5. Higginson-Scott, N., Otipoby, K.L. & Viney, J. PT101: A Treg selective agonist IL-2 mutein therapy for autoimmunity. (Am Assoc Immunol, 2020).
- [0394] 6. Ghelani, A., Bates, D., Conner, K., Wu, M.-Z., Lu, J., Hu, Y.-L., Li, C.-M., Chaudhry, A. & Sohn, S.J. Defining the Threshold IL-2 Signal Required for Induction of Selective Treg Cell Responses Using Engineered IL-2 Muteins. *Frontiers in Immunology* **11**, 1106, 2020.
- [0395] 7. Peterson, L.B., Bell, C.J., Howlett, S.K., Pekalski, M.L., Brady, K., Hinton, H., Sauter, D., Todd, J.A., Umana, P. & Ast, O. A long-lived IL-2 mutein that selectively activates and expands regulatory T cells as a therapy for autoimmune disease. *Journal of autoimmunity* **95**, 1-14, 2018.
- [0396] 8. Khoryati, L., Pham, M.N., Sherve, M., Kumari, S., Cook, K., Pearson, J., Bogdani, M., Campbell, D.J. & Gavin, M.A. An IL-2 mutein engineered to promote expansion of regulatory T cells arrests ongoing autoimmunity in mice. *Science immunology* **5**2020.
- [0397] 9. [globoenewswire.com/en/news-release/2021/01/04/2152594/0/en/Pandion-Therapeutics-Announces-Positive-Top-Line-Phase-Ia-Clinical-Data-Showing-PT101-was-Well-Tolerated-and-Selectively-Expanded-Regulatory-T-cells.html](https://www.globenewswire.com/en/news-release/2021/01/04/2152594/0/en/Pandion-Therapeutics-Announces-Positive-Top-Line-Phase-Ia-Clinical-Data-Showing-PT101-was-Well-Tolerated-and-Selectively-Expanded-Regulatory-T-cells.html). 1/20/2022, 2022.
- [0398] 10. Mills, K.H. & McGuirk, P. Antigen-specific regulatory T cells—their induction and role in infection. *Seminars in immunology*.
- [0399] 11. Legoux, F.P., Lim, J.-B., Cauley, A.W., Dikiy, S., Ertelt, J., Mariani, T.J., Sparwasser, T., Way, S.S. & Moon, J.J. CD4+ T cell tolerance to tissue-restricted self antigens is mediated by antigen-specific regulatory T cells rather than deletion. *Immunity* **43**, 896-908, 2015.
- [0400] 12. Tang, Q., Henriksen, K.J., Bi, M., Finger, E.B., Szot, G., Ye, J., Masteller, E.L., McDevitt, H., Bonyhadi, M. & Bluestone, J.A. In vitro-expanded antigen-specific regulatory T cells suppress autoimmune diabetes. *The Journal of experimental medicine* **199**, 1455-1465, 2004.
- [0401] 13. Spence, A., Purtha, W., Tam, J., Dong, S., Kim, Y., Ju, C.-H., Sterling, T., Nakayama, M., Robinson, W.H. & Bluestone, J.A. Revealing the specificity of regulatory T cells in murine autoimmune diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **115**, 5265-5270, 2018.
- [0402] 14. Webster, K.E., Walters, S., Kohler, R.E., Mrkvan, T., Boyman, O., Surh, C.D., Grey, S.T. & Sprent, J. In vivo expansion of T reg cells with IL-2-mAb complexes: induction of resistance to EAE and long-term acceptance of islet allografts without immunosuppression. *Journal of Experimental Medicine* **206**, 751-760, 2009.

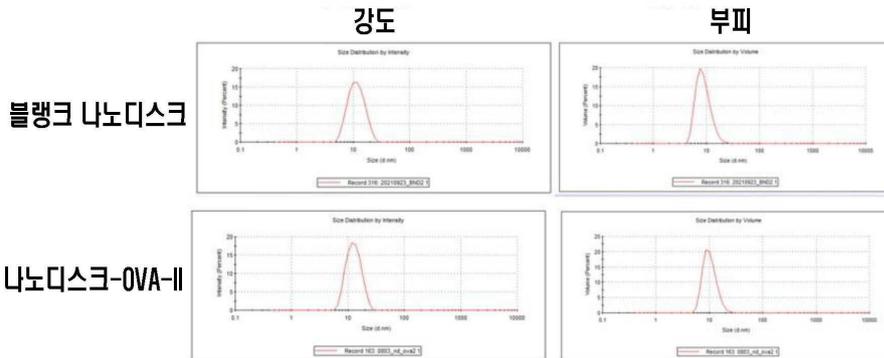
- [0403] 15. Manirarora, J.N. & Wei, C.-H. Combination therapy using IL-2/IL-2 monoclonal antibody complexes, rapamycin, and islet autoantigen peptides increases regulatory T cell frequency and protects against spontaneous and induced type 1 diabetes in nonobese diabetic mice. *The Journal of Immunology* **195**, 5203-5214, 2015.
- [0404] 16. Izquierdo, C., Ortiz, A.Z., Presa, M., Malo, S., Montoya, A., Garabatos, N., Mora, C., Verdaguer, J. & Stratmann, T. Treatment of T1D via optimized expansion of antigen-specific Tregs induced by IL-2/anti-IL-2 monoclonal antibody complexes and peptide/MHC tetramers. *Scientific reports* **8**, 1-14, 2018.
- [0405] 17. Kuai, R., Li, D., Chen, Y.E., Moon, J.J. & Schwendeman, A. High-density lipoproteins: nature's multifunctional nanoparticles. *ACS Nano* **10**, 3015-3041, 2016.
- [0406] 18. Kuai, R., Ochyl, L.J., Bahjat, K.S., Schwendeman, A. & Moon, J.J. Designer vaccine nanodiscs for personalized cancer immunotherapy. *Nat Mater* **16**, 489-496, 2017.

도면

도면1

동적 광산란(DLS) 분석:

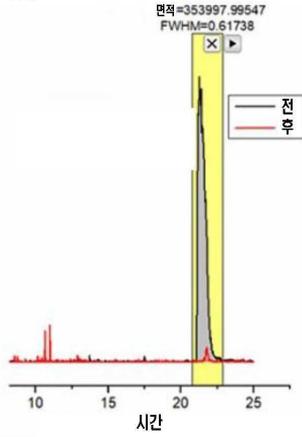
	직경 (부피 기준)	PDI
블랭크	8.9 ± 1.9	0.137
나노디스크-OVA-II	10.4 ± 2.6	0.095



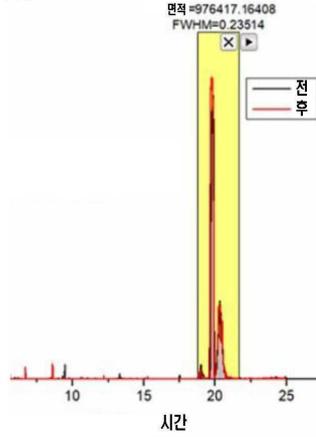
도면2

액체 크로마토그래피-질량 분석법(LC-MS) 분석:

접합 전과 후 DOPE-Mal(MW. 895.6)의
질량 크로마토그램



정제 전과 후 DOPE-OVA-II(MW. 1474)의
질량 크로마토그램

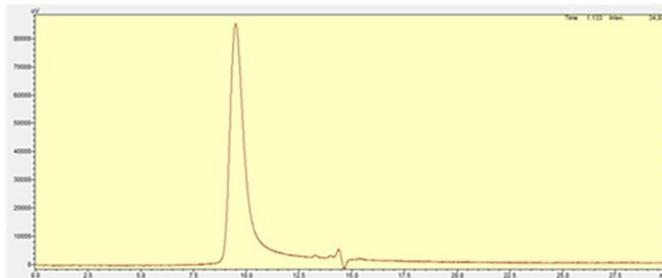


	ND-OVA-II	블랭크
버퍼	pH7.4 인산염 버퍼	pH7.4 인산염 버퍼
접합 효율(%)	99.7	-
로딩 효율(%)	99.9	-

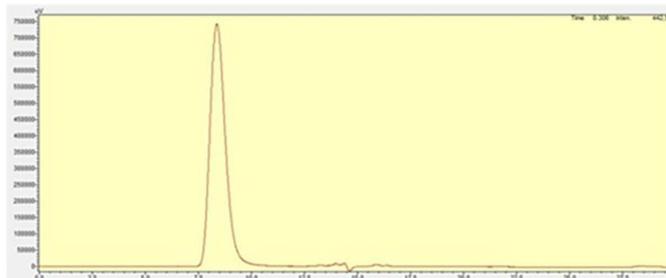
도면3

겔 투과 크로마토그래피(GPC) 분석

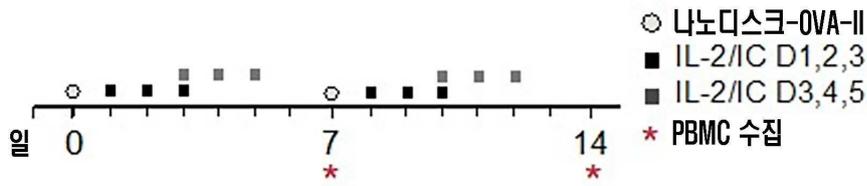
블랭크 나노디스크



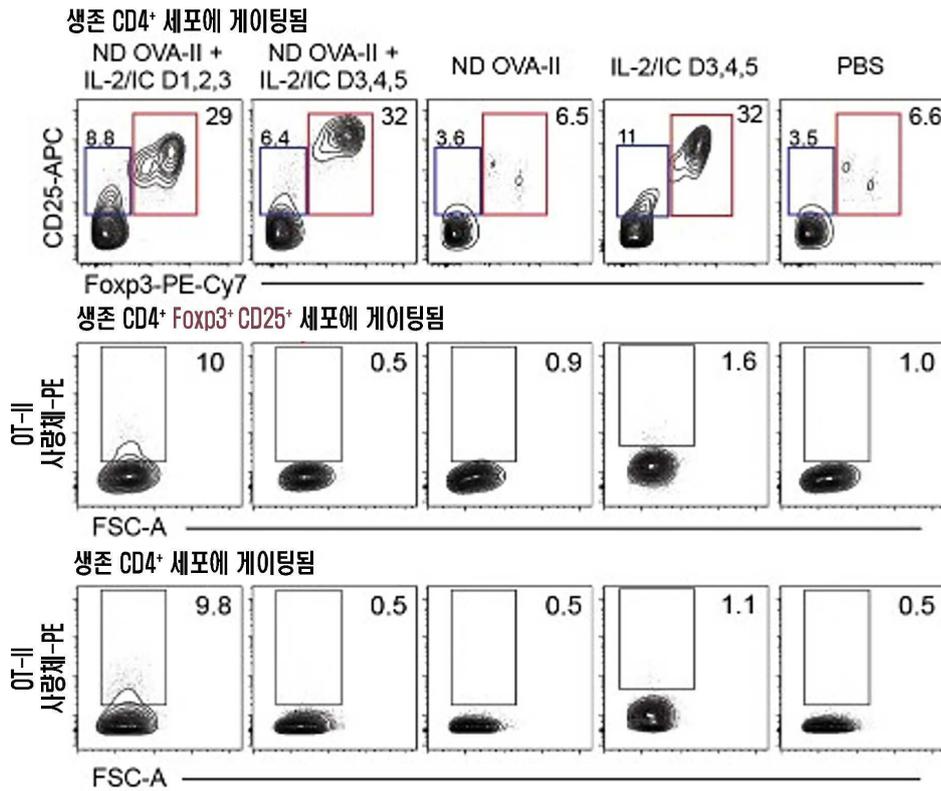
나노디스크-OVA-II



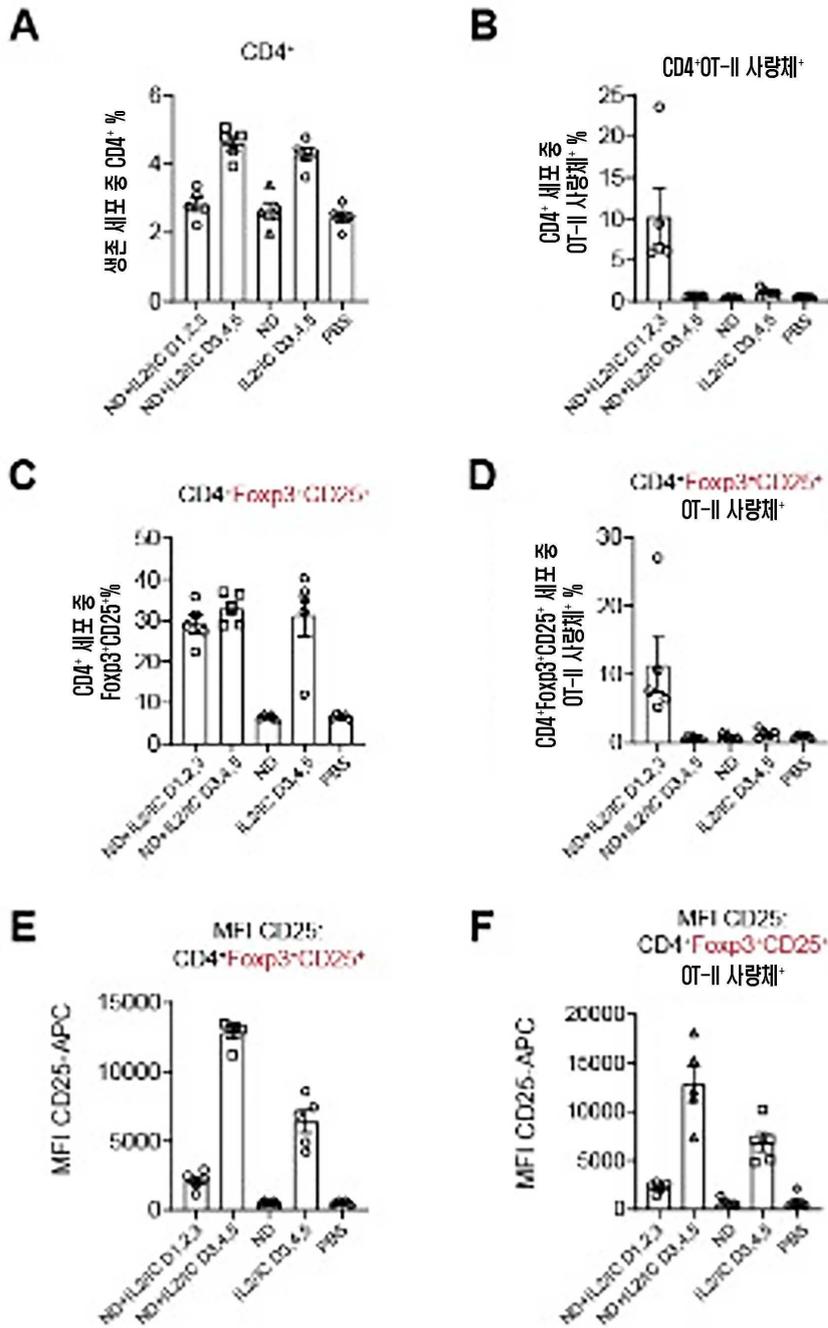
도면4



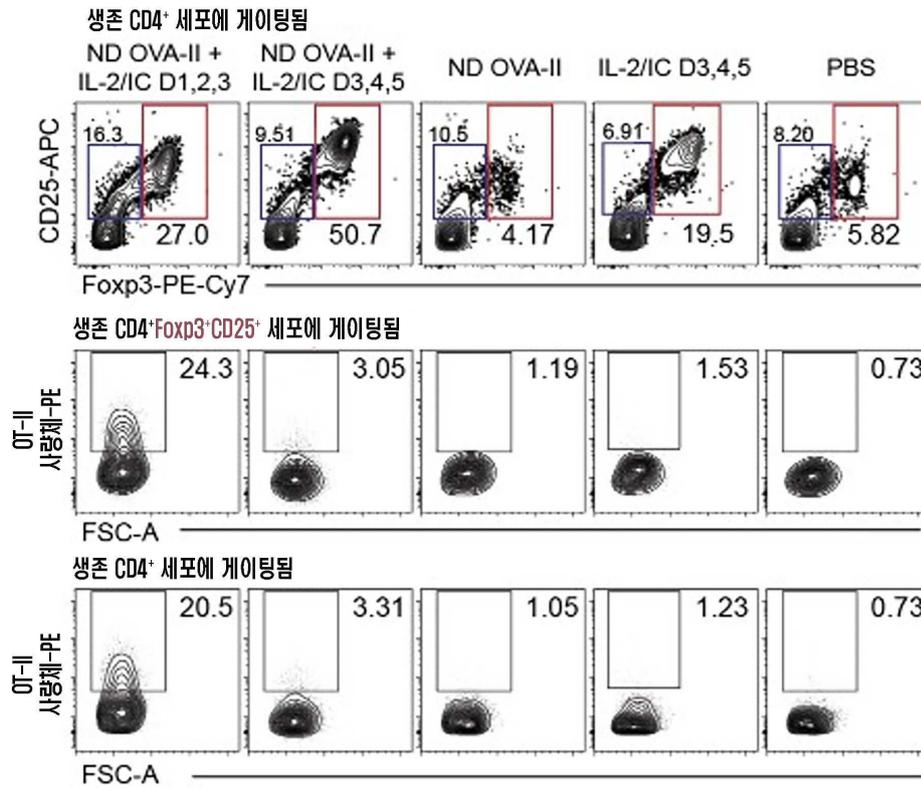
도면5



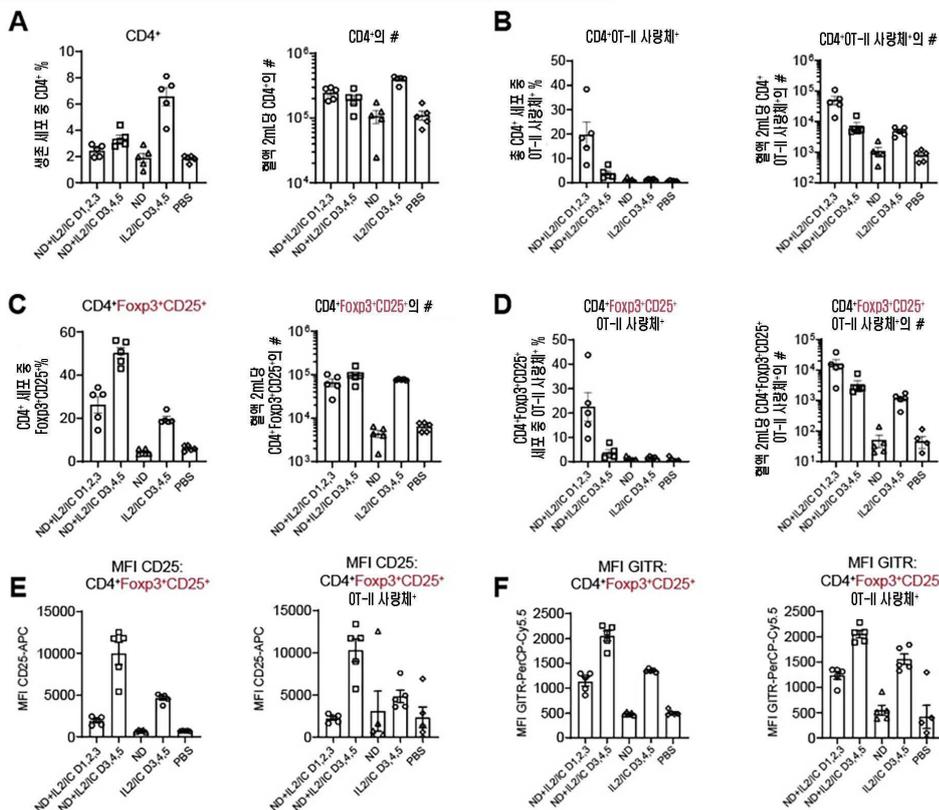
도면6



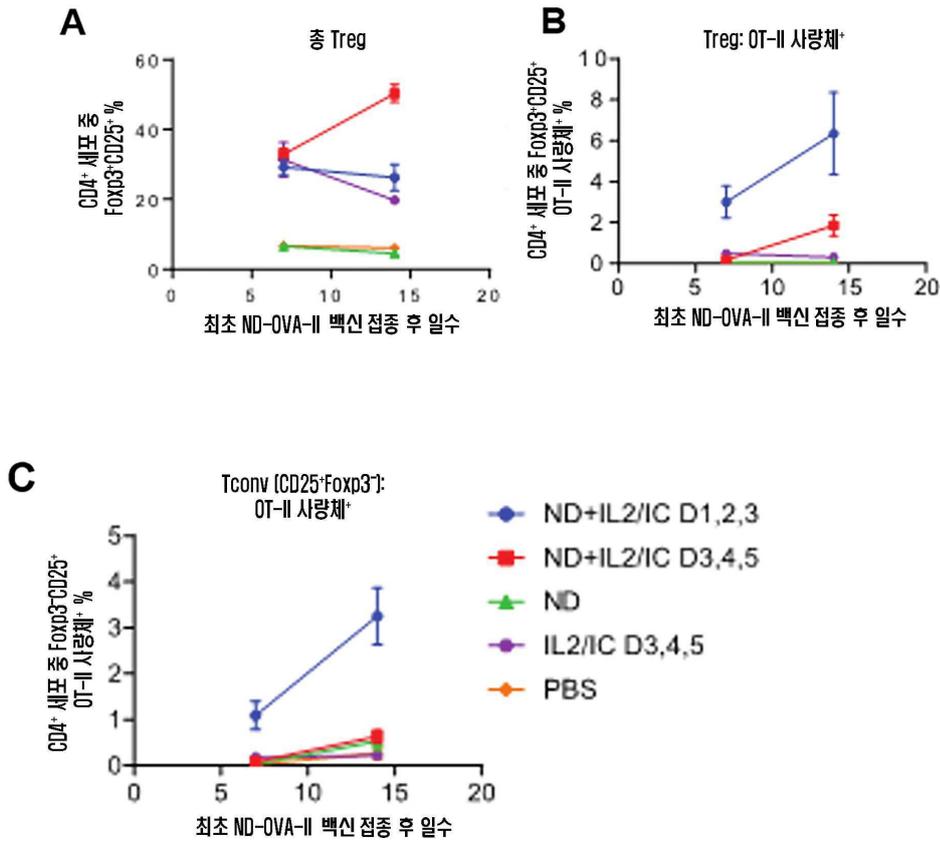
도면7



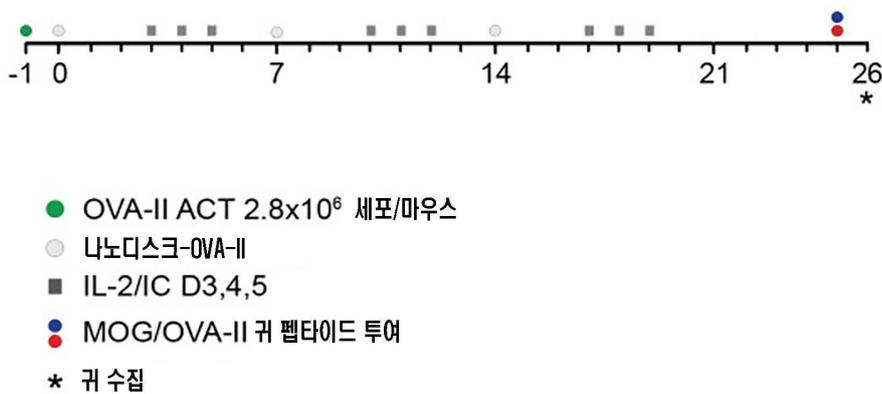
도면8



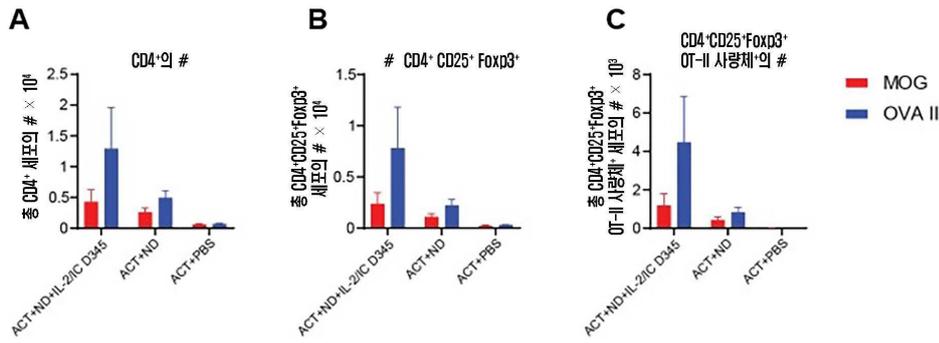
도면9



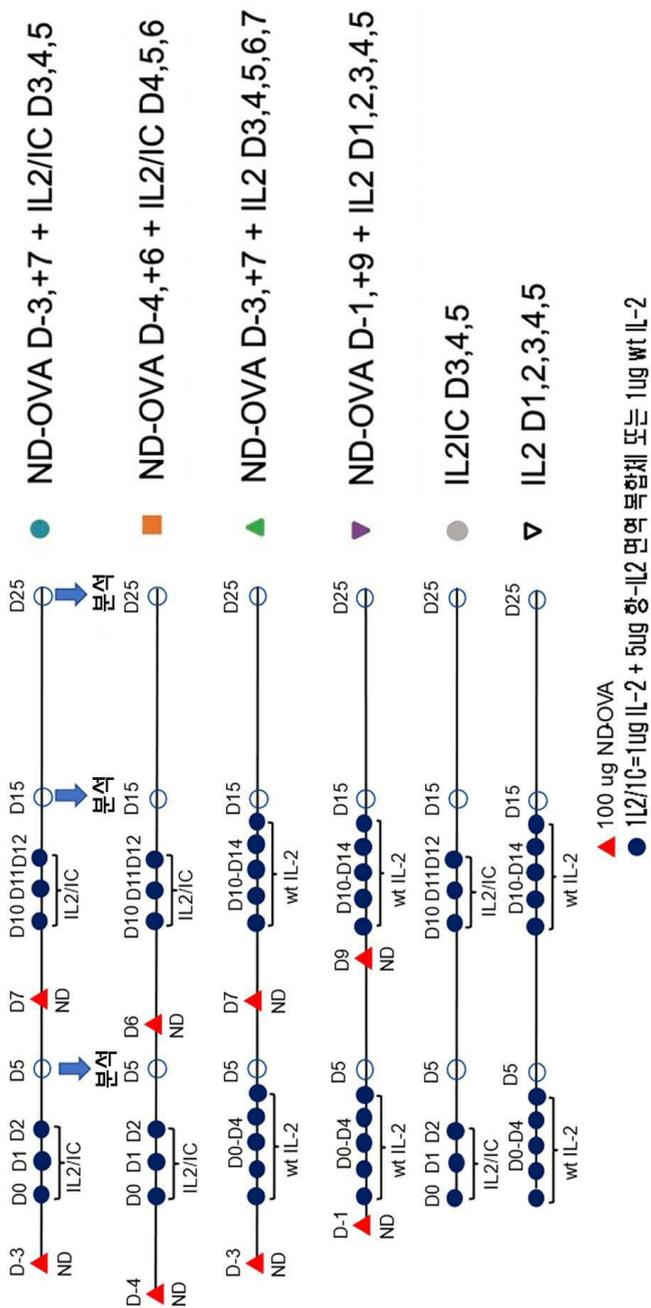
도면10



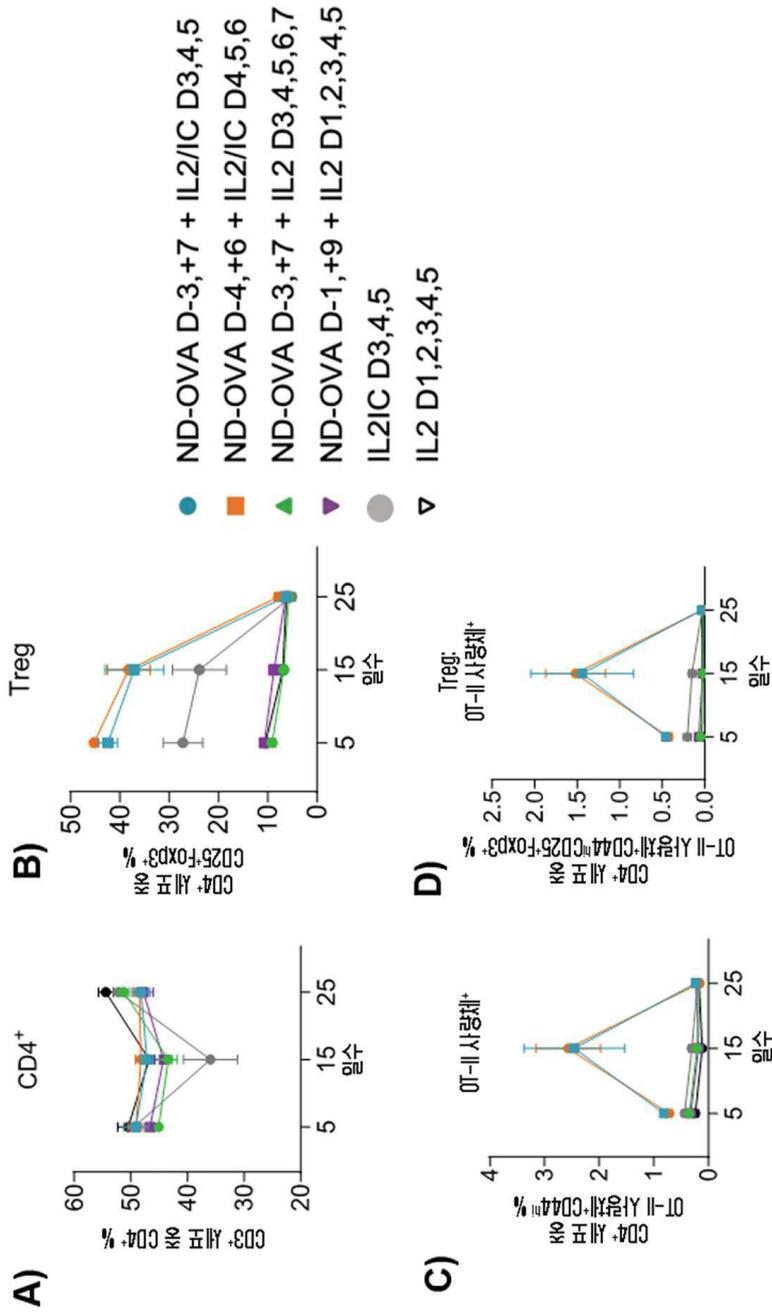
도면11



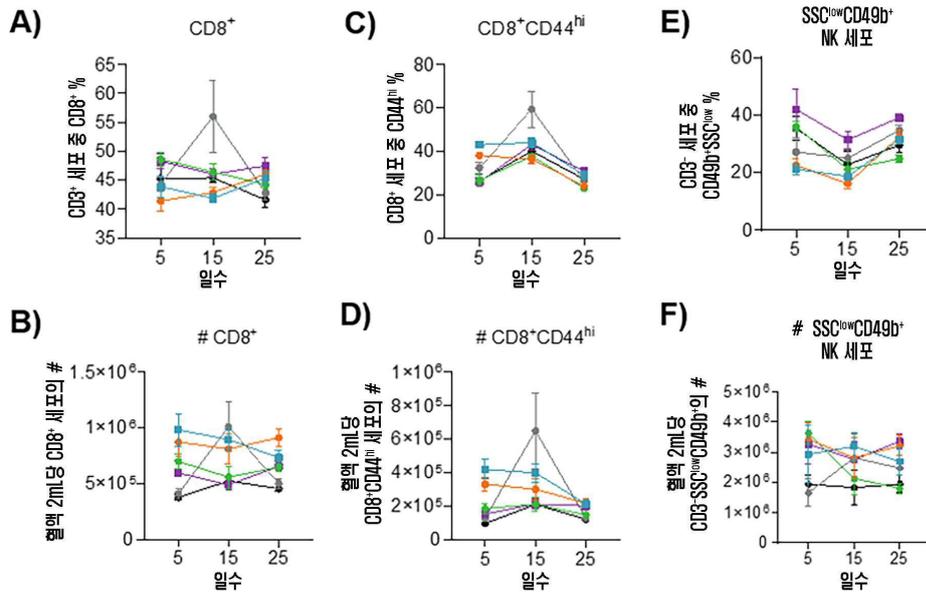
도면12



도면13

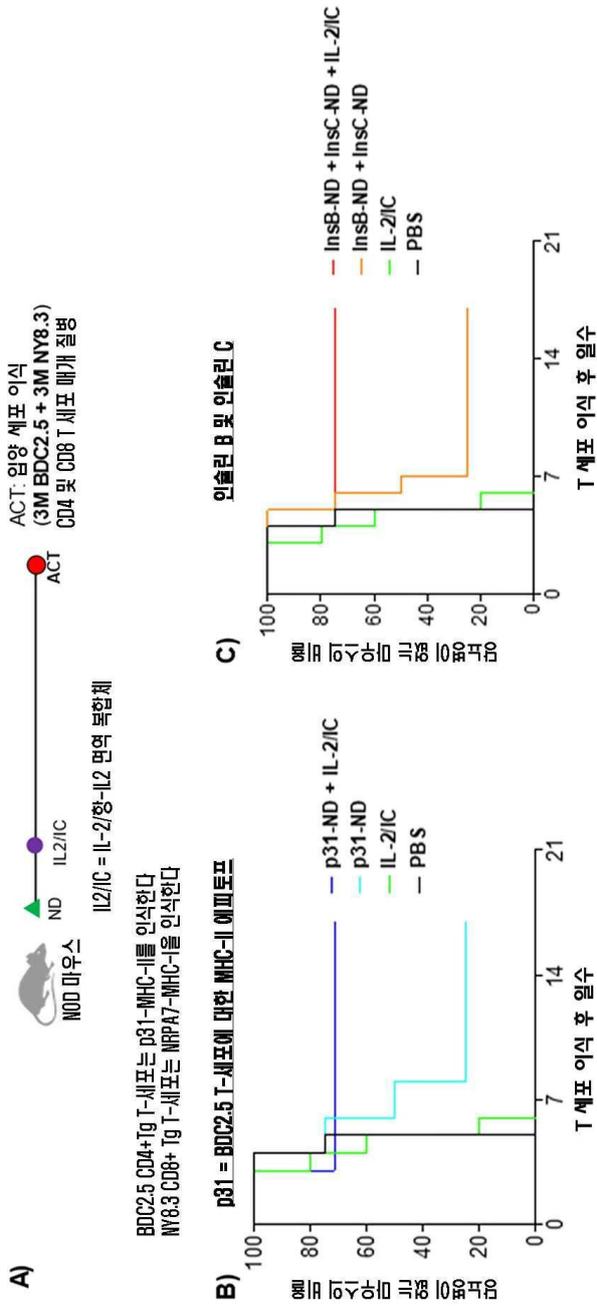


도면14



- ND-OVA D-3,+7 + IL2/IC D3,4,5
- ND-OVA D-4,+6 + IL2/IC D4,5,6
- ▲ ND-OVA D-3,+7 + IL2 D3,4,5,6,7
- ▼ ND-OVA D-1,+9 + IL2 D1,2,3,4,5
- IL2IC D3,4,5
- ▽ IL2 D1,2,3,4,5

도면15



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.