



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2022-0132527  
(43) 공개일자 2022년09월30일

- |  |   |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)<br/> <i>G01N 33/50</i> (2017.01) <i>A61K 35/17</i> (2014.01)<br/> <i>A61K 39/00</i> (2006.01) <i>A61P 35/00</i> (2006.01)<br/> <i>C07K 14/705</i> (2006.01) <i>C07K 14/725</i> (2006.01)<br/> <i>C07K 16/28</i> (2006.01) <i>C12N 5/0783</i> (2010.01)<br/> <i>G01N 33/574</i> (2006.01) <i>G01N 33/68</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류<br/> <i>G01N 33/5014</i> (2013.01)<br/> <i>A61K 35/17</i> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2022-7023060<br/>                 (22) 출원일자(국제) 2022년12월04일<br/>                 심사청구일자 없음<br/>                 (85) 번역문제출일자 2022년07월05일<br/>                 (86) 국제출원번호 PCT/US2020/063486<br/>                 (87) 국제공개번호 WO 2021/113770<br/>                 국제공개일자 2021년06월10일</p> <p>(30) 우선권주장<br/>                 62/945,105 2019년12월06일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인<br/>                 주노 세리퓨티크스 인코퍼레이티드<br/>                 미국 워싱턴 98109 시애틀 스위트 1200 텍스터 애비뉴 노스 400</p> <p>(72) 발명자<br/>                 두릅스키, 제이슨 에이.<br/>                 미국, 워싱턴 98109, 시애틀 스위트 1200 텍스터 애비뉴 노스 400<br/>                 라이트류스키, 줄리<br/>                 미국, 워싱턴 98109, 시애틀 스위트 1200 텍스터 애비뉴 노스 400<br/>                 (뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인<br/>                 특허법인이름리온</p> |
|--|---|

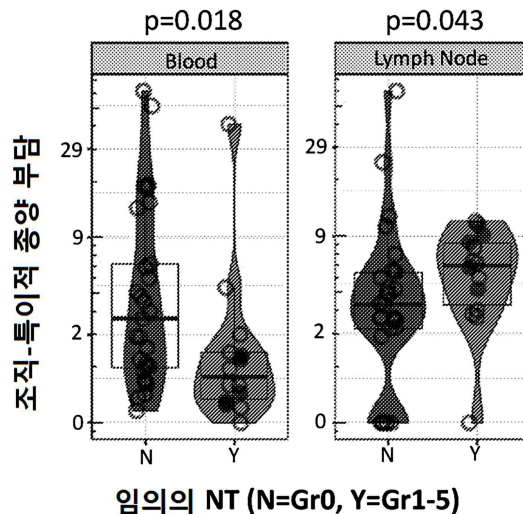
전체 청구항 수 : 총 100 항

(54) 발명의 명칭 **B 세포 악성 종양을 치료하기 위한 세포 요법과 연관된 독성 및 반응과 관련된 방법**

**(57) 요약**

독성(예를 들어, 신경 독성)의 위험성 및/또는 세포 요법에 대한 반응 가능성을 알아내기 위한 방법이 제공된다. 일부 측면에서, 본 방법은 일반적으로 독성 및/또는 반응과 연관된 파라미터 또는 바이오마커(예를 들어, 혈액 분석물)를 평가하는 단계를 포함한다. 일부 측면에서, 본 방법은 어떤 B 세포 악성 종양, 예컨대 재발성 또는 불응성 CLL과 같은 만성 림프구성 백혈병(chronic lymphocytic leukemia, CLL), 또는 소형 림프구성 림프종(small lymphocytic lymphoma, SLL)이 있는 대상체를 치료하기 위해 세포의 용량의 투여를 포함하는 입양 세포 요법에 관한 것이다. 입양 세포 요법을 위한 세포는 일반적으로 키메라 항원 수용체(CARs)와 같은 재조합 수용체를 발현한다. 일부 측면에서, 본 방법은 예를 들어 세포 요법으로 치료할 대상체를 식별하거나 선택하는 데 사용될 수 있다.

**대표도** - 도7a



(52) CPC특허분류

*A61K 39/001112* (2018.08)  
*A61P 35/00* (2018.01)  
*C07K 14/7051* (2013.01)  
*C07K 14/70575* (2013.01)  
*C07K 16/2803* (2013.01)  
*C12N 5/0636* (2013.01)  
*G01N 33/57426* (2013.01)  
*G01N 33/6863* (2013.01)  
*A61K 2039/5156* (2013.01)

(72) 발명자

**톰슨, 이선**

미국, 뉴저지 07901, 서밋 모리스 애비뉴 86

**소르프, 제릴**

미국, 워싱턴 98109, 시애틀 스위트 1200 텍스터  
애비뉴 노스 400

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

세포 요법의 투여 후 독성이 발생할 위험성을 알아내는 방법으로서,

상기 방법은:

세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (small lymphocytic lymphoma, SLL)을 갖는 대상체에서, 림프절 종양 부담, 혈액 종양 부담 및 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율 중에서 선택되는 질병 부담의 하나 이상의 파라미터를 평가하는 단계,

상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 파라미터는 상기 세포 요법을 투여하기 전에 상기 대상체로부터 평가됨; 및

개별적으로, 상기 하나 이상의 파라미터의 값을 각각의 파라미터에 대한 역치 수준과 비교하는 단계, 여기서:

(1) 하기와 같은 경우 상기 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 대상체를 식별하는 단계: (a) 상기 림프절 종양 부담이 림프절 종양 부담에 대한 역치 수준 이상이고; (b) 상기 혈액 종양 부담이 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준 미만이고; 및/또는 (c) 상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 상기 비율에 대한 역치 수준 미만임; 또는

(2) 하기와 같은 경우 상기 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 대상체를 식별하는 단계: (a) 상기 림프절 종양 부담이 림프절 종양 부담에 대한 역치 수준 미만이고; (b) 상기 혈액 종양 부담이 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준 이상이고; 및/또는 (c) 상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 상기 비율에 대한 역치 수준을 초과함;

를 포함하는, 방법.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

상기 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은:

(i) 상기 대상체에 선택적으로 감소된 용량으로 상기 세포 요법을 투여하는 단계, 선택적으로 여기서:

(a) 상기 방법은 상기 대상체에 상기 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 단계를 더 포함함; 및/또는

(b) 상기 대상체에 대한 상기 세포 요법의 투여는 입원 환자 환경(in-patient setting)에서 및/또는 1일 이상 동안 병원에 입원하여 수행되거나 수행되도록 지정됨; 또는

(ii) 상기 대상체에 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위한 상기 세포 요법 외의 대체 치료법을 투여하는 단계;

를 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 3

제1항에 있어서,

상기 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은:

(i) 상기 대상체에 상기 세포 요법을 투여하는 단계, 선택적으로 여기서:

(a) 상기 대상체가 독성의 징후 또는 증상을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때(선택적으로 상기 대상체가 지속 열 또는 해열제로 치료 후 1℃ 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타낸 때 또는 그 후)까지, 상기 대상체는 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여받지 않음; 및/또는

(b) 선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1℃ 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 외래환자 기준으로 및/또는 상기 대상체를 병원에 입원시키지 않고 및/또는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 및/또는 병원에 입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이, 상기 세포 요법의 투여 및 임의의 후속 조치가 수행됨;

를 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 4

세포 요법 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법으로서,

상기 방법은:

세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (small lymphocytic lymphoma, SLL)을 갖는 대상체에서, 림프절 종양 부담, 혈액 종양 부담 및 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율 중에서 선택되는 질병 부담의 하나 이상의 파라미터를 평가하는 단계,

상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 파라미터는 상기 세포 요법을 투여하기 전에 상기 대상체로부터 평가됨; 및

개별적으로, 상기 하나 이상의 파라미터의 값을 각각의 파라미터에 대한 역치 수준과 비교하는 단계, 여기서:

(1) (a) 상기 림프절 종양 부담이 림프절 종양 부담에 대한 역치 수준 이상이고; (b) 상기 혈액 종양 부담이 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준 미만이고; 및/또는 (c) 상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 상기 비율에 대한 역치 수준 미만인 경우, 상기 대상체를:

(i) 감소된 용량으로 상기 세포 요법의 투여;

(ii) 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법의 투여;

(iii) 입원 환자 환경(in-patient setting)에서 및/또는 1일 이상 동안 병원에 입원하여 수행되거나 수행되도록 지정된 세포 요법의 투여; 및/또는

(iv) 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위한 상기 세포 요법 외의 대체 치료법의 투여;

를 위해 선택하는 단계; 또는

(2) (a) 상기 림프절 종양 부담이 림프절 종양 부담에 대한 역치 수준 미만이고; (b) 상기 혈액 종양 부담이 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준 이상이고; 및/또는 (c) 상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 상기 비율에 대한 역치 수준을 초과한 경우, 상기 대상체를:

(i) 세포 요법의 투여, 선택적으로 여기서:

(a) 상기 대상체가 독성의 징후 또는 증상을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때(선택적으로 상기 대상체가 지속 열 또는 해열제로 치료 후 1℃ 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타낸 때 또는 그 후)까지, 상기 대상체는 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여받지 않음; 및/또는

(b) 선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1℃ 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 외래환자 기준으로 및/또는 상기 대상체를 병원에 입원시키지 않고 및/

또는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 및/또는 병원에 입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이, 상기 세포 요법의 투여 및 임의의 후속 조치가 수행됨;

를 위해 선택하는 단계;

를 포함하는, 방법.

#### 청구항 5

제4항에 있어서,

상기 대상체에 세포 요법, 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법 및/또는 대체 치료법을 투여하는 단계를 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 혈액 종양 부담을 평가하는 단계는 상기 대상체의 혈액 내의 림프구 농도를 알아내는 단계를 포함하는, 방법.

#### 청구항 7

제6항에 있어서,

상기 농도는 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수인, 방법.

#### 청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 (약) 800 림프구/ $\mu\text{L}$  내지 (약) 3000 림프구/ $\mu\text{L}$ 의 값인, 방법.

#### 청구항 9

제8항에 있어서,

상기 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 (약) 800 림프구/ $\mu\text{L}$ , 900 림프구/ $\mu\text{L}$ , 1000 림프구/ $\mu\text{L}$ , 1250 림프구/ $\mu\text{L}$ , 1500 림프구/ $\mu\text{L}$ , 1750 림프구/ $\mu\text{L}$ , 2000 림프구/ $\mu\text{L}$ , 2250 림프구/ $\mu\text{L}$ , 2500 림프구/ $\mu\text{L}$ , 2750 림프구/ $\mu\text{L}$  또는 3000 림프구/ $\mu\text{L}$ 의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값인, 방법.

#### 청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 림프절 종양 부담을 평가하는 단계는 최대 림프절 직경을 알아내는 단계를 포함하는, 방법.

#### 청구항 11

제10항에 있어서,

상기 최대 림프절 직경은 센티미터(cm)로 측정되는, 방법.

#### 청구항 12

제10항 또는 제11항에 있어서,

상기 림프절 종양 부담으로서 상기 최대 림프절 직경에 대한 역치 수준은 (약) 4cm 내지 (약) 7cm의 값인, 방법.

#### 청구항 13

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 림프절 종양 부담으로서 상기 최대 림프절 직경에 대한 역치 수준은 (약) 4 cm, 4.25 cm, 4.5 cm, 4.75 cm, 5 cm, 5.25 cm, 5.5 cm, 5.75 cm, 6 cm, 6.25 cm, 6.5 cm, 6.75 cm 또는 7 cm의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값인, 방법.

#### 청구항 14

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율을 평가하는 단계는 센티미터(cm)로의 상기 최대 림프절 직경에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율을 알아내는 단계를 포함하는, 방법.

#### 청구항 15

제14항에 있어서,

상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 센티미터(cm)로의 최대 림프절 직경에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 300 내지 (약) 1000의 값인, 방법.

#### 청구항 16

제14항 또는 제15항에 있어서,

상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 센티미터(cm)로의 최대 림프절 직경에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 또는 1000의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값인, 방법.

#### 청구항 17

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 림프절 종양 부담을 평가하는 단계는 직경의 곱의 합 (SPD)을 알아내는 단계를 포함하는, 방법.

#### 청구항 18

제17항에 있어서,

상기 SPD는 제곱 센티미터 ( $\text{cm}^2$ )로 측정되는, 방법.

**청구항 19**

제17항 또는 제18항에 있어서,

상기 림프절 종양 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약)  $10 \text{ cm}^2$  내지 (약)  $40 \text{ cm}^2$ 의 값인, 방법.

**청구항 20**

제17항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 림프절 종양 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약)  $10 \text{ cm}^2$ ,  $12.5 \text{ cm}^2$ ,  $15 \text{ cm}^2$ ,  $17.5 \text{ cm}^2$ ,  $20 \text{ cm}^2$ ,  $22.5 \text{ cm}^2$ ,  $25 \text{ cm}^2$ ,  $27.5 \text{ cm}^2$ ,  $30 \text{ cm}^2$ ,  $32.5 \text{ cm}^2$ ,  $35 \text{ cm}^2$ ,  $37.5 \text{ cm}^2$  또는  $40 \text{ cm}^2$ 의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값인, 방법.

**청구항 21**

제1항 내지 제9항 및 제17항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율을 평가하는 단계는 상기 제곱 센티미터 ( $\text{cm}^2$ )로의 직경의 곱의 합 (SPD)에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율을 알아내는 단계를 포함하는, 방법.

**청구항 22**

제21항에 있어서,

상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 25 내지 (약) 500의 값인, 방법.

**청구항 23**

제21항 또는 제22항에 있어서,

상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 또는 500의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값인, 방법.

**청구항 24**

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 질병 부담의 하나 이상의 파라미터의 값은 상기 대상체에 림프구 고갈 요법의 투여 전의 질병 부담의 하나 이상의 파라미터의 값인, 방법.

**청구항 25**

세포 요법의 투여 후 독성이 발생할 위험성을 알아내는 방법으로서,

상기 방법은:

종양 괴사 인자 (TNF) 및/또는 인터루킨-16 (IL-16)의 수준, 양 또는 농도에 대해 생물학적 샘플을 분석하는 단계, 상기 생물학적 샘플은 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (SLL)을 갖는 대상체로부터 유래되고, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 생물학적 샘플은 상기 세포 요법의 투여 전 또는 CAR+ T 세포 증폭 피크 전 및/또는 세포 요법의 투여 개시 후 (약) 11일 이내에 대상체로부터 획득됨; 및

TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준에 대해 개별적으로 비교하는 단계, 여기서:

TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL 내지 (약) 25 pg/mL의 값이고; 및/또는

IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL 내지 (약) 1000 pg/mL의 값이며; 그리고

(1) TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 상기 대상체를 식별하고; 또는

(2) TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 상기 대상체를 식별함;

를 포함하는, 방법.

#### 청구항 26

제2항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 제제 또는 다른 치료법은 항-IL-6 항체, 항-IL-6R 항체 또는 스테로이드이거나 이를 포함하는, 방법.

#### 청구항 27

제2항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 제제는 토실리주맙, 실투시맙 또는 텍사메타손이거나 이를 포함하는, 방법.

#### 청구항 28

제1항 내지 27항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 신경 독성은 중증 신경 독성인, 방법.

#### 청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 신경 독성은 3급 이상의 신경 독성인, 방법.

#### 청구항 30

세포 요법에 대한 반응 가능성(likelihood of a response)을 평가하는 방법으로서,

상기 방법은:

생물학적 샘플 내 혈관 내피 성장 인자 C (VEGFC) 및/또는 혈관 내피 성장 인자 수용체 1 (VEGFR1)의 수준, 양 또는 농도를 평가하는 단계, 상기 생물학적 샘플은 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병



(chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (SLL)을 갖는 대상체로부터 유래되고, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 생물학적 샘플은 상기 세포 요법을 투여하기 전에 대상체로부터 획득됨; 및

상기 샘플 내 VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도를 역치 수준과 개별적으로 비교하는 단계, 여기서:

(1) VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 높은 가능성을 갖는 것으로 상기 대상체를 식별하고; 또는

(2) VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 낮은 가능성을 갖는 것으로 상기 대상체를 식별함;

를 포함하는, 방법.

### 청구항 31

세포 요법 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법으로서,

상기 방법은:

생물학적 샘플 내 혈관 내피 성장 인자 C (VEGFC) 및/또는 혈관 내피 성장 인자 수용체 1 (VEGFR1)의 수준, 양 또는 농도를 평가하는 단계, 상기 생물학적 샘플은 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (SLL)을 갖는 대상체로부터 유래되고, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 생물학적 샘플은 상기 세포 요법을 투여하기 전에 대상체로부터 획득됨; 및

상기 샘플 내 VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준과 개별적으로 비교함으로써, 대상체가 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 가능성을 알아내는 결과에 기초하여 치료에 반응할 가능성이 있는 대상체를 선택하는 단계, 여기서:

(1) VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 높은 가능성을 갖는 것으로 상기 대상체를 식별하고; 또는

(2) VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 낮은 가능성을 갖는 것으로 상기 대상체를 식별함;

를 포함하는, 방법.

### 청구항 32

제30항 또는 제31항에 있어서,

치료를 위해 선택된 상기 대상체에게 상기 세포 요법을 투여하는 단계를 더 포함하는, 방법.

### 청구항 33

치료 방법으로서,

상기 방법은:

(a) 생물학적 샘플 내 혈관 내피 성장 인자 C (VEGFC) 및/또는 혈관 내피 성장 인자 수용체 1 (VEGFR1)의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준과 개별적으로 비교함으로써, 대상체가 세포 요법에 대한 반응을 달성할 가능성을 알아내는 결과에 기초하여 치료에 반응할 가능성이 있는 대상체를 선택하는 단계, 여기서:

(1) VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 상기 세포 요법에 대한 반응

을 달성할 높은 가능성을 갖는 것으로 상기 대상체를 식별하고; 또는

(2) VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 낮은 가능성을 갖는 것으로 상기 대상체를 식별함;

상기 생물학적 샘플은 세포 요법 치료를 위한 후보자인 CLL 또는 SLL을 갖는 대상체로부터 유래되고, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 생물학적 샘플은 상기 세포 요법을 투여하기 전에 대상체로부터 획득되고 및/또는 상기 대상체는 CAR을 발현하는 T 세포를 포함하지 않음; 및

(b) 치료를 위해 선택된 대상체에게 상기 세포 요법을 투여하는 단계;

를 포함하는, 방법.

### 청구항 34

제30항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 역치 수준은, 세포 요법을 받기 전에 대상체의 그룹으로부터 획득된 생물학적 샘플 내 VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균의 25% 이내, 20% 이내, 15% 이내, 10% 이내 또는 5% 이내이고 및/또는 표준 편차 이내이거나, 또는 (약) 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균 이상이고, 상기 그룹의 대상체 각각은 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위해 CAR을 발현하는 조작된 세포의 용량의 투여 후 반응을 달성하였고;

상기 역치 수준은 세포 요법을 받기 전에 대상체의 그룹으로부터 획득된 생물학적 샘플 내 VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균 보다 1.25배 이상, 1.3배 이상, 1.4배 이상 또는 1.5배 이상 높고, 상기 그룹의 대상체 각각은 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위해 CAR을 발현하는 조작된 세포의 용량의 투여 후 반응을 달성하였고;

상기 역치 수준은 상기 세포 요법 치료에 대한 후보자가 아닌 정상 또는 건강한 대상체의 그룹으로부터 획득된 생물학적 샘플 내 VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도보다 1.25배 이상, 1.3배 이상, 1.4배 이상 또는 1.5배 이상 높은, 방법.

### 청구항 35

제30항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 VEGFC에 대한 역치 수준은 (약) 60 pg/mL 내지 (약) 70 pg/mL의 값인, 방법.

### 청구항 36

제30항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 VEGFR1에 대한 역치 수준은 (약) 80 pg/mL 내지 (약) 120 pg/mL의 값인, 방법.

### 청구항 37

제30항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 VEGFC 및 VEGFR1 둘 다의 수준, 양 또는 농도가 평가되고;

VEGFC에 대한 역치 수준은 (약) 60 pg/mL 내지 (약) 70 pg/mL의 값이고; 및

VEGFR1에 대한 역치 수준은 (약) 80 pg/mL 내지 (약) 120 pg/mL의 값인, 방법.

**청구항 38**

제30항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 생물학적 샘플은 혈액 샘플, 혈장 샘플, 또는 혈청 샘플이거나 이로부터 수득되는, 방법.

**청구항 39**

제30항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 평가는:

(a) 생물학적 샘플을 VEGFC 및/또는 VEGFR1을 검출할 수 있거나 이에 특이적인 하나 이상의 시약과 접촉시키는 단계, 선택적으로 상기 하나 이상의 시약은 VEGFC 및/또는 VEGFR1을 특이적으로 인식하는 항체를 포함함; 및

(b) 상기 하나 이상의 시약 및 VEGFC 및/또는 VEGFR1을 포함하는 복합체의 존재 또는 부재를 검출하는 단계;

를 포함하는, 방법.

**청구항 40**

제30항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 평가는 면역분석을 포함하는, 방법.

**청구항 41**

제30항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 평가는 효소결합면역흡착분석(ELISA), 면역블로팅, 면역침강법, 방사선면역분석(RIA), 면역 염색법, 유세포 분석법, 표면 플라즈몬 공명(SPR), 화학발광 분석, 측면 유동 면역분석, 억제 분석 또는 결합력(avidity) 분석을 포함하는, 방법.

**청구항 42**

제30항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 평가는 효소결합면역흡착분석(ELISA), 선택적으로 비드-기반 ELISA를 포함하는, 방법.

**청구항 43**

제30항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 반응은 객관적 반응(objective response)을 포함하는, 방법.

**청구항 44**

제43항에 있어서,

상기 객관적 반응은 완전 반응(complete response, CR; 일부 경우에 완전 관해로도 알려짐), 불완전 혈구 수치 회복을 동반한 완전 관해 (CRi), 완전 관해 (complete remission, CR), 불완전 골수 회복을 동반한 CR (CRi), 결절성 부분 관해 (nPR), 부분 반응 (PR)을 포함하는, 방법.

**청구항 45**

제30항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서,  
상기 반응은 상기 세포 요법의 투여 개시 후 (약) 1, 2 또는 3개월 또는 그 이상에 평가되는 반응인, 방법.

**청구항 46**

제30항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서,  
상기 반응은 상기 세포 요법의 투여 개시 후 (약) 3개월에 평가되는 반응인, 방법.

**청구항 47**

제1항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서,  
상기 세포 요법의 투여 전에, 상기 대상체에 림프구 고갈 요법을 투여하는 것을 더 포함하는, 방법.

**청구항 48**

제1항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서,  
상기 대상체는 림프구 고갈 요법으로 사전 조절되었던, 방법.

**청구항 49**

제48항에 있어서,  
상기 생물학적 샘플은 상기 대상체에게 상기 림프구 고갈 요법을 투여하기 전에 상기 대상체로부터 획득되는, 방법.

**청구항 50**

제48항에 있어서,  
상기 질병 부담의 하나 이상의 파라미터는 상기 대상체에 림프구 고갈 요법의 투여 전에 평가되는, 방법.

**청구항 51**

제47항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서,  
상기 림프구 고갈 요법은 플루다라빈 및/또는 사이클로포스파미드의 투여를 포함하는, 방법.

**청구항 52**

제47항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서,  
상기 림프구 고갈 요법은 2 내지 4일 동안, 선택적으로 3일 동안 매일, 약  $200\text{-}400\text{mg/m}^2$ , 선택적으로 (약)  $300\text{mg/m}^2$  (수치 포함)의 사이클로포스파미드의 투여, 및/또는 약  $20\text{-}40\text{mg/m}^2$ , 선택적으로  $30\text{mg/m}^2$ 의 플루다라빈의 투여를 포함하는, 방법.

**청구항 53**

제47항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 림프구 고갈 요법은 3일 동안 매일 (약)  $300\text{mg}/\text{m}^2$ 의 사이클로포스파미드 및 약  $30\text{mg}/\text{m}^2$ 의 플루다라빈의 투여를 포함하고,

선택적으로 상기 세포의 용량은 상기 림프구 고갈 요법 후 적어도 (약) 2 내지 7일 후에 또는 상기 림프구 고갈 요법의 개시 후 적어도 (약) 2 내지 7일 후에 투여되는, 방법.

**청구항 54**

제1항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 대상체에게 브루톤 티로신 키나아제 억제제 (Bruton's Tyrosine Kinase inhibitor, BTKi)를 투여하는 것을 더 포함하는, 방법.

**청구항 55**

제54항에 있어서,

상기 BTKi는 이브루티닙인, 방법.

**청구항 56**

제54항 또는 제55항에 있어서,

상기 BTKi 투여는 상기 세포 요법의 투여 개시 전에 개시되는, 방법.

**청구항 57**

제56항에 있어서,

상기 BTKi 투여는 상기 세포 요법의 투여 개시 후까지 계속되는, 방법.

**청구항 58**

제56항 또는 제57항에 있어서,

상기 BTKi 투여는 상기 세포 요법의 투여 개시 후 적어도 약 또는 약 90일 동안 계속되는, 방법.

**청구항 59**

제55항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 이브루티닙은 1일 당 (약) 140 mg 또는 (약) 840 mg의 용량까지 투여되는, 방법.

**청구항 60**

제55항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이브루티닙은 1일 당 (약) 280 mg 또는 (약) 560 mg의 용량

까지 투여되는, 방법.

**청구항 61**

제55항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서,  
상기 이브루티닙은 1일 당 (약) 420 mg의 용량까지 투여되는, 방법.

**청구항 62**

제1항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서,  
상기 질병 또는 병태는 재발성 또는 불응성 (r/r) CLL인, 방법.

**청구항 63**

제1항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서,  
상기 질병 또는 병태는 재발성 또는 불응성 (r/r) SLL인, 방법.

**청구항 64**

제1항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서,  
상기 조작된 세포의 용량은 CAR을 발현하는 CD4<sup>+</sup> 세포 대 CAR을 발현하는 CD8<sup>+</sup> 세포의 정의된 비율로 포함하고,  
선택적으로 상기 비율은 대략 1:3 내지 대략 3:1인, 방법.

**청구항 65**

제1항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서,  
상기 조작된 세포의 용량은 CAR을 발현하는 CD4<sup>+</sup> 세포 대 CAR을 발현하는 CD8<sup>+</sup> 세포를 (대략) 1:1의 정의된 비율로 포함하는, 방법.

**청구항 66**

제1항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서,  
상기 조작된 세포의 용량은 (약)  $2.5 \times 10^7$  개 총 CAR-발현 세포 내지 (약)  $1.0 \times 10^8$  개 총 CAR-발현 세포를 포함하는, 방법.

**청구항 67**

제1항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서,  
상기 조작된 세포의 용량은 (약)  $2.5 \times 10^7$  개 총 CAR-발현 세포를 포함하는, 방법.

**청구항 68**

제1항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조작된 세포의 용량은 (약)  $5 \times 10^7$ 개 총 세포 또는 총 CAR-발현 세포를 포함하는, 방법.

#### 청구항 69

제1항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조작된 세포의 용량은 (약)  $1 \times 10^8$ 개 총 세포 또는 총 CAR-발현 세포를 포함하는, 방법.

#### 청구항 70

제1항 내지 제69항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 세포 요법의 투여는 복수의 개별 조성물을 투여하는 것을 포함하고,

상기 복수의 개별 조성물은  $CD4^+$  T 세포 및  $CD8^+$  T 세포 중 하나를 포함하는 제1 조성물 및  $CD4^+$  T 세포 및  $CD8^+$  T 세포 중 다른 하나를 포함하는 제2 조성물을 포함하는, 방법.

#### 청구항 71

제1항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 제1 조성물은 상기  $CD8^+$  T 세포를 포함하고, 상기 제2 조성물은 상기  $CD4^+$  T 세포를 포함하는, 방법.

#### 청구항 72

제71항에 있어서,

상기 제1 조성물의 투여 개시는 상기 제2 조성물의 투여 개시 전에 수행되고,

선택적으로 상기 제1 조성물의 투여 개시 및 상기 제2 조성물의 투여 개시는 48시간 이하의 간격으로 수행되는, 방법.

#### 청구항 73

제64항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서,

상기  $CD4^+$  T 세포에 의해 포함된 CAR 및/또는 상기  $CD8^+$  T 세포에 의해 포함된 CAR은 동일한 CAR을 포함하고/거나 상기  $CD4^+$  T 세포 및/또는 상기  $CD8^+$  T 세포는 동일한 CAR을 발현하도록 유전자 조작되는, 방법.

#### 청구항 74

제1항 내지 제 73항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 세포 요법의 투여 전에, 상기 대상체는 CAR을 발현하는 세포의 또 다른 용량 또는 림프구 고갈 요법 이외의, 상기 CLL 또는 SLL에 대한 하나 이상의 선행 요법, 선택적으로 적어도 2개의 선행 요법으로 치료를 받았던, 방법.

**청구항 75**

제1항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 세포 요법의 투여 전에, 상기 대상체는 2개 이상의 선행 요법으로의 치료 후 관해된 이후에 재발했거나, 이에 대해 불응성이 되었고, 실패했고 및/또는 이에 불내성이었던, 방법.

**청구항 76**

제74항 또는 제75항에 있어서,

상기 하나 이상의 선행 요법은 키나아제 억제제, 선택적으로 브루톤 티로신 키나아제 (BTK)의 억제제, 선택적으로 이브루티닙; 베네토클락스; 플루다라빈 및 리톡시마를 포함하는 병용 요법; 방사선 요법; 및 조혈 줄기세포 이식 (HSCT) 중에서 선택되는, 방법.

**청구항 77**

제74항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 하나 이상의 선행 요법은 브루톤 티로신 키나아제 (BTK)의 억제제 및/또는 베네토클락스를 포함하는, 방법.

**청구항 78**

제74항 내지 제77항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 하나 이상의 선행 요법은 이브루티닙 및 베네토클락스를 포함하는, 방법.

**청구항 79**

제74항 내지 제77항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 대상체는 브루톤 티로신 키나아제 (BTK)의 억제제 및/또는 베네토클락스를 이용한 치료 후 관해된 이후 재발했고, 이에 불응성이 되었고, 치료에 실패했고 및/또는 이에 대해 불내성인, 방법.

**청구항 80**

제74항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 대상체는 이브루티닙과 베네토클락스를 이용한 치료 후 관해된 이후 재발했고, 이에 불응성이 되었고, 치료에 실패했고 및/또는 이에 대해 불내성인, 방법.

**청구항 81**

제1항 내지 제80항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조작된 세포는 대상체로부터 수득된 1차 T 세포인, 방법.

**청구항 82**

제1항 내지 제81항 중 어느 한 항에 있어서,



상기 조작된 세포는 상기 대상체에 대해 자가(autologous)인, 방법.

**청구항 83**

제1항 내지 제82항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 CAR은 CD19에 특이적인 세포의 항원 결합 도메인, 막관통 도메인, 선택적으로 4-1BB인 공자극 분자로부터 유래된 세포질 신호 전달 도메인, 및 선택적으로 CD3제타인 1차 신호 전달 ITAM-함유 분자로부터 유래된 세포질 신호 전달 도메인을 포함하고;

상기 CAR은 CD19에 특이적인 세포의 항원 결합 도메인, 막관통 도메인, 공자극 분자로부터 유래된 세포질 신호 전달 도메인, 및 1차 신호 전달 ITAM-함유 분자로부터 유래된 세포질 신호 전달 도메인을 순서대로 포함하는, 방법.

**청구항 84**

제83항에 있어서,

상기 항원 결합 도메인은 scFv인, 방법.

**청구항 85**

제84항에 있어서,

상기 scFv는 RASQDISKYLN(서열번호 35)의 CDRL1 서열, SRLHSGV(서열번호 36)의 CDRL2 서열 및/또는 GNTLPYTFG(서열번호 37)의 CDRL3 서열 및/또는 DYGVS(서열번호 38)의 CDRH1 서열, VIWGSETTYNSALKS(서열번호 39)의 CDRH2 서열 및/또는 YAMDYWG(서열번호 40)의 CDRH3 서열을 포함하고;

상기 scFv는 FMC63의 가변 중쇄 영역 및 FMC63의 가변 경쇄 영역 및/또는 FMC63의 CDRL1 서열, FMC63의 CDRL2 서열, FMC63의 CDRL3 서열, FMC63의 CDRH1 서열, FMC63의 CDRH2 서열, 및 FMC63의 CDRH3 서열을 포함하거나 전술한 임의의 것과 동일한 에피토프에 결합하거나 전술한 임의의 것과 결합을 위해 경쟁하고;

상기 scFv는 서열번호 41에 제시된  $V_H$  및 서열번호 42에 제시된  $V_L$  을 포함하고, 선택적으로 상기  $V_H$  및  $V_L$  은 가요성 링커에 의해 분리되고, 선택적으로 상기 가요성 링커는 서열번호 24에 제시된 서열이거나 이를 포함하고; 및/또는

상기 scFv는 서열번호 43에 제시된 서열이거나 이를 포함하는, 방법.

**청구항 86**

제83항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 공자극 신호 전달 영역은 CD28 또는 4-1BB의 신호 전달 도메인인, 방법.

**청구항 87**

제83항 내지 제86항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 공자극 신호 전달 영역은 4-1BB의 신호 전달 도메인인, 방법.

**청구항 88**

제83항 내지 제87항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 공자극 도메인은 서열번호 12 또는 이와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함하는, 방법.

#### 청구항 89

제83항 내지 제88항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 1차 신호 전달 도메인은 CD3제타 신호 전달 도메인인, 방법.

#### 청구항 90

제83항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 1차 신호 전달 도메인은 서열번호 13, 14 또는 15, 또는 이와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함하는, 방법.

#### 청구항 91

제83항 내지 제90항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 CAR은 상기 막관통 도메인과 상기 항원 결합 도메인 사이에 스페이서를 더 포함하는, 방법.

#### 청구항 92

제91항에 있어서,

상기 스페이서는 면역글로불린 힌지 또는 이의 변형된 버전, 선택적으로 IgG4 힌지 또는 이의 변형된 버전의 전부 또는 일부를 포함하거나 이로 구성된 폴리펩타이드 스페이서인, 방법.

#### 청구항 93

제91항 또는 제92항에 있어서,

상기 스페이서는 약 15개 아미노산 이하이고, CD28 세포외 영역 또는 CD8 세포외 영역을 포함하지 않는, 방법.

#### 청구항 94

제91항 내지 제93항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 스페이서는 (약) 12개의 아미노산 길이인, 방법.

#### 청구항 95

제91항 내지 제94항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 스페이서는 서열번호 1의 서열, 서열번호 2, 서열번호 30, 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 33, 서열번호 34 또는 이와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 갖는 상기 중 임의의 것의 변이체에 의해 암호화된 서열을 갖거나 이로 구성되고; 및/

또는

화학식  $X_1PPX_2P$ 를 포함하거나 이로 구성되되, 여기서  $X_1$ 은 글리신, 시스테인 또는 아르기닌이고  $X_2$ 는 시스테인 또는 트레오닌인, 방법.

### 청구항 96

제83항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 scFv는 RASQDISKYLN(서열번호 35)의 아미노산 서열, SRLHSGV(서열번호 36)의 아미노산 서열 및/또는 GNTLPYTFG(서열번호 37)의 아미노산 서열 및/또는 DYGV(서열번호 38) 아미노산 서열, VIWGSETTYNSALKS(서열번호 39)의 아미노산 서열 및/또는 YAMDYWG(서열번호 40)의 아미노산 서열을 포함하고, 또는 상기 scFv는 FMC63의 가변 중쇄 영역 및 FMC63의 가변 경쇄 영역 및/또는 FMC63의 CDRL1 서열, FMC63의 CDRL2 서열, FMC63의 CDRL3 서열, FMC63의 CDRH1 서열, FMC63의 CDRH2 서열, 및 FMC63의 CDRH3 서열을 포함하거나, 전술한 임의의 것과의 결합을 위해 경쟁하고,

선택적으로 상기 scFv는  $V_H$ , 선택적으로 서열번호 24를 포함하는 링커, 및  $V_L$ 를 순서대로 포함하고, 및/또는 상기 scFv는 가요성 링커를 포함하고 및/또는 서열번호 43으로 제시된 아미노산 서열을 포함하고;

상기 스페이서는

(a) 면역 글로불린 힌지 또는 이의 변형된 버전의 전부 또는 일부를 포함하거나 이로 구성되거나, 약 15개 이하의 아미노산을 포함하고, CD28 세포의 영역 또는 CD8 세포의 영역을 포함하지 않고,

(b) 면역글로불린 힌지, 선택적으로 IgG4 힌지, 또는 이의 변형된 버전의 전부 또는 일부를 포함하거나 이로 구성되고 및/또는 약 15개 이하의 아미노산을 포함하고, CD28 세포의 영역 또는 CD8 세포의 영역을 포함하지 않고, 또는

(c) (약) 12개의 아미노산 길이이고 및/또는 면역글로불린 힌지, 선택적으로 IgG4, 또는 이의 변형된 버전의 전부 또는 일부를 포함하거나 이로 구성되고; 또는

(d) 서열번호 1의 서열, 서열번호 2, 서열번호 30, 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 33, 서열번호 34 또는 이와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 갖는 상기 중 임의의 것의 변이체에 의해 암호화된 서열을 갖거나 이로 구성되고, 또는

(e) 화학식  $X_1PPX_2P$ 를 포함하거나 이로 구성되되, 여기서  $X_1$ 은 글리신, 시스테인 또는 아르기닌이고  $X_2$ 는 시스테인 또는 트레오닌인,

폴리펩타이드 스페이서이고;

상기 공자극 도메인은 서열번호 12 또는 이와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는

상기 1차 신호 전달 도메인은 서열번호 13, 14 또는 15, 또는 이와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함하는, 방법.

### 청구항 97

제83항 내지 제96항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항원 결합 도메인은 FMC63의 가변 중쇄 영역 및 FMC63의 가변 경쇄 영역을 포함하는 scFv를 포함하고;

상기 CAR은 서열번호 1의 서열을 포함하는 폴리펩타이드 스페이서인 스페이서를 더 포함하고;

상기 공자극 도메인은 서열번호 12를 포함하고; 및

상기 1차 신호 전달 도메인은 서열번호 13, 14 또는 15를 포함하는, 방법.

**청구항 98**

제1항 내지 제97항 중 어느 한 항에 있어서,  
상기 대상체는 인간 대상체인, 방법.

**청구항 99**

제조품으로서,  
CD19에 결합하는 CAR을 발현하는 T 세포를 포함하는, 세포 요법을 위한 조성물, 또는 세포 요법을 위한 복수의 조성물 중 하나, 및 상기 세포 요법을 투여하기 위한 지침을 포함하고,  
상기 지침은 제1항 내지 제98항 중 어느 한 항의 방법에 따라 상기 T 세포 조성물을 투여하는 것을 지정하는, 제조품.

**청구항 100**

세포 요법으로서,  
제1항 내지 제98항 중 어느 한 항의 방법에 따라, 만성 림프모구 백혈병(chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종(SLL)을 갖는 대상체를 치료하는 방법에 사용하기 위한 CD19에 결합하는 CAR을 발현하는 T 세포를 포함하는, 세포 요법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

- [0001] 관련 출원에 대한 상호 참조
- [0002] 본 출원은 “B 세포 악성 종양을 치료하기 위한 세포 요법과 연관된 독성 및 반응과 관련된 방법”이라는 명칭으로 2019년 12월 6일자 출원된 미국 가출원 제62/945,105호에 대한 우선권을 주장하며, 그 내용들은 모든 목적을 위하여 그 전체가 참조로 포함된다.
- [0003] 서열 목록의 참조 포함
- [0004] 본 출원은 전자 형식의 서열 목록과 함께 제출된다. 서열 목록은 2020년 12월 3일자 생성된 735042022840SeqList.TXT라는 명칭의 파일로 제공되며, 이의 크기는 36,864 bytes이다. 서열 목록 내 전자 형식의 정보는 그 전체가 참조로 포함된다.
- [0005] 본 개시내용은 일부 측면에서 독성(예를 들어, 신경독성)의 위험성 및/또는 세포 요법에 대한 반응 가능성(likelihood of response)을 알아내기 위한 방법에 관한 것이다. 일부 측면에서, 본 방법은 일반적으로 독성 및/또는 반응과 연관된 파라미터 또는 바이오마커(예를 들어, 혈액 분석물)를 평가하는 단계를 포함한다. 일부 측면에서, 본 방법은 어떤 B 세포 악성 종양, 예컨대 재발성 또는 불응성 CLL과 같은 만성 림프구성 백혈병(chronic lymphocytic leukemia, CLL), 또는 소형 림프구성 림프종(small lymphocytic lymphoma, SLL)이 있는 대상체를 치료하기 위해 세포의 용량의 투여를 포함하는 입양 세포 요법에 관한 것이다. 입양 세포 요법을 위한 세포는 일반적으로 키메라 항원 수용체(CARs)와 같은 재조합 수용체를 발현한다. 일부 측면에서, 본 방법은 예를 들어 세포 요법으로 치료할 대상체를 식별하거나 선택하는 데 사용될 수 있다.

**배경 기술**

- [0006] 만성 림프구성 백혈병 (CLL) 및 소형 림프구성 림프종 (SLL)은 혈액 및 골수에서 및/또는 림프절에서 미성숙 림

프구가 발견되는 무통성(indolent) 암이다. CLL 및 SLL은 불치성으로 간주되며, 환자는 결국 재발하거나 이용 가능한 요법에 불응성이 된다. 어떤 방법은 키메라 항원 수용체 (CAR)와 같은 재조합 수용체를 발현하는 조작된 세포를 사용하는 입양 세포 요법을 위해 이용할 수 있다. 예를 들어, 독성의 위험성을 감소시키고 및/또는 치료에 대한 반응을 향상시키기 위해 개선된 방법이 필요하다. 상기 필요를 충족시키는 방법, 용도 및 제조품이 제공된다.

**발명의 내용**

[0007] 독성이 발생할 위험성을 알아내는 방법 및 세포 요법의 투여 후 반응 가능성(likelihood of response)을 알아내는 방법이 본원에서 제공된다. 임의의 구현예 중 일부에서, 방법은 파라미터 또는 바이오마커 또는 분석물의 수준, 농도 또는 양의 값을 그 특정 파라미터, 바이오마커 또는 분석물에 대한 역치 값과 비교하는 것을 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 비교는 독성의 위험성 및/또는 세포 요법에 대한 반응 가능성을 알아내기 위해 사용될 수 있다. 임의의 구현예 중 일부에서, 비교는 독성의 위험성을 알아내기 위해 사용될 수 있다. 임의의 구현예 중 일부에서, 비교는 세포 요법에 대한 반응 가능성을 알아내기 위해 사용될 수 있다. 임의의 구현예 중 일부에서, 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 파라미터, 바이오마커 또는 분석물은 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (SLL)을 갖는 대상체로부터 또는 대상체로부터 수득된 샘플에서 평가된다. 일부 구현예에서, 대상체는 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL)을 갖는다. 일부 구현예에서, 대상체는 소형 림프구성 림프종 (SLL)을 갖는다. 임의의 구현예 중 일부에서, 대상체는 세포 요법 치료를 위한 후보자이고, 및/또는 세포 요법 치료를 받았다. 임의의 구현예 중 일부에서, 대상체는 세포 요법 치료를 위한 후보자이다. 일부 구현예에서, 대상체는 세포 요법 치료를 받았다. 임의의 구현예 중 일부에서, 제공된 방법은 독성이 발생할 위험이 있고 및/또는 세포 요법에 반응할 가능성이 있는 대상체를 식별 또는 선택하고; 및/또는 특정 치료, 예컨대 추가의 치료제로의 치료를 위한 대상체를 선택하기 위해 사용될 수 있다. 임의의 구현예 중 일부에서, 제공된 방법은 독성이 발생할 위험이 있는 대상체를 식별 또는 선택하기 위해 사용될 수 있다. 임의의 구현예 중 일부에서, 제공된 방법은 세포 요법에 반응할 가능성이 있는 대상체를 식별 또는 선택하기 위해 사용될 수 있다. 임의의 구현예 중 일부에서, 제공된 방법은 특정 치료, 예컨대 추가의 치료제로의 치료를 위한 대상체를 선택하기 위해 사용될 수 있다.

[0008] 세포 요법의 투여 후 독성이 발생할 위험성을 알아내는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은: 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (small lymphocytic lymphoma, SLL)을 갖는 대상체에서, 림프절 종양 부담, 혈액 종양 부담 및 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율 중에서 선택되는 질병 부담의 하나 이상의 파라미터를 평가하는 단계, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 파라미터는 상기 세포 요법을 투여하기 전에 상기 대상체로부터 평가됨; 및 개별적으로, 상기 하나 이상의 파라미터의 값을 각각의 파라미터에 대한 역치 수준과 비교하는 단계, 여기서 하기와 같은 경우 상기 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 대상체를 식별하는 단계: 상기 림프절 종양 부담이 림프절 종양 부담에 대한 역치 수준 이상이고; 상기 혈액 종양 부담이 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준 미만이고; 및/또는 상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 상기 비율에 대한 역치 수준 미만임; 또는 하기와 같은 경우 상기 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 대상체를 식별하는 단계: 상기 림프절 종양 부담이 림프절 종양 부담에 대한 역치 수준 미만이고; 상기 혈액 종양 부담이 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준 이상이고; 및/또는 상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 상기 비율에 대한 역치 수준을 초과함;를 포함한다.

[0009] 임의의 구현예 중 일부에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은 상기 대상체에 선택적으로 감소된 용량으로 상기 세포 요법을 투여하는 단계, 선택적으로 여기서 상기 방법은 상기 대상체에 상기 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 단계를 더 포함함; 및/또는 상기 대상체에 대한 상기 세포 요법의 투여는 입원 환자 환경(in-patient setting)에서 및/또는 1일 이상 동안 병원에 입원하여 수행되거나 수행되도록 지정됨; 또는 상기 대상체에 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위한 상기 세포 요법 외의 대체 치료법을 투여하는 단계;를 더 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은 상기 대상체에 감소된 용량으로 상기 세포 요법을 투여하는 단계를 더 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은 상기 대상체에 상기 신경 독성의 발생 또

는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 단계를 더 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 상기 대상체에 대한 상기 세포 요법의 투여는 입원 환자 환경(in-patient setting)에서 및/또는 1일 이상 동안 병원에 입원하여 수행되거나 수행되도록 지정된다. 일부 구현예에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은 상기 대상체에 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위한 상기 세포 요법 외의 대체 치료법을 투여하는 단계를 포함한다.

[0010]

임의의 구현예 중 일부에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은 상기 대상체에 상기 세포 요법을 투여하는 단계, 선택적으로 여기서 상기 대상체가 독성의 징후 또는 증상을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때(선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타낸 때 또는 그 후)까지, 상기 대상체는 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여받지 않음; 및/또는 선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 외래환자 기준으로 및/또는 상기 대상체를 병원에 입원시키지 않고 및/또는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 및/또는 병원에 입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이, 상기 세포 요법의 투여 및 임의의 후속 조치가 수행됨;를 더 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은 상기 대상체에 상기 세포 요법을 투여하는 단계를 더 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 식별되는 경우, 상기 대상체가 독성의 징후 또는 증상을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 상기 대상체는 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여받지 않는다. 임의의 구현예 중 일부에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 식별되는 경우, 상기 대상체가 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 상기 대상체는 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여받지 않는다. 일부 구현예에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 식별되는 경우, 외래환자 기준으로 및/또는 상기 대상체를 병원에 입원시키지 않고 및/또는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 및/또는 병원에 입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이, 상기 세포 요법의 투여 및 임의의 후속 조치가 수행된다. 일부 구현예에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 식별되는 경우, 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 외래환자 기준으로 및/또는 상기 대상체를 병원에 입원시키지 않고 및/또는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 및/또는 병원에 입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이, 상기 세포 요법의 투여 및 임의의 후속 조치가 수행된다.

[0011]

세포 요법 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은: 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (SLL)을 갖는 대상체에서, 림프절 종양 부담, 혈액 종양 부담 및 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율 중에서 선택되는 질병 부담의 하나 이상의 파라미터를 평가하는 단계, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조각된 세포의 용량을 포함하고, 상기 파라미터는 상기 세포 요법을 투여하기 전에 상기 대상체로부터 평가됨; 및개별적으로, 상기 하나 이상의 파라미터의 값을 각각의 파라미터에 대한 역치 수준과 비교하는 단계, 여기서 상기 림프절 종양 부담이 림프절 종양 부담에 대한 역치 수준 이상이고; 상기 혈액 종양 부담이 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준 미만이고; 및/또는 상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 상기 비율에 대한 역치 수준 미만인 경우, 상기 대상체를 감소된 용량으로 상기 세포 요법의 투여; 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법의 투여; 입원 환자 환경(in-patient setting)에서 및/또는 1일 이상 동안 병원에 입원하여 수행되거나 수행되도록 지정된 세포 요법의 투여; 및/또는 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위한 상기 세포 요법 외의 대체 치료법의 투여;를 위해 선택하는 단계; 또는 상기 림프절 종양 부담이 림프절 종양 부담에 대한 역치 수준 미만이고; 상기 혈액 종양 부담이 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준 이상이고; 및/또는 상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 상기 비율에 대한 역치 수준을 초과한 경우, 상기 대상체를 세포 요법의 투여, 선택적으로 여기서 상기 대상체가 독성의 징후 또는 증상을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때(선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타낸 때 또는 그 후)까지, 상기 대상체는 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여받지 않음; 및/또는 선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 외래환자 기준으로 및/또는 상기 대상체를 병원에 입원시키지 않고 및/또는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 및/또는 병원에

입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이, 상기 세포 요법의 투여 및 임의의 후속 조치가 수행됨;를 위해 선택하는 단계를 포함한다.

[0012] 또한 세포 요법 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은: 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (SLL) 을 갖는 대상체에서, 림프절 종양 부담, 혈액 종양 부담 및 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율 중에서 선택되는 질병 부담의 하나 이상의 파라미터를 평가하는 단계, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 파라미터는 상기 세포 요법을 투여하기 전에 상기 대상체로부터 평가됨; 및개별적으로, 상기 하나 이상의 파라미터의 값을 각각의 파라미터에 대한 역치 수준과 비교하는 단계, 여기서 상기 림프절 종양 부담이 림프절 종양 부담에 대한 역치 수준 이상이고; 상기 혈액 종양 부담이 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준 미만이고; 및/또는 상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 상기 비율에 대한 역치 수준 미만인 경우, 상기 대상체를 감소된 용량으로 상기 세포 요법의 투여; 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법의 투여; 입원 환자 환경(in-patient setting)에서 및/또는 1일 이상 동안 병원에 입원하여 수행되거나 수행되도록 지정된 세포 요법의 투여; 및/또는 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위한 상기 세포 요법 외의 대체 치료법의 투여;를 위해 선택하는 단계; 또는상기 림프절 종양 부담이 림프절 종양 부담에 대한 역치 수준 미만이고; 상기 혈액 종양 부담이 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준 이상이고; 및/또는 상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 상기 비율에 대한 역치 수준을 초과한 경우, 상기 대상체를 세포 요법의 투여를 위해 선택하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체가 독성의 징후 또는 증상을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 상기 대상체는 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여받지 않는다. 일부 구현예에서, 상기 대상체가 독성의 징후 또는 증상을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때(예컨대 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1℃ 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타낸 때 또는 그 후)까지, 상기 대상체는 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여받지 않는다. 일부 구현예에서, 세포 요법의 투여 및 임의의 후속 조치는 외래환자 기준으로 수행된다. 일부 구현예에서, 세포 요법의 투여 및 임의의 후속 조치는 대상체를 병원에 입원시키지 않고 수행된다. 일부 구현예에서, 세포 요법의 투여 및 임의의 후속 조치는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 수행된다. 일부 구현예에서, 세포 요법의 투여 및 임의의 후속 조치는 병원에 입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이 수행된다. 일부 구현예에서, 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1℃ 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 외래환자 기준으로 및/또는 상기 대상체를 병원에 입원시키지 않고 및/또는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 및/또는 병원에 입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이, 상기 세포 요법의 투여 및 임의의 후속 조치가 수행된다.

[0013] 임의의 구현예 중 일부에서, 방법은 상기 대상체에 세포 요법, 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법 및/또는 대체 치료법을 투여하는 단계를 더 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 방법은 대상체에 세포 요법을 투여하는 단계를 더 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 방법은 대상체에 제제를 투여하는 단계를 더 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 방법은 대상체에 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 다른 치료법을 투여하는 단계를 더 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 방법은 대상체에 대체 치료법을 투여하는 단계를 더 포함한다.

[0014] 임의의 구현예 중 일부에서, 혈액 종양 부담을 평가하는 단계는 상기 대상체의 혈액 내의 림프구 농도를 알아내는 단계를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 농도는 혈액의 마이크로리터(μL) 당 림프구 수이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 (약) 800 림프구/μL 내지 (약) 3000 림프구/μL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 (약) 800 림프구/μL, 900 림프구/μL, 1000 림프구/μL, 1250 림프구/μL, 1500 림프구/μL, 1750 림프구/μL, 2000 림프구/μL, 2250 림프구/μL, 2500 림프구/μL, 2750 림프구/μL 또는 3000 림프구/μL의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 (약) 800 림프구/μL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 (약) 900 림프구/μL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 (약) 1000 림프구/μL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 (약) 1250 림프구/μL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 (약) 1500 림프구/μL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 (약) 1750 림프구/μL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 (약)





림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 750의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 센티미터(cm)로의 최대 림프절 직경에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 800의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 센티미터(cm)로의 최대 림프절 직경에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 850의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 센티미터(cm)로의 최대 림프절 직경에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 900의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 센티미터(cm)로의 최대 림프절 직경에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 950의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 센티미터(cm)로의 최대 림프절 직경에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 1000의 값이다.

[0017] 임의의 구현예 중 일부에서, 림프절 부담을 평가하는 단계는 직경의 곱의 합 (SPD)을 알아내는 단계를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 SPD는 제곱 센티미터 ( $\text{cm}^2$ )로 측정된다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약)  $10 \text{ cm}^2$  내지 (약)  $40 \text{ cm}^2$ 의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약)  $10 \text{ cm}^2$ ,  $12.5 \text{ cm}^2$ ,  $15 \text{ cm}^2$ ,  $17.5 \text{ cm}^2$ ,  $20 \text{ cm}^2$ ,  $22.5 \text{ cm}^2$ ,  $25 \text{ cm}^2$ ,  $27.5 \text{ cm}^2$ ,  $30 \text{ cm}^2$ ,  $32.5 \text{ cm}^2$ ,  $35 \text{ cm}^2$ ,  $37.5 \text{ cm}^2$  또는  $40 \text{ cm}^2$ 의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약)  $10 \text{ cm}^2$ 의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약)  $12.5 \text{ cm}^2$ 의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약)  $15 \text{ cm}^2$ 의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약)  $17.5 \text{ cm}^2$ 의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약)  $20 \text{ cm}^2$ 의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약)  $22.5 \text{ cm}^2$ 의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약)  $25 \text{ cm}^2$ 의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약)  $27.5 \text{ cm}^2$ 의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약)  $30 \text{ cm}^2$ 의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약)  $32.5 \text{ cm}^2$ 의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약)  $35 \text{ cm}^2$ 의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약)  $37.5 \text{ cm}^2$ 의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약)  $40 \text{ cm}^2$ 의 값이다.

[0018] 임의의 구현예 중 일부에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율을 평가하는 단계는 상기 제곱 센티미터 ( $\text{cm}^2$ )로의 직경의 곱의 합 (SPD)에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율을 알아내는 단계를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 25 내지 (약) 500의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 또는 500의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 25의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 50의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 75의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 100의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이

크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 150의 값이다. 임의의 구현에 중 일부에서, 림프절 중앙 부담에 대한 혈액 중앙 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 200의 값이다. 임의의 구현에 중 일부에서, 림프절 중앙 부담에 대한 혈액 중앙 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 250의 값이다. 임의의 구현에 중 일부에서, 림프절 중앙 부담에 대한 혈액 중앙 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 300의 값이다. 임의의 구현에 중 일부에서, 림프절 중앙 부담에 대한 혈액 중앙 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 350의 값이다. 임의의 구현에 중 일부에서, 림프절 중앙 부담에 대한 혈액 중앙 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 400의 값이다. 임의의 구현에 중 일부에서, 림프절 중앙 부담에 대한 혈액 중앙 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 450의 값이다. 임의의 구현에 중 일부에서, 림프절 중앙 부담에 대한 혈액 중앙 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 500의 값이다.

[0019] 세포 요법의 투여 후 독성이 발생할 위험성을 알아내는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은: 중앙 괴사 인자 (TNF) 및/또는 인터루킨-16 (IL-16)의 수준, 양 또는 농도에 대해 생물학적 샘플을 평가하는 단계, 상기 생물학적 샘플은 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (SLL)을 갖는 대상체로부터 유래되고, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 생물학적 샘플은 상기 세포 요법의 투여 전 또는 CAR+ T 세포 증폭 피크 전 및/또는 세포 요법의 투여 개시 후 (약) 11일 이내에 대상체로부터 획득됨; 및 TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준에 대해 개별적으로 비교하는 단계, 여기서 TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL 내지 (약) 25 pg/mL의 값이고; 및/또는 IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL 내지 (약) 900 pg/mL의 값이며; 그리고 TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 상기 대상체를 식별하고; 또는 TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 상기 대상체를 식별함;을 포함한다.

[0020] 세포 요법의 투여 후 독성이 발생할 위험성을 알아내는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은: 중앙 괴사 인자 (TNF) 및/또는 인터루킨-16 (IL-16)의 수준, 양 또는 농도에 대한 생물학적 샘플을 평가하는 단계, 상기 생물학적 샘플은 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (SLL)을 갖는 대상체로부터 유래되고, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 생물학적 샘플은 상기 세포 요법을 투여하기 전에 대상체로부터 획득됨; 및 TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준에 대해 개별적으로 비교하는 단계, 여기서 TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL 내지 (약) 25 pg/mL의 값이고; 및/또는 IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL 내지 (약) 900 pg/mL의 값이며; 그리고 TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 상기 대상체를 식별하고; 또는 TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 상기 대상체를 식별함;을 포함한다.

[0021] 임의의 구현에 중 일부에서, 상기 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은 상기 대상체에 선택적으로 감소된 용량으로 상기 세포 요법을 투여하는 단계, 선택적으로 여기서 상기 방법은 상기 대상체에 상기 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 단계를 더 포함함; 및/또는 상기 대상체에 대한 상기 세포 요법의 투여는 입원 환자 환경 (in-patient setting)에서 및/또는 1일 이상 동안 병원에 입원하여 수행되거나 수행되도록 지정됨; 또는 상기 대상체에 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위한 상기 세포 요법 외의 대체 치료법을 투여하는 단계;를 더 포함한다. 임의의 구현에 중 일부에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은 상기 대상체에 상기 세포 요법을 투여하는 단계를 더 포함한다. 임의의 구현에 중 일부에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은 상기 대상체에 감소된 용량으로 상기 세포 요법을 투여하는 단계를 더 포함한다. 임의의 구현에 중 일부에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은 상기 대상체에 상기 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 단계를 더 포함한다. 임의의 구현에 중 일부에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 상기 대상체에 대한 상기 세포 요법의 투

여는 입원 환자 환경(in-patient setting)에서 및/또는 1일 이상 동안 병원에 입원하여 수행되거나 수행되도록 지정된다. 임의의 구현예 중 일부에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은 상기 대상체에 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위한 상기 세포 요법 외의 대체 치료법을 투여하는 단계를 더 포함한다.

[0022] 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은 상기 대상체에 상기 세포 요법을 투여하는 단계, 선택적으로 여기서 상기 대상체가 독성의 징후 또는 증상을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때(선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타낸 때 또는 그 후)까지, 상기 대상체는 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여받지 않음; 및/또는 선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 외래환자 기준으로 및/또는 상기 대상체를 병원에 입원시키지 않고 및/또는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 및/또는 병원에 입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이, 상기 세포 요법의 투여 및 임의의 후속 조치가 수행됨;를 더 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은 상기 대상체에 상기 세포 요법을 투여하는 단계를 더 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 식별되는 경우, 상기 대상체가 독성의 징후 또는 증상을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 상기 대상체는 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여받지 않는다. 일부 구현예에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 식별되는 경우, 상기 대상체가 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 상기 대상체는 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여받지 않는다. 일부 구현예에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 식별되는 경우, 외래환자 기준으로 및/또는 상기 대상체를 병원에 입원시키지 않고 및/또는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 및/또는 병원에 입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이, 상기 세포 요법의 투여 및 임의의 후속 조치가 수행된다.

[0023] 세포 요법 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은: 종양 괴사 인자 (TNF) 및/또는 인터루킨-16 (IL-16)의 수준, 양 또는 농도에 대한 생물학적 샘플을 평가하는 단계, 상기 생물학적 샘플은 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (SLL)을 갖는 대상체로부터 유래되고, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 생물학적 샘플은 상기 세포 요법을 투여하기 전에 대상체로부터 획득됨; 및 TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준에 대해 개별적으로 비교하는 단계, 여기서 TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL 내지 (약) 25 pg/mL의 값이고; 및/또는 IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL 내지 (약) 900 pg/mL의 값이며; 그리고 TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 상기 대상체를 감소된 용량으로 상기 세포 요법의 투여; 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법의 투여; 입원 환자 환경(in-patient setting)에서 및/또는 1일 이상 동안 병원에 입원하여 수행되거나 수행되도록 지정된 세포 요법의 투여; 및/또는 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위한 상기 세포 요법 외의 대체 치료법의 투여;를 위해 선택하는 단계; 또는 TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 상기 대상체를 세포 요법의 투여, 선택적으로 여기서 상기 대상체가 독성의 징후 또는 증상을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때(선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타낸 때 또는 그 후)까지, 상기 대상체는 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여받지 않음; 및/또는 선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 외래환자 기준으로 및/또는 상기 대상체를 병원에 입원시키지 않고 및/또는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 및/또는 병원에 입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이, 상기 세포 요법의 투여 및 임의의 후속 조치가 수행됨;를 위해 선택하는 단계를 포함한다.

[0024] 임의의 구현예 중 일부에서, 방법은 상기 대상체에 세포 요법, 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법 및/또는 대체 치료법을 투여하는 단계를 더

포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 방법은 대상체에 세포 요법을 투여하는 단계를 더 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 방법은 대상체에 제제를 투여하는 단계를 더 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 방법은 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 다른 치료법을 투여하는 단계를 더 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 방법은 대상체에 대체 치료법을 투여하는 단계를 더 포함한다.

[0025] 세포 요법의 투여 후 독성이 발생할 위험성을 알아내는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은: TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도에 대해 대상체로부터의 생물학적 샘플을 평가하는 단계, 상기 대상체는 CLL 또는 SLL을 치료하기 위해 CAR을 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하는 세포 요법의 투여를 받았고, 상기 생물학적 샘플은 CAR+ T 세포 증폭 피크 전 및/또는 세포 요법의 투여 개시 후 (약) 11일 이내에 대상체로부터 획득됨; 및 TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준에 대해 개별적으로 비교하는 단계, 여기서 TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL 내지 (약) 25 pg/mL의 값이고; 및/또는 IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL 내지 (약) 900 pg/mL의 값이며; 그리고 TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 상기 대상체를 식별하고; 또는 TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 상기 대상체를 식별함;을 포함한다.

[0026] 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은 선택적으로 CAR+ T 세포 증폭 피크 전 및/또는 대상체에 세포 요법의 투여의 (약) 11일 이내에 대상체에 상기 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 단계; 및/또는 후속 조치는 입원 환자 환경(in-patient setting)에서 및/또는 1일 이상 동안 병원에 입원하여 수행됨;를 더 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 식별되는 경우, 선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 외래환자 기준으로 및/또는 상기 대상체를 병원에 입원시키지 않고 및/또는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 및/또는 병원에 입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이, 후속 조치가 수행된다. 임의의 구현예 중 일부에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은 상기 대상체에 상기 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 단계를 더 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은 CAR+ T 세포 증폭 피크 전에 상기 대상체에 상기 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 단계를 더 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은 대상체에 세포 요법의 투여의 (약) 11일 이내에 상기 대상체에 상기 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 단계를 더 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 후속 조치는 입원 환자 환경(in-patient setting)에서 및/또는 1일 이상 동안 병원에 입원하여 수행된다. 임의의 구현예 중 일부에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 식별되는 경우, 외래환자 기준으로 및/또는 상기 대상체를 병원에 입원시키지 않고 및/또는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 및/또는 병원에 입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이, 후속 조치가 수행된다. 임의의 구현예 중 일부에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 식별되는 경우, 외래환자 기준으로 및/또는 상기 대상체를 병원에 입원시키지 않고 및/또는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 및/또는 병원에 입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이, 후속 조치가 수행된다.

[0027] 치료 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은: 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 대상체에 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 단계, 상기 대상체는 CLL 또는 SLL를 치료하기 위한 세포 요법의 투여를 이전에 받았고, 여기서, 상기 제제를 투여할 때 또는 투여 직전에, CAR+ T 세포 증폭 피크 전 및/또는 세포 요법의 투여 개시의 (약) 11일 이내에 대상체로부터 획득된 생물학적 샘플 내 TNF 및/또는 IL-16의 수준 또는 양 또는 농도가 각각에 대한 역치 수준을 초과하는 경우, 상기 대상체는 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 선택 또는 식별되며, 상기 TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL 내지 (약) 25 pg/mL의 값이고; 및/또는 IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL 내지 (약) 900 pg/mL의 값임,를 포함한다. 일부 구현예에서, TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL 내지 (약) 25 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL 내지 (약) 900 pg/mL의 값이다.

- [0028] 제제로 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은: TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도에 대해 대상체로부터의 생물학적 샘플을 평가하는 단계, 상기 대상체는 CLL 또는 SLL을 치료하기 위해 CD19에 결합하는 CAR을 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하는 세포 요법의 투여를 받았고, 상기 생물학적 샘플은 CAR+ T 세포 증폭 피크 전 및/또는 세포 요법의 투여 개시 후 (약) 11일 이내에 대상체로부터 획득됨; 및 TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준에 대해 개별적으로 비교하는 단계, 여기서 TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL 내지 (약) 25 pg/mL의 값이고; 및/또는 IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL 내지 (약) 900 pg/mL의 값이며; 그리고 TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 상기 대상체를 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법의 투여를 위해 선택함,를 포함한다.
- [0029] 임의의 구현예 중 일부에서, 방법은 대상체에 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 단계를 더 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 것은 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내는 시점에 수행된다. 임의의 구현예 중 일부에서, 대상체에 세포 요법을 투여하는 것은 외래환자 기준으로 수행되고, TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 역치 수준을 초과하는 경우, 방법은 환자를 1일 이상 동안 병원에 입원시키는 것을 포함한다.
- [0030] 임의의 구현예 중 일부에서, TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL, 8 pg/mL, 9 pg/mL, 10 pg/mL, 15 pg/mL, 20 pg/mL, 또는 25 pg/mL의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, TNF에 대한 역치 수준은 (약) 8 pg/mL 내지 (약) 10 pg/mL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, TNF에 대한 역치 수준은 (약) 8 pg/mL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, TNF에 대한 역치 수준은 (약) 9 pg/mL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, TNF에 대한 역치 수준은 (약) 10 pg/mL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, TNF에 대한 역치 수준은 (약) 15 pg/mL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, TNF에 대한 역치 수준은 (약) 20 pg/mL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, TNF에 대한 역치 수준은 (약) 25 pg/mL의 값이다.
- [0031] 임의의 구현예 중 일부에서, IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL, 500 pg/mL, 600 pg/mL, 700 pg/mL, 800 pg/mL, 900 pg/mL, 또는 1000 pg/mL의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 500 pg/mL 내지 (약) 700 pg/mL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 500 pg/mL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 600 pg/mL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 700 pg/mL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 800 pg/mL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 900 pg/mL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 1000 pg/mL의 값이다.
- [0032] 임의의 구현예 중 일부에서, TNF 및 IL-16 둘 다의 수준, 양 또는 농도가 평가되고; TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL, 8 pg/mL, 9 pg/mL, 10 pg/mL, 15 pg/mL, 20 pg/mL, 또는 25 pg/mL의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이며, IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL, 500 pg/mL, 600 pg/mL, 700 pg/mL, 800 pg/mL, 900 pg/mL, 또는 1000 pg/mL의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이다.
- [0033] 임의의 구현예 중 일부에서, TNF 및 IL-16 둘 다의 수준, 양 또는 농도가 평가되고; 상기 TNF에 대한 역치 수준은 (약) 8 pg/mL 내지 (약) 10 pg/mL의 값이고; 및/또는 IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 500 pg/mL 내지 (약) 700 pg/mL의 값이다.
- [0034] 임의의 구현예 중 일부에서, 생물학적 샘플은 혈액, 혈장 또는 혈청 샘플이거나 이로부터 획득된다. 임의의 구현예 중 일부에서, 평가는 생물학적 샘플을 TNF 및/또는 IL-16을 검출할 수 있거나 이에 특이적인 하나 이상의 시약과 접촉시키는 단계, 선택적으로 상기 하나 이상의 시약은 TNF 및/또는 IL-16을 특이적으로 인식하는 항체를 포함함; 및 상기 하나 이상의 시약 및 TNF 및/또는 IL-16을 포함하는 복합체의 존재 또는 부재를 검출하는 단계;를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 평가는 생물학적 샘플을 TNF를 검출할 수 있거나 이에 특이적인 하나 이상의 시약과 접촉시키는 단계 및 상기 하나 이상의 시약 및 TNF를 포함하는 복합체의 존재 또는 부재를 검출하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 하나 이상의 시약은 TNF를 특이적으로 인식하는 항체를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 평가는 생물학적 샘플을 IL-16을 검출할 수 있거나 이에 특이적인 하나 이상의 시약과 접촉시키는 단계 및 상기 하나 이상의 시약 및 IL-16을 포함하는 복합체의 존재 또는 부재를 검출하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 하나 이상의 시약은 IL-16을 특이적으로 인식하는 항체를

포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 평가는 면역분석을 포함한다. 일부 구현예에서, 평가는 효소결합면역흡착분석(ELISA), 면역블로팅, 면역침강법, 방사선면역분석(RIA), 면역 염색법, 유세포 분석법, 표면 플라즈몬 공명(SPR), 화학발광 분석, 측면 유동 면역분석, 억제 분석 또는 결합력(avidity) 분석을 포함한다. 일부 구현예에서, 평가는 효소결합면역흡착분석(ELISA)을 포함한다. 일부 구현예에서, 평가는 샌드위치 효소결합면역흡착분석(ELISA)을 포함한다. 일부 구현예에서, ELISA는 비드-기반 ELISA이다.

[0035] 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 제제 또는 다른 치료법은 항-IL-6 항체, 항-IL-6R 항체 또는 스테로이드이거나 이를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 제제 또는 다른 치료법은 항-IL-6 항체이거나 이를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 제제 또는 다른 치료법은 항-IL-6R 항체이거나 이를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 제제 또는 다른 치료법은 스테로이드이거나 이를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 제제는 토실리주맙, 실투시맙 또는 텍사메타손이거나 이를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 제제는 토실리주맙이거나 이를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 제제는 실투시맙이거나 이를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 제제는 텍사메타손이거나 이를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 신경 독성은 중증 신경 독성이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 신경 독성은 3급 이상의 신경 독성이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 신경 독성은 3급 신경 독성이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 신경 독성은 4급 신경 독성이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 신경 독성은 5급 신경 독성이다.

[0036] 세포 요법에 대한 반응 가능성(likelihood of a response)을 평가하는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은: 생물학적 샘플 내 혈관 내피 성장 인자 C (VEGFC) 및/또는 혈관 내피 성장 인자 수용체 1 (VEGFR1)의 수준, 양 또는 농도를 평가하는 단계, 상기 생물학적 샘플은 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (SLL)을 갖는 대상체로부터 유래되고, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 생물학적 샘플은 상기 세포 요법을 투여하기 전에 대상체로부터 획득됨; 및 상기 샘플 내 VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도를 역치 수준과 개별적으로 비교하는 단계; 여기서 VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 높은 가능성을 갖는 것으로 상기 대상체를 식별하고; 또는 VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 낮은 가능성을 갖는 것으로 상기 대상체를 식별함;을 포함한다.

[0037] 세포 요법 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은: 생물학적 샘플 내 혈관 내피 성장 인자 C (VEGFC) 및/또는 혈관 내피 성장 인자 수용체 1 (VEGFR1)의 수준, 양 또는 농도를 평가하는 단계, 상기 생물학적 샘플은 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (SLL)을 갖는 대상체로부터 유래되고, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 생물학적 샘플은 상기 세포 요법을 투여하기 전에 대상체로부터 획득됨; 및 상기 샘플 내 VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준과 개별적으로 비교함으로써, 대상체가 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 가능성을 알아내는 결과에 기초하여 치료에 반응할 가능성이 있는 대상체를 선택하는 단계; 여기서 VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 높은 가능성을 갖는 것으로 상기 대상체를 식별하고; 또는 VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 낮은 가능성을 갖는 것으로 상기 대상체를 식별함;을 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 방법은 치료를 위해 선택된 대상체에 세포 요법을 투여하는 단계를 더 포함한다.

[0038] 치료 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은: 생물학적 샘플 내 혈관 내피 성장 인자 C (VEGFC) 및/또는 혈관 내피 성장 인자 수용체 1 (VEGFR1)의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준과 개별적으로 비교함으로써, 대상체가 세포 요법에 대한 반응을 달성할 가능성을 알아내는 결과에 기초하여 치료에 반응할 가능성이 있는 대상체를 선택하는 단계, 여기서: VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 높은 가능성을 갖는 것으로 상기 대상체를 식별하고; 또는 VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 낮은 가능성을 갖는 것으로 상기 대상체를 식별함; 상기 생물학적 샘플은 세포 요법 치료를 위한 후보자인 CLL 또는 SLL을 갖는 대상체로부터 유래되고, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 생물학적 샘플은 상기 세포 요법을 투여하기 전에 대상체로부터 획득되고 및/또는 상기 대상체는 CAR을 발현하는 T 세포를 포함하지 않음; 및 치료

를 위해 선택된 대상체에게 상기 세포 요법을 투여하는 단계; 를 포함한다.

[0039] 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 역치 수준은, 세포 요법을 받기 전에 대상체의 그룹으로부터 수득된 생물학적 샘플 내 VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균의 25% 이내, 20% 이내, 15% 이내, 10% 이내 또는 5% 이내이고 및/또는 표준 편차 이내이거나, 또는 (약) 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균 이상이고, 상기 그룹의 대상체 각각은 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위해 CAR을 발현하는 조작된 세포의 용량의 투여 후 반응을 달성하였고; 상기 역치 수준은 세포 요법을 받기 전에 대상체의 그룹으로부터 수득된 생물학적 샘플 내 VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균 보다 1.25배 이상, 1.3배 이상, 1.4배 이상 또는 1.5배 이상 높고, 상기 그룹의 대상체 각각은 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위해 CAR을 발현하는 조작된 세포의 용량의 투여 후 반응을 달성하였고; 상기 역치 수준은 상기 세포 요법 치료에 대한 후보자가 아닌 정상 또는 건강한 대상체의 그룹으로부터 수득된 생물학적 샘플 내 VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도보다 1.25배 이상, 1.3배 이상, 1.4배 이상 또는 1.5배 이상 높다. 임의의 구현예 중 일부에서, VEGFC에 대한 역치 수준은 (약) 60 pg/mL 내지 (약) 70 pg/mL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, VEGFR1에 대한 역치 수준은 (약) 80 pg/mL 내지 (약) 120 pg/mL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, VEGFC 및 VEGFR1 둘 다의 수준, 양 또는 농도가 평가되고; 상기 VEGFC에 대한 역치 수준은 (약) 60 pg/mL 내지 (약) 70 pg/mL의 값이고; 및/또는 VEGFR1에 대한 역치 수준은 (약) 80 pg/mL 내지 (약) 120 pg/mL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, VEGFC에 대한 역치 수준은 (약) 60 pg/mL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, VEGFC에 대한 역치 수준은 (약) 65 pg/mL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, VEGFR1에 대한 역치 수준은 (약) 80 pg/mL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, VEGFR1에 대한 역치 수준은 (약) 90 pg/mL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, VEGFR1에 대한 역치 수준은 (약) 100 pg/mL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, VEGFR1에 대한 역치 수준은 (약) 11 pg/mL의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, VEGFR1에 대한 역치 수준은 (약) 120 pg/mL의 값이다.

[0040] 임의의 구현예 중 일부에서, 생물학적 샘플은 혈액, 혈장 또는 혈청 샘플이거나 이로부터 수득된다. 임의의 구현예 중 일부에서, 평가는 생물학적 샘플을 VEGFC 및/또는 VEGFR1을 검출할 수 있거나 이에 특이적인 하나 이상의 시약과 접촉시키는 단계, 선택적으로 상기 하나 이상의 시약은 VEGFC 및/또는 VEGFR1을 특이적으로 인식하는 항체를 포함함; 및 상기 하나 이상의 시약 및 VEGFC 및/또는 VEGFR1을 포함하는 복합체의 존재 또는 부재를 검출하는 단계;를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 평가는 생물학적 샘플을 VEGFC를 검출할 수 있거나 이에 특이적인 하나 이상의 시약과 접촉시키는 단계 및 상기 하나 이상의 시약 및 VEGFC를 포함하는 복합체의 존재 또는 부재를 검출하는 단계를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 하나 이상의 시약은 VEGFC를 특이적으로 인식하는 항체를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 평가는 생물학적 샘플을 VEGFR1을 검출할 수 있거나 이에 특이적인 하나 이상의 시약과 접촉시키는 단계 및 상기 하나 이상의 시약 및 VEGFR1을 포함하는 복합체의 존재 또는 부재를 검출하는 단계를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 하나 이상의 시약은 VEGFR1을 특이적으로 인식하는 항체를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 평가는 면역분석을 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 반응은 객관적 반응(objective response)을 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 객관적 반응은 완전 반응(complete response, CR; 일부 경우에 완전 관해로도 알려짐), 불완전 혈구 수치 회복을 동반한 완전 관해 (CRi), 완전 관해 (complete remission, CR), 불완전 골수 회복을 동반한 CR (CRi), 결절성 부분 관해 (nPR), 부분 반응 (PR)을 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 반응은 상기 세포 요법의 투여 개시 후 (약) 1, 2 또는 3개월 또는 그 이상에 평가되는 반응이다.

[0041] 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 반응은 상기 세포 요법의 투여 개시 후 (약) 1개월에 평가되는 반응이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 반응은 상기 세포 요법의 투여 개시 후 (약) 2개월에 평가되는 반응이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 반응은 상기 세포 요법의 투여 개시 후 (약) 3개월에 평가되는 반응이다.

[0042] 임의의 구현예 중 일부에서, 방법은 상기 세포 요법의 투여 전에, 상기 대상체에 림프구 고갈 요법을 투여하는 것을 더 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 대상체는 림프구 고갈 요법으로 사전 조절되었다. 임의의 구현예 중 일부에서, 림프구 고갈 요법은 플루다라빈 및/또는 사이클로포스파미드의 투여를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 생물학적 샘플은 상기 대상체에게 상기 림프구 고갈 요법을 투여하기 전에 상기 대상체로부터 수득된다. 일부 구현예에서, 상기 질병 부담의 하나 이상의 파라미터의 값은 상기 대상체에 림프구 고갈 요법의 투여 전의 질병 부담의 하나 이상의 파라미터의 값이다. 일부 구현예에서, 상기 질병 부담의 하나 이상의 파라미터는 상기 대상체에 림프구 고갈 요법의 투여 전에 평가된다.

[0043] 임의의 구현예 중 일부에서, 림프구 고갈 요법은 플루다라빈의 투여를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 림프구 고갈 요법은 사이클로포스파미드의 투여를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 림프구 고갈 요법은

플루다라빈 및 사이클로포스파미드의 투여를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 림프구 고갈 요법은 2 내지 4일 동안, 선택적으로 3일 동안 매일, 약  $200\text{-}400\text{mg}/\text{m}^2$ , 선택적으로 (약)  $300\text{mg}/\text{m}^2$ (수치 포함)의 사이클로포스파미드의 투여, 및/또는 약  $20\text{-}40\text{mg}/\text{m}^2$ , 선택적으로  $30\text{mg}/\text{m}^2$ 의 플루다라빈의 투여를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 림프구 고갈 요법은 3일 동안 매일 (약)  $300\text{mg}/\text{m}^2$ 의 사이클로포스파미드 및 약  $30\text{mg}/\text{m}^2$ 의 플루다라빈의 투여를 포함하고, 선택적으로 세포의 용량은 림프구 고갈 요법 후 적어도 (약) 2 내지 7일 후에 또는 림프구 고갈 요법의 개시 후 적어도 (약) 2 내지 7일 후에 투여된다.

[0044] 임의의 구현예 중 일부에서, 방법은 대상체에게 브루톤 티로신 키나아제 억제제 (Bruton's Tyrosine Kinase inhibitor, BTKi)를 투여하는 것을 더 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, BTKi는 이브루티닙이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 BTKi 투여는 상기 세포 요법의 투여 개시 전에 개시된다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 BTKi 투여는 상기 세포 요법의 투여 개시 후까지 계속된다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 BTKi 투여는 상기 세포 요법의 투여 개시 후 적어도 (약) 90일 동안 계속된다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 이브루티닙은 1일 당 (약) 140 mg 또는 (약) 840 mg의 용량까지 투여된다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 이브루티닙은 1일 당 (약) 280 mg 또는 (약) 560 mg의 용량까지 투여된다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 이브루티닙은 1일 당 (약) 420 mg의 용량까지 투여된다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 질병 또는 병태는 재발성 또는 불응성 (r/r) CLL이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 질병 또는 병태는 재발성 또는 불응성 (r/r) SLL이다.

[0045] 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 조작된 세포의 용량은 CAR을 발현하는  $\text{CD4}^+$  세포 대 CAR을 발현하는  $\text{CD8}^+$  세포의 정의된 비율로 포함하고, 선택적으로 상기 비율은 대략 1:3 내지 대략 3:1이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 조작된 세포의 용량은 CAR을 발현하는  $\text{CD4}^+$  세포 대 CAR을 발현하는  $\text{CD8}^+$  세포를 (대략)의 정의된 비율로 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 비율은 약 1:3 내지 약 3:1이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 조작된 세포의 용량은 CAR을 발현하는  $\text{CD4}^+$  세포 대 CAR을 발현하는  $\text{CD8}^+$  세포를 (대략) 1:1의 정의된 비율로 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 조작된 세포의 용량은 (약)  $2.5 \times 10^7$ 개 총 CAR-발현 세포 내지 (약)  $1.0 \times 10^8$ 개 총 CAR-발현 세포를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 조작된 세포의 용량은 (약)  $2.5 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포를 함유한다.

[0046] 임의의 구현예 중 일부에서, 조작된 세포의 용량은 (약)  $5 \times 10^7$ 개 총 세포 또는 총 CAR-발현 세포를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 조작된 세포의 용량은 (약)  $1 \times 10^8$ 개 총 세포 또는 총 CAR-발현 세포를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 세포 요법의 투여는 복수의 개별 조성물을 투여하는 것을 포함하고, 상기 복수의 개별 조성물은  $\text{CD4}^+$  T 세포 및  $\text{CD8}^+$  T 세포 중 하나를 포함하는 제1 조성물 및  $\text{CD4}^+$  T 세포 및  $\text{CD8}^+$  T 세포 중 다른 하나를 포함하는 제2 조성물을 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 제1 조성물은  $\text{CD8}^+$  T 세포를 포함하고 제2 조성물은  $\text{CD4}^+$  T 세포를 포함한다.

[0047] 임의의 구현예 중 일부에서, 제1 조성물의 투여 개시는 제2 조성물의 투여 개시 전에 수행되고, 선택적으로 48 시간 이하의 간격으로 수행된다. 임의의 구현예 중 일부에서, 제1 조성물의 투여 개시는 제2 조성물의 투여 개시 전 48시간 이하에 수행된다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기  $\text{CD4}^+$  T 세포에 의해 포함된 CAR 및/또는 상기  $\text{CD8}^+$  T 세포에 의해 포함된 CAR은 동일한 CAR을 포함하고/거나 상기  $\text{CD4}^+$  T 세포 및/또는 상기  $\text{CD8}^+$  T 세포는 동일한 CAR을 발현하도록 유전자 조작된다. 임의의 구현예 중 일부에서,  $\text{CD4}^+$  T 세포에 의해 발현되는 CAR 및  $\text{CD8}^+$  T 세포에 의해 발현되는 CAR은 동일하다. 일부 구현예에서,  $\text{CD4}^+$  T 세포와  $\text{CD8}^+$  T 세포는 동일한 CAR을 발현하도록 유전적으로 조작된다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 세포 요법의 투여 전에, 상기 대상체는 CAR을 발현하는 세포의 또 다른 용량 또는 림프구 고갈 요법 이외의, 상기 CLL 또는 SLL에 대한 하나 이상의 선행 요법, 선택적으로 적어도 2개의 선행 요법으로 치료를 받았다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 세포 요법의 투여 전에, 상기 대상체는 CAR을 발현하는 세포의 또 다른 용량 또는 림프구 고갈 요법 이외의, 상기 CLL 또는 SLL에 대한 하나 이상의 선행 요법으로 치료를 받았다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 세포 요법의 투여 전에, 상기 대상체는 CAR을 발현하는 세포의 또 다른 용량 또는 림프구 고갈 요법 이외의, 상기 CLL 또는 SLL에 대한 적어도 2개의 선행 요법으로 치료를 받았다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 세포 요법의 투여 전에, 상기 대상



체는 2개 이상의 선행 요법으로의 치료 후 관해된 이후에 재발했거나, 이에 대해 불응성이 되었고, 실패했고 및/또는 이에 불내성이었다.

[0048] 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 하나 이상의 선행 요법은 키나아제 억제제, 선택적으로 브루톤 티로신 키나아제 (BTK)의 억제제, 선택적으로 이브루티닙; 베네토클락스; 플루다라빈 및 리툽시말을 포함하는 병용 요법; 방사선 요법; 및 조혈 줄기세포 이식 (HSCT) 중에서 선택된다. 임의의 구현예 중 일부에서, 하나 이상의 선행 요법은 이브루티닙을 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 하나 이상의 선행 요법은 베네토클락스를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 하나 이상의 선행 요법은 브루톤 티로신 키나아제 (BTK)의 억제제 및/또는 베네토클락스를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 하나 이상의 선행 요법은 이브루티닙 및 베네토클락스를 포함한다.

[0049] 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 대상체는 브루톤 티로신 키나아제 (BTK)의 억제제 및/또는 베네토클락스를 이용한 치료 후 관해된 이후 재발했고, 이에 불응성이 되었고, 치료에 실패했고 및/또는 이에 대해 불내성이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 대상체는 이브루티닙을 이용한 치료 후 관해된 이후 재발했고, 이에 불응성이 되었고, 치료에 실패했고 및/또는 이에 대해 불내성이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 대상체는 베네토클락스를 이용한 치료 후 관해된 이후 재발했고, 이에 불응성이 되었고, 치료에 실패했고 및/또는 이에 대해 불내성이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 대상체는 이브루티닙과 베네토클락스를 이용한 치료 후 관해된 이후 재발했고, 이에 불응성이 되었고, 치료에 실패했고 및/또는 이에 대해 불내성이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 조작된 세포는 대상체로부터 획득된 1차 T 세포이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 조작된 세포는 상기 대상체에 대해 자가(autologous)이다.

[0050] 임의의 구현예 중 일부에서, CAR은 CD19에 특이적인 세포외 항원 결합 도메인, 막관통 도메인, 선택적으로 4-1BB인 공자극 분자로부터 유래된 세포질 신호 전달 도메인, 및 선택적으로 CD3제타인 1차 신호 전달 ITAM-함유 분자로부터 유래된 세포질 신호 전달 도메인을 포함하고, CAR은 CD19에 특이적인 세포외 항원 결합 도메인, 막관통 도메인, 공자극 분자로부터 유래된 세포질 신호 전달 도메인, 및 1차 신호 전달 ITAM-함유 분자로부터 유래된 세포질 신호 전달 도메인을 순서대로 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 항원 결합 도메인은 scFv이다.

[0051] 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 scFv는 RASQDISKYLN(서열번호 35)의 CDRL1 서열, SRLHSGV(서열번호 36)의 CDRL2 서열 및/또는 GNTLPYTFG(서열번호 37)의 CDRL3 서열 및/또는 DYGV(서열번호 38)의 CDRH1 서열, VIWGSETTYNSALKS(서열번호 39)의 CDRH2 서열 및/또는 YAMDYWG(서열번호 40)의 CDRH3 서열을 포함하고; 상기 scFv는 FMC63의 가변 중쇄 영역 및 FMC63의 가변 경쇄 영역 및/또는 FMC63의 CDRL1 서열, FMC63의 CDRL2 서열, FMC63의 CDRL3 서열, FMC63의 CDRH1 서열, FMC63의 CDRH2 서열, 및 FMC63의 CDRH3 서열을 포함하거나 전술한 임의의 것과 동일한 에피토프에 결합하거나 전술한 임의의 것과 결합을 위해 경쟁하고; 상기 scFv는 서열번호 41에 제시된  $V_H$  및 서열번호 42에 제시된  $V_L$  을 포함하고, 선택적으로 상기  $V_H$  및  $V_L$  은 가요성 링커에 의해 분리되고, 선택적으로 상기 가요성 링커는 서열번호 24에 제시된 서열이거나 이를 포함하고; 및/또는 상기 scFv는 서열번호 43에 제시된 서열이거나 이를 포함한다.

[0052] 임의의 구현예 중 일부에서, 공자극 신호 전달 영역은 CD28 또는 4-1BB의 신호 전달 도메인이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 공자극 신호 전달 영역은 4-1BB의 신호 전달 도메인이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 공자극 도메인은 서열번호 12 또는 이와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 1차 신호 전달 도메인은 CD3제타 신호 전달 도메인이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 1차 신호 전달 도메인은 서열번호 13, 14 또는 15, 또는 이와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한다.

[0053] 임의의 구현예 중 일부에서, CAR은 막관통 도메인과 scFv 사이에 스페이서를 더 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 스페이서는 면역글로불린 힌지 또는 이의 변형된 버전, 선택적으로 IgG4 힌지 또는 이의 변형된 버전의 전부 또는 일부를 포함하거나 이로 구성된 폴리펩타이드 스페이서이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 스페이서는 약 15개 아미노산 이하이고, CD28 세포외 영역 또는 CD8 세포외 영역을 포함하지 않는다. 임의의 구현예 중 일부에서, 스페이서는 (약) 12개의 아미노산 길이이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 스페이서는 서열번호 1의 서열, 서열번호 2, 서열번호 30, 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 33, 서열번호 34 또는 이와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 갖는 상기 중 임의의 것의 변이체에 의해 암호화된 서열을 갖거나 이로 구성되고; 및/또는 화학식

$X_1PPX_2P$ 를 포함하거나 이로 구성되되, 여기서  $X_1$ 은 글리신, 시스테인 또는 아르기닌이고  $X_2$ 는 시스테인 또는 트레오닌이다.

[0054] 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 scFv는 RASQDISKYLN(서열번호 35)의 아미노산 서열, SRLHSGV(서열번호 36)의 아미노산 서열 및/또는 GNTLPYTFG(서열번호 37)의 아미노산 서열 및/또는 DYGVS(서열번호 38) 아미노산 서열, VIWGSETTYNSALKS(서열번호 39)의 아미노산 서열 및/또는 YAMDYWG(서열번호 40)의 아미노산 서열을 포함하고, 또는 상기 scFv는 FMC63의 가변 중쇄 영역 및 FMC63의 가변 경쇄 영역 및/또는 FMC63의 CDRL1 서열, FMC63의 CDRL2 서열, FMC63의 CDRL3 서열, FMC63의 CDRH1 서열, FMC63의 CDRH2 서열, 및 FMC63의 CDRH3 서열을 포함하거나, 전술한 임의의 것과 결합을 위해 경쟁하고, 선택적으로 상기 scFv는  $V_H$ , 선택적으로 서열번호 24를 포함하는 링커, 및  $V_L$ 를 순서대로 포함하고, 및/또는 상기 scFv는 가요성 링커를 포함하고 및/또는 서열번호 43으로 제시된 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는 상기 스페이서는 (a) 면역 글로불린 힌지 또는 이의 변형된 버전의 전부 또는 일부를 포함하거나 이로 구성되거나, 약 15개 이하의 아미노산을 포함하고, CD28 세포의 영역 또는 CD8 세포의 영역을 포함하지 않고, (b) 면역글로불린 힌지, 선택적으로 IgG4 힌지, 또는 이의 변형된 버전의 전부 또는 일부를 포함하거나 이로 구성되고 및/또는 약 15개 이하의 아미노산을 포함하고, CD28 세포의 영역 또는 CD8 세포의 영역을 포함하지 않고, 또는 (c) (약) 12개의 아미노산 길이이고 및/또는 면역글로불린 힌지, 선택적으로 IgG4, 또는 이의 변형된 버전의 전부 또는 일부를 포함하거나 이로 구성되고; 또는 (d) 서열번호 1의 서열, 서열번호 2, 서열번호 30, 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 33, 서열번호 34 또는 이와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 갖는 상기 중 임의의 것의 변이체에 의해 암호화된 서열을 갖거나 이로 구성되고, 또는 (e) 화학식  $X_1PPX_2P$ 를 포함하거나 이로 구성되되, 여기서  $X_1$ 은 글리신, 시스테인 또는 아르기닌이고  $X_2$ 는 시스테인 또는 트레오닌인, 폴리펩타이드 스페이서이고; 및/또는 상기 공자극 도메인은 서열번호 12 또는 이와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는 상기 1차 신호 전달 도메인은 서열번호 13, 14 또는 15, 또는 이와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한다.

[0055] 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 항원 결합 도메인은 FMC63의 가변 중쇄 영역 및 FMC63의 가변 경쇄 영역을 포함하는 scFv를 포함하고; 상기 CAR은 서열번호 1의 서열을 포함하는 폴리펩타이드 스페이서인 스페이서를 더 포함하고; 상기 공자극 도메인은 서열번호 12를 포함하고; 및 상기 1차 신호 전달 도메인은 서열번호 13, 14 또는 15를 포함한다. 임의의 구현예의 일부에서, 대상체는 인간 대상체이다.

[0056] CD19에 결합하는 CAR을 발현하는 T 세포를 포함하는, 세포 요법을 위한 조성물, 또는 세포 요법을 위한 복수의 조성물 중 하나, 및 상기 세포 요법을 투여하기 위한 지침을 포함하고, 상기 지침은 임의의 제공된 방법에 따라 상기 T 세포 조성물을 투여하는 것을 지정하는, 제조품이 본원에서 제공된다.

**도면의 간단한 설명**

[0057] **도 1a**는 DL1( $5 \times 10^7$  CAR-발현 T 세포) 또는 DL2( $1 \times 10^8$  CAR-발현 T 세포)로 항-CD19 CAR+ T 세포를 투여 받은, R/R CLL(N=22)을 가진 대상체에서 가장 우수한 전체 반응(best overall response)의 결과를 도시한다. PD, 진행성 질병; SD, 안정한 질병; PR, 부분 반응; nPR, 결절성 부분 반응; CR, 완전 반응; CRi, 불완전 골수 회복을 동반한 완전 반응. **도 1b**는 R/R CLL을 가진 대상체에 DL1( $5 \times 10^7$  CAR-발현 T 세포) 또는 DL2( $1 \times 10^8$  CAR-발현 T 세포)로 항-CD19 CAR-발현 T 세포를 투여한 이후 임의의 시점에 유세포 분석에 의한 혈액 내 또는 차세대 염기 서열 분석(NGS)에 의한 골수 내 검출 불가능한 최소 잔류 질병(uMRD)의 결과를 도시한다.

**도 2**는 DL1( $5 \times 10^7$  CAR-발현 T 세포) 또는 DL2( $1 \times 10^8$  CAR-발현 T 세포)로 항-CD19 CAR+ T 세포를 투여 받은, R/R CLL(N=22)을 가진 대상체에서 시간에 따른 반응 지속 기간의 수영 경기도(swimmer plot)를 도시한다.  
<sup>b</sup>검출 깊이 =  $10^{-4}$

**도 3**은 DL1( $5 \times 10^7$  CAR-발현 T 세포) 또는 DL2( $1 \times 10^8$  CAR-발현 T 세포)로 항-CD19 CAR+ T 세포를 투여 받은, R/R CLL을 가진 대상체에서 용량 수준에 의한 시간에 따른 중앙값 세포/ $\mu$ l의 그래프를 도시한다. 상부 오차 막대(error bar)는 제3 사분위를 나타내고, 하부 오차 막대는 제1 사분위를 나타낸다. 항-CD19 CAR+ T 세

포의 용량은 1일차에 주어졌다. <sup>a</sup>상부 오차 막대(error bar)는 제3 사분위를 나타내고, 하부 오차 막대는 제1 사분위를 나타낸다.

**도 4a**는 R/R CLL(N=22)을 가진 대상체 또는 브루톤 티로신 키나아제 억제제(BTKi) 및 베네토클락스(N=9) 둘 모두를 이용한 선행 치료에 실패한 대상체에서 가장 우수한 전체 반응의 결과를 도시한다. **도 4b**는 R/R CLL(N=20)을 가진 대상체 또는 BTKi 및 베네토클락스(N=8) 둘 모두를 이용한 선행 치료에 실패한 대상체에서 투여 이후 임의의 시점에 유세포 분석에 의한 혈액 내 또는 차세대 염기 서열 분석(NGS)에 의한 골수 내 검출 불가능한 최소 잔류 질병(uMRD)의 결과를 도시한다. <sup>a</sup>반응 평가 가능한 사전 치료 평가 및  $\geq 1$  포스트-기준선 평가를 한 것으로 정의하였고; MRD 평가 가능한 기준선에서 검출 가능한 MRD를 가진 환자로 정의하였다. 한 대상체는 반응 평가가 가능하지 않았다. <sup>b</sup>실패한 베네토클락스는  $\geq$  치료 3개월 후 PD 또는 <PR로 인한 중단으로 정의하였다. <sup>c</sup>두 대상체는 MRD 평가가 가능하지 않았다. <sup>d</sup>한 대상체는 MRD 평가가 가능하지 않았다. CI, 신뢰구간; CRi, 혈구 수 회복이 불완전한 완전 반응; NGS, 차세대 염기 서열 분석; nPR, 결정성 부분 반응; PD, 진행성 질병; PR, 부분 반응; SD, 안정한 질병; uMRD, 검출 불가능한 최소 잔류 질병.

**도 5**는 BTKi 및 베네토클락스 둘 모두를 이용한 선행 치료에 실패한, R/R CLL을 가진 개별 대상체 및 다른 치료받은 대상체에서 시간에 따른 반응 지속 기간의 수영 경기도(swimmer plot)를 도시한다. \*MRD 평가 불가능. 연구 중 사망이 7이었는데: 5 대상체는 질병 진행으로 사망하였고; 1 대상체는 CAR+T 세포 요법 치료와 관련이 없는 5급 호흡부전(DL1)이 있었고; 1 대상체는 CAR+T 세포 요법 치료와 관련이 없는 패혈성 쇼크, 급성 신부전, 및 폐렴(DL2)이 있었다. 첫 30일 내에는 사망이 발생하지 않았다. ND, 완료되지 않음; RT, 리히터 형질전환.

**도 6**은 평가 가능한 치료받은 대상체 및 BTKi 및 베네토클락스 둘 모두를 이용한 선행 치료에 실패한 대상체에서 용량 수준에 의한 시간에 따른 중앙값 세포/ $\mu$ L의 그래프를 도시한다. 상부 오차 막대는 제3 사분위를 나타낸다. 하부 오차 막대는 제1 사분위를 나타낸다. CAR+T 세포 요법은 1일차에 주어졌다.

**도 7a**는 신경학적 사건이 발생하지 않은 대상체(N = Gr0), 또는 1-5등급 신경 독성이 있는 대상체(Y = Gr1-5)에서 혈액 중앙 부담(림프구 수(1000/ $\mu$ L)로 측정됨) 및 림프절 중앙 부담(최대 관찰된 림프절 직경(cm)으로 측정됨)을 도시한다(혈액 p=0.018; 림프절 p=0.043). 중증 신경 독성(3급 이상)이 있는 대상체는 채워진 원(solid circles)으로 표시된다. **도 7b**는 신경학적 사건이 발생하지 않은 대상체(N = Gr0), 또는 1-4등급 신경 독성이 있는 대상체(Gr1-4; 5급 NE는 없음)에서 림프절 중앙 부담(직경의 곱의 합(SPD)으로 측정됨)을 도시한다(p=0.025). <sup>a</sup>5급 NE는 없음 **도 7c**는 신경학적 사건이 발생하지 않은 대상체(빈 원), 1급 또는 2급 신경학적 사건이 있는 대상체(빈 사각형), 및 중증(3급 이상) 신경학적 사건이 있는 대상체(Y, 채워진 다이아몬드)에서 혈액과 림프절 중앙 부담 사이의 관계를 도시한다. 상자 안의 영역은 중증(3급 이상) 신경학적 사건이 있는 5명의 대상체 중 5명이 낮은 혈액 중앙 부담을 나타냄을 표시한다. **도 7d**는 신경학적 사건이 발생하지 않은 대상체(N = Gr0), 또는 1-5급 신경 독성이 있는 대상체(Y = Gr1-5)에서 림프절 중앙 부담에 대한 혈액 중앙 부담의 비율을 도시한다. (P=0.005). 중증 신경 독성(3급 이상)이 있는 대상체는 채워진 원(solid circles)으로 표시된다.

**도 8**은 신경학적 사건을 나타내지 않는(Ntx Gr = 0) 또는 1급 이상의 신경학적 사건을 나타내는 대상체(Ntx Gr > 0)의 그룹에서, CAR+ T 세포 투여 전 및 CAR+ T 세포 투여 후 30일 이내에 다양한 시점에서, TNF 및 IL-16의 기하 평균(+/- SEM) 농도를 도시한다.

**도 9a**는 신경학적 사건을 나타내지 않는(Gr 0) 또는 IL-16 (Gr 1-4; p=0.0001) 및 TNF (Gr 1-4; p=0.0028)에 대한 1급 이상의 신경학적 사건을 나타내는 대상체의 그룹에서, 대상체로부터 수득한 샘플 내 IL-16 및 TNF의 수준을 도시한다. **도 9b**는 신경학적 사건을 나타내지 않는(Gr 0 NE; 빈 원), 1 또는 2급의 신경학적 사건을 나타내는(Gr 1-2 NE; 빈 사각형) 또는 3 또는 4급의 신경학적 사건을 나타내는(Gr 3-4 NE; 채워진 다이아몬드) 대상체의 그룹에서, CAR+ T 세포 투여 2일 후 혈액 내 IL-16과 TNF의 수준 및 림프절 중앙 부담(직경의 곱의 합(SPD)으로 측정됨) 사이의 관계를 도시한다. **도 9c**는 신경학적 사건을 나타내지 않는(Gr 0 NE; 빈 원), 1 또는 2급의 신경학적 사건을 나타내는(Gr 1-2 NE; 빈 사각형) 또는 3 또는 4급의 신경학적 사건을 나타내는(Gr 3-4 NE; 채워진 다이아몬드) 대상체의 그룹에서, CAR+ T 세포 투여 2일 후 혈액 내 IL-16과 TNF의 수준 및 림프절 중앙 부담(최대 관찰된 림프절 직경(cm)으로 측정됨) 사이의 관계를 도시한다.

**도 10a-10b**는 CAR+ T 세포 투여 후 3개월째 반응자(M3 R; 투여 후 3개월에 CR, CRi, PR 또는 nPR을 달성한 대상체) 및 3개월째 비반응자(M3 NR, 투여 후 3개월 또는 그 이전에 SD 또는 PD를 나타낸 대상체)에서, CAR+ T 세포 투여 직전에 수득된 대상체로부터의 샘플에서, pg/mL로 측정된 혈관 내피 성장 인자 C(VEGFC; 도 10a) 및 혈

관 내피 성장 인자 수용체 1(VEGFR1; 도 10b)의 수준을 도시한다.

도 11a는 3개월째 반응자(M3 R; 투여 후 3개월에 CR, CRi, PR 또는 nPR을 달성한 대상체) 및 3개월째 비반응자(M3 NR, 투여 후 3개월 또는 그 이전에 SD 또는 PD를 나타낸 대상체)에서, 주입 후 1일부터 3개월까지 평가된 평균 CD3+ CAR+ T 세포 농도(cells/ $\mu$ L로 측정됨)를 도시한다. 도 11b는 주입 후 1일부터 3개월까지 평가된, CAR+ T 세포만 받은 대상체(CAR T 세포만) 및 CAR+ T 세포와 이브루티닙의 조합을 받은 대상체(CAR T 세포 및 이브루티닙)에 대해 평가된 평균 CD3 CAR+ T 세포 농도를 도시한다.

도 12는 항-CD19 CAR+ T 세포 투여 후 30일 또는 3개월째, 일치 및 불일치 MRD 상태의 수, 및 NGS 기반 검정( $10^{-4}$  민감도)에 의해 측정된 골수(BM) 최소 잔류 질병(MRD) 상태 및 유세포 분석법( $10^{-4}$  민감도)에 의해 측정된 말초 혈액(PB) MRD 상태 사이의 전체 일치도를 도시한다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0058] 세포 요법과 연관된 독성이 발생할 위험을 알아내는 방법 및 세포 요법에 대한 후보자인 및/또는 세포 요법을 투여받았던 대상체에서 세포 요법에 반응할 가능성을 알아내는 방법이 본원에서 제공된다. 일부 측면에서, 방법은 대상체의 질병 또는 장애와 관련된 하나 이상의 파라미터, 예컨대 대상체에서 종양 부담과 관련된 파라미터를 평가하는 것을 포함한다. 일부 측면에서, 방법은 바이오마커 또는 분석물 (예를 들어, 사이토카인 및 성장 인자를 포함하는 혈액 분석물, 및 수용체)의 수준, 농도, 및/또는 양을 평가하는 것을 포함한다. 일부 측면에서, 파라미터, 바이오마커 또는 분석물은 세포 요법과 연관될 수 있는 독성, 예컨대 신경 독성과 연관되거나, 이와 상관되거나, 이를 나타낸다. 일부 측면에서, 파라미터, 바이오마커 또는 분석물은 세포 요법에 대한 대상체의 반응 (예를 들어, 객관적 반응, 부분 반응 및/또는 완전 반응)과 연관되거나, 이와 상관되거나, 이를 나타낸다. 일부 경우에, 방법은 세포 요법, 예컨대 재조합 수용체, 예컨대 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 조작된 세포, 예컨대 조작된 T 세포를 투여하는 것; 및 일부 경우에 추가 제제의 투여를 포함하는 세포 요법과 함께, 이의 맥락에서 또는 그 일부로서 사용된다.

[0059] 일부 구현예에서, 일부 측면에서 제공된 방법 및 용도는 일반적으로 백혈병 또는 림프종과 같은 암 또는 종양, 가장 구체적으로는 만성 림프구성 백혈병(CLL) 또는 소형 림프구성 림프종(SLL)이거나 이를 포함하는 질병 또는 병태를 가진 대상체의 치료를 위한 조작된 세포(예를 들어, T 세포) 및/또는 이의 조성물의 용도에 관한 것이다. 일부 측면에서, 본 방법과 용도는 특정 대체 방법과 비교하여 예를 들어 치료받은 특정 그룹의 대상체에서 개선된 반응 및/또는 더 지속가능한 반응 또는 효능 및/또는 독성 위험 또는 기타 부작용의 감소를 제공하거나 달성한다. 일부 구현예에서, 방법은 CAR+ T 세포의 투여 후에, 독성 (예를 들어, 신경 독성)의 위험성 및/또는 대상체가 세포 요법에 반응할 가능성을 알아낼 수 있는 것에 의해 유리하다. 다른 측면에서, 방법은 또한 지정된 수 또는 비례수의 조작된 세포의 투여, 특정 유형의 세포의 정의된 비율의 투여, 특정 위험성 프로파일, 병기결정, 및/또는 선행 치료 이력이 있는 집단과 같은 특정 환자 집단의 치료, 및/또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.

[0060] 일부 측면에서, 특정 파라미터(예를 들어, 종양 부담 측정 및/또는 독성의 발생과 상관관계가 있을 수 있는 특이적인 바이오마커 또는 분석물의 발현)를 평가하는 단계를 포함하는 방법, 및 독성을 예방 및/또는 개선하기 위한 치료(예를 들어, 개입 요법)를 위한 방법이 제공된다. 특정 파라미터, 예를 들어, 종양 부담 측정, 종양 부담 측정의 비율 및/또는 객관적 반응(OR), 완전 반응(CR) 또는 부분 반응(PR)과 같은 반응을 포함한 치료 결과와 같은 결과와 상관관계가 있을 수 있는 특이적인 바이오마커 또는 분석물의 발현; 또는 세포 요법의 투여 후 독성, 예를 들어, 신경 독성의 발생과 같은 안전성 결과를 평가하는 단계를 포함하는 방법이 또한 제공된다. 종양 부담 측정, 종양 부담 측정의 비율 및/또는 바이오마커 또는 분석물의 발현과 같은 파라미터의 평가에 기초하여, 반응 가능성 및/또는 독성 위험의 가능성을 평가하는 방법이 또한 제공된다. 세포 요법에서 사용하기 위한 조성물이 또한 제공된다. 예를 들어, 본원에 제공되는 방법에서 사용하기 위한 제조품 및 키트가 또한 제공된다. 일부 구현예에서, 제조품 및 키트는 선택적으로 본원에 제공된 방법에 따라, 사용하기 위한 지침을 함유한다.

[0061] 특히, 제공된 구현예 중에서, CLL 또는 SLL을 갖는 대상체에서 독성이 발생할 위험성 및/또는 세포 요법에 대한 반응 가능성을 평가하는 방법이 있다. 일부 측면에서, CLL은 난치병으로 간주되며, 대상체는 결국 재발하거나 이용 가능한 요법 또는 치료에 불응성이 된다. 임의의 구현예의 일부에서, 대상체는 고위험 질병을 가지고 있다. 제공된 방법의 일부 구현예에서, 대상체는 고위험 CLL 또는 SLL을 가지고 있다. 일부 경우에, 고위험 및 매우 고위험 대상체에 대한 기존 치료 전략은 플루다라빈, 사이클로포스파미드, 및 리툭시맵(FCR), 브루톤 티로

신 키나아제(BTK) 억제제(예를 들어, 이브루티닙), 및/또는 동종이계 줄기세포 이식을 포함할 수 있다. (Puiggros et al., BioMed Research International, Volume 2014 (2014), Article ID 435983). 기존 요법 중 다수는 CLL을 가진 일부 환자에 대해 향상된 치료 결과를 가진 경구-표적화 약물을 포함한다. 그럼에도, 일부 환자는 요법에 불내성이거나 또는 내성이 있는 것으로 입증되고/거나 검출 불가능한 MRD(uMRD)를 가진 완전 관해 달성에 실패한다. 일부 측면에서, 이용 가능한 요법으로 치료 후 진행성 질병을 가진 대상체는 결과가 좋지 않다. 예를 들어, 일부 측면에서, CLL에 대한 치료를 받은 대상체는 좋지 않은 장기 결과를 나타낸다. 예를 들면, 일부 경우에, 불응성(R/R) 고위험 CLL 대상체는 이브루티닙 중단 후에 빈약한 생존을 나타낸다(Jain et al. (2015) Blood 125(13):2062-2067). CLL을 치료하는 개선된 방법, 및 일부 측면에서, 고위험 및/또는 매우 고위험 CLL 및/또는 재발했거나 다수의 선행 요법에 불응성이 된 대상체를 치료하기 위한 적절한 방법이 필요하다.

[0062] 일부 측면에서, 입양 세포 요법(다른 입양 면역 세포 및 입양 T 세포 요법뿐만 아니라 키메라 항원 수용체(CAR) 및/또는 다른 재조합 항원 수용체와 같은 관심 질병 또는 장애에 특이적인 키메라 수용체를 발현하는 세포의 투여를 수반하는 것을 포함)은 B 세포 악성종양과 같은 암 및 기타 질병 및 장애의 치료를 위해 사용될 수 있다. 특정 맥락에서, 입양 세포 요법에 대한 이용 가능한 접근법이 항상 완전히 만족스럽지 않을 수 있다. 일부 맥락에서, 최적의 효능은 표적, 예를 들어, 표적 항원을 인식 및 결합하고, 대상체, 종양 및 이의 환경 내의 적절한 부위로 트래피킹, 국소화 및 성공적으로 진입하여 활성화, 증폭되고, 세포 독성 사멸 및 사이토카인과 같은 다양한 인자의 분비를 포함하여 다양한 이펙터 기능을 발휘하고, 장기를 포함하여 지속되고, 특정 표현형 상태(예컨대 이펙터, 장기 기억, 덜 분화된, 및 이펙터 상태)로의 분화, 전환 또는 재프로그래밍에 관여하고, 클리어런스 및 표적 리간드 또는 항원에 대한 재노출 후에 효과적이고 강력한 리콜 반응을 제공하고, 소진, 아네르기, 말단 분화 및/또는 억제 상태로의 분화를 피하거나 감소시키는 투여된 세포의 능력에 따라 달라질 수 있다.

[0063] 일부 측면에서, 제공된 실시예는 입양 세포 요법의 효능이 이러한 세포가 투여되는 대상체에서 독성, 예컨대 신경 독성의 발생에 의해 제한될 수 있고, 특정한 파라미터 및/또는 바이오마커가 독성의 발생과 연관되고/거나 그의 발생을 예측할 수 있다는 관찰에 기초한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 이러한 발견은 특정한 대상체에 대한 세포 요법의 투여 후, 예를 들어 투여 후 초기 시점에서 또는 심지어 세포 요법의 투여 전에 독성의 위험성을 알아내는 데 사용될 수 있다. 일부 경우에, 독성, 예컨대 신경 독성은 중증일 수 있다. 예를 들어, 일부 경우에, 재조합 수용체, 예를 들어 CAR을 발현하는 세포의 용량을 투여하는 것은 독성 또는 그의 위험, 예컨대 일부 경우에 중증 신경 독성을 비롯한 신경 독성을 초래할 수 있다. 일부 경우에, 이러한 세포의 보다 높은 용량이 예를 들어 세포로의 노출을 증가시킴으로써, 예컨대 증폭 및/또는 지속성을 촉진시킴으로써 치료의 효능을 증가시킬 수 있지만, 이들은 또한 독성 또는 보다 중증 독성을 발생시킬 보다 더 큰 위험을 초래할 수 있다. 또한, 일부 경우에, 보다 높은 질병 부담, 예컨대 보다 높은 림프절 종양 부담을 갖는 대상체는 또한 독성 또는 보다 중증 독성을 발생시킬 보다 더 큰 위험에 있을 수 있다.

[0064] 독성, 예컨대 세포 요법, 예를 들어 신경 독성과 관련될 수 있는 독성을 치료 또는 개선하기 위해 이용가능한 특정 방법은 항상 완전히 만족스럽지는 않을 수 있다. 많은 이러한 접근법은, 예를 들어 독성의 하류 효과를 표적화하는 것, 예컨대 사이토카인 차단 및/또는 전달 제제, 예컨대 투여된 세포의 기능을 또한 제거하거나 손상시킬 수 있는 고용량 스테로이드에 중점을 둔다. 추가로, 이러한 접근법은 종종 단지 독성의 물리적 징후 또는 증상의 검출 시에 이러한 개입의 투여를 수반하며, 이는 일부 경우에 대상체에서 중증 독성의 발생 시에 발생할 수 있다. 이들 다른 접근법 중 다수는 또한 다른 형태의 독성, 예컨대 입양 세포 요법과 연관될 수 있는 신경 독성을 예방하지 않는다. 일부 경우에, 이러한 요법은 단지 대상체가 독성의 물리적 징후 또는 증상을 제시한 후에만 투여된다. 일부 경우에, 이는 이러한 증상이 중증인 시점에 있고, 따라서 독성이 호전되거나 치료하기 위해 훨씬 더 가혹하거나 더 극단적인 치료(예를 들어, 더 높은 투여량 또는 증가된 투여 빈도)를 필요로 할 수 있다. CLL을 치료하는 개선된 방법, 및 일부 측면에서 독성의 위험성(예를 들어, 신경 독성)을 조기(예를 들어, 투여 전 또는 투여 후 초기 시점에)의 위험을 결정하고 잠재적 독성을 호전시키거나 해결하기 위한 조치를 취함으로써 독성(예를 들어, 신경 독성)의 위험을 감소시키기 위한 개선된 방법이 또한 필요하다.

[0065] 특정 대안적인 접근법의 사용은 이러한 문제에 대한 만족스러운 해결책을 제공하지 않는다. 예를 들어, 독성을 개선하기 위한 제제가 세포의 투여와 동시에, 또는 세포의 투여 후 시간의 윈도우 내에, 그러나 적어도 적절한 수준의 위험 평가 없이 물리적 징후 또는 증상 또는 중증 징후 또는 증상의 발생 전에 투여되는 접근법은 만족스럽지 않을 수 있다. 예를 들어, 세포 요법이 투여된 모든 대상체가 독성 결과를 발생시키지 않거나 또는 개입을 필요로 하는 이러한 독성 결과를 발생시키지 않거나 않을 것이다. 따라서, 일부 맥락에서 이러한 대안은 이러한 치료가 보장되지 않을 수 있는 특정 대상체를 불필요하게 치료하는 것을 수반할 것이다. 추가로, 일부 경

우에, 이러한 제제 및 요법 (예를 들어, 스테로이드)은 그 자체가 독성 부작용과 연관된다. 이러한 부작용은 세포 요법으로부터 발생할 수 있는 독성의 중증도를 치료 또는 개선하기 위해 제제 또는 요법을 투여하거나 이러한 제제 또는 요법으로 치료할 필요가 있는 더 높은 용량 또는 빈도에서 훨씬 더 클 수 있다. 추가로, 일부 경우에, 독성을 치료하기 위한 제제 또는 요법은 세포 요법의 효능, 예컨대 세포 요법의 일부로서 제공되는 세포 상에 발현되는 키메라 수용체 (예를 들어, CAR)의 효능을 제한할 수 있다 (Sentman (2013) Immunotherapy, 5:10).

[0066] 제공된 방법은 독성 결과의 위험을 해결, 예측, 및 치료 또는 예방하기 위한 이용가능한 접근법 및 대안적인 해결책에 비해 이점을 제공한다. 특히, 일부 구현예에서, 제공된 방법은 세포 요법과 관련된 것과 같은 독성을 발생시키기 위한 특정 임계 위험 수준 이상의 위험이 있는 것으로 예측된 대상체만을 식별하게 한다. 따라서, 일부 구현예에서, 제공된 방법은 독성을 발생시킬 가능성이 더 높은 대상체의 서브세트에서만 독성 결과의 개입을 허용한다. 많은 경우에, 이것은 세포 요법이 투여되는 모든 대상체에서 독성을 치료하는 것을 피하며, 위에서 설명한 바와 같이 많은 대상체가 독성을 발생시키지 않고 및/또는 원치 않는 영향을 초래할 수 없는 경우 보증되지 않을 수 있다.

[0067] 일부 측면에서, 제공된 실시예에는 또한 독성, 예컨대 신경 독성(예를 들어, 중증 신경 독성)의 발생 위험 및/또는 반응 가능성이 초기, 예컨대 투여 전에, 투여 직후 또는 치료, 예컨대 세포 요법의 개시 후에, 또는 세포 요법의 제1 용량의 투여 또는 개시 후에 예측될 수 있다는 특징과 연관된 이점을 제공한다. 따라서, 일부 경우에, 독성(예를 들어, 중증 신경 독성)의 발생 위험이 있을 것으로 예측되고/거나 독성(예를 들어, 중증 신경 독성)의 발생 위험이 있을 가능성이 더 높은 대상체는 초기에 그리고 일반적으로 독성, 예를 들어 중증 신경 독성의 물리적 징후 또는 증상 전에 개입을 받을 수 있고, 그렇지 않으면 개입 치료에 이르게 될 것이다. 일부 경우에, 독성 결과의 치료 또는 독성 결과의 잠재력을 조기에 개입시키는 능력은 독성을 치료 또는 개선시키기 위한 제제의 감소된 투여량이 제공될 수 있고/거나 이러한 제제 또는 요법의 투여 빈도가 감소될 수 있다는 것을 의미할 수 있다.

[0068] 일부 구현예에서, 제공된 방법은 특정 파라미터, 바이오마커 또는 분석물, 예컨대 특정 사이토카인 바이오마커가 입양 세포 요법의 투여 전 또는 투여 후 조기에 획득된 샘플에서 독성이 나중에 발생한 대상체에서 상이하다는 관찰에 기초한다. 다른 측면에서, 제공된 방법은 또한 특정 파라미터, 바이오마커 또는 분석물이 입양 세포 요법의 투여 후 나중에 반응, 예컨대 지속성 반응을 달성한 대상체에서 상이하다는 관찰에 기초한다. 따라서, 본원에 기재된 바와 같은 이러한 바이오마커는 세포 요법에 대한 독성이 발생할 가능성이 있거나 가능성이 더 크고/거나 반응할 가능성이 없는 대상체를 식별하기 위한 예측 방법에서 사용될 수 있어서, 대상체 및 유효 용량이 치료 전에 선택될 수 있고/거나 치료의 변형 (예를 들어, 추가의 치료제 및/또는 모니터링에서의 변화)이 치료 동안 조기에 이루어질 수 있다. 일부 경우에, 본원에 기재된 바와 같은 이러한 바이오마커는 세포 요법에 대한 독성이 발생할 가능성이 있거나 가능성이 더 큰 대상체를 식별하기 위한 예측 방법에서 사용될 수 있어서, 대상체 및 유효 용량이 치료 전에 선택될 수 있고/거나 치료의 변형 (예를 들어, 추가의 치료제 및/또는 모니터링에서의 변화)이 치료 동안 조기에 이루어질 수 있다. 상기 방법은 조기 개입을 위한 합리적인 전략을 알리고, 이에 의해 CAR-T 세포 요법과 같은 입양 세포 요법의 안전하고 효과적인 임상 적용을 용이하게 할 수 있다.

[0069] 일부 구현예에서, 제공된 방법 및 용도는 CLL의 특정 예후 또는 위험을 갖는 것으로 선택되거나 확인된 대상체에게 조작된 세포를 투여하는 것을 포함하는, 세포 요법을 사용한 치료 방법과 관련하여 사용될 수 있다. 만성 림프구성 백혈병(CLL)은 일반적으로 가변적인 질병이다. CLL을 가진 일부 대상체는 다른 대상체라면 즉각적인 개입이 필요할 수 있는 반면, 치료하지 않고 생존할 수도 있다. 일부 경우에, CLL을 가진 대상체는 질병 예후 및/또는 권장되는 치료 전략을 알려줄 수 있는 그룹으로 분류될 수 있다. 일부 경우에, 상기 그룹은 “저위험 (low risk)”, “중간 위험(intermediate risk)”, “고위험(high risk)” 및/또는 “매우 고위험(very high risk)” 일 수 있고, 환자는 유전적 이상 및/또는 형태학적 또는 물리적 특성을 포함하되 이에 국한되지 않는 여러 요인에 따라 분류될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 방법에 따라 치료를 받은 대상체는 CLL의 위험에 기초하여 분류 또는 식별된다. 일부 구현예에서, 대상체는 고위험 CLL을 가진 대상체이다. 일부 구현예에서, 제공된 방법 및 용도는 또한 특정 대체 방법, 예컨대 CLL 또는 SLL과 같은 백혈병을 갖는 환자에서 치료된 특정 군의 대상체에 비해 개선된 반응 또는 효능을 제공하거나 달성할 수 있다.

[0070] 추가로, 세포 요법에 대한 반응에 대한 특정 대상체의 가능성을 예측하거나 평가하기 위해 사용될 수 있는 방법

이 또한 제공된다. 특정 측면에서, 세포 요법 후, 반응 결과 또는 독성 결과를 비롯한 특정 치료 결과와 같은 특정 결과 또는 상태에 도달하는 대상체의 가능성을 알아내는 것은, 예컨대 대상체가 세포 요법에 대한 반응을 달성할 가능성을 알아내는 것, 및/또는 치료 요법을 변형시키는 것, 추가의 치료제를 사용한 치료를 위한 대상체를 선택하는 것, 또는 투여를 위한 적절한 용량을 확인하는 것의 결과에 기초하여 치료에 반응할 가능성이 있는 대상체를 선택하는 것에 의해, 치료를 위한 대상체를 식별 및 선택하는 데 있어서의 인자일 수 있다. 일부 구현예에서, 방법은 이러한 결과 또는 상태를 알아내는 것에 의해, 치료 개시 전 또는 직후에, 치료에 대한 반응이 독성의 위험성의 증가 없이 개선되도록 하는 유리하다.

[0071] 일부 구현예에서, 상기 방법은 대상체에게 추가의 치료제, 예컨대 독성의 개선을 위한 제제 및/또는 다른 추가의 치료제, 예컨대 키나아제 억제제를 투여하는 것을 또한 포함한다.

[0072] 본 출원에서 언급된 특허 문헌, 과학 논문 및 데이터베이스를 포함한 모든 출판물은 각각의 개별 출판물이 개별적으로 참조로 통합된 것과 동일한 정도로 모든 목적을 위해 그 전체가 참조로 포함된다. 본원에 제시된 정의가 본원에 참조로 포함된 특허, 출원, 공개된 출원 및 기타 출판물에 제시된 정의와 상반되거나 달리 부합하지 않는 경우, 본원에 제시된 정의가 본원에 참조로 포함된 정의보다 우선한다.

[0073] 본원에 사용된 섹션 제목은 단지 구성을 위한 목적이며 기재된 주제를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0074] **I. 파라미터 및 바이오마커의 평가 및 세포 요법 치료를 위한 대상체의 식별 또는 선택 방법**

[0075] 제공된 방법 및 용도 중에는 독성(예를 들어, 신경 독성), 예컨대 중증 신경 독성과 연관된 바이오마커(예를 들어, 분석물) 또는 파라미터를 평가 또는 검출하는 것을 포함하는, 대상체에서 세포 요법과 관련된 독성이 발생할 위험을 평가하는 것을 포함하는 치료 방법이 있다. 또한, 제공된 방법 중에는, 반응 결과, 예컨대 객관적 반응(OR), 예컨대 완전 반응(CR), 불완전 골수 회복을 동반한 CR(CRi), 결절성 부분 관해(nPR), 부분 반응(PR)과 연관된 바이오마커(예를 들어, 분석물) 또는 파라미터를 평가 또는 검출하는 것을 수반하는 대상체에서 세포 요법에 대한 반응 가능성을 평가하는 방법이 있다.

[0076] 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 방법은 질병 부담, 예컨대 림프절 종양 부담, 혈액 종양 부담 및 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율의 하나 이상의 파라미터를 평가하는 것을 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 방법은 림프절 종양 부담을 평가하는 것을 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 방법은 혈액 종양 부담을 평가하는 것을 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 방법은 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율을 평가하는 것을 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 방법은 하나 이상의 바이오마커 또는 분석물, 예컨대 인터루킨 16(IL-16), 종양 괴사 인자(TNF), 혈관 내피 성장 인자 C(VEGFC) 또는 혈관 내피 성장 인자 수용체 1(VEGFR1)의 수준, 농도 또는 양을 평가하는 것을 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 방법은 인터루킨 16(IL-16)의 수준, 농도 또는 양을 평가하는 것을 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 방법은 종양 괴사 인자(TNF)의 수준, 농도 또는 양을 평가하는 것을 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 방법은 혈관 내피 성장 인자 C(VEGFC)의 수준, 농도 또는 양을 평가하는 것을 포함한다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 방법은 혈관 내피 성장 인자 수용체 1(VEGFR1)의 수준, 농도 또는 양을 평가하는 것을 포함한다.

[0077] 일부 구현예에서, 방법은 파라미터 또는 바이오마커 또는 분석물의 수준, 농도 또는 양의 값을 그 특정 파라미터, 바이오마커 또는 분석물에 대한 역치 값과 비교하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 비교는 세포 요법의 투여 후 독성의 발생 위험을 결정하는 데 사용될 수 있다.

[0078] 일부 구현예에서, 세포 요법은 분화 클러스터 19(CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함한다. 일부 구현예에서, 파라미터, 바이오마커 또는 분석물은 만성 림프모구 백혈병(chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종(SLL)을 갖는 대상체로부터 또는 대상체로부터 획득된 샘플에서 평가된다. 일부 구현예에서, 대상체는 세포 요법 치료를 위한 후보자이고, 및/또는 세포 요법 치료를 받았다. 일부 구현예에서, 제공된 방법은 독성이 발생할 위험이 있고 및/또는 세포 요법에 반응할 가능성이 있는 대상체를 식별 또는 선택하고; 및/또는 특정 치료, 예컨대 추가의 치료제, 예를 들어, 임의의 독성을 개선하기 위한 제제 또는 치료법으로의 치료를 위한 대상체를 선택하기 위해 사용될 수 있다.

[0079] 일부 측면에서, 방법은 또한 예를 들어 파라미터 또는 바이오마커의 평가 및/또는 특정 파라미터 또는 바이오마커의 참조 값 또는 역치 수준에 대한 파라미터 또는 바이오마커의 비교에 의해, 제공된 실시예에 따라 알아낸 독성의 위험성에 기초하여, 가능한 독성의 증상에 대해 대상체를 모니터링하는 것을 포함한다. 일부 측면에서,

방법은 또한 예를 들어 파라미터 또는 바이오마커의 평가 및/또는 특정 파라미터 또는 바이오마커의 참조 값 또는 역치 수준에 대한 파라미터 또는 바이오마커의 비교에 의해, 제공된 실시예에 따라 알아낸 반응 가능성에 기초하여, 가능한 반응에 대해 대상체를 모니터링하는 것을 포함한다.

[0080] 일부 구현예에서, 방법은 바이오마커 (예를 들어, 분석물) 또는 바이오마커 (예를 들어, 분석물)의 패널과 연관된 바이오마커 (예를 들어, 분석물) 및/또는 파라미터 (예를 들어, 농도, 양, 수준 또는 활성) 중 하나 또는 패널의 존재 또는 부재를 평가 또는 검출하는 것을 포함한다. 일부 경우에, 방법은 하나 이상의 파라미터를 특정 참조 값, 예컨대 역치 수준, 예를 들어 독성 (예를 들어, 신경 독성)의 발생 위험과 연관된 것 또는 특정 반응, 예컨대 OR, CR, ORR, CRi, PR, nPR, SD 또는 PD, 및/또는 초기 반응 후 3개월, 6개월, 9개월, 12개월 이상 동안 지속가능한 반응과 연관된 것과 비교하는 것을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 방법은 또한 바이오마커의 존재 또는 부재의 산정 및/또는 바이오마커를 바이오마커의 참조 값 또는 역치 수준과 비교에 기초하여 세포 요법 치료를 위한 대상체를 선택하는 것을 포함한다.

[0081] 일부 구현예에서, 평가되는 파라미터는 환자 및/또는 질병 또는 병태의 속성, 인자, 특성, 및/또는 바이오마커의 발현을 포함하거나 또는 포함한다. 일부 구현예에서, 파라미터는 환자의 상태 및/또는 환자의 질병 또는 병태를 나타내는 하나 이상의 인자이거나 또는 포함한다. 일부 구현예에서, 파라미터는 종양 부담을 나타낸다. 일부 구현예에서, 파라미터는 특정 기관 또는 조직, 예컨대 림프절 종양 부담 또는 혈액 종양 부담에서의 종양 부담을 나타낸다. 일부 구현예에서, 파라미터는 환자 및/또는 질병 또는 병태의 속성, 인자, 특성이거나 또는 포함한다. 일부 구현예에서, 파라미터는 종양 부담, 예를 들어 종양 부담의 측정과 관련된 파라미터이다.

[0082] 일부 측면에서, 생물학적 샘플, 예를 들어 대상체로부터의 혈액 샘플 또는 조직 샘플은 바이오마커 (예를 들어, 분석물)의 존재 또는 부재를 검출하기 위해, 예컨대 바이오마커의 파라미터 (예를 들어, 농도, 양, 수준 또는 활성)를 검출 또는 측정하고/거나 바이오마커의 존재를 평가하기 위해, 특정 결과 및/또는 독성의 분석, 상관관계 및/또는 검출을 위해 수득될 수 있다. 일부 구현예에서, 바이오마커의 발현 및/또는 임상 및 실험실 파라미터를 포함한 바이오마커와 연관된 특정 생리적 또는 생물학적 파라미터는 세포 요법의 투여 전 또는 후에 대상체로부터의 생물학적 샘플, 예를 들어 혈액으로부터 평가될 수 있다. 일부 구현예에서, 발현 바이오마커 또는 분석물 및/또는 임상 및 실험실 파라미터는 세포 요법의 투여 (후처리) 후에 대상체로부터의 생물학적 샘플, 예를 들어 혈액으로부터 평가될 수 있다. 일부 구현예에서, 바이오마커 (예를 들어, 분석물)의 농도, 양, 수준 또는 활성 및/또는 임상 및 실험실 파라미터는 세포 요법의 투여 전 또는 후에 하나 이상의 시점에서 평가될 수 있다. 일부 구현예에서, 바이오마커 (예를 들어, 분석물)의 피크 농도, 양, 수준 또는 활성 및/또는 임상 및 실험실 파라미터는 또한 지정된 기간 동안 알아내질 수 있다.

[0083] 일부 구현예에서, 바이오마커 또는 분석물은 생물학적 과정, 치료 결과, 세포 표현형 또는 질병 상태와 같은 특정 상태 또는 현상을 나타내거나 연관될 수 있는 세포를 포함한 생물학적 샘플에 의해 또는 세포에서 발현되는 객관적으로 측정 가능한 특성 또는 분자이다. 일부 측면에서, 바이오마커 또는 분석물 또는 바이오마커 또는 분석물과 관련된 파라미터가 측정되거나 검출될 수 있다. 예를 들어, 바이오마커 또는 분석물의 발현의 존재 또는 부재가 검출될 수 있다. 일부 측면에서, 바이오마커 또는 분석물의 농도, 양, 수준 또는 활성과 같은 파라미터를 측정하거나 검출할 수 있다. 일부 구현예에서, 바이오마커의 존재, 부재, 발현, 농도, 양, 수준 및/또는 활성은 특정 치료 결과 또는 대상체의 상태와 같은 특정 상태와 연관되거나, 관련되거나, 이를 나타내거나 및/또는 예측할 수 있다. 일부 측면에서, 본원에 기술된 것과 같은 바이오마커 또는 분석물의 존재, 부재, 발현, 농도, 양, 수준 및/또는 활성은 반응 결과 또는 독성 결과를 포함하는 특정 치료 결과와 같은 특정 결과 또는 상태의 가능성을 평가하는 데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 예시적인 바이오마커는 사이토카인, 세포 표면 분자, 케모카인, 수용체, 가용성 수용체, 가용성 혈청 단백질 및/또는 분해 생성물을 포함한다. 일부 구현예에서, 바이오마커 또는 분석물은 또한 환자 및/또는 질병 또는 병태의 특정 속성, 인자, 특성 또는 환자의 상태 및/또는 환자의 질병 또는 병태(질병 부담 포함)를 나타내는 인자, 및/또는 임상 또는 실험적 파라미터를 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 바이오마커는 사이토카인이다. 일부 측면에서, 바이오마커는 케모카인이다. 일부 관점에서, 바이오마커는 성장 인자이다. 일부 측면에서, 바이오마커는 수용체이다. 일부 측면에서, 바이오마커는 가용성 수용체이다.

[0084] 일부 구현예에서, 바이오마커는 단독으로 또는 다른 바이오마커, 예컨대 바이오마커의 패널에서 조합되어 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 특정 바이오마커의 발현은 특정 결과 또는 독성, 예를 들어 신경 독성의 발생과 상관될 수 있다. 일부 구현예에서, 특정 바이오마커의 발현은 특정 결과 또는 반응, 예컨대 객관적 반응 (OR),



완전 반응 (CR), 불완전 골수 회복을 동반한 CR (CRi), 결절성 부분 관해 (nPR) 또는 부분 반응 (PR)과 상관될 수 있다.

- [0085] 일부 구현예에서, 상기 방법은 인터루킨 16(IL-16), 종양 괴사 인자(TNF), 혈관 내피 성장 인자 C(VEGFC) 또는 혈관 내피 성장 인자 수용체 1(VEGFR1) 중에서 선택되는 하나 이상의 바이오마커와 관련된 파라미터(예를 들어, 농도, 양, 수준 또는 활성)와 같은 하나 이상의 바이오마커의 존재 또는 부재를 검출하는 단계를 포함한다.
- [0086] 일부 구현예에서, 파라미터 및/또는 하나 이상의 바이오마커(예를 들어, 분석물)의 존재 또는 부재 및/또는 파라미터는 생물학적 샘플로부터 평가된다. 일부 측면에서, 생물학적 샘플은 체액 또는 조직이다. 일부 이러한 실시예에서, 생물학적 샘플, 예를 들어 체액은 전혈, 혈청 또는 혈장이거나 이를 함유한다.
- [0087] 일부 구현예에서, 파라미터 및/또는 하나 이상의 바이오마커 (예를 들어, 분석물)의 존재 또는 부재 및/또는 파라미터는 세포 요법 (예를 들어, 사전-주입)의 투여 전에, 예를 들어 조작된 세포의 투여 개시 전에 최대 2일, 최대 7일, 최대 14일, 최대 21일, 최대 28일, 최대 35일 또는 최대 40일 까지 평가된다. 일부 구현예에서, 생물학적 샘플은 세포 요법 (예를 들어, 사전-주입)의 투여 전에 대상체로부터 획득되고, 예를 들어 조작된 세포의 투여 개시 전에 최대 2일, 최대 7일, 최대 14일, 최대 21일, 최대 28일, 최대 35일 또는 최대 40일 까지 획득된다.
- [0088] 일부 구현예에서, 생물학적 샘플은 혈액, 혈청 또는 혈장 샘플이다. 일부 구현예에서, 생물학적 샘플은 혈액 샘플이다. 일부 구현예에서, 생물학적 샘플은 성분채집술 또는 백혈구 성분채집술 샘플이다. 일부 구현예에서, 파라미터 및/또는 하나 이상의 바이오마커(예를 들어, 분석물)의 존재 또는 부재 및/또는 파라미터는 평가되고 또는 생물학적 샘플은 세포 요법의 투여 후에 획득된다. 일부 구현예에서, 시약은 진단의 목적으로, 대상체를 식별하고/거나 치료 결과 및/또는 독성을 평가하기 위해 세포 요법의 투여 전에 또는 세포 요법의 투여 후에 사용될 수 있다.
- [0089] 일부 구현예에서, 파라미터 및/또는 하나 이상의 바이오마커(예를 들어, 분석물)의 존재 또는 부재 및/또는 파라미터는 유전자 조작된 세포의 투여 개시 후 (약) 1 일, 2 일, 3 일, 4 일, 5 일, 6 일, 7 일, 8 일, 9 일, 10 일, 11 일, 12 일, 13 일, 14 일 또는 15 일 이내의 시점에 대상체로부터 획득된다. 상기 구현예의 일부에서, 파라미터 및/또는 하나 이상의 바이오마커(예를 들어, 분석물)의 존재 또는 부재 및/또는 파라미터는 유전자 조작된 세포의 투여 개시 후 (약) 1 내지 15 일, 1 내지 12 일, 1 내지 8 일, 1 내지 5 일, 1 내지 3 일 또는 1 내지 2 일(각 수치포함) 사이의 시점에 대상체로부터 획득된다.
- [0090] 일부 구현예에서, 하나 이상의 바이오마커의 값을 측정하는 것은 시험관 내 검정을 수행하는 것을 포함한다. 일부 측면에서, 시험관 내 분석은 면역분석, 앵타머(aptamer) 기반 분석, 조직학적 또는 세포학적 분석 또는 mRNA 발현 수준 분석이다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 바이오마커의 값은 효소결합면역흡착분석(ELISA), 면역블로팅, 면역침강법, 방사선면역분석(RIA), 면역 염색법, 유세포 분석법, 표면 플라즈몬 공명(SPR), 화학발광 분석, 측면 유동 면역분석, 억제 분석 또는 결합력(avidity) 분석에 의해 측정된다. 일부 경우에, 하나 이상의 바이오마커 중 적어도 하나의 값은 적어도 하나의 바이오마커에 특이적으로 결합하는 결합 시약을 사용하여 알아낸다. 일부 측면에서, 결합 시약은 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 앵타머 또는 핵산 프로브이다.
- [0091] 일부 구현예에서, 하나 이상의 바이오마커 (예를 들어, 분석물)의 값을 측정하는 단계는 분석물을 생물학적 샘플과 직접적으로 또는 간접적으로 검출할 수 있는 시약을 접촉시키는 단계 및 생물학적 샘플 중의 분석물의 존재 또는 부재, 수준, 양 또는 농도를 알아내는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 바이오마커 (예를 들어, 분석물)는 인터루킨-16 (IL-16), 종양 괴사 인자 (TNF), 혈관 내피 성장 인자 C (VEGFC) 또는 혈관 내피 성장 인자 수용체 1 (VEGFR1)이다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 바이오마커 (예를 들어, 분석물)는 TNF이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 바이오마커 (예를 들어, 분석물)는 IL-16이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 바이오마커 (예를 들어, 분석물)는 VEGFC이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 바이오마커 (예를 들어, 분석물)는 VEGFR1이거나 이를 포함한다.
- [0092] 일부 구현예에서, 상기 파라미터, 예를 들어, 바이오마커 및/또는 분석물은 상기 파라미터를 검출할 수 있거나 또는 상기 파라미터에 특이적인 하나 이상의 시약(들)을 사용하여 검출된다.
- [0093] 일부 구현예에서, 하나 이상의 파라미터, 예를 들어, 바이오마커의 값을 측정하는 단계는 분석물을 생물학적 샘플과 직접적으로 또는 간접적으로 검출할 수 있는 시약을 접촉시키는 단계 및 생물학적 샘플 중의 분석물의 존재 또는 부재, 수준, 양 또는 농도를 알아내는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 파라미터, 예를 들어 바이오마커는 IL-16, TNF, VEGFC 또는 VEGFR1 중 하나 이상이거나 이를 포함한다. 일부 측면에서, 시약은

바이오마커에 특이적으로 결합하는 결합 분자이다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 시약은 항체 또는 그의 항원-결합 단편이다. 일부 구현예에서, 시약은 바이오마커의 기질 또는 결합 파트너이거나 이를 포함한다.

[0094] 일부 구현예에서, 파라미터 및/또는 바이오마커는 면역분석을 사용하여 평가된다. 예를 들어, 효소결합면역흡착 분석(ELISA), 효소 면역분석(EIA), 방사선면역분석(RIA), 표면 플라즈몬 공명(SPR), 웨스턴 블롯, 측면 유동 분석, 면역조직화학, 단백질 어레이 또는 면역-PCR(iPCR)이 환자 속성, 인자 및/또는 바이오마커를 검출하는데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, ELISA는 샌드위치(sandwich) ELISA이다. 일부 구현예에서, ELISA는 비드-기반 ELISA이다. 일부 구현예에서, 제조품을 사용하는 것은 중앙 부담을 나타내는 환자 속성, 인자 및/또는 바이오마커를 검출하는 것을 포함한다. 일부 경우에, 환자 속성, 인자 및/또는 바이오마커의 검정 또는 평가는 유세포 분석법을 사용하는 것이다. 일부 경우에, 시약은 환자 속성, 인자 및/또는 바이오마커에 결합하는 가용성 단백질이다. 일부 측면에서, 파라미터 및/또는 하나 이상의 바이오마커의 평가를 위한 분석은 면역분석이다. 일부 측면에서, 파라미터 및/또는 하나 이상의 바이오마커의 평가를 위한 분석은 예를 들어 다중, 예컨대 하나 초과 바이오마커 또는 분석물의 파라미터, 예컨대 수준, 농도 또는 양을 알아내기 위한 다중 면역분석이다.

[0095] 일부 구현예에서, 방법은 샘플에서 분석물의 수준, 양 또는 농도를 개별적으로 역치 수준으로 비교하고, 이로써 세포 요법의 투여 후 독성이 발생할 위험성을 알아내는 것, 또는 이로써 대상체가 세포 요법에 대한 반응을 달성할 가능성을 알아내는 것을 포함한다. 일부 측면에서, 예시적인 역치 수준은 세포 요법을 받기 전에 대상체의 군으로부터 획득된 생물학적 샘플 내 바이오마커, 예를 들어 분석물의 수준, 양 또는 농도의 평균 또는 중앙값 및 평균 또는 중앙값의 범위 또는 표준 편차 내의 값에 기초하여 알아낼 수 있으며, 여기서 군의 대상체 각각은 반응을 나타내거나 나타내지 않는 것; 또는 독성이 발생하거나 발생하지 않는 것을 비롯한 특정한 치료 결과와 같은 특정한 결과를 나타내도록 계속되었다. 일부 구현예에서, 역치 값을 알아내는 특정한 측면은 섹션 I.A.1 및 I.A.2에 하기 기재된 것을 포함한다.

[0096] **A. 독성 결과와 연관된 예시적인 바이오마커, 분석물 또는 파라미터**

[0097] 일부 구현예에서, 분석물 또는 바이오마커는 세포 요법, 예컨대 유전자 조작된 세포를 함유하는 조성물로 투여된 대상체에서 특정 결과, 예컨대 독성의 발생과 연관되고, 관련되고, 이를 나타내고 및/또는 예측한다. 일부 구현예에서, 세포 요법의 투여 전에 대상체로부터 획득된 생물학적 샘플에서 하나 이상의 바이오마커, 예를 들어 분석물의 존재, 발현 수준, 양 또는 농도는 특정 결과, 예컨대 독성, 예컨대 분원, 예를 들어 섹션 II.D에 기재된 임의의 독성 결과의 발생을 나타내고/거나 예측하는 것과 연관될 수 있다. 일부 구현예에서, 특정 바이오마커의 존재, 발현 수준, 양 또는 농도는 특정 결과 또는 독성, 예를 들어 NT의 발생과 연관될 수 있다. 일부 구현예에서, 독성은 예컨대 분원, 예를 들어 섹션 II.D에 기재된 임의의 것과 같은 세포 요법과 잠재적으로 연관된 독성이다. 일부 구현예에서, 독성은 신경 독성(NT; 일부 경우에 신경학적 사건, 신경학적 사건 또는 NE로도 불림)이다. 일부 구현예에서, 독성은 임의의 등급의 신경 독성, 예컨대 1급 이상의 신경 독성(NT)이다. 일부 구현예에서, 독성은 중증 NT이다. 일부 구현예에서, 독성은 2급 이상 NT이다. 일부 구현예에서, 독성은 3급 이상 NT이다. 일부 구현예에서, 독성은 4급 또는 5급 NT이다.

[0098] 일부 구현예에서, 파라미터는 중앙 부담, 예를 들어, 림프절 중앙 부담 또는 혈액 중앙 부담과 같은 중앙 부담의 측정과 관련된 파라미터이다. 일부 구현예에서, 파라미터는 중앙 부담, 예를 들어, 혈액 중앙 부담 및 림프절 중앙 부담과 같은 중앙 부담의 두 측정의 비율과 관련된 파라미터이다. 일부 구현예에서, 바이오마커(예를 들어, 분석물), 이의 파라미터를 포함함,는 IL-16 및 TNF를 포함한다.

[0099] 일부 구현예에서, 방법은 세포 요법의 투여 후 독성의 발생 위험을 평가하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 방법은 생물학적 샘플에서 하나 이상의 바이오마커, 예를 들어 분석물의 수준, 양 또는 농도를 평가하는 것을 포함하고, 여기서 생물학적 샘플은 세포 요법으로 치료할 후보인 대상체로부터 유래되고, 상기 세포 요법은 선택적으로 재조합 수용체(예: CAR)를 발현하는 유전자 조작된 세포의 용량 또는 조성물을 포함하고; 생물학적 샘플은 세포 요법을 투여하기 전에 대상체로부터 획득되고/거나 상기 생물학적 샘플은 재조합 수용체 및/또는 상기 조작된 세포를 포함하지 않는다. 일부 측면에서, 본 방법은 샘플에서 분석물의 수준, 양 또는 농도를 개별적으로 역치 수준으로 비교하고, 이로써 세포 요법의 투여 후 독성이 발생할 위험을 결정하는 것을 포함한다. 일부 측면에서, 상기 비교는 세포 요법의 투여 후, 대상체의 반응 가능성 또는 독성의 발생 위험성을 알아내는 데 사용될 수 있다.

[0100] 일부 구현예에서, 방법은 세포 요법의 투여 후 대상체의 반응 가능성 또는 독성의 발생 위험성을 평가하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 방법은 생물학적 샘플 중 하나 이상의 바이오마커, 예를 들어 분석물의 수준, 양 또는 농도를 평가하는 것을 포함하고, 여기서 생물학적 샘플은 생물학적 샘플은 초기 시점, 예를 들어 CAR+ T

세포 증폭 피크 이전 및/또는 세포 요법의 투여 개시 후 (약) 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1일 또는 상기 중 임의의 것에 의해 정의된 범위 이내에, 선택적으로 재조합 수용체 (예를 들어, CAR)를 발현하는 유전자 조작된 세포의 용량 또는 조성물을 포함하는 세포 요법을 받은 대상체로부터 유래된다. 일부 측면에서, 본 방법은 샘플에서 분석물의 수준, 양 또는 농도를 개별적으로 역치 수준으로 비교하고, 이로써 세포 요법의 투여 후 독성이 발생할 위험을 결정하는 것을 포함한다. 일부 측면에서, 상기 비교는 세포 요법의 투여 후, 대상체의 반응 가능성 또는 독성의 발생 위험성을 알아하는 데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 방법은 또한 바이오마커의 존재 또는 부재의 평가 및/또는 바이오마커의 참조 값 또는 역치 수준에 대한 바이오마커의 비교에 기초하여, 세포 요법, 예컨대 본원에 기재된 것과 같은 세포 요법의 특정 용량의 투여를 포함한, 세포 요법, 예컨대 특정 용량의 세포 요법으로의 치료를 위한 대상체를 선택하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 방법은 또한 바이오마커의 존재 또는 부재의 평가 및/또는 바이오마커의 참조 값 또는 역치 수준에 대한 바이오마커의 비교에 기초하여, 추가 제제, 예컨대 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법으로의 치료를 위한 대상체를 선택하는 것을 포함한다.

[0101] 일부 구현예에서, 방법은 샘플에서 분석물의 수준, 양 또는 농도를 개별적으로 역치 수준으로 비교하고, 이로써 세포 요법의 투여 후 독성이 발생할 위험성을 알아내는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 방법은 개별적으로 샘플 중의 분석물의 수준, 양 또는 농도를 역치 수준과 비교하는 것에 기초하여 세포 요법의 투여 후에 독성이 발생할 위험을 갖는 대상체를 식별하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 방법은 또한 대상체에게 세포 요법, 및 임의로 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 것에 이어서 또는 그의 결과에 기초하여 평가를 포함한다. 일부 구현예에서, 방법은 또한 대상체가 세포 요법을 투여하고 독성이 발생할 위험을 갖는 것으로 확인된 경우에 독성의 증상에 대해 대상체를 모니터링하는 것을 포함한다.

[0102] 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 역치 수준은, 세포 요법을 받기 전에 대상체의 그룹으로부터 취득된 생물학적 샘플로부터 평가된 파라미터의 중앙 또는 평균값 또는 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균의 25% 이내, 20% 이내, 15% 이내, 10% 이내 또는 5% 이내이고 및/또는 표준 편차 이내이거나, 또는 (약) 그 이상이고, 상기 그룹의 대상체 각각은 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위해 CAR을 발현하는 조작된 세포의 용량의 투여 후 어느 등급의 신경 독성을 나타내지 않았다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 역치 수준은 세포 요법을 받기 전에 대상체의 그룹으로부터 취득된 생물학적 샘플로부터 평가된 파라미터의 중앙 또는 평균값 또는 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균 보다 1.25배 이상, 1.3배 이상, 1.4배 이상 또는 1.5배 이상이고, 상기 그룹의 대상체 각각은 CLL 또는 SLL를 치료하기 위해 상기 CAR을 발현하는 조작된 세포의 용량의 투여 후 어느 등급의 신경 독성을 나타내지 않았다. 임의의 구현예 중 일부에서, 상기 역치 수준은 상기 세포 요법 치료에 대한 후보자가 아닌 정상 또는 건강한 대상체의 그룹으로부터 취득된 생물학적 샘플로부터 평가된 파라미터 또는 수준, 양 또는 농도 보다 1.25배 이상, 1.3배 이상, 1.4배 이상 또는 1.5배 이상 높다.

[0103] 일부 구현예에서, 역치 값 초과인 파라미터 또는 마커의 측정은 NT가 발생할 위험이 대략 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, 8-, 9-, 10-배 이상 증가된 것과 연관된다. 일부 구현예에서, 역치 값 미만인 파라미터 또는 마커의 측정은 NT가 발생할 위험이 대략 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, 8-, 9-, 10-배 이상 감소된 것과 연관된다.

[0104] 일부 측면에서, 방법은 또한 예를 들어 파라미터 또는 바이오마커의 평가 및/또는 특정 파라미터 또는 바이오마커의 참조 값 또는 역치 수준에 대한 파라미터 또는 바이오마커의 비교에 의해, 제공된 실시예에 따라 알아낸 독성의 위험성에 기초하여, 가능한 독성의 증상에 대해 대상체를 모니터링하는 것을 포함한다.

[0105] 일부 구현예에서, 샘플 내 바이오마커(예: 분석물)의 수준, 양 또는 농도가 분석물의 역치 수준 이상인 경우, 대상체에 세포 요법의 투여 개시 전에, 1, 2, 또는 3일 이내에, 그와 동시에 및/또는 이후 첫 열 발생 시, 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법이 대상체에 투여된다. 독성의 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시키기 위해 제공된 방법과 관련하여 사용하기 위한 예시적인 제제 또는 개입은 섹션 III에 기재되어 있다.

[0106] 일부 경우에, 샘플 내 바이오마커의 수준, 양 또는 농도가 역치 수준 이상인 경우, 세포 요법이 대상체에 감소된 용량으로, 또는 독성 또는 중증 독성이 발생할 위험과 관련되지 않는, 또는 과반수 이상의 대상체에서, 및/또는 세포 요법의 투여 이후, 대상체가 가졌거나 가진 것으로 의심되는 질병 또는 병태를 가진 대상체의 과반수 이상에서 독성 또는 중증 독성이 발생할 위험과 관련되지 않는 용량으로 투여된다. 일부 경우에, 샘플 내 바이오마커의 수준, 양 또는 농도가 역치 수준 이상인 경우, 세포 요법이 대상체에 입원 환경에서 및/또는 하루 이상 병원에 입원하고 투여되고, 선택적으로 그렇지 않은 경우 세포 요법이 대상체에 통원 기준으로 또는 하루 이

상 병원에 입원하지 않고 투여된다.

- [0107] 일부 구현예에서, 바이오마커 (예를 들어, 분석물)의 수준, 양 또는 농도가 분석물에 대한 역치 수준 미만인 경우, 세포 요법은 대상체에게, 선택적으로 비-감소된 용량으로 투여된다. 일부 경우에, 세포 요법은 임의로 외래 환자 기준으로 또는 1 일 이상 동안 병원에 입원하지 않고 투여된다. 일부 구현예에서, 분석물의 수준, 양 또는 농도가 역치 수준 미만인 경우, 세포 요법의 투여는 세포 요법을 투여하기 전에 또는 그와 동시에 및/또는 열 이외의 독성의 증상의 징후의 발생 전에는, 독성의 발생을 치료, 예방, 지연, 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 치료법을 투여하는 것을 포함하지 않고; 및/또는 세포 요법의 투여는 외래환자 환경에서 및/또는 대상체가 하루 밤 또는 하루 이상의 연속일 동안 병원에 입원하지 않고/거나 대상체가 하루 이상 병원에 입원하지 않고, 대상체에 투여 되거나 투여될 수 있다.
- [0108] 제공된 방법의 일부 측면에서, 대상체는 바이오마커 (예를 들어, 분석물)의 파라미터 (예를 들어, 농도, 양, 수준 또는 활성)를 바이오마커 (예를 들어, 분석물) 또는 각각의 바이오마커에 대한 상응하는 파라미터의 참조 값, 예컨대 역치 수준의 비교에 의해 독성 (예를 들어, 신경 독성, 예컨대 중증 신경 독성 또는 3급 이상의 신경 독성)이 발생할 위험이 있는 것으로 알아낸다. 일부 구현예에서, 비교는 대상체가 독성, 예를 들어 신경 독성, 예컨대 중증 신경 독성 또는 3급 이상의 신경 독성이 발생할 위험이 있는지 여부를 나타내고/거나 상기 독성이 발생할 위험의 정도를 나타낸다. 일부 구현예에서, 참조 값은 이러한 독성이 단독으로 또는 패널 내의 하나 이상의 바이오마커와 조합하여 발생할 것 또는 발생할 것 같은 양호한 예측 값 (예를 들어, 정확도, 민감성 및/또는 특이성)이 존재하는 역치 수준 또는 컷오프(cut-off)인 것이다. 일부 경우에, 이러한 참조 값, 예를 들어 역치 수준은 방법을 수행하기 전에, 예컨대 세포 요법으로 이전에 처리된 복수의 대상체로부터 미리 알아내거나 알려질 수 있고, 독성 결과 (예를 들어, 신경 독성, 예컨대 중증 신경 독성 또는 3급 이상의 신경 독성)의 존재에 대한 패널 내의 바이오마커 또는 각각의 바이오마커의 파라미터의 상관관계에 대해 평가된다.
- [0109] 일부 구현예에서, 상응하는 파라미터의 참조 값, 예를 들어 역치 수준보다 높거나 더 큰 바이오마커 (예를 들어, TNF 또는 IL-16)의 파라미터는 독성의 위험성의 양성 예측 (패널에서 다른 바이오마커의 평가와 함께 또는 단독으로)과 연관된다. 일부 구현예에서, 상응하는 파라미터의 참조 값, 예를 들어 역치 수준과 동일하거나 더 낮은 바이오마커의 파라미터는 독성의 위험성의 음성 예측 (패널에서 다른 바이오마커의 평가와 함께 또는 단독으로)과 연관된다.
- [0110] 일부 구현예에서, 역치 수준은 바이오마커에 대해 양성인 샘플 내의 바이오마커 (예를 들어, 분석물)의 수준, 양, 농도 또는 다른 척도에 기초하여 알아낸다. 일부 측면에서, 역치 수준은 재조합 수용체-발현 치료 세포 조성물을 제공받기 전에 대상체의 군으로부터 취득된 생물학적 샘플 내의 분석물 또는 파라미터의 평균 수준, 양 또는 농도 또는 척도의 25% 이내, 20% 이내, 15% 이내, 10% 이내 또는 5% 이내이고, 및/또는 평균 수준, 양 또는 농도 또는 척도의 표준 편차 이내이며, 여기서 군의 대상체 각각은 동일한 질병 또는 병태를 치료하기 위한 재조합-수용체-발현 치료 세포 조성물을 제공받은 후에 독성, 예를 들어 신경 독성, 예컨대 중증 신경 독성 또는 3급 이상의 신경 독성을 계속 발생시켰다.
- [0111] 임의의 제공된 방법의 일부 구현예에서, 바이오마커 (예를 들어, 분석물)는 중증 신경 독성 또는 3급 이상의 신경 독성과 같은 중증 신경 독성의 발생 위험과 관련되고/거나 이를 예측한다. 일부 구현예에서, 역치 수준은 재조합 수용체-발현 치료 세포 조성물을 제공받기 전에 대상체의 군으로부터 취득된 생물학적 샘플 내의 분석물 또는 파라미터의 평균 수준, 양 또는 농도 또는 척도의 25% 이내, 20% 이내, 15% 이내, 10% 이내 또는 5% 이내이고, 및/또는 평균 수준, 양 또는 농도 또는 척도의 표준 편차 이내이며, 여기서 군의 대상체 각각은 동일한 질병 또는 병태를 치료하기 위한 재조합-수용체-발현 치료 세포 조성물을 제공받은 후에 중증 신경 독성 또는 3급 이상의 신경 독성을 계속 발생시켰다.
- [0112] 일부 구현예에서, 파라미터는 체적 종양 측정을 포함하거나 세포 요법에 대한 반응, 및/또는 독성, 예를 들어 신경 독성(NT)의 발생 위험과 연관된다.
- [0113] 치료 방법이 본원에서 제공되며, 이는: (1) 대상체가 림프절 종양 부담 및/또는 역치 수준 이상인 TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도를 갖는 경우; 및/또는 혈액 종양 부담 및/또는 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 역치 수준 미만인 경우, 대상체는 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별됨, 상기 방법은: (i) 상기 대상체에 세포 요법을 감소된 용량으로 투여하고, (ii) 상기 대상체에 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 더 투여하고/거나; (iii) 상기 세포 요법을 상기 대상체에 투여하는 것은 입원 환경에서 및/또는 하루 이상 동안 병원에 입원하고 수행되거나 수행되도록 지정됨을 포함하고; 또는 (2) 대상체가 림프절 종양 부담 및/또는 역치 수준 미

만인 TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도를 갖는 경우; 및/또는 혈액 종양 부담 및/또는 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 역치 수준 이상인 경우, 대상체는 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 식별됨, 상기 방법은: (i) 상기 대상체가 독성의 징후 또는 증상을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때(선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타낸 때 또는 그 후)까지, 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 대상체에 투여하지 않음; 및/또는 (b) 선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 외래환자 기준으로 및/또는 상기 대상체를 병원에 입원시키지 않고 및/또는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 및/또는 병원에 입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이, 상기 세포 요법의 투여 및 임의의 후속 조치가 수행됨을 포함하고; 상기 파라미터는 세포 요법 치료를 위한 후보자인 CLL 또는 SLL을 갖는 대상체로부터 평가되고, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 파라미터는 상기 세포 요법을 투여하기 전에 대상체로부터 평가되고 및/또는 상기 대상체는 CAR을 발현하는 T 세포를 포함하지 않음;을 포함한다.

[0114] 1. 질병 부담

[0115] 일부 구현예에서, 파라미터 또는 인자는 질병 부담, 예컨대 종양 부담을 나타내는 파라미터이다. 일부 측면에서, 종양 부담을 나타내는 파라미터는 종양의 체적 측정이다. 일부 측면에서, 종양 부담을 나타내는 파라미터는 혈액 내 종양 부담이다. 일부 구현예에서, 예시적인 파라미터는 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율을 포함한다.

[0116] 일부 구현예에서, 체적 측정(volumetric measure)은 병변(들)의 측정, 예컨대 종양 크기, 종양 직경, 종양 부피, 종양 질량, 종양 부하 또는 벌크, 종양-관련 부종, 종양-관련 괴사, 및/또는 전이의 수 또는 정도이다. 일부 구현예에서, 이는 이차원 측정이다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 병변(들)의 면적은 모든 측정가능한 종양의 최장 직경 및 최장 수직 직경의 곱으로서 계산된다. 일부 경우에, 이는 일차원 측정이다. 일부 경우에, 측정가능한 병변의 크기는 최장 직경으로서 평가된다. 일부 구현예에서, 직경의 곱의 합(SPD), 최장 종양 직경(LD), 최장 종양 직경의 합(SLD), 괴사, 종양 부피, 괴사 부피, 괴사-종양 비(NTR), 종양내성 부종(PTE), 및 부종-종양 비(ETR)가 측정된다. 일부 측면에서, 종양 부담, 예컨대 림프절 종양 부담을 나타내는 파라미터는 직경의 곱의 합(SPD)(최장 전체 종양 직경 및 최장 전체 직경에 수직인 최장 직경으로서 알아냄)이다.

[0117] 일부 구현예에서, 종양 부담을 나타내는 인자는 혈액 내 종양 부담, 예컨대 혈액의 부피 당 림프구 수, 예컨대 혈액의 마이크로리터 당 림프구 수 ( $\mu\text{L}$ )이다.

[0118] 종양 부담을 측정하고 평가하기 위한 예시적인 방법은 예를 들어, Carceller et al., *Pediatr Blood Cancer*. (2016) 63(8):1400-1406 and Eisenhauer et al., *Eur J Cancer*. (2009) 45(2):228-247에 기재된 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 파라미터는 모든 측정가능한 종양 중 최대 수직 직경의 곱의 합을 알아냄으로써 측정된 직경의 곱의 합 (SPD)이다. CLL 또는 SLL의 경우에, 이러한 파라미터는 림프절에 대해 측정될 수 있다. 일부 측면에서, 종양 또는 병변은 최장 직경 (LD)을 갖는 1차원으로 및/또는 모든 측정가능한 병변의 최장 종양 직경의 합 (SLD)을 알아냄으로써 측정된다. CLL 또는 SLL의 경우에, 이러한 파라미터는 림프절에 대해 측정될 수 있다. 일부 구현예에서, 종양 부담을 나타내는 파라미터는 종양 괴사, 예컨대 괴사 부피 및/또는 괴사-종양 비 (NTR)의 체적 정량화이고, Monsky et al., *Anticancer Res*. (2012) 32(11): 4951-4961을 참조한다. 일부 측면에서, 종양 부담을 나타내는 파라미터는 종양-관련 부종, 예컨대 체액성 부종 (PTE) 및/또는 부종-종양 비 (ETR)의 체적 정량화이다. 일부 구현예에서, 측정은 대상체의 영상화 기술, 예컨대 컴퓨터 단층촬영 (CT), 양전자 방출 단층촬영 (PET), 및/또는 자기 공명 영상화 (MRI)를 사용하여 수행될 수 있다.

[0119] 일부 구현예에서, 종양 부담을 나타내는 파라미터는 대상체에서 병태 또는 질병을 확인 및/또는 식별하기 위한 스크리닝 세션, 예컨대 통상적인 평가 또는 채혈에서 알아낸다. 일부 구현예에서, 종양 부담을 나타내는 파라미터는 대상체에게 림프구 고갈 요법의 투여 전에 알아낸다. 일부 구현예에서, 파라미터는 상기 대상체에게 상기 림프구 고갈 요법을 투여하기 전에 상기 대상체로부터 평가된다.

[0120] CLL 또는 SLL에서, 종양 세포는 혈액, 골수, 림프절 또는 비장과 같은 숙주 내의 다양한 기관 또는 구획에 존재할 수 있다. 종양 세포가 존재하는 기관 또는 구획은 종양 세포의 생존 및 증식에 영향을 미칠 수 있고, 혈액은 종양 세포에 대한 최소한의 지지 미세환경이다. 일부 경우에, CLL 또는 SLL 종양 세포는 미세환경에서 고갈될 때 사멸하기 시작할 수 있다. 림프절과 같은 2차 림프 기관 내에서, 종양 세포와 T 세포 사이의 상호작용은 CLL 또는 SLL 종양 세포 성장을 지지할 수 있고, B 세포의 활성화는 2차 림프 기관에서 CLL 또는 SLL 종양 세포를

보유하는 데 중요하다. 일부 측면에서, 특히 CLL 및 SLL에 대해, 림프절에서의 종양 부담은 상이한 척도일 수 있고, 혈액에서의 종양 부담과 반드시 상관될 필요는 없다.

[0121] 일부 구현예에서, 상기 평가는 하기와 같은 경우 상기 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 대상체를 식별하는 단계: (a) 상기 림프절 종양 부담이 림프절 종양 부담에 대한 역치 수준 이상이고; (b) 상기 혈액 종양 부담이 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준 미만이고; 및/또는 (c) 상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 상기 비율에 대한 역치 수준 미만임; 또는 (2) 하기와 같은 경우 상기 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 대상체를 식별하는 단계: (a) 상기 림프절 종양 부담이 림프절 종양 부담에 대한 역치 수준 미만이고; (b) 상기 혈액 종양 부담이 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준 이상이고; 및/또는 (c) 상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 상기 비율에 대한 역치 수준을 초과함;를 포함한다. 따라서, 일부 구현예에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 역치 수준을 초과하는 경우, 대상체는 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 식별된다. 반대로, 일부 구현예에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 역치 수준 미만인 경우, 대상체는 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별된다.

[0122] 또한 세포 요법의 투여 후 독성이 발생할 위험성을 알아내는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은: 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (small lymphocytic lymphoma, SLL)을 갖는 대상체에서, 림프절 종양 부담, 혈액 종양 부담 및 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율 중에서 선택되는 질병 부담의 하나 이상의 파라미터를 평가하는 단계, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 파라미터는 상기 세포 요법을 투여하기 전에 상기 대상체로부터 평가됨; 및 개별적으로, 상기 하나 이상의 파라미터의 값을 각각의 파라미터에 대한 역치 수준과 비교하는 단계, 여기서: (1) 하기와 같은 경우 상기 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 대상체를 식별하는 단계: (a) 상기 림프절 종양 부담이 림프절 종양 부담에 대한 역치 수준 이상이고; (b) 상기 혈액 종양 부담이 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준 미만이고; 및/또는 (c) 상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 상기 비율에 대한 역치 수준 미만임; 또는 (2) 하기와 같은 경우 상기 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 대상체를 식별하는 단계: (a) 상기 림프절 종양 부담이 림프절 종양 부담에 대한 역치 수준 미만이고; (b) 상기 혈액 종양 부담이 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준 이상이고; 및/또는 (c) 상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 상기 비율에 대한 역치 수준을 초과함;를 포함한다.

[0123] 임의의 제공된 구현예 중 일부에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은: (i) 상기 대상체에 선택적으로 감소된 용량으로 상기 세포 요법을 투여하는 단계, 선택적으로 여기서: (a) 상기 방법은 상기 대상체에 상기 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 단계를 더 포함함; 및/또는 (b) 상기 대상체에 대한 상기 세포 요법의 투여는 입원 환자 환경(in-patient setting)에서 및/또는 1일 이상 동안 병원에 입원하여 수행되거나 수행되도록 지정됨; 또는 (ii) 상기 대상체에 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위한 상기 세포 요법 외의 대체 치료법을 투여하는 단계;를 더 포함한다.

[0124] 임의의 제공된 구현예 중 일부에서, 상기 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은: (i) 상기 대상체에 상기 세포 요법을 투여하는 단계, 선택적으로 여기서: (a) 상기 대상체가 독성의 징후 또는 증상을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때(선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1℃ 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타낼 때 또는 그 후)까지, 상기 대상체는 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여받지 않음; 및/또는 (b) 선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1℃ 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 외래환자 기준으로 및/또는 상기 대상체를 병원에 입원시키지 않고 및/또는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 및/또는 병원에 입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이, 상기 세포 요법의 투여 및 임의의 후속 조치가 수행됨;를 더 포함한다.

[0125] 또한 세포 요법 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은: 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (small lymphocytic lymphoma, SLL)을 갖는 대상체에서, 림프절 종양 부담, 혈액 종양 부담 및 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율 중에서 선택되는 질병 부담의 하나 이상의 파라미터를 평가하는 단계, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 파라미터는 상기 세포 요법을 투여하기 전에 상기 대상체로부터 평가됨; 및 개별적

으로, 상기 하나 이상의 파라미터의 값을 각각의 파라미터에 대한 역치 수준과 비교하는 단계, 여기서: (1) (a) 상기 림프절 종양 부담이 림프절 종양 부담에 대한 역치 수준 이상이고; (b) 상기 혈액 종양 부담이 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준 미만이고; 및/또는 (c) 상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 상기 비율에 대한 역치 수준 미만인 경우, 상기 대상체를: (i) 감소된 용량으로 상기 세포 요법의 투여; (ii) 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법의 투여; (iii) 입원 환자 환경(in-patient setting)에서 및/또는 1일 이상 동안 병원에 입원하여 수행되거나 수행되도록 지정된 세포 요법의 투여; 및/또는 (iv) 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위한 상기 세포 요법 외의 대체 치료법의 투여;를 위해 선택하는 단계; 또는 (2) (a) 상기 림프절 종양 부담이 림프절 종양 부담에 대한 역치 수준 미만이고; (b) 상기 혈액 종양 부담이 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준 이상이고; 및/또는 (c) 상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 상기 비율에 대한 역치 수준을 초과한 경우, 상기 대상체를: (i) 세포 요법의 투여, 선택적으로 여기서: (a) 상기 대상체가 독성의 징후 또는 증상을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때 (선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타낼 때 또는 그 후)까지, 상기 대상체는 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여받지 않음; 및/또는 (b) 선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 외래환자 기준으로 및/또는 상기 대상체를 병원에 입원시키지 않고 및/또는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 및/또는 병원에 입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이, 상기 세포 요법의 투여 및 임의의 후속 조치가 수행됨;를 위해 선택하는 단계;를 포함한다.

[0126] 임의의 제공된 구현에 중 일부에서, 방법은 또한 상기 대상체에 세포 요법, 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법 및/또는 대체 치료법을 투여하는 단계를 포함한다.

[0127] 일부 구현예에서, 예시적인 파라미터는 혈액 종양 부담을 포함한다. 일부 구현예에서, 평가하는 단계는 상기 대상체의 혈액 내의 림프구 농도를 알아내는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 농도는 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수이다. 일부 구현예에서, 상기 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 (약) 800 림프구/ $\mu\text{L}$  내지 (약) 3000 림프구/ $\mu\text{L}$  (수치 포함)의 값이다. 일부 구현예에서, 상기 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 (약) 800 림프구/ $\mu\text{L}$ , 900 림프구/ $\mu\text{L}$ , 1000 림프구/ $\mu\text{L}$ , 1250 림프구/ $\mu\text{L}$ , 1500 림프구/ $\mu\text{L}$ , 1750 림프구/ $\mu\text{L}$ , 2000 림프구/ $\mu\text{L}$ , 2250 림프구/ $\mu\text{L}$ , 2500 림프구/ $\mu\text{L}$ , 2750 림프구/ $\mu\text{L}$  또는 3000 림프구/ $\mu\text{L}$ 의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이다. 일부 구현예에서, 상기 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 (약) 1250 림프구/ $\mu\text{L}$  내지 (약) 1750 림프구/ $\mu\text{L}$ 의 값이다. 일부 구현예에서, 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 (약) 800 림프구/ $\mu\text{L}$ 의 값이다. 임의의 구현예 중 일부에서, 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 900 림프구/ $\mu\text{L}$ 의 값이다. 일부 구현예에서, 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 (약) 1000 림프구/ $\mu\text{L}$ 의 값이다. 일부 구현예에서, 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 (약) 1250 림프구/ $\mu\text{L}$ 의 값이다. 일부 구현예에서, 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 (약) 1500 림프구/ $\mu\text{L}$ 의 값이다. 일부 구현예에서, 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 (약) 1750 림프구/ $\mu\text{L}$ 의 값이다. 일부 구현예에서, 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 (약) 2000 림프구/ $\mu\text{L}$ 의 값이다. 일부 구현예에서, 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 (약) 2250 림프구/ $\mu\text{L}$ 의 값이다. 일부 구현예에서, 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 (약) 2500 림프구/ $\mu\text{L}$ 의 값이다. 일부 구현예에서, 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 (약) 2750 림프구/ $\mu\text{L}$ 의 값이다. 일부 구현예에서, 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준은 (약) 3000 림프구/ $\mu\text{L}$ 의 값이다.

[0128] 일부 구현예에서, 예시적인 파라미터는 림프절 종양 부담을 포함한다. 일부 구현예에서, 림프절 종양 부담을 평가하는 단계는 대상체에서 최대 림프절 직경을 알아내는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 림프절 종양 부담을 평가하는 단계는 센티미터(cm)로 최대 림프절 직경을 알아내는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 최대 림프절 직경에 대한 역치 수준은 (약) 4cm 내지 (약) 7cm의 값이다. 일부 구현예에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 최대 림프절 직경에 대한 역치 수준은 (약) 4 cm, 4.25 cm, 4.5 cm, 4.75 cm, 5 cm, 5.25 cm, 5.5 cm, 5.75 cm, 6 cm, 6.25 cm, 6.5 cm, 6.75 cm 또는 7 cm의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이다. 일부 구현예에서, 림프절 부담에 대한 역치 수준은 (약) 4.5 cm 내지 (약) 5.5 cm의 값이다. 일부 구현예에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 최대 림프절 직경에 대한 역치 수준은 (약) 4 cm의 값이다. 일부 구현예에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 최대 림프절 직경에 대한 역치 수준은 (약) 4.25 cm의 값이다. 일부 구현예에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 최대 림프절 직경에 대한 역치 수준은 (약) 4.5 cm의 값이다. 일부 구현예에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 최대 림프절 직경에 대한 역치 수준은 (약) 4.75 cm의 값이다. 일부 구현예에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 최대 림프절 직경에 대한 역치 수준은 (약) 5 cm의 값이다. 일부 구





수준은 (약) 10 cm<sup>2</sup>의 값이다. 일부 구현예에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약) 12.5 cm<sup>2</sup>의 값이다. 일부 구현예에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약) 15 cm<sup>2</sup>의 값이다. 일부 구현예에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약) 17.5 cm<sup>2</sup>의 값이다. 일부 구현예에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약) 20 cm<sup>2</sup>의 값이다. 일부 구현예에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약) 22.5 cm<sup>2</sup>의 값이다. 일부 구현예에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약) 25 cm<sup>2</sup>의 값이다. 일부 구현예에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약) 27.5 cm<sup>2</sup>의 값이다. 일부 구현예에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약) 30 cm<sup>2</sup>의 값이다. 일부 구현예에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약) 32.5 cm<sup>2</sup>의 값이다. 일부 구현예에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약) 35 cm<sup>2</sup>의 값이다. 일부 구현예에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약) 37.5 cm<sup>2</sup>의 값이다. 일부 구현예에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약) 40 cm<sup>2</sup>의 값이다.

[0131] 일부 구현예에서, 예시적인 파라미터는 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율을 포함한다. 일부 구현예에서, 평가는 제곱 센티미터(cm<sup>2</sup>)로의 직경의 곱의 합에 대한 혈액의 마이크로리터(μL) 당 림프구 수의 비율을 알아내는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터(μL) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 25 내지 (약) 500의 값이다. 일부 구현예에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터(μL) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 또는 500의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이다. 일부 구현예에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터(μL) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 25의 값이다. 일부 구현예에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터(μL) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 50의 값이다. 일부 구현예에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터(μL) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 75의 값이다. 일부 구현예에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터(μL) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 100의 값이다. 일부 구현예에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터(μL) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 150의 값이다. 일부 구현예에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터(μL) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 200의 값이다. 일부 구현예에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터(μL) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 250의 값이다. 일부 구현예에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터(μL) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 300의 값이다. 일부 구현예에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터(μL) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 350의 값이다. 일부 구현예에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터(μL) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 400의 값이다. 일부 구현예에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터(μL) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 450의 값이다. 일부 구현예에서, 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터(μL) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 500의 값이다.

[0132] 2. 혈액 분석물

[0133] 일부 구현예에서, 평가될 수 있는 하나 이상의 바이오마커 또는 분석물(이의 파라미터 포함)에는 인터루킨-16(IL-16) 또는 종양 괴사 인자(TNF)를 포함한다. 일부 구현예에서, 참조 값 또는 역치 수준과 비교하여 하나 이상의 이러한 바이오마커(예: 바이오마커)의 상승된 수준 또는 증가된 수준은 신경 독성의 발생과 연관될 수 있다. 일부 구현예에서, 참조 값 또는 역치 수준과 비교하여 하나 이상의 이러한 바이오마커(예: 분석물)의 상승된 수준 또는 증가된 수준은 신경 독성의 발생과 연관될 수 있다. 일부 구현예에서, 독성, 예를 들어 신경 독성을 나타내거나 그와 연관된 예시적인 바이오마커, 예를 들어 혈액 분석물은 TNF 및 IL-16 중 하나 이상이다.

[0134] 일부 구현예에서, 대상체가 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 하기 단계 중 하나 이상이 대상체에게 투여될 수 있다: (a) (1) 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수

있는 제제 또는 다른 치료법 및 (2) 세포 요법, 상기 제제의 투여는 대상체에 세포 요법의 투여 개시 (i) 전에, (ii) 1, 2, 또는 3일 이내에, (iii) 그와 동시에 및/또는 (iv) 이후 첫 열 발생 시, 투여됨; 및/또는 (b) 세포 요법을 감소된 용량으로, 또는 독성 또는 중증 독성이 발생할 위험과 관련되지 않는, 또는 과반수 이상의 대상체에서, 및/또는 세포 요법의 투여 이후, 대상체가 가졌거나 가진 것으로 의심되는 질병 또는 병태를 가진 대상체의 과반수 이상에서 독성 또는 중증 독성이 발생할 위험과 관련되지 않는 용량으로 대상체에 투여하는 단계; 및/또는 (c) 세포 요법을 입원 환경에서 및/또는 하루 이상 병원에 입원하고 투여되고, 선택적으로 그렇지 않은 경우 세포 요법이 대상체에 통원 기준으로 또는 하루 이상 병원에 입원하지 않고 대상체에 투여하는 단계.

[0135] 일부 측면에서, 세포 요법의 투여 후 독성의 발생 위험의 평가와 관련하여 평가되거나 분석될 수 있는 예시적인 분석물 또는 바이오마커는 IL-16 또는 종양 괴사 인자 (TNF)로부터 선택된 하나 이상의 분석물을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 분석물 또는 바이오마커 중 임의의 것에 대해, 대상체는 분석물 중 하나 이상의 수준, 양 또는 농도가 역치 수준 초과인 경우에 독성의 발생 위험을 갖고, 대상체는 분석물 중 하나 이상의 수준, 양 또는 농도가 역치 수준 미만인 경우에 독성의 발생 위험이 낮다. 일부 구현예에서, 독성은 신경 독성이다. 일부 측면에서, 세포 요법 (전처리)의 투여 전에 취득된 대상체로부터의 생물학적 샘플에서 IL-16 또는 종양 괴사 인자 (TNF)의 상승된 수준은 신경 독성의 발생 위험이 더 높을 수 있다.

[0136] 일부 구현예에서, 상기 역치 수준은, 세포 요법을 받기 전에 대상체의 그룹으로부터 취득된 생물학적 샘플 내 IL-16 또는 TNF의 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균의 25% 이내, 20% 이내, 15% 이내, 30% 이내 또는 5% 이내이고 및/또는 표준 편차 이내이거나, 또는 (약) 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균 이상이고, 상기 그룹의 대상체 각각은 동일한 질병 또는 병태를 치료하기 위해 제조합-수용체-발현 치료 세포 조성물을 받은 후에 어떠한 독성도 계속 발생하지 않았다.

[0137] 일부 구현예에서, 상기 역치 수준은, 세포 요법을 받기 전에 대상체의 그룹으로부터 취득된 생물학적 샘플 내 IL-16 또는 TNF의 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균의 25% 이내, 20% 이내, 15% 이내, 30% 이내 또는 5% 이내이고 및/또는 표준 편차 이내이거나, 또는 (약) 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균 이상이고, 상기 그룹의 대상체 각각은 동일한 질병 또는 병태를 치료하기 위해 제조합-수용체-발현 치료 세포 조성물을 받은 후에 독성이 계속 발생하였다.

[0138] 또한 세포 요법의 투여 후 독성이 발생할 위험성을 알아내는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은: 종양 괴사 인자 (TNF) 및/또는 인터루킨-16 (IL-16)의 수준, 양 또는 농도에 대해 생물학적 샘플을 분석하는 단계, 상기 생물학적 샘플은 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (SLL)을 갖는 대상체로부터 유래되고, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 생물학적 샘플은 상기 세포 요법의 투여 전 또는 CAR+ T 세포 증폭 피크 전 및/또는 세포 요법의 투여 개시 후 (약) 11일 이내에 대상체로부터 취득됨; 및 TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준에 대해 개별적으로 비교하는 단계, 여기서: TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL 내지 (약) 25 pg/mL의 값이고; 및/또는 IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL 내지 (약) 1000 pg/mL의 값이며; 그리고(1) TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 상기 대상체를 식별하고; 또는 (2) TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 상기 대상체를 식별함;을 포함한다.

[0139] 또한 세포 요법의 투여 후 독성이 발생할 위험성을 알아내는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은: 종양 괴사 인자 (TNF) 및/또는 인터루킨-16 (IL-16)의 수준, 양 또는 농도에 대한 생물학적 샘플을 평가하는 단계, 상기 생물학적 샘플은 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (SLL)을 갖는 대상체로부터 유래되고, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 생물학적 샘플은 상기 세포 요법을 투여하기 전에 대상체로부터 취득됨; 및 TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준에 대해 개별적으로 비교하는 단계, 여기서: TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL 내지 (약) 25 pg/mL의 값이고; 및/또는 IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL 내지 (약) 1000 pg/mL의 값이며; 그리고(1) TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 상기 대상체를 식별하고; 또는 (2) TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로

상기 대상체를 식별함;을 포함한다.

[0140] 일부 구현예에서, 상기 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은:(i) 상기 대상체에 선택적으로 감소된 용량으로 상기 세포 요법을 투여하는 단계, 선택적으로 여기서:(a) 상기 방법은 상기 대상체에 상기 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 단계를 더 포함함; 및/또는 (b) 상기 대상체에 대한 상기 세포 요법의 투여는 입원 환자 환경(in-patient setting)에서 및/또는 1일 이상 동안 병원에 입원하여 수행되거나 수행되도록 지정됨; 또는 (ii) 상기 대상체에 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위한 상기 세포 요법 외의 대체 치료법을 투여하는 단계;를 더 포함한다.

[0141] 일부 구현예에서, 상기 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은: (i) 상기 대상체에 상기 세포 요법을 투여하는 단계, 선택적으로 여기서: (a) 상기 대상체가 독성의 징후 또는 증상을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때(선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타낸 때 또는 그 후)까지, 상기 대상체는 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여받지 않음; 및/또는 (b) 선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 외래환자 기준으로 및/또는 상기 대상체를 병원에 입원시키지 않고 및/또는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 및/또는 병원에 입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이, 상기 세포 요법의 투여 및 입원의 후속 조치가 수행됨;를 더 포함한다.

[0142] 또한 세포 요법 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은: 종양 괴사 인자 (TNF) 및/또는 인터루킨-16 (IL-16)의 수준, 양 또는 농도에 대한 생물학적 샘플을 평가하는 단계, 상기 생물학적 샘플은 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (SLL)을 갖는 대상체로부터 유래되고, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 생물학적 샘플은 상기 세포 요법을 투여하기 전에 대상체로부터 취득됨; 및 TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준에 대해 개별적으로 비교하는 단계, 여기서: TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL 내지 (약) 25 pg/mL의 값이고; 및/또는 IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL 내지 (약) 1000 pg/mL의 값이며; 그리고 (1) TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 상기 대상체를 (i) 감소된 용량으로 상기 세포 요법의 투여; (ii) 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법의 투여; (iii) 입원 환자 환경(in-patient setting)에서 및/또는 1일 이상 동안 병원에 입원하여 수행되거나 수행되도록 지정된 세포 요법의 투여; 및/또는 (iv) 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위한 상기 세포 요법 외의 대체 치료법의 투여;를 위해 선택하는 단계; 또는 (2) TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 상기 대상체를 (i) 세포 요법의 투여, 선택적으로 여기서: (a) 상기 대상체가 독성의 징후 또는 증상을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때(선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타낸 때 또는 그 후)까지, 상기 대상체는 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여받지 않음; 및/또는 (b) 선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 외래환자 기준으로 및/또는 상기 대상체를 병원에 입원시키지 않고 및/또는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 및/또는 병원에 입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이, 상기 세포 요법의 투여 및 입원의 후속 조치가 수행됨;를 위해 선택하는 단계;를 포함한다.

[0143] 일부 구현예에서, 방법은 상기 대상체에 세포 요법, 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법 및/또는 대체 치료법을 투여하는 단계를 또한 포함한다.

[0144] 또한 세포 요법의 투여 후 독성이 발생할 위험성을 알아내는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은: TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도에 대해 대상체로부터의 생물학적 샘플을 평가하는 단계, 상기 대상체는 CLL 또는 SLL을 치료하기 위해 CAR을 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하는 세포 요법의 투여를 받았고, 상기 생물학적 샘플은 CAR+ T 세포 증폭 피크 전 및/또는 세포 요법의 투여 개시 후 (약) 11일 이내에 대상체로부터 취득됨; 및 TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준에 대해 개별적으로 비교하는 단계, 여기서: TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL 내지 (약) 25 pg/mL의 값이고; 및/또는 IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL 내지 (약) 1000 pg/mL의 값이며; 그리고(1) TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 상기 대상체를 식별하고; 또는 (2) TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 신경 독성이 발생할 위험

이 없는 것으로 상기 대상체를 식별함;을 포함한다.

- [0145] 일부 구현예에서, 상기 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은 선택적으로 CAR+ T 세포 증폭 피크 전 및/또는 대상체에 세포 요법의 투여의 (약) 11일 이내에 대상체에 상기 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 단계; 및/또는 후속 조치는 입원 환자 환경(in-patient setting)에서 및/또는 1일 이상 동안 병원에 입원하여 수행됨;를 더 포함한다.
- [0146] 일부 구현예에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 식별되는 경우, 선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 외래환자 기준으로 및/또는 상기 대상체를 병원에 입원시키지 않고 및/또는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 및/또는 병원에 입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이, 후속 조치가 수행된다.
- [0147] 치료 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 대상체에 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 단계, 상기 대상체는 CLL 또는 SLL를 치료하기 위한 세포 요법의 투여를 이전에 받았고, 여기서, 상기 제제를 투여할 때 또는 투여 직전에, CAR+ T 세포 증폭 피크 전 및/또는 세포 요법의 투여 개시의 (약) 11일 이내에 대상체로부터 취득된 생물학적 샘플 내 TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각에 대한 역치 수준을 초과하는 경우, 상기 대상체는 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 선택 또는 식별되며, 여기서: TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL 내지 (약) 25 pg/mL의 값이고; 및/또는 IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL 내지 (약) 1000 pg/mL의 값을 포함한다.
- [0148] 또한 제제로의 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은: TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도에 대해 대상체로부터의 생물학적 샘플을 평가하는 단계, 상기 대상체는 CLL 또는 SLL을 치료하기 위해 CD19에 결합하는 CAR을 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하는 세포 요법의 투여를 받았고, 상기 생물학적 샘플은 CAR+ T 세포 증폭 피크 전 및/또는 세포 요법의 투여 개시 후 (약) 11일 이내에 대상체로부터 취득됨; 및 TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준에 대해 개별적으로 비교하는 단계, 여기서: TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL 내지 (약) 25 pg/mL의 값이고; 및/또는 IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL 내지 (약) 1000 pg/mL의 값이며; 그리고 TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 상기 대상체를 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법의 투여를 위해 선택함,를 포함한다.
- [0149] 일부 구현예에서, 방법은 대상체에 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 단계를 또한 포함한다.
- [0150] 일부 구현예에서, 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 것은 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내는 시점에 수행된다.
- [0151] 일부 구현예에서, 대상체에 세포 요법을 투여하는 것은 외래환자 기준으로 수행되고, TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 역치 수준을 초과하는 경우, 방법은 환자를 1일 이상 동안 병원에 입원시키는 것을 포함한다.
- [0152] 특정 구현예에서, 생물학적 샘플은 세포 요법을 투여하기 전에 대상체로부터 취득된다. 일부 구현예에서, 상기 생물학적 샘플은 상기 대상체에게 림프구 고갈 요법을 투여하기 전에 상기 대상체로부터 취득된다. 일부 구현예에서, 생물학적 샘플은 CAR+ T 세포 증폭 피크 전 및/또는 세포 요법의 투여 개시 후 (약) 11 일 이내에 대상체로부터 취득된다. 일부 구현예에서, 생물학적 샘플은 CAR+ T 세포 증폭 피크 전 및/또는 세포 요법의 투여 개시의 (약) 11 일 이내에 대상체로부터 취득된다.
- [0153] 일부 구현예에서, 상기 역치 수준은, 세포 요법을 받기 전에 대상체의 그룹으로부터 취득된 생물학적 샘플 내 IL-16 또는 TNF의 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균의 25% 이내, 20% 이내, 15% 이내, 32% 이내 또는 5% 이내이고 및/또는 표준 편차 이내이거나, 또는 (약) 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균 이상이고, 상기 그룹의 대상체 각각은 동일한 질병 또는 병태를 치료하기 위해 재조합-수용체-발현 치료 세포 조성물을 받은 후에 어떠한 독성도 계속 발생하지 않았다.
- [0154] 일부 구현예에서, 상기 역치 수준은, 세포 요법을 받기 전에 대상체의 그룹으로부터 취득된 생물학적 샘플 내 IL-16 또는 TNF의 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균의 25% 이내, 20% 이내, 15% 이내, 32% 이내 또는 5% 이내이고 및/또는 표준 편차 이내이거나, 또는 (약) 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균 이상이고, 상기 그

림의 대상체 각각은 동일한 질병 또는 병태를 치료하기 위해 제조합-수용체-발현 치료 세포 조성물을 받은 후에 독성이 계속 발생하였다.

[0155] 일부 구현예에서, TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL 내지 (약) 25 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL, 8 pg/mL, 9 pg/mL, 10 pg/mL, 15 pg/mL, 20 pg/mL, 또는 25 pg/mL의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이다. 일부 구현예에서, TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, TNF에 대한 역치 수준은 (약) 8 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, TNF에 대한 역치 수준은 (약) 9 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, TNF에 대한 역치 수준은 (약) 10 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, TNF에 대한 역치 수준은 (약) 15 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, TNF에 대한 역치 수준은 (약) 20 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, TNF에 대한 역치 수준은 (약) 25 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, TNF에 대한 역치 수준은 (약) 8 pg/mL 내지 (약) 10 pg/mL의 값이다.

[0156] 일부 구현예에서, IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL 내지 (약) 1000 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL, 500 pg/mL, 600 pg/mL, 700 pg/mL, 800 pg/mL, 900 pg/mL, 또는 1000 pg/mL의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이다. 일부 구현예에서, IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 500 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 600 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 700 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 800 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 900 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 1000 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 500 pg/mL 내지 (약) 700 pg/mL의 값이다.

[0157] 임의의 구현예 중 일부에서, TNF 및 IL-16 둘 다의 수준, 양 또는 농도가 평가되고; TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL, 8 pg/mL, 9 pg/mL, 10 pg/mL, 15 pg/mL, 20 pg/mL, 또는 25 pg/mL의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이며; IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL, 500 pg/mL, 600 pg/mL, 700 pg/mL, 800 pg/mL, 또는 900 pg/mL의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이다.

[0158] 임의의 구현예 중 일부에서, TNF 및 IL-16 둘 다의 수준, 양 또는 농도가 평가되고; 상기 TNF에 대한 역치 수준은 (약) 8 pg/mL 내지 (약) 10 pg/mL의 값이고; 및/또는 IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 500 pg/mL 내지 (약) 700 pg/mL의 값이다. 상기 구현예의 일부에서, 역치는 본원에 제공된 TNF 및 IL-16 각각에 대한 역치의 임의의 조합일 수 있다.

[0159] **B. 반응 결과와 연관된 예시적인 바이오마커, 분석물 또는 파라미터**

[0160] 일부 구현예에서, 분석물 또는 바이오마커는 특정 결과, 예컨대 특정 반응 결과, 예컨대 객관적 반응 (OR), 완전 반응 (CR) 또는 부분 반응 (PR), 또는 지속가능한 반응, 예컨대 3, 6, 9개월 또는 그 초과에서 지속가능한 OR 또는 CR 또는 PR의 지표 및/또는 예측과 연관된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 이러한 바이오마커 (예를 들어, 분석물)의 보다 낮거나 감소된 수준 또는 증가된 수준, 예컨대 참조 값 또는 역치 수준은 반응, 예컨대 OR, CR 또는 PR, 또는 본원, 예를 들어 섹션 II.C에 기재된 임의의 반응 결과와 연관될 수 있다. 일부 구현예에서, 효과적인 치료에 대해 평가된 기준은 전체 반응률 (ORR; 일부 경우에 객관적 반응률로도 공지됨), 완전 반응 (CR; 일부 경우에 완전 완화로도 공지됨), 불완전 골수 회복을 동반한 완전 반응 (CRi), 부분 반응 (PR) 또는 결절성 부분 완화 (nPR)를 갖는 완전 반응을 포함한다. 일부 구현예에서, 회합 반응 결과는 지속가능한 반응, 예컨대 초기 반응 후 3개월, 6개월, 9개월 또는 그 초과 동안 지속가능한 반응을 포함한다.

[0161] 일부 구현예에서, 분석물 또는 바이오마커는 세포 요법, 예컨대 유전자 조작된 세포를 함유하는 조성물로 투여된 대상체에서 특정 결과, 예컨대 특정 반응 또는 지속가능한 반응 결과와 연관되고, 관련되고, 이를 나타내고 및/또는 예측한다. 일부 구현예에서, 세포 요법의 투여 전에 대상체로부터 획득된 생물학적 샘플에서 하나 이상의 바이오마커, 예를 들어 분석물의 존재, 발현 수준, 양 또는 농도는 특정 결과, 예컨대 특정 반응 또는 지속가능한 반응과 연관되고, 관련되고, 이를 나타내고 및/또는 예측한다. 일부 구현예에서, 특정 바이오마커의 존재, 발현 수준, 양 또는 농도는 특정 결과 또는 지속가능한 반응 결과와 연관될 수 있다. 일부 구현예에서, 반응 결과는 본원, 예를 들어 섹션 II.C에 기재된 임의의 반응 결과일 수 있다.

[0162] 일부 구현예에서, 분석물 또는 바이오마커는 세포 요법, 예컨대 유전자 조작된 세포를 함유하는 조성물로 투여된 대상체에서 특정 결과, 예컨대 특정 반응 또는 지속가능한 반응 결과와 연관되고, 관련되고, 이를 나타내고 및/또는 예측한다. 일부 구현예에서, 세포 요법의 투여 전에 대상체로부터 획득된 생물학적 샘플에서 하나 이상의 바이오마커, 예를 들어 분석물의 존재, 발현 수준, 양 또는 농도는 특정 결과, 예컨대 특정 반응 또는 지속

가능한 반응과 연관되고, 관련되고, 이를 나타내고 및/또는 예측한다. 일부 구현예에서, 특정 바이오마커의 존재, 발현 수준, 양 또는 농도는 특정 결과 또는 지속가능한 반응 결과와 연관될 수 있다. 일부 구현예에서, 반응 결과는 본원, 예를 들어 섹션 II.C에 기재된 임의의 반응 결과일 수 있다.

[0163] 일부 측면에서, 방법은 샘플에서 분석물의 수준, 양 또는 농도를 개별적으로 역치 수준으로 비교하고, 이로써 대상체가 세포 요법에 대한 반응을 달성할 가능성을 알아내는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 방법은 상기 샘플 내 분석물의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준과 개별적으로 비교함으로써, 대상체가 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 가능성을 알아내는 결과에 기초하여 치료에 반응할 가능성이 있는 대상체를 선택하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 방법은 치료를 위해 선택된 대상체에 세포 요법을 투여하는 단계를 또한 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체가 반응 또는 지속가능한 반응을 달성할 가능성이 없는 것으로 알아낸 경우, 추가의 치료제를 대상체에게 투여하는 것을 더 포함한다.

[0164] 일부 구현예에서, 바이오마커 (예를 들어, 분석물)는 반응 결과 및/또는 지속가능한 반응과 연관된 것들을 포함한다. 일부 구현예에서, 바이오마커 (예를 들어, 분석물)는 그의 파라미터를 포함하고, VEGFC 또는 VEGFR1을 포함한다.

[0165] 일부 측면에서, 세포 요법의 투여 후 반응 가능성의 평가와 관련하여 평가되거나 분석될 수 있는 예시적인 분석물 또는 바이오마커는 VEGFC 또는 VEGFR1로부터 선택된 하나 이상의 분석물을 포함한다. 일부 구현예에서, 임의의 상기 분석물 또는 바이오마커에 대해, 대상체는 하나 이상의 분석물의 수준, 양 또는 농도가 역치 수준 미만인 경우에 반응을 달성할 가능성이 있고, 대상체는 하나 이상의 분석물의 수준, 양 또는 농도가 역치 수준 초과인 경우에 반응을 달성할 가능성이 없다. 일부 구현예에서, 반응은 객관적 반응이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 객관적 반응은 완전 반응 (CR) 또는 부분 반응 (PR)이거나 이를 포함한다. 일부 측면에서, 세포 요법 (전처리)의 투여 전에 획득된 대상체로부터의 생물학적 샘플에서 VEGFC 또는 VEGFR1의 감소된 수준은 완전 반응 (CR) 또는 부분 반응 (PR)을 포함한 객관적 반응을 달성하는 것과 연관될 수 있다.

[0166] 일부 구현예에서, 반응은 객관적 반응(OR)을 포함한다. 일부 구현예에서, 객관적 반응은 완전 반응(CR; 일부 경우에 완전 관해로도 알려짐), 불완전 골수 회복을 동반한 완전 반응(CRi), 완전 관해(CR), 불완전 골수 회복을 동반한 CR(CRi), 결정성 부분 관해 PR(nPR) 또는 부분 반응(PR; 일부 경우에 부분 관해로도 알려짐)을 포함한다.

[0167] 세포 요법에 대한 반응 가능성(likelihood of a response)을 평가하는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은: 생물학적 샘플 내 혈관 내피 성장 인자 C (VEGFC) 및/또는 혈관 내피 성장 인자 수용체 1 (VEGFR1)의 수준, 양 또는 농도를 평가하는 단계, 상기 생물학적 샘플은 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (SLL)을 갖는 대상체로부터 유래되고, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 생물학적 샘플은 상기 세포 요법을 투여하기 전에 대상체로부터 획득됨; 및 상기 샘플 내 VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도를 역치 수준과 개별적으로 비교하는 단계, 여기서: (1) VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 높은 가능성을 갖는 것으로 상기 대상체를 식별하고; 또는 (2) VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 낮은 가능성을 갖는 것으로 상기 대상체를 식별함;를 포함한다.

[0168] 또한 세포 요법 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은: 생물학적 샘플 내 혈관 내피 성장 인자 C (VEGFC) 및/또는 혈관 내피 성장 인자 수용체 1 (VEGFR1)의 수준, 양 또는 농도를 평가하는 단계, 상기 생물학적 샘플은 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (SLL)을 갖는 대상체로부터 유래되고, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 생물학적 샘플은 상기 세포 요법을 투여하기 전에 대상체로부터 획득됨; 및 상기 샘플 내 VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준과 개별적으로 비교함으로써, 대상체가 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 가능성을 알아내는 결과에 기초하여 치료에 반응할 가능성이 있는 대상체를 선택하는 단계, 여기서: (1) VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 높은 가능성을 갖는 것으로 상기 대상체를 식별하고; 또는 (2) VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 낮은 가능성을 갖는 것으로 상기 대상체를 식별함;를 포함한다. 일부 구현예에서, 방법은 치료를 위해 선택된 대상체에 세포

요법을 투여하는 단계를 또한 포함한다.

- [0169] 치료 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은: (a) 생물학적 샘플 내 혈관 내피 성장 인자 C (VEGFC) 및/또는 혈관 내피 성장 인자 수용체 1 (VEGFR1)의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준과 개별적으로 비교함으로써, 대상체가 세포 요법에 대한 반응을 달성할 가능성을 알아내는 결과에 기초하여 치료에 반응할 가능성이 있는 대상체를 선택하는 단계, 여기서: (1) VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 높은 가능성을 갖는 것으로 상기 대상체를 식별하고; 또는 (2) VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 낮은 가능성을 갖는 것으로 상기 대상체를 식별함; 상기 생물학적 샘플은 세포 요법 치료를 위한 후보자인 CLL 또는 SLL을 갖는 대상체로부터 유래되고, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 생물학적 샘플은 상기 세포 요법을 투여하기 전에 대상체로부터 획득되고 및/또는 상기 대상체는 CAR을 발현하는 T 세포를 포함하지 않음; 및 (b) 치료를 위해 선택된 대상체에게 상기 세포 요법을 투여하는 단계;를 포함한다.
- [0170] 일부 구현예에서, 상기 역치 수준은, 세포 요법을 받기 전에 대상체의 그룹으로부터 획득된 생물학적 샘플로부터 평가된 파라미터의 중앙 또는 평균값 또는 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균의 25% 이내, 20% 이내, 15% 이내, 10% 이내 또는 5% 이내이고 및/또는 표준 편차 이내이거나, 또는 (약) 그 이상이고, 상기 그룹의 대상체 각각은 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위해 CAR을 발현하는 조작된 세포의 용량의 투여 후 반응을 달성하였다.
- [0171] 일부 구현예에서, 상기 역치 수준은 세포 요법을 받기 전에 대상체의 그룹으로부터 획득된 생물학적 샘플로부터 평가된 파라미터의 중앙 또는 평균값 또는 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균 보다 1.25배 이상, 1.3배 이상, 1.4배 이상 또는 1.5배 이상이고, 상기 그룹의 대상체 각각은 CLL 또는 SLL를 치료하기 위해 상기 CAR을 발현하는 조작된 세포의 용량의 투여 후 반응을 달성하였다.
- [0172] 일부 구현예에서, 상기 역치 수준은 상기 세포 요법 치료에 대한 후보자가 아닌 정상 또는 건강한 대상체의 그룹으로부터 획득된 생물학적 샘플로부터 평가된 파라미터 또는 수준, 양 또는 농도 보다 1.25배 이상, 1.3배 이상, 1.4배 이상 또는 1.5배 이상 높다.
- [0173] 일부 구현예에서, 상기 역치 수준은, 세포 요법을 받기 전에 대상체의 그룹으로부터 획득된 생물학적 샘플 내 VEGFC 또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균의 25% 이내, 20% 이내, 15% 이내, 10% 이내 또는 5% 이내이고 및/또는 표준 편차 이내이거나, 또는 (약) 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균 이상이고, 상기 그룹의 대상체 각각은 동일한 질병 또는 병태를 치료하기 위해 재조합-수용체-발현 치료 세포 조성물의 투여 후에 반응을 계속 달성하였다. 일부 구현예에서, 상기 역치 수준은, 세포 요법을 받기 전에 대상체의 그룹으로부터 획득된 생물학적 샘플 내 VEGFC 또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균의 25% 이내, 20% 이내, 15% 이내, 10% 이내 또는 5% 이내이고 및/또는 표준 편차 이내이거나, 또는 (약) 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균 이상이고, 상기 그룹의 대상체 각각은 동일한 질병 또는 병태를 치료하기 위해 재조합-수용체-발현 치료 세포 조성물의 투여 후에 안정한 질병 (SD) 및/또는 진행성 질병 (PD)을 계속 나타냈다.
- [0174] 일부 측면에서, 세포 요법의 투여 후 지속가능한 반응 가능성의 평가와 관련하여 평가되거나 분석될 수 있는 예시적인 분석물 또는 바이오마커는 VEGFC 또는 VEGFR1로부터 선택된 하나 이상의 분석물을 포함한다. 일부 구현예에서, 임의의 상기 분석물 또는 바이오마커에 대해, 대상체는 하나 이상의 분석물의 수준, 양 또는 농도가 역치 수준 미만인 경우에 지속가능한 반응을 달성할 가능성이 있고, 대상체는 하나 이상의 분석물의 수준, 양 또는 농도가 역치 수준 초과인 경우에 반응을 달성할 가능성이 없다. 일부 구현예에서, 지속가능한 반응은 3개월, 4개월, 5개월 또는 6개월 이상 동안 지속가능한 완전 반응 (CR) 또는 부분 반응 (PR)이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 지속가능한 반응은 적어도 3개월 동안 지속가능한 CR 또는 PR이거나 이를 포함한다. 일부 측면에서, 세포 요법 (전처리)의 투여 전에 획득된 대상체로부터의 생물학적 샘플에서 VEGFC 또는 VEGFR1의 감소된 수준은 지속가능한 반응, 예컨대 적어도 3개월 동안 지속가능한 CR 또는 PR의 달성과 연관될 수 있다.
- [0175] 일부 구현예에서, 예시적인 바이오마커 또는 분석물은 VEGFC이다. 일부 구현예에서, VEGFC에 대한 역치 수준은 (약) 60 pg/mL 내지 (약) 70 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, VEGFC에 대한 역치 수준은 (약) 60 pg/mL, 61 pg/mL, 62 pg/mL, 63 pg/mL, 64 pg/mL, 65 pg/mL, 66 pg/mL, 67 pg/mL, 68 pg/mL, 69 pg/mL, 또는 70 pg/mL의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이다. 일부 구현예에서, VEGFC에 대한 역치 수준은 (약) 60 pg/mL이다. 일부 구현예에서, VEGFC에 대한 역치 수준은 (약) 61 pg/mL이다. 일부 구현예에서, VEGFC에 대한 역치 수준은 (약) 62 pg/mL이다. 일부 구현예에서, VEGFC에 대한 역치 수준은 (약) 63 pg/mL이다. 일부 구현예에서, VEGFC에 대한

역치 수준은 (약) 64 pg/mL이다. 일부 구현예에서, VEGFC에 대한 역치 수준은 (약) 65 pg/mL이다. 일부 구현예에서, VEGFC에 대한 역치 수준은 (약) 66 pg/mL이다. 일부 구현예에서, VEGFC에 대한 역치 수준은 (약) 67 pg/mL이다. 일부 구현예에서, VEGFC에 대한 역치 수준은 (약) 68 pg/mL이다. 일부 구현예에서, VEGFC에 대한 역치 수준은 (약) 69 pg/mL이다. 일부 구현예에서, VEGFC에 대한 역치 수준은 (약) 70 pg/mL이다.

[0176] 일부 구현예에서, 예시적인 바이오마커 또는 분석물은 VEGFR1이다. 일부 구현예에서, VEGFR1에 대한 역치 수준은 (약) 80 pg/mL 내지 (약) 120 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, VEGFR1에 대한 역치 수준은 (약) 80 pg/mL, 85 pg/mL, 90 pg/mL, 95 pg/mL, 100 pg/mL, 105 pg/mL, 110 pg/mL, 115 pg/mL, 또는 120 pg/mL의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이다. 일부 구현예에서, VEGFR1에 대한 역치 수준은 (약) 80 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, VEGFR1에 대한 역치 수준은 (약) 85 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, VEGFR1에 대한 역치 수준은 (약) 90 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, VEGFR1에 대한 역치 수준은 (약) 95 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, VEGFR1에 대한 역치 수준은 (약) 100 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, VEGFR1에 대한 역치 수준은 (약) 105 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, VEGFR1에 대한 역치 수준은 (약) 110 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, VEGFR1에 대한 역치 수준은 (약) 115 pg/mL의 값이다. 일부 구현예에서, VEGFR1에 대한 역치 수준은 (약) 120 pg/mL의 값이다.

[0177] 일부 구현예에서, VEGFC 및 VEGFR1 둘 다의 수준, 양 또는 농도가 평가되고; 상기 VEGFC에 대한 역치 수준은 (약) 60 pg/mL 내지 (약) 70 pg/mL의 값이고; 및/또는 VEGFR1에 대한 역치 수준은 (약) 80 pg/mL 내지 (약) 120 pg/mL의 값이다. 상기 구현예의 일부에서, 역치는 본원에 제공된 VEGFC 및 VEGFR1 각각에 대한 역치의 임의의 조합일 수 있다.

[0178] **II. 유전자 조작된 세포를 이용한 세포 요법의 방법 및 용도**

[0179] 일부 구현예에서, 독성의 위험성 및/또는 세포 요법에 대한 반응 가능성을 알아내는 것을 포함하는, 본원에 제공된 방법 및 용도는 입양 세포 요법에서 백혈병 또는 림프종에 의해 발현되는, 이와 관련된 및/또는 이에 특이적인 항원 및/또는 유래된 세포 유형을 인식하는, 키메라 항원 수용체(CAR)와 같은 키메라 수용체인 것이 일반적인, 유전자 조작된 (재조합) 세포 표면 수용체를 발현하는 세포를 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 요법의 방법과 관련된다. 상기 섹션 I에 제공된 방법 및 용도는, 예를 들어, 섹션 II에 기술된 바와 같이 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조작된 T 세포와 같은 조작된 세포를 투여하는 것; 및 일부 경우에 섹션 III에 기술된 것과 같은 추가 제제의 투여를 포함하는 세포 요법과 함께, 이의 맥락에서 또는 그 일부로서 사용된다.

[0180] 일부 경우에, 세포는 일반적으로 투여를 위해 체형화된 조성물로 투여되고; 본 방법은 일반적으로 대상체에 세포의 하나 이상의 용량을 투여하는 단계를 포함하고, 이 용량은 특정 수 또는 비례수의 세포 또는 조작된 세포, 및/또는 조성물 내 CD4 대 CD8 T 세포와 같이 둘 이상의 아형의 정의된 비율 또는 조성물을 포함할 수 있다.

[0181] 일부 구현예에서, 세포, 집단 및 조성물이 치료될 특정 질병 또는 병태가 있는 대상체에 예를 들어 입양 T 세포 요법과 같은 입양 세포 요법을 통해 투여된다. 일부 구현예에서, 본 방법은 항원 수용체-발현 세포(예를 들어, CAR 발현 세포)의 용량을 이용하여 만성 림프구성 백혈병(CLL) 또는 소형 림프구성 림프종(SLL)과 같은 림프종 또는 백혈병을 가진 대상체를 치료하는 것을 포함한다.

[0182] 일부 측면에서, 제공된 구현예는 제공된 방법이, 독성의 위험 증가 없이, 이용 가능한 특정 세포 요법 방법과 비교하여, 높은 지속성을 가진 높은 반응률을 달성하는 데 사용할 수 있는, 본원에 제공되는 실시예들에 기술되는 것과 같은 관찰에 기초한다. 일부 구현예에서, 제공된 방법은 대상체에서 세포 요법을 위해 입양으로 전달된 세포의 장기 지속성 및/또는 낮은 독성 발생률을 가능하게 한다. 일부 구현예에서, 본 방법은 독성의 위험을 최소화하면서, 요법에 반응할 및/또는 더 높은 반응률 및/또는 더 지속가능한 반응을 위한 적절한 용량 또는 투약 요법을 결정할 가능성이 있는 또는 더 많은 가능성이 있는, 세포 요법 치료를 위한 대상체를 선택하는 데 사용될 수 있다. 상기 방법은 CAR-T 세포 요법과 같은 입양 세포 요법의 안전하고 효과적인 임상 적용을 용이하게 하는 합리적인 전략에 대한 정보를 제공할 수 있다.

[0183] 일부 구현예에서, 제공된 방법은 이브루티닙을 포함하여 모두가 하나 이상의 선행 요법을 받은, 아주 많은 선행 치료를 받은 고위험 CLL(또는 SLL)을 가진 대상체 집단에서 높은 반응률을 달성한다. 일부 구현예에서, 치료받은 대상체는 이브루티닙에 대한 최초 관해 이후 재발한 또는 이브루티닙을 이용한 치료에 불응성이거나 불내성인 대상체를 포함한다. 특정 구현예에서, 치료받은 대상체는 이브루티닙 이외의, 하나 이상의 추가 선행 요법, 예컨대 1, 2, 3, 4, 5 또는 그 이상의 선행 요법에 대해 관해된 이후 재발했거나 이에 대해 불응성이거나 불내성인 대상체를 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체는 이브루티닙 및 베네토클락스의 선행 치료 둘 모두에 대해



재발했거나 불응성이다. 일부 구현예에서, 상기 치료에 불응성인 대상체는 하나 이상의 선행 요법 이후 진행되었다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 선행 요법(예를 들어, 이브루티닙 및/또는 베네토클락스)으로 치료받은 대상체를 포함한 치료받은 대상체는 TP53 돌연변이, 복합적 핵형(즉, 적어도 세 염색체의 변형) 및 del17(p)를 포함하여 고위험 세포 유전학적 특성을 가진 대상체를 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 제공된 구현예에 따라 치료할 대상체는 BTK 억제제(예를 들어, 이브루티닙) 및 베네토클락스 둘 모두에 실패한 대상체를 포함한다. 본원에서 입증된 바와 같이, 진행 중인 임상 시험의 결과는 치료받은 대상체의 35% 초과에서 혈구 수 회복이 불완전한(CRi) 완전 관해(완전 반응으로도 알려짐; CR)를 포함하여 용량-수준들에서 치료받은 대상체의 65% 초과인 높은 전체 반응률(ORR)을 보여준다. 상기 대상체 중에서, 모두가 앞서 이브루티닙으로 치료를 받았고 대략 절반이 앞서 이브루티닙 및 베네토클락스로 치료를 받았다. 일부 측면에서, 결과는 검출 불가능한 MRD(uMRD)의 달성과 관련이 있으며; uMRD의 달성은 개선된 결과와 상관관계가 있는 것으로 보고되었다(Kovacs et al. (2016) J. Clin. Oncol., 34:3758-3765; Thompson and Wierda (2016) Blood, 127:279-286). 일부 구현예에서, 제공된 방법은 1개월 이상, 3개월 이상, 6개월 이상 또는 그 이상 진행되지 않고 계속되는 높은 비율의 지속가능한 반응을 초래한다.

[0184] 고위험 대상체에서 달성된 상기 결과는 다른 특정 대체 요법과 비교하여 더 우수하다. 구체적으로, CLL은 일반적으로 난치로 간주되며 환자는 종종 결국 재발하거나 이용 가능한 요법에 불응성이 된다(Dighiero and Hamblin (2008) The Lancet, 371:1017-1029). 일부 경우에, CR 및 uMRD는 불충분하고/거나 대상체는 단일 제제의 이브루티닙, 베네토클락스-리툽시맙, 벤다무스틴-리툽시맙 또는 이브루티닙과 베네토클락스 둘 모두와 같은 다른 특정 제제로 치료 이후 진행되거나 결과가 좋지 않다. 또한, 보고서들은 다른 특정 CAR T 세포 요법이 상기 오래 지속되는 반응률을 달성할 수 없을 수 있다고 표시한다.

[0185] 일부 구현예에서, 본 방법 및 용도는 입양 세포 요법에서 백혈병 또는 림프종에 의해 발현되는, 이와 관련된 및/또는 이에 특이적인 항원 및/또는 유래된 세포 유형을 인식하는, 키메라 항원 수용체(CAR)와 같은 키메라 수용체인 것이 일반적인, 유전자 조작된 (재조합) 세포 표면 수용체를 발현하는 세포를 대상체에 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 표적화된 항원은 CLL이다. 세포는 일반적으로 투여를 위해 제형화된 조성물로 투여되고; 본 방법은 일반적으로 대상체에 세포의 하나 이상의 용량을 투여하는 단계를 포함하고, 이 용량은 특정 수 또는 비례수의 세포 또는 조작된 세포, 및/또는 조성물 내 CD4+ 대 CD8+ T 세포와 같이 둘 이상의 아형의 정의된 비율 또는 조성물을 포함할 수 있다.

[0186] 특정 구현예에서, 방법은 CD4+ 및 CD8+ CAR T 세포의 균일한 용량으로서 및/또는 정의된 비율로서 특정한 또는 정밀한 수로 투여되는 CD4+ 및 CD8+ CAR T 세포 조성물의 개별 투여를 포함하는 T 세포 치료 산물로 수행된다. 일부 경우에, 방법은 생물학적 샘플로부터 CD4+ 및 CD8+ T 세포의 개별적인 단리, 선택 또는 농축을 포함하는 공정예 의해 CAR T 세포 조성물을 생산 또는 조작하는 것을 포함한다. 일부 경우에, CD4+ 및 CD8+ T 세포의 농축을 포함하는, CAR T 세포조성물을 생산하는 방법은 CAR T 세포 산물에 또는 CAR T 세포 산물의 제조 동안에 종양 세포를 포함시키는 위험을 피한다. 다른 질병과 비교하여, CLL은 종양 세포가 말초에서 발견되고 이것이 일부 맥락에서 상기 세포를 포함하거나 상기 세포를 함유한 최초 조성물로부터 유래될 수 있는 CAR T 산물의 효능에 개입하고/거나 영향을 줄 수 있는 암이다. 일부 측면에서, 방법에 따른 치료를 위한 대상체는 재발성 또는 불응성 (r/r) CLL을 갖는다. 일부 측면에서, 방법에 따른 치료를 위한 대상체는 재발성 또는 불응성 (r/r) SLL을 갖는다.

[0187] 일부 구현예에서, 제공된 방법은 대상체, 예를 들어 고위험 질병, 예를 들어 고위험 CLL을 갖는 것으로 식별된 대상체의 특정 군 또는 서브세트에서, 독성, 예를 들어 신경 독성, 예컨대 중증 신경 독성, 및/또는 CRS, 예컨대 중증 CRS와 연관된 바이오마커 (예를 들어, 분석물) 또는 파라미터를 평가 또는 검출하는 것을 포함하는, 대상체에서 세포 요법과 연관된 독성이 발생할 위험을 평가하는 것을 포함한다. 일부 측면에서, 본 방법은 표준 요법에 대해 재발했거나 표준 요법에 불응성(R/R)이고 불량한 예후를 갖는 CLL과 같은 공격적이고/거나 불량한 예후의 CLL의 형태를 갖는 대상체를 치료한다. 일부 구현예에서, 대상체는 하나 이상의 선행 요법에 실패했다. 일부 구현예에서, 대상체는 다른 선행 요법에 적합하지 않다. 일부 구현예에서, 대상체는 이브루티닙과 같은 브루톤 티로신 키나아제 억제제(BTKi)를 이용한 선행 요법에 실패했다. 일부 구현예에서, 대상체는 이브루티닙 및 베네토클락스에 실패했다. 일부 경우에, 요법이 표시된 질병 및/또는 환자 집단을 위한 이용 가능한 요법, 치료의 표준 또는 기준 요법에 대한 전체 반응률(ORR; 일부 경우에 객관적 반응률로도 공지됨)은 40% 미만이고/거나 완전 관해(CR; 일부 경우에 완전 반응으로도 공지됨)는 20% 미만이다.

[0188] 일부 구현예에서, 제조 방법, 용도 및 제품은, 예를 들어 특정 유형의 질병, 진단 기준, 이전의 치료 및/또는 이전의 치료에 대한 반응에 기초하여, 예를 들어 특정 유형의 질병, 진단 기준, 이전의 치료 및/또는 이전의 치

료에 대한 반응에 기초하여, 대상체의 특정 그룹 또는 서브세트를 선택 또는 식별하는 것을 수반하는 대상체의 독성, 예를 들어 신경 독성, 예컨대 중증 신경 독성, 및/또는 CRS, 예컨대 중증 CRS와 연관된 바이오마커 (예를 들어, 분석물) 또는 파라미터를 평가 또는 검출함으로써 대상체에서 세포 요법과 연관된 독성이 발생할 위험을 평가하기 위해 사용되거나, 이를 수반한다. 일부 구현예에서, 본 방법은 하나 이상의 선행 요법으로 치료 후 관해된 이후에 재발했거나 하나 이상의 선행 요법에 불응성이 된 대상체; 또는 하나 이상의 선행 요법, 예를 들어, 하나 이상의 표준 요법 방식에 대해 재발했거나 불응성(R/R)인 대상체를 치료하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 방법은 만성 림프구성 백혈병을 가진 대상체를 치료하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 방법은 소형 림프구성 림프종을 가진 대상체를 치료하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 방법은 0-1의 ECOG(Eastern Cooperative Oncology Group) 수행도를 갖는 대상체를 치료하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 방법은 고위험 세포 유전학적 특성(즉, Del(17p), TP53 돌연변이, 돌연변이된 IGHV, 및 복합적 핵형)을 가진 대상체와 같이, 요법 또는 특정 기준 요법에 일반적으로 불량하게 반응하는 불량한 예후의 CLL 환자 집단 또는 이의 대상체를 치료한다.

[0189] 일부 구현예에서, 항원 수용체(예를 들어, CAR)는 질병 또는 병태와 관련된, 예컨대 CLL과 관련된 표적 항원에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 항원 수용체는 SLL과 관련된 표적 항원에 결합한다. 일부 구현예에서, 질병 또는 장애와 관련된 항원은 CD19이다.

[0190] 일부 구현예에서, 본 방법은 대상체, 조직 또는 세포, 예컨대, 질병, 병태 또는 장애가 있거나, 이를 가질 위험이 있거나 또는 가질 것으로 의심되는 것에 세포 또는 세포를 함유하는 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체는 성인이다. 일부 구현예에서, 대상체는 (약) 50, 60 또는 70세가 넘는다.

[0191] 일부 구현예에서, 대상체는 재조합 수용체를 발현하는 세포의 투여 전에 질병 또는 병태(예를 들어, CLL 또는 SLL)를 표적으로 하는 요법 또는 치료제로 앞서 치료를 받았다. 일부 구현예에서, 대상체는 조혈 줄기세포 이식(HSCT), 예를 들어, 동종이계 HSCT 또는 자가 HSCT로 앞서 치료를 받았다. 일부 구현예에서, 대상체는 표준 요법으로 치료 후 예후가 좋지 않았고/거나 하나 이상의 선행 요법 방식, 예를 들어 적어도 (약) 1, 2, 3, 4 또는 그 이상의 선행 요법 방식에 실패하였다. 일부 구현예에서, 대상체는 치료를 받았거나 림프구 고갈 요법 및/또는 항원 수용체를 발현하는 세포의 용량 외에 CLL을 치료하기 위해 적어도 (약) 또는 약 1, 2, 3 또는 4가지의 다른 요법을 이전에 받았다. 일부 구현예에서, 대상체는 화학요법 또는 방사선 요법으로 이전에 치료받았다. 일부 측면에서, 대상체는 다른 요법 또는 치료제에 대해 불응성이거나 반응하지 않는다. 일부 구현예에서, 대상체는 예를 들어, 화학요법 또는 방사선을 포함한 다른 요법 또는 치료적 개입으로 치료 후, 질병이 지속되거나 재발하였다. 일부 구현예에서, 대상체는 재발성 또는 불응성(R/R) 만성 림프구성 백혈병(CLL)을 갖고 있고 브루톤 티로신 키나아제 억제제(BTKi) 요법에 실패했거나 적합하지 않다.

[0192] 일부 구현예에서, 대상체는 재조합 항원 수용체를 발현하는 세포의 투여 전에 질병 또는 병태(예를 들어, CLL)를 표적으로 하는 요법 또는 치료제로 앞서 치료를 받았다. 일부 구현예에서, 치료제는 브루톤 티로신 키나아제(Btk)의 억제제(예를 들어, 이브루티닙)와 같은 키나아제 억제제이다. 일부 구현예에서, 치료제는 B 세포 림프종-2(Bc1-2)의 억제제(예를 들어, 베네토클락스)이다. 일부 구현예에서, 치료제는 CLL 또는 NHL의 세포에 의해 발현되는 항원(예를 들어, CD20, CD19, CD22, ROR1, CD45, CD21, CD5, CD33, Ig카파, Ig람다, CD79a, CD79b 또는 CD30 중 임의의 하나 이상으로부터 유래된 항원)에 특이적으로 결합하는 항체(예를 들어, 단클론 항체)이다. 일부 구현예에서, 치료제는 항-CD20 항체(예를 들어, 리툽시맵)이다. 일부 구현예에서, 치료제는 리툽시맵을 포함하는 병용 요법(예를 들어, 플루다라빈과 리툽시맵의 병용 요법 또는 안트라사이클린과 리툽시맵의 병용 요법)인 고갈 화학 요법(depleting chemotherapy)이다. 일부 구현예에서, 대상체는 조혈 줄기세포 이식(HSCT), 예를 들어, 동종이계 HSCT 또는 자가 HSCT로 앞서 치료를 받았다. 일부 구현예에서, 대상체는 치료를 받았거나 림프구 고갈 요법 및/또는 항원 수용체를 발현하는 세포의 용량 외에 CLL을 치료하기 위해 적어도 (약) 또는 약 1, 2, 3 또는 4가지의 다른 요법을 이전에 받았다. 일부 구현예에서, 대상체는 화학요법 또는 방사선 요법으로 이전에 치료받았다.

[0193] 일부 측면에서, 대상체는 다른 요법 또는 치료제에 대해 불응성이거나 반응하지 않는다. 일부 구현예에서, 대상체는 예를 들어, 화학요법 또는 방사선을 포함한 다른 요법 또는 치료적 개입으로 치료 후, 질병이 지속되거나 재발하였다.

[0194] 일부 구현예에서, 대상체는 조혈 줄기세포 이식(HSCT), 예를 들어, 동종이계 HSCT에 적합한 것과 같이 이식에 적합한 대상체이다. 상기 일부 구현예에서, 대상체는 조작된 세포(예를 들어, CAR T 세포) 또는 이 세포를 함유하는 조성물을 본원에 제공된 바와 같이 대상체에 투여하기 전에, 적합함에도 불구하고 이전에 이식을 받지 않

았다.

- [0195] 일부 구현예에서, 대상체는 조혈 줄기세포 이식(HSCT), 예를 들어, 동종이계 HSCT에 적합하지 않은 것과 같이 이식에 적합하지 않은 대상체이다. 일부 구현예에서, 상기 대상체에 본원에 제공된 구현예에 따라 조작된 세포 (예를 들어, CAR T 세포) 또는 이 세포를 함유하는 조성물이 투여된다.
- [0196] 일부 구현예에서, 본 방법은 고위험 CLL을 가진 것으로 선택되거나 식별된 대상체에 세포의 투여를 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체는 예컨대 고위험 CLL과 관련된 하나 이상의 세포유전학적 이상을 나타낸다. 일부 측면에서, 치료될 집단은 0-1 중 임의의 ECOG(Eastern Cooperative Oncology Group) 수행도를 갖는 대상체를 포함한다.
- [0197] 임의의 구현예 중 일부 관점에서, 치료될 대상체는 둘 이상의 선행 요법에 실패했다. 임의의 구현예 중 일부 측면에서, 치료될 대상체는 셋 이상의 선행 요법에 실패했다. 일부 구현예에서, 선행 요법은 이브루티닙과 같은 브루톤 티로신 키나아제(BTK)의 억제제를 이용한 요법; 베네토클락스; 플루다라빈 및 리톡시맘을 포함하는 병용 요법; 방사선 요법; 및 조혈 줄기세포 이식(HSCT) 중 임의의 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체 또는 환자는 이전에 이브루티닙 및/또는 베네토클락스로 치료를 받았지만 관해된 이후 재발했고/거나, 이 치료에 불응성이고/거나, 이 치료에 실패했고/거나 이 치료에 불내성이다. 일부 구현예에서, 대상체 또는 환자는 이전에 이브루티닙 및 베네토클락스로 치료를 받았지만 관해된 이후 재발했고/거나, 이 치료에 불응성이고/거나, 이 치료에 실패했고/거나 이 치료에 불내성이다.
- [0198] 일부 구현예에서, CLL 또는 SLL를 치료하기 위해 이브루티닙 및 베네토클락스를 사용한 이전 치료에 불응성이거나 관해 후 재발한 것으로 선택되거나 식별된 대상체에서 대상체에서 세포 요법과 관련된 독성 발병 위험 및 치료에 대한 반응 가능성을 평가하는 방법이 제공된다. 일부 측면에서, 선택된 또는 식별된 대상체에 제공된 방법에 따라, CAR T 세포 요법(예를 들어, 항-CD19 CAR-T 세포 요법)이 투여된다.
- [0199] 일부 구현예에서, 대상체는 완전 관해(CR)를 달성한 적이 없고/거나, 자가 줄기세포 이식(ASCT)을 받은 적이 없고/거나, 1 이상의 제2선 요법에 대해 불응성이고/거나, 1차 불응성 질병을 가지고 있고/거나 0 내지 1의 ECOG 수행 점수를 가진다.
- [0200] 일부 측면에서, 제공된 방법에 따라 치료될 대상체는 CLL 또는 SLL이 진단된 대상체를 포함한다. 일부 구현예에서, CLL이 있는 대상체는 만성 림프구성 백혈병에 대한 국제 워크숍(International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia, iwCLL) 지침 및 임상 측정 가능 질병(> 30% 림프구에 의한 골수 관여, 말초 혈액 림프구증가증 >  $5 \times 10^9/L$ , 및/또는 측정 가능 림프절 및/또는 간 비대 또는 비장 비대)에 기초하여 치료 적응증이 있는 CLL 진단된 대상체를 포함한다. 일부 구현예에서, SLL을 가진 대상체는 림프절병 및/또는 비장 비대 및 SLL 진단을 받고 적어도 하나의 병변이 가장 큰 횡방향 직경에서 > 1.5cm로 정의된 측정 가능한 질병으로 진단 시 말초 혈액에 <  $5 \times 10^9$  CD19+ CD5+ 클론성 B 림프구/L [ $< 5000/\mu L$ ]에 기초하고, 생검으로 증명된 SLL인, SLL로 진단된 대상체를 포함한다.
- [0201] 일부 측면에서, 대상체는 전-투여(full-dose) 항응고의 필요 또는 이력 또는 부정맥으로 인해 브루톤 티로신 키나아제 억제제(BTKi, 예를 들어, 이브루티닙)를 이용한 치료에 부적격이거나, 가장 우수한 반응으로 안정한 질병(SD) 또는 진행성 질병(PD), 이전 반응 후 PD, 또는 불내성(다루기 힘든 독성)으로 인한 중단에 의해 결정된 바와 같이 이전에 BTKi를 투여받은 후 치료에 실패하였다. 일부 측면에서, 대상체는 대상체가 고위험 질병(복합적 세포유전학적 이상(예를 들어, 복합적 핵형), del(17p), TP53 돌연변이, 돌연변이되지 않은 IGVH에 의해 결정됨)을 가지고 있고 (예를 들어, 적어도) 2회 이상의 선행 요법에 실패한 경우, 또는 표준 위험 질병을 가지고 있고 (예를 들어, 적어도) 3회 이상 선행 요법에 실패한 경우, 제공된 구현예에 따라서 치료를 받는다. 일부 측면에서, 제공된 구현예에 따라 치료될 대상체는 활성의 미치료 CNS 질병, ECOG >1, 또는 리히터 형질전환을 가진 대상체를 배제한다.
- [0202] 일부 측면에서, 독성과 관련된 바이오마커 (예를 들어, 분석물) 또는 파라미터를 검출함으로써 대상체에서 세포 요법과 관련된 독성이 발생할 위험을 평가하기 위한 조성물, 방법 및 용도, 및 높은 반응 속도 및/또는 높은 반응 내구성, 및 독성의 낮은 수준 및/또는 발생률과 연관된 특정 용량에서의 세포 요법의 정의된 조성물의 투여가 제공된다. 일부 구현예에서, 투여되는 조성물 또는 용량은 특정한 표현형을 가진 세포 및/또는 하나 이상의 세포, 예컨대 상기 세포의 특정 수 또는 표적 수와 비교하여 특정 범위 및/또는 정도의 가변성 또는 변화량 내의 수의 균일한 및/또는 고정 용량, 예컨대 정밀하게 균일한 용량이다. 일부 구현예에서, 투여되는 조성물 또는

용량은 정의된 비율의 CD4<sup>+</sup> 및 CD8<sup>+</sup> 세포(예를 들어, 1:1 비율의 CD4<sup>+</sup>:CD8<sup>+</sup> CAR<sup>+</sup> T 세포)를 함유하고/거나 상기 비율로부터 특정 가변성 정도 이내, 예컨대 ± 10% 이내, 예컨대 ± 8% 이내, 예컨대 ± 10% 이내의 가변성 또는 변화량의 정도, 예컨대 ± 8% 이내인 비율을 함유한다. 일부 구현예에서, CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> 세포는 개별적으로 제형화되고 투여된다. 일부 구현예에서, 투여된 세포는 일관된 활성 및/또는 기능, 예를 들어, 사이토카인 생산, 세포자연사 및/또는 증폭을 나타낸다. 일부 구현예에서, 제공된 조성물은 매우 일관되고 정의된 활성, 및 예를 들어 세포 수, 세포 기능 및/또는 세포 활성의 측면에서, 조성물에서 또는 제조용 물질 간에 세포 간 낮은 가변성을 나타낸다. 일부 구현예에서, 활성 및/또는 기능의 일관성, 예를 들어, 조성물의 제조용 물질 간 낮은 가변성은 효능 및/또는 안전성의 향상을 가능하게 한다. 일부 구현예에서, 정의된 조성물의 투여는 높은 이질성을 가진 세포 조성물의 투여와 비교하여 낮은 생산 가변성 및 낮은 독성(예를 들어, CRS 또는 신경 독성)을 초래하였다. 일부 구현예에서, 정의된 일관성 있는 조성물은 또한 일관된 세포 증폭을 나타낸다. 이러한 일관성은 용량과 치료 시간대의 식별, 용량 반응의 평가 및 안정성 또는 독성 결과와 상관관계가 있을 수 있는 대상체의 인자의 식별을 용이하게 할 수 있다.

[0203] 일부 구현예에서, 특정 용량 수준의 단일 주입을 받는 특정 대상체 코호트에서 일부 코호트의 대상체는 80% 초과 전체 반응률(ORR, 일부 경우에 객관적 반응률로도 공지됨), 3개월에 50% 초과 완전 관해(CR)율을 달성할 수 있다. 일부 구현예에서, 정의된 용량을 받는 대상체는 향상된 안정성 결과를 보여준다. 일부 측면에서, 중증 CRS 또는 중증 NT의 비율은 낮다.

[0204] 일부 구현예에서, 대상체의 특정 인자, 예를 들어 특정 바이오마커 또는 분석물(예: TNF, IL-16) 및/또는 파라미터(예를 들어, 림프절 종양 부담 및/또는 혈액 종양 부담과 같은 종양 부담과 관련된 파라미터)는 독성의 위험성을 예측하기 위해 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체의 특정 인자, 예를 들어, 특정 바이오마커 또는 분석물(예를 들어, VEGFC1 또는 VEGFR1)는 반응 가능성을 예측하는 데 사용할 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 구현예는 낮은 독성 위험을 가진 높은 반응률을 달성하는 데 사용될 수 있다.

[0205] 일부 구현예에서, 제공된 조성물, 제조품, 키트, 방법 및 용도를 이용하여 치료받은 대상체의 25% 이내, 20% 이내, 15% 이내, 10% 이내 또는 5% 이내는 세포 요법의 투여 전에 또는 후속으로, 독성을 개선, 치료 또는 예방하기 위해 제제(예를 들어, 토실리주맙 및/또는 텍사메타손)를 투여받는다. 일부 구현예에서, 대상체는 조작된 세포(예를 들어, CAR T 세포)를 받기 전에 임의의 예방 치료를 받지 않는다.

[0206] 일부 구현예에서, 제공된 구현예는 이점을 제공하며, 예를 들어, 통원 기준으로 세포 요법의 투여가 가능하다. 일부 구현예에서, 제공된 구현예에 따른 세포 요법, 예를 들어, T 세포의 용량의 투여는 통원 기준으로 수행될 수 있거나 또는 숙박이 필요한 병원 입원 등처럼 대상체가 병원에 입원할 필요가 없다. 일부 구현예에서, 이와 같은 통원 투여는 낮은 독성의 높은 오래 지속되는 반응률을 유지하면서, 접근성 증가와 비용 감소를 가능하게 할 수 있다. 일부 측면에서, 통원 치료는 선행 치료에 의해 이미 면역력이 약화된, 예를 들어, 림프구 고갈 후인 그리고 병원 체류 시 또는 입원 환경에서 노출 위험이 더 큰 환자에게 유리할 수 있다. 일부 측면에서, 통원 치료는 또한 입원, 병원 환경 또는 이식 센터에 접근할 수 없는 대상체를 위한 치료 옵션을 늘려주고, 이로써 치료에 대한 접근성을 확대한다.

[0207] 일부 구현예에서, 본 방법 및 용도는 신경 독성(NT) 또는 사이토카인 방출 증후군(CRS)과 같은 세포 요법과 관련될 수 있는 독성 또는 기타 부작용의 위험 감소 및/또는 보다 오래 지속되는 반응 또는 효능 및/또는 보다 높은 반응률을 제공하거나 달성한다. 일부 측면에서, 제공된 관찰은 낮은 비율의 중증 NT(sNT) 또는 중증 CRS(sCRS), 및 높은 비율의 독성(예를 들어, NT 또는 CRS)이 없는 환자를 나타냈다.

[0208] 일부 구현예에서, 제공된 방법에 따라 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물로 치료받은 대상체 중 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70% 또는 적어도 75% 또는 그 이상이 완전 관해(CR)를 달성한다. 일부 구현예에서, 제공된 방법에 따라 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물로 치료받은 대상체 중 적어도 75%, 적어도 80% 또는 적어도 90%가 객관적 반응(OR)을 달성한다. 일부 구현예에서, 제공된 방법에 따라 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물로 치료받은 대상체 중 적어도 35%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60% 또는 그 이상이 1개월, 2개월 또는 3개월까지 CR 또는 OR을 달성한다. 일부 구현예에서, 제공된 방법에 따라 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물로 치료받은, 브루톤 티로신 키나아제 억제제(BTKi) 및 베네토클락스를 이용한 선행 치료에 실패한 대상체 중 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 또는 적어도 75% 또는 그 이상이 완전 관해(CR)를 달성한다. 일부 구현예에서, 제공된 방법에 따라 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물로 치료받은, BTKi 및 베네토클락스를 이용한 선행 치료에 실패한 대상체 중 적어도 75%, 적어도 80% 또는 적어도 90%가 객관적 반응(OR)을 달성한다. 일부 구현예에서, 제공된 방법에 따라

및/또는 제공된 제조품 또는 조성물로 치료받은, BTKi 및 베네토클락스를 이용한 선행 치료에 실패한 대상체 중 적어도 35%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60% 또는 그 이상이 1개월, 2개월 또는 3개월까지 CR 또는 OR을 달성한다. 일부 구현예에서, 본 방법에 따라 치료받은 대상체에서, 50% 초과, 60% 초과, 또는 70% 초과가 세포의 용량의 투여 후 적어도 1개월, 적어도 2개월, 적어도 3개월 또는 적어도 6개월 동안 검출 불가능한 최소 잔류 질병(MRD)을 가졌다. 일부 구현예에서, 본 방법에 따라 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물로 치료받은, BTKi 및 베네토클락스를 이용한 선행 치료에 실패한 대상체에서, 50% 초과, 60% 초과, 또는 70% 초과가 세포의 용량의 투여 후 적어도 1개월, 적어도 2개월, 적어도 3개월 또는 적어도 6개월 동안 검출 불가능한 최소 잔류 질병(MRD)을 가졌다.

[0209] 일부 구현예에서, 세포 요법의 투여 개시 후 3개월까지, 제공된 방법에 따라 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물로 치료받은 대상체 중 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85% 또는 그 이상이 CR 또는 OR과 같은 반응을 유지하고/거나 검출 불가능한 MRD를 가진다. 일부 구현예에서, 이와 같은 CR 또는 OR과 같은 반응은 적어도 3개월 동안 지속된다. 일부 구현예에서, 세포 요법의 투여 개시 후 3개월까지, 제공된 방법에 따라 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물로 치료받은, BTKi 및 베네토클락스를 이용한 선행 치료에 실패한 대상체 중 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85% 또는 그 이상이 CR 또는 OR과 같은 반응을 유지하고/거나 검출 불가능한 MRD를 가진다. 일부 구현예에서, 이와 같은 CR 또는 OR과 같은 반응은 적어도 3개월 동안 지속된다.

[0210] 일부 구현예에서, 제공된 방법, 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물에 부합되게 치료받은 상기 대상체에서 관찰된 결과적인 반응은 치료받은 대상체 대다수에서 낮은 독성 위험성 또는 낮은 중증 독성 위험과 관련이 있거나 이를 초래한다. 일부 구현예에서, 제공된 방법에 따라 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물로 치료받은 대상체의 (약) 30%, 35%, 40%, 50%, 55%, 60% 또는 그 이상이 어느 등급의 CRS나 어느 등급의 신경 독성(NT)이든 나타나지 않는다. 일부 구현예에서, 제공된 방법에 따라 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물로 치료받은 대상체의 (약) 50%, 60%, 70%, 80% 또는 그 이상이 중증 CRS나 3급 이상의 CRS를 나타내지 않는다. 일부 구현예에서, 제공된 방법에 따라 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물로 치료받은 대상체의 (약) 50%, 60%, 70%, 80% 또는 그 이상이 중증 신경 독성 또는 3급 이상의 신경 독성, 예컨대 4 또는 5급의 신경 독성을 나타내지 않는다.

[0211] 일부 구현예에서, 제공된 방법, 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물에 부합되게 치료받은, BTKi 및 베네토클락스를 이용한 선행 치료에 실패한 상기 대상체에서 관찰된 결과적인 반응은 치료받은 대상체 대다수에서 낮은 독성 위험성 또는 낮은 중증 독성 위험과 관련이 있거나 이를 초래한다. 일부 구현예에서, 제공된 방법에 따라 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물로 치료받은, BTKi 및 베네토클락스를 이용한 선행 치료에 실패한 대상체의 (약) 30%, 35%, 40%, 50%, 55%, 60% 또는 그 이상이 어느 등급의 CRS나 어느 등급의 신경 독성(NT)이든 나타나지 않는다. 일부 구현예에서, 제공된 방법에 따라 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물로 치료받은, BTKi 및 베네토클락스를 이용한 선행 치료에 실패한 대상체의 (약) 50%, 60%, 70%, 80% 또는 그 이상이 중증 CRS나 3급 이상의 CRS를 나타내지 않는다. 일부 구현예에서, 제공된 방법에 따라 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물로 치료받은, BTKi 및 베네토클락스를 이용한 선행 치료에 실패한 대상체의 (약) 50%, 60%, 70%, 80% 또는 그 이상이 중증 신경 독성 또는 3급 이상의 신경 독성, 예컨대 4 또는 5급의 신경 독성을 나타내지 않는다.

[0212] 일부 구현예에서, 제공된 방법에 따라 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물로 치료받은 대상체의 적어도 (약) 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95%는 조기 발병 CRS 또는 신경 독성을 나타내지 않고/거나 투여 개시 후 1일, 2일, 3일 또는 4일보다 이전에 CRS의 발병을 나타내지 않는다. 일부 구현예에서, 제공된 방법에 따라 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물로 치료받은 대상체의 적어도 (약) 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95%는 투여 개시 후 3일, 4일, 5일, 6일 또는 7일보다 이전에 신경 독성의 발병을 나타내지 않는다. 일부 측면에서, 제공된 방법에 따라 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물로 치료받은 대상체 중에서 신경 독성의 중앙값 발병은 본 방법에 따라 치료받은 대상체에서 CRS의 중앙값 피크 또는 중앙값 해결 시간에 또는 그 이후에 온다. 일부 경우에, 본 방법에 따라 치료받은 대상체 중에서 신경 독성의 중앙값 발병은 (약) 8, 9, 10, 또는 11일 이후이다.

[0213] 일부 구현예에서, 제공된 방법 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물에 부합되게 치료받은, BTKi 및 베네토클락스를 이용한 선행 치료에 실패한 대상체의 적어도 (약) 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95%는 조기 발병 CRS 또는 신경 독성을 나타내지 않고/거나 투여 개시 후 1일, 2일, 3일 또는 4일보다 이전에 CRS의 발병을 나타내지 않는다. 일부 구현예에서, 제공된 방법에 따라 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물로 치료받은, BTKi 및 베네토클락스를 이용한 선행 치료에 실패한 대상체의 적어도 (약) 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95%는 투여 개시 후 3일, 4일, 5일, 6일 또는 7일보다 이전에 신경 독성의 발병을

나타내지 않는다. 일부 측면에서, 제공된 방법에 따라 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물로 치료받은, BTKi 및 베네토클라스를 이용한 선행 치료에 실패한 대상체 중에서 신경 독성의 중앙값 발병은 본 방법에 따라 치료받은 대상체에서 CRS의 중앙값 피크 또는 중앙값 해결 시간에 또는 그 이후에 온다. 일부 경우에, 본 방법에 따라 치료받은, BTKi 및 베네토클라스를 이용한 선행 치료에 실패한 대상체 중에서 신경 독성의 중앙값 발병은 (약) 8, 9, 10, 또는 11일 이후이다.

[0214] 일부 구현예에서, 상기 결과는 (약)  $2.5 \times 10^7$  내지 (약)  $1.5 \times 10^8$  개, 예컨대 약  $5 \times 10^7$  내지 (약)  $1 \times 10^8$  개 총 재조합 수용체-발현 T 세포(예를 들어, CAR+ T 세포), 예컨대 본원에 기술된 바와 같은 정의된 비율로, 예를 들어 (약) 1:1 비율로 투여되는  $CD4^+$  및  $CD8^+$  T 세포를 포함하는 T 세포의 용량, 및/또는 정밀한 또는 균일한 또는 고정된 수의 CAR+ T 세포, 또는 정밀한 또는 균일한 또는 고정된 수의 특정 유형의 CAR+ T 세포 예컨대  $CD4^+CAR^+$  T 세포 및/또는  $CD8^+CAR^+$  T 세포, 및/또는 상기 정밀한 또는 균일한 또는 고정된 수와 비교하여 지정된 정도의 변화량 이내, 예컨대 + 또는 -(플러스 또는 마이너스, 일부 경우에 ±로 표시됨) 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15% 이내의 상기 세포의 임의의 수의 투여 이후에 관찰된다. 일부 구현예에서, 상기 균일한 또는 고정된 수의 세포는 (약)  $2.5 \times 10^7$  총 CAR+ T 세포 또는  $CD8^+$  및/또는  $CD4^+CAR^+$  T 세포,  $5 \times 10^7$  총 CAR+ T 세포 또는  $CD8^+$  및/또는  $CD4^+CAR^+$  T 세포, 또는  $1 \times 10^8$  총 CAR+ T 세포 또는  $CD8^+$  및/또는  $CD4^+CAR^+$  T 세포이다. 일부 구현예에서, 용량 내 세포 수는  $2.5 \times 10^7$  CAR+ T 세포(선택적으로  $1.25 \times 10^7$   $CD4^+CAR^+$  T 세포 및  $1.25 \times 10^7$   $CD8^+CAR^+$  T 세포)를 포함하거나 이것으로 구성되거나 이것을 필수로 포함하여 구성되고; 일부 구현예에서,  $5 \times 10^7$  CAR+ T 세포(선택적으로  $2.5 \times 10^7$   $CD4^+CAR^+$  T 세포 및  $2.5 \times 10^7$   $CD8^+CAR^+$  T 세포)를 포함하거나 이것으로 구성되거나 이것을 필수로 포함하여 구성되고; 일부 구현예에서,  $1 \times 10^8$  CAR+ T 세포(선택적으로  $0.5 \times 10^8$   $CD4^+CAR^+$  T 세포 및  $0.5 \times 10^8$   $CD8^+CAR^+$  T 세포)를 포함한다. 일부 측면에서, 투여되는 세포 수는 전술한 구현예들에서 상기 수들의 특정 정도의 변화량 이내, 예컨대 상기 세포 수와 비교하여 플러스 또는 마이너스(±) 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10% 이내, 예컨대 플러스 또는 마이너스 8% 이내이다. 일부 측면에서, 용량은 상기 세포(예를 들어, 총 CAR+ T 세포 또는  $CD8^+$  및/또는  $CD4^+CAR^+$  T 세포)의 수와 치료 반응을 나타내는 하나 이상의 결과, 또는 이의 지속기간(예를 들어, 관해, 완전 관해, 및/또는 특정 지속기간의 관해를 달성할 가능성) 및/또는 전술한 임의의 지속기간 사이에 상관관계(선택적으로 선형 관계)가 관찰되는 범위이다. 일부 측면에서, 투여되는 세포의 더 높은 용량은 대상체에서 독성(예를 들어, CRS 또는 신경 독성)의 발생률 또는 위험, 또는 독성의 발생률 또는 위험의 정도에 영향을 주지 않고 또는 실질적으로 영향을 주지 않고 더 큰 반응, 예를 들어, 중증 CRS 또는 중증 신경 독성을 초래할 수 있는 것으로 확인된다.

[0215] 일부 측면에서, 제공된 구현예에 따라 치료될 대상체는 충분한 장기 기능을 가지고 있다. 예를 들어, 일부 측면에서, 대상체는 다음: 혈청 크레아티닌  $\leq 1.5 \times$  연령 보정 ULN(upper limit of normal) 또는 계산된 크레아티닌 클리어런스(Cockcroft and Gault)  $> 30$  mL/min; 알라닌 아미노기 전달효소(ALT)  $\leq 5 \times$  ULN 및 총 빌리루빈  $< 2.0$  mg/dL(또는  $< 3.0$  mg/dL, 질베르 증후군 또는 간의 백혈병성 침윤이 있는 대상체의 경우); 충분한 폐 기능,  $\leq$  CTCAE(Common Terminology Criteria for Adverse Events) 1급 호흡 곤란 및 실내 공기에서 포화 산소( $SO_2$ )  $\geq 92\%$ 로 정의됨; 및/또는 충분한 심장 기능, 조작된 세포 조성물의 투여를 위한 대상체의 평가 전 30일 내 수행된 MUGA(multiple uptake gated acquisition) 스캔 또는 심장 초음파도(ECHO)로 산정시, 좌심실 박출률(LVEF)  $\geq 40\%$ 로 정의됨; 중 하나 이상을 나타낸다.

[0216] 일부 측면에서, 제공된 방법은 높은 또는 특정한 반응 비율(예컨대 투여 후 특정 기간, 예컨대 1개월 또는 3개월 후 평가한 집단 중의 반응 비율), 예를 들어, (약) 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상의 ORR(예컨대 1개월 또는 3개월 ORR), 및 (약) 30% 이상, 35% 이상, 40% 이상, 45% 이상, 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 71% 이상, 72% 이상, 73% 이상, 74% 이상 또는 대략 75% 이상의 CR 비율(예컨대 1개월 또는 3개월 CR 비율)을 달성할 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 반응 및 지속성의 비율은 단지 상기 요법의 단일 투여 또는 용량 이후에 수신된다. 제공된 방법에 의한 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물을 이용한 상기 대상체의 치료는, 일부 구현예에서, 또한 대상체가 높은 반응 비율을 달성하지만, 더 높은 세포 투여량에서도 신경 독성 또는 CRS와 같은 독성의 발병률을 더 높게 나타내지 않는 결과를 나타낸다.

[0217] 따라서, 일부 구현예에서, 제공된 방법, 제조품 및/또는 조성물은 입양 세포 요법과 같은 치료에 대한 다른 이

용 가능한 방법 또는 솔루션 또는 접근법보다 장점을 제공할 수 있다. 구체적으로, 제공된 구현예 중에는 고위험 CLL을 가진 대상체에 대해 독성 또는 부작용의 발생률은 낮추고 높은 비율의 오래 지속되는 반응을 달성함으로써 장점을 제공하는 구현예가 있다.

[0218] 일부 구현예에서, 하나 이상의 염증성 사이토카인, 케모카인 또는 성장 인자 또는 수용체는 CAR 치료 전, 도중, 또는 이후에 모니터링된다. 일부 구현예에서, TNF 또는 IL-16이 예컨대 본원의 방법에 따라 대상체에서 산정 또는 모니터링된다. 일부 구현예에서, VEGFC 또는 VEGFR1이 예컨대 본원의 방법에 따라 대상체에서 산정 또는 모니터링된다.

[0219] 일부 측면에서, 제공된 방법은 또한 입양 세포 요법을 위한 세포, 예를 들어 예컨대 CAR-발현 T 세포, 예를 들어, 항-CD19 CAR+ T 세포를 포함하는 조성물과 같은 T 세포 요법을 투여하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 방법은 또한 T 세포 요법 전에 예를 들어 사이클로포스파미드, 플루다라빈 또는 이들의 조합물과 같은 림프구 고갈 요법을 포함한다.

[0220] **A. 치료 방법**

[0221] 독성(예를 들어, 신경 독성), 예컨대 중증 신경 독성, 및/또는 CRS, 예컨대 중증 CRS와 관련된 바이오마커(예를 들어, 분석물) 또는 파라미터를 평가 또는 검출하는 것, 및 조작된 세포 또는 조작된 T 세포와 같은 조작된 세포를 함유하는 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 세포 요법과 관련된 독성이 발생할 위험을 평가하는 방법이 본원에서 제공된다. 백혈병 또는 림프종, 예를 들어, 만성 림프구성 백혈병(CLL) 또는 소형 림프구성 림프종(SLL)과 같은 질병 또는 병태를 가진 대상체의 치료를 위하여 조작된 세포 및/또는 이의 조성물의 투여를 포함하는 방법 및 용도를 포함하는, 조작된 세포(예를 들어, T 세포) 및/또는 이의 조성물의 방법 및 용도가 또한 제공된다. 일부 구현예에서, 제공된 방법과 용도는 특정 대체 방법과 비교하여 예를 들어 치료받은 특정 그룹의 대상체에서 개선된 반응 및/또는 더 지속가능한 반응 또는 효능 및/또는 독성 위험 또는 기타 부작용의 감소를 달성할 수 있다. 일부 측면에서, 조작된 T 세포와 같은 조작된 세포 또는 조작된 세포를 함유하는 조성물을 질병 또는 장애가 있는 대상체와 같은 대상체에 투여하는 방법이 또한 제공된다. 일부 측면에서, 질병 또는 장애의 치료를 위한 조작된 T 세포와 같은 조작된 세포 또는 조작된 세포를 함유하는 조성물의 용도가 또한 제공된다. 일부 측면에서, 질병 또는 장애의 치료를 위한 약제의 제조를 위한 조작된 T 세포와 같은 조작된 세포 또는 조작된 세포를 함유하는 조성물의 용도가 또한 제공된다. 일부 측면에서, 질병 또는 장애의 치료에 사용하기 위해 또는 질병 또는 장애가 있는 대상체에 투여하기 위해 조작된 T 세포와 같은 조작된 세포 또는 조작된 세포를 함유하는 조성물을 투여하는 방법이 또한 제공된다. 일부 측면에서, 조작된 T 세포와 같은 조작된 세포 또는 조작된 세포를 함유하는 조성물의 용도는 본원에 기술되는 임의의 방법에 부합한다.

[0222] 본원에 기술되는, 키메라 항원 수용체(CAR)와 같은 재조합 수용체를 발현하는 조작된 세포 또는 이를 포함하는 조성물은 다양한 치료, 진단 및 예방적 적응증에 유용하다. 예를 들어, 조작된 세포 또는 조작된 세포를 포함하는 조성물은 대상체에서 다양한 질병 및 장애를 치료하는 데 유용하다. 상기 방법 및 용도는 예를 들어, 조작된 세포 또는 이를 함유하는 조성물을 종양 또는 암과 같은 질병, 병태 또는 장애가 있는 대상체에 투여하는 것을 포함한 치료 방법 및 용도를 포함한다. 일부 구현예에서, 조작된 세포 또는 이를 포함하는 조성물은 질병 또는 장애의 치료에 효과적인 유효량으로 투여된다. 용도는 상기 방법 및 치료에서, 및 상기 치료 방법을 수행하기 위한 약제의 제조에서 조작된 세포 또는 조성물의 용도를 포함한다. 일부 구현예에서, 조작된 세포 또는 조작된 세포를 포함하는 조성물은 대상체에서 예를 들어 치료 방법에 부합되게 다양한 질병 및 장애를 치료하는 용도를 위한 것이다. 일부 구현예에서, 본 방법은 조작된 세포 또는 이를 포함하는 조성물을, 질병 또는 병태를 가진 또는 가진 것으로 의심되는 대상체에 투여함으로써 수행된다. 일부 구현예에서, 본 방법은 이를 통해 대상체에서 질병 또는 병태 또는 장애를 치료한다.

[0223] 입양 세포 요법을 위한 세포의 일반적인 투여 방법은 공지되어 있으며 제공된 방법 및 조성물과 관련하여 사용될 수 있다. 예를 들어, 입양 T 세포 요법 방법은 예를 들어 문헌[미국 특허 출원 공개 번호 2003/0170238(Gruenberg et al); 미국 특허 번호 4,690,915(Rosenberg); Rosenberg (2011) Nat Rev Clin Oncol. 8(10):577-85)]에 기재되어 있다. 예를 들어, 문헌[Themeli et al. (2013) Nat Biotechnol. 31(10):928-933; Tsukahara et al. (2013) Biochem Biophys Res Commun 438(1): 84-9; Davila et al. (2013) PLoS ONE 8(4): e61338]을 참조한다.

[0224] 치료되는 질병 또는 병태는 항원의 발현이 질병, 병태 또는 장애의 병인과 관련되고/거나 병인에 수반되는, 예를 들어, 상기 질병, 병태 또는 장애를 일으키거나, 악화하거나 또는 그렇지 않으면 그에 수반되는, 임의의 것일 수 있다. 예시적인 질병 및 병태는 악성 종양 또는 세포의 형질전환(예를 들어, 암), 자가면역 또는 염증성

질환 또는 예를 들어 세균, 바이러스 또는 기타 병원체로 인한 전염병과 관련된 질병 또는 병태를 포함할 수 있다. 치료할 수 있는 다양한 질병 및 병태와 관련된 항원을 포함하는 예시적인 항원들이 상기에 기술되어 있다. 특정 구현예에서, 키메라 항원 수용체 또는 형질전환 TCR은 질병 또는 병태와 관련된 항원에 특이적으로 결합한다.

[0225] 질병, 병태 및 장애 중에는 고형 종양, 혈액성 악성 종양 및 흑색종을 포함한 종양이 있고, 국소화 및 전이성 종양, 감염병, 에킨대 바이러스 또는 기타 병원체, 예를 들어 HIV, HCV, HBV, CMV, HPV로 인한 감염 및 기생충 병 및 자가면역 질환 및 염증성 질환이 포함된다. 일부 구현예에서, 질병, 장애 또는 병태는 종양, 암, 악성 종양, 신생물 또는 기타 증식성 질병 또는 장애이다. 본원에 제공된 방법에 따라 치료를 위한 상기 질병은 백혈병, 림프종, 예를 들어, 만성 림프구성 백혈병(CLL) 및 소형 림프구성 림프종(SLL)을 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0226] 일부 구현예에서, ECOG(Eastern Cooperative Oncology Group) 수행도 지표는 치료를 위한 대상체, 예를 들어 선행 요법으로부터 성과가 좋지 않았던 대상체를 평가하거나 선택하기 위해 사용될 수 있다(예를 들어, 문헌 [Oken et al.(1982) Am J Clin Oncol. 5:649-655] 참조). 수행도의 ECOG 척도는 스스로를 돌보는 능력, 일상 활동 및 신체 능력(예를 들어, 걷기, 일하기 등)의 관점에서 환자의 기능 수준을 설명한다. 일부 구현예에서, 0의 ECOG 수행도는 대상체가 정상적인 활동을 수행할 수 있음을 나타낸다. 일부 측면에서, 1의 ECOG 수행도를 갖는 대상체는 신체 활동에 일부 제한을 보이거나 대상체는 완전히 보행할 수 있다. 일부 측면에서, 2의 ECOG 수행도를 갖는 환자는 50% 이상 보행할 수 있다. 일부 경우에, 2의 ECOG 수행도를 갖는 대상체는 스스로를 돌볼 수도 있다. 예를 들어, 문헌[Sørensen et al., (1993) Br J Cancer 67(4) 773-775]을 참조한다. ECOG 수행도를 반영하는 기준이 아래 표 1에 기술된다.

표 1

[0227]

표 1. ECOG 수행도 기준	
등급	ECOG 수행도
0	제한없이 모든 질병 전 수행을 수행할 수 있는, 완전히 활동적임
1	육체적으로 격렬한 활동이 제한되나 걸을 수 있고 가볍거나 앉아서 하는 성질의 일, 예를 들어 가벼운 집안 일, 사무실 작업을 수행할 수 있음
2	깨어 있는 시간의 50% 이상 일어나 걸을 수 있고 모든 자기 돌봄이 가능하나 어떠한 작업 활동도 수행할 수 없음
3	제한된 자기 돌봄만 가능하며; 깨어 있는 시간의 50% 이상 침대나 의자에서 지냄
4	완전히 지체 부자유함; 어떠한 자기 돌봄도 수행할 수 없음; 전적으로 침대나 의자에서 지냄
5	죽음

[0228] 일부 구현예에서, 수용체(예를 들어, CAR)에 의해 표적화되는 항원은 다수의 공지된 B 세포 마커 중 어느 하나와 같은 B 세포 악성 종양과 관련된 항원을 포함한다. 일부 구현예에서, 항원은 CD20, CD19, CD22, ROR1, CD45, CD21, CD5, CD33, Ig카파, Ig람다, CD79a, CD79b 또는 CD30이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 항원은 CD19이다.

[0229] 일부 구현예에서, 세포 요법(예를 들어, 입양 T 세포 요법)은 자가 전달에 의해 수행되며, 세포는 세포 요법을 받을 대상체 또는 상기 대상체로부터 유래된 샘플로부터 단리 및/또는 달리 제조된다. 따라서, 일부 측면에서, 세포는 치료가 필요한 대상체, 예를 들어, 환자로부터 유래되고, 세포는 단리 및 가공 후에 동일한 대상체에 투여된다.

[0230] 일부 구현예에서, 세포 요법(예를 들어, 입양 T 세포 요법)은 동종이계 전달에 의해 수행되며, 세포는 세포 요법을 받을 예정이거나 최종적으로 받은 대상체, 예를 들어 제1 대상체 외의 대상체로부터 단리 및/또는 달리 제조된다. 상기 구현예에서, 이어서 세포는 상이한 대상체, 예를 들어, 같은 종의 제2 대상체에 투여된다. 일부 구현예에서, 제1 및 제2 대상체는 유전적으로 동일하다. 일부 구현예에서, 제1 및 제2 대상체는 유전적으로 유사하다. 일부 구현예에서, 제2 대상체는 제1 대상체와 동일한 HLA 클래스(HLA class) 또는 수퍼타입(supertyp e)을 발현한다.

[0231] 세포는, 임의의 적합한 수단, 예를 들어 볼루스 주입, 주사, 예를 들어 정맥내 또는 피하 주사, 안구내 (intraocular) 주사, 안구주위(periocular) 주사, 망막하(subretinal) 주사, 유리체내(intravitreal) 주사, 중격-경유성(trans-septal) 주사, 공막하(subscleral) 주사, 맥락막내(intrachoroidal) 주사, 전방내



(intracameral) 주사, 결막하 주사(subconjunctival injection, subconjunctival injection), 서브 테논(sub-Tenon) 주사, 안구뒤(retrobulbar) 주사, 안구주위(peribulbar) 주사 또는 후부 점막 주사(posterior juxtasceral) 전달에 의해 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 이는 비경구, 폐내 및 비강내 및 국소 치료가 바람직한 경우 병변내 투여에 의해 투여된다. 비경구 주입은 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내 또는 피하 투여를 포함한다. 일부 구현예에서, 주어진 용량이 세포의 단일 볼루스 투여에 의해 투여된다. 일부 구현예에서, 이는 예를 들어, 3일 이내의 기간에 걸쳐 세포의 다중 볼루스 투여에 의해, 또는 세포의 지속적인 주입 투여에 의해 투여된다. 일부 구현예에서, 세포 용량 또는 임의의 추가 요법, 예를 들어 림프구 고갈 요법, 개입 요법 및/또는 병용 요법의 투여는 통원 전달을 통해 수행된다.

- [0232] 질병의 예방 또는 치료를 위해, 적절한 투여량은 치료될 질병의 유형, 세포 또는 제조합 수용체의 유형, 질병의 중증도 및 진행 경과, 세포가 예방 또는 치료 목적으로 투여되는지 여부, 선행 요법, 대상체의 임상 이력과 세포에 대한 반응 및 주치의의 재량에 따라 달라질 수 있다. 일부 구현예에서 조성물 및 세포는 한 번에 또는 일련의 치료에 걸쳐 대상체에 적합하게 투여된다.
- [0233] 일부 구현예에서, 본 방법은 화학적 치료제, 예를 들어 조절 화학적 치료제의 투여를 포함한다.
- [0234] 일부 측면에서 면역 고갈(예를 들어, 림프구 고갈) 요법으로 대상체를 사전 조절하면 입양 세포 요법(ACT)의 효과를 향상시킬 수 있다.
- [0235] 따라서, 일부 구현예에서, 본 방법은 세포 요법의 개시 전에 대상체에 사이클로포스파미드, 플루다라빈 또는 이의 조합물과 같은 림프구 고갈제 또는 화학 요법제와 같은 사전 조절제를 투여하는 것을 포함한다. 예를 들어, 대상체는 세포 요법을 개시하기 적어도 2일 전, 예컨대 적어도 3, 4, 5, 6 또는 7일 전에 사전 조절제를 투여받을 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 세포 요법의 개시 7일 이내 전, 예컨대 6, 5, 4, 3 또는 2일 이내 전에 사전 조절제를 투여받는다.
- [0236] 일부 구현예에서, 대상체는 (약) 20mg/kg 내지 100mg/kg, 예컨대 (약) 40mg/kg 내지 80mg/kg의 용량의 사이클로포스파미드로 사전 조절된다. 일부 측면에서, 대상체는 (약) 60mg/kg의 사이클로포스파미드로 사전 조절된다. 일부 구현예에서, 사이클로포스파미드는 단일 용량으로 투여될 수 있거나, 예컨대 매일, 격일 또는 3일마다 주어진 복수의 용량으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 사이클로포스파미드는 1일 또는 2일 동안 매일 1회 투여된다. 일부 구현예에서, 림프구 고갈제가 사이클로포스파미드를 포함하는 경우, 대상체에 (약) 100mg/m<sup>2</sup> 내지 500mg/m<sup>2</sup>, 예컨대 (약) 200 mg/m<sup>2</sup> 내지 400mg/m<sup>2</sup> 또는 250mg/m<sup>2</sup> 내지 350mg/m<sup>2</sup>(수치 포함)의 용량으로 사이클로포스파미드가 투여된다. 일부 경우에, 대상체에 약 300mg/m<sup>2</sup>의 사이클로포스파미드를 투여한다. 일부 구현예에서, 사이클로포스파미드는 단일 용량으로 투여될 수 있거나, 예컨대 매일, 격일 또는 3일마다 주어진 복수의 용량으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 사이클로포스파미드는 예컨대 1 내지 5일 동안, 예를 들어 3 내지 5일 동안 매일 투여된다. 일부 경우에, 대상체에 세포 요법의 개시 전 3일 동안 매일 약 300mg/m<sup>2</sup>의 사이클로포스파미드가 투여된다.
- [0237] 일부 구현예에서, 림프구 고갈제가 플루다라빈을 포함하는 경우, 대상체에 (약) 1mg/m<sup>2</sup> 내지 100mg/m<sup>2</sup>, 예컨대 (약) 10mg/m<sup>2</sup> 내지 75mg/m<sup>2</sup>, 15mg/m<sup>2</sup> 내지 50mg/m<sup>2</sup>, 20 mg/m<sup>2</sup> 내지 40 mg/m<sup>2</sup> 또는 24mg/m<sup>2</sup> 내지 35mg/m<sup>2</sup>(수치 포함)의 용량으로 플루다라빈이 투여된다. 일부 경우에, 대상체에 약 30mg/m<sup>2</sup>의 플루다라빈이 투여된다. 일부 구현예에서, 플루다라빈은 단일 용량으로 투여될 수 있거나, 예컨대 매일, 격일 또는 3일마다 주어진 복수의 용량으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 플루다라빈은 예컨대 1 내지 5일 동안, 예를 들어 3 내지 5일 동안 매일 투여된다. 일부 경우에, 대상체에 세포 요법의 개시 전 3일 동안 매일 약 30mg/m<sup>2</sup>의 플루다라빈이 투여된다.
- [0238] 일부 구현예에서, 림프구 고갈제는 사이클로포스파미드 및 플루다라빈의 조합물과 같은 제제의 조합물을 포함한다. 따라서, 제제의 조합물은 상기 기재된 바와 같은 임의의 용량 또는 투여 일정의 사이클로포스파미드 및 상기 기재된 바와 같은 임의의 용량 또는 투여 일정의 플루다라빈을 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 측면에서, 대상체에 제1 또는 후속 용량 전에 60mg/kg(~2g/m<sup>2</sup>)의 사이클로포스파미드 및 25mg/m<sup>2</sup> 플루다라빈의 3 내지 5 용량이 투여된다.
- [0239] 일부 구현예에서 세포의 투여 후에, 조작된 세포의 집단의 생물학적 활성이 예를 들어, 공지된 다수의 방법 중 하나에 의해 측정된다. 산정 파라미터는 생체 내에서, 예를 들어 영상화에 의해 또는 생체 외 시험에서, 예를



$10^6$  내지 (약)  $5 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $1 \times 10^6$  내지 (약)  $2.5 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $1 \times 10^6$  내지 (약)  $1 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $1 \times 10^6$  내지 (약)  $5 \times 10^6$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $1 \times 10^6$  내지 (약)  $2.5 \times 10^6$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $2.5 \times 10^6$  내지 (약)  $5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $2.5 \times 10^6$  내지 (약)  $2.5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $2.5 \times 10^6$  내지 (약)  $1 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $2.5 \times 10^6$  내지 (약)  $5 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $2.5 \times 10^6$  내지 (약)  $2.5 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $2.5 \times 10^6$  내지 (약)  $1 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $2.5 \times 10^6$  내지 (약)  $5 \times 10^6$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $5 \times 10^6$  내지 (약)  $5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $5 \times 10^6$  내지 (약)  $2.5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $5 \times 10^6$  내지 (약)  $1 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $5 \times 10^6$  내지 (약)  $5 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $5 \times 10^6$  내지 (약)  $2.5 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $5 \times 10^6$  내지 (약)  $1 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $1 \times 10^7$  내지 (약)  $5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $1 \times 10^7$  내지 (약)  $2.5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $1 \times 10^7$  내지 (약)  $1 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $1 \times 10^7$  내지 (약)  $5 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $1 \times 10^7$  내지 (약)  $2.5 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $2.5 \times 10^7$  내지 (약)  $5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $2.5 \times 10^7$  내지 (약)  $2.5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $2.5 \times 10^7$  내지 (약)  $1 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $2.5 \times 10^7$  내지 (약)  $5 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $5 \times 10^7$  내지 (약)  $5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $5 \times 10^7$  내지 (약)  $2.5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $5 \times 10^7$  내지 (약)  $1 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $1 \times 10^8$  내지 (약)  $5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, (약)  $1 \times 10^8$  내지 (약)  $2.5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, 또는 (약)  $2.5 \times 10^8$  내지 (약)  $5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포의 수는 상기 세포의 생존 세포의 수이다.

[0246] 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 (약)  $2.5 \times 10^7$  내지 (약)  $1.5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, 예컨대  $5 \times 10^7$  내지  $1 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 적어도 (약)  $2.5 \times 10^7$ 개의 CAR-발현 세포, 적어도 (약)  $5 \times 10^7$ 개의 CAR-발현 세포, 또는 적어도 (약)  $1 \times 10^8$ 개의 CAR-발현 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, T 세포의 용량은 (약)  $2.5 \times 10^7$ 개의 CAR-발현 T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포의 용량은 (약)  $1 \times 10^8$ 개의 CAR-발현 T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포의 용량은 (약)  $5 \times 10^7$ 개의 CAR-발현 T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포의 수는 상기 세포의 생존 세포의 수이다.

[0247] 일부 구현예에서, 상기 수는  $CD3^+$ ,  $CD8^+$ , 또는  $CD4^+$  및  $CD8^+$ 의 총 수, 일부 경우에 또한 재조합 수용체-발현(예를 들어,  $CAR^+$ ) 세포의 총 수를 기준으로 한다. 일부 구현예에서, 상기 수는  $CD3^+$  재조합 수용체-발현(예를 들어,  $CAR^+$ ) 세포의 총 수를 기준으로 한다. 일부 구현예에서, 상기 수는  $CD4^+$  및  $CD8^+$  재조합 수용체-발현(예를 들어,  $CAR^+$ ) 세포의 총 수를 기준으로 한다. 일부 구현예에서, 세포의 수는 상기 세포의 생존 세포의 수이다.

[0248] 일부 구현예에서, 세포 요법은 (약)  $1 \times 10^5$  내지 (약)  $5 \times 10^8$ 개의  $CD3^+$ ,  $CD8^+$ , 또는  $CD4^+$  및  $CD8^+$  총 T 세포 또는  $CD3^+$ ,  $CD8^+$ , 또는  $CD4^+$  및  $CD8^+$  재조합 수용체(예를 들어,  $CAR^+$ )-발현 세포, (약)  $5 \times 10^5$  내지 (약)  $1 \times 10^7$ 개의  $CD3^+$ ,  $CD8^+$ , 또는  $CD4^+$  및  $CD8^+$  총 T 세포 또는  $CD3^+$ ,  $CD8^+$ , 또는  $CD4^+$  및  $CD8^+$  재조합 수용체(예를 들어,  $CAR^+$ )-발현 세포, 또는 (약)  $1 \times 10^6$  내지 (약)  $1 \times 10^7$ 개의  $CD3^+$ ,  $CD8^+$ , 또는  $CD4^+$  및  $CD8^+$  총 T 세포 또는  $CD3^+$ ,  $CD8^+$ , 또는  $CD4^+$  및  $CD8^+$  재조합 수용체(예를 들어,  $CAR^+$ )-발현 세포(각 수치 포함)의 세포 수를 포함하는 용량의 투여를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포 요법은 (약)  $1 \times 10^5$  내지 (약)  $5 \times 10^8$ 개의 총  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$  또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  세포, (약)  $5 \times 10^5$  내지 (약)  $1 \times 10^7$ 개의 총  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ ,

또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  세포, 또는 (약)  $1 \times 10^6$  내지 (약)  $1 \times 10^7$ 개의 총  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ , 또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  세포(각 수치 포함)의 세포 수를 포함하는 용량의 투여를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포의 수는 상기 세포의 생존 세포의 수이다.

[0249] 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 (약)  $2.5 \times 10^7$  내지  $1.5 \times 10^8$ 개의 총  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ , 또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  T 세포, 예컨대  $5 \times 10^7$  내지  $1 \times 10^8$ 개의 총  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ , 또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 적어도 (약)  $2.5 \times 10^7$ 개의  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ , 또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  T 세포, 적어도 (약)  $5 \times 10^7$ 개의  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ , 또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  T 세포, 또는 적어도 (약)  $1 \times 10^8$ 개의  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ , 또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 (약)  $2.5 \times 10^7$ 개의  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ , 또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  T 세포, (약)  $5 \times 10^7$ 개의  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ , 또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  T 세포, 또는 (약)  $1 \times 10^8$ 개의  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ , 또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포의 수는 상기 세포의 생존 세포의 수이다.

[0250] 일부 구현예에서, T 세포의 용량은 (약)  $5 \times 10^7$ 개의 재조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포 또는 (약)  $2.5 \times 10^7$ 개의 재조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현  $CD8^+$  T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, T 세포의 용량은 (약)  $1 \times 10^8$ 개의 재조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포 또는 (약)  $5 \times 10^7$ 개의 재조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현  $CD8^+$  T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, T 세포의 용량은 (약)  $1.5 \times 10^8$ 개의 재조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포 또는 (약)  $0.75 \times 10^8$ 개의 재조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현  $CD8^+$  T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포의 수는 상기 세포의 생존 세포의 수이다.

[0251] 일부 구현예에서, 용량의 T 세포는  $CD4^+$  T 세포,  $CD8^+$  T 세포 또는  $CD4^+$  및  $CD8^+$  T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 예를 들어, 대상체가 인간인 경우,  $CD4^+$  및  $CD8^+$  T 세포를 포함하는 용량에서를 포함하여, 용량의  $CD8^+$  T 세포는 약  $2.5 \times 10^7$  내지  $1 \times 10^8$  개의 총 재조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현  $CD8^+$  세포, 또는 예컨대 1:3 내지 3:1  $CD4^+$  세포 대  $CD8^+$  T 세포의 비율로, 선택적으로 (약) 1:1로 존재하는 이의 분획을 포함한다.

[0252] 일부 구현예에서, 환자는 다중 용량으로 투여받고, 각각의 용량 또는 총 용량은 전술한 수치 중 어느 하나 내에 있을 수 있다. 일부 구현예에서, 세포의 용량은 (약)  $1 \times 10^5$  내지 (약)  $5 \times 10^8$ 개의 총 재조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포 또는 총 T 세포, (약)  $1 \times 10^5$  내지 (약)  $1.5 \times 10^8$ 개의 총 재조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포 또는 총 T 세포, (약)  $1 \times 10^5$  내지 (약)  $1 \times 10^8$ 개의 총 재조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포 또는 총 T 세포, (약)  $5 \times 10^5$  내지 (약)  $1 \times 10^7$ 개의 총 재조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포 또는 총 T 세포, 또는 (약)  $1 \times 10^6$  내지 (약)  $1 \times 10^7$ 개의 총 재조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포 또는 총 T 세포(각 수치 포함)의 투여를 포함한다.

[0253] 일부 구현예에서, 세포의 용량은 세포의 용량이 대상체의 체표면적 또는 체중에 결부되거나 그에 기초하지 않는 균일한 세포 용량 또는 고정된 세포 용량이다.

[0254] 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 (약)  $1 \times 10^5$  내지  $5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $1 \times 10^5$  내지  $2.5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $1 \times 10^5$  내지  $1 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $1 \times 10^5$  내지  $5 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $1 \times 10^5$  내지  $2.5 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $1 \times 10^5$  내지  $1 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $1 \times 10^5$  내지  $5 \times 10^6$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $1 \times 10^5$  내지  $2.5 \times 10^6$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $1 \times 10^5$  내지  $1 \times 10^6$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $1 \times 10^6$  내지  $5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $1 \times 10^6$  내지  $2.5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $1 \times 10^6$  내지  $1 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $1 \times 10^6$  내지  $5 \times 10^7$ 개의 총

CAR-발현 T 세포,  $1 \times 10^6$  내지  $2.5 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $1 \times 10^6$  내지  $1 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $1 \times 10^6$  내지  $5 \times 10^6$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $1 \times 10^6$  내지  $2.5 \times 10^6$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $2.5 \times 10^6$  내지  $5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $2.5 \times 10^6$  내지  $2.5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $2.5 \times 10^6$  내지  $1 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $2.5 \times 10^6$  내지  $5 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $2.5 \times 10^6$  내지  $2.5 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $2.5 \times 10^6$  내지  $5 \times 10^6$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $5 \times 10^6$  내지  $5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $5 \times 10^6$  내지  $2.5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $5 \times 10^6$  내지  $1 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $5 \times 10^6$  내지  $5 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $5 \times 10^6$  내지  $2.5 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $1 \times 10^7$  내지  $5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $1 \times 10^7$  내지  $2.5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $1 \times 10^7$  내지  $1 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $1 \times 10^7$  내지  $5 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $1 \times 10^7$  내지  $2.5 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $2.5 \times 10^7$  내지  $5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $2.5 \times 10^7$  내지  $2.5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $2.5 \times 10^7$  내지  $1 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $2.5 \times 10^7$  내지  $5 \times 10^7$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $5 \times 10^7$  내지  $5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $5 \times 10^7$  내지  $2.5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $5 \times 10^7$  내지  $1 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $1 \times 10^8$  내지  $5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포,  $1 \times 10^8$  내지  $2.5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, 또는  $2.5 \times 10^8$  내지  $5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포의 수는 상기 세포의 생존 세포의 수이다.

[0255] 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 (약)  $2.5 \times 10^7$  내지 (약)  $1.5 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포, 예컨대  $5 \times 10^7$  내지  $1 \times 10^8$ 개의 총 CAR-발현 T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 적어도 (약)  $2.5 \times 10^7$ 개의 CAR-발현 세포, 적어도 (약)  $5 \times 10^7$ 개의 CAR-발현 세포, 또는 적어도 (약)  $1 \times 10^8$ 개의 CAR-발현 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, T 세포의 용량은 (약)  $2.5 \times 10^7$ 개의 CAR-발현 T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포의 용량은 (약)  $1 \times 10^8$ 개의 CAR-발현 T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포의 용량은 (약)  $5 \times 10^7$ 개의 CAR-발현 T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포의 수는 상기 세포의 생존 세포의 수이다.

[0256] 일부 구현예에서, 상기 수는  $CD3^+$ ,  $CD8^+$ , 또는  $CD4^+$  및  $CD8^+$ 의 총 수, 일부 경우에 또한 제조합 수용체-발현(예를 들어, CAR<sup>+</sup>) 세포의 총 수를 기준으로 한다. 일부 구현예에서, 세포의 수는 상기 세포의 생존 세포의 수이다.

[0257] 일부 구현예에서, 세포 요법은 (약)  $1 \times 10^5$  내지 (약)  $5 \times 10^8$ 개의  $CD3^+$ ,  $CD8^+$ , 또는  $CD4^+$  및  $CD8^+$  총 T 세포 또는  $CD3^+$ ,  $CD8^+$ , 또는  $CD4^+$  및  $CD8^+$  제조합 수용체(예를 들어, CAR<sup>+</sup>)-발현 세포, (약)  $5 \times 10^5$  내지 (약)  $1 \times 10^7$ 개의  $CD3^+$ ,  $CD8^+$ , 또는  $CD4^+$  및  $CD8^+$  총 T 세포 또는  $CD3^+$ ,  $CD8^+$ , 또는  $CD4^+$  및  $CD8^+$  제조합 수용체(예를 들어, CAR<sup>+</sup>)-발현 세포, 또는 (약)  $1 \times 10^6$  내지 (약)  $1 \times 10^7$ 개의  $CD3^+$ ,  $CD8^+$ , 또는  $CD4^+$  및  $CD8^+$  총 T 세포 또는  $CD3^+$ ,  $CD8^+$ , 또는  $CD4^+$  및  $CD8^+$  제조합 수용체(예를 들어, CAR<sup>+</sup>)-발현 세포(각 수치 포함)의 세포 수를 포함하는 용량의 투여를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포 요법은 (약)  $1 \times 10^5$  내지 (약)  $5 \times 10^8$ 개의 총  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$  또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  세포, (약)  $5 \times 10^5$  내지 (약)  $1 \times 10^7$ 개의 총  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ , 또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  세포, 또는 (약)  $1 \times 10^6$  내지 (약)  $1 \times 10^7$ 개의 총  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ , 또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  세포(각 수치 포함)의 세포 수를 포함하는 용량의 투여를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포의 수는 상기 세포의 생존 세포의 수이다.

[0258] 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 (약)  $2.5 \times 10^7$  내지  $1.5 \times 10^8$ 개의 총  $CD3+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ ,

또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  T 세포, 예컨대  $5 \times 10^7$  내지  $1 \times 10^8$ 개의 총  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ , 또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 적어도 (약)  $2.5 \times 10^7$ 개의  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ , 또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  T 세포, 적어도 (약)  $5 \times 10^7$ 개의  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ , 또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  T 세포, 또는 적어도 (약)  $1 \times 10^8$ 개의  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ , 또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 (약)  $2.5 \times 10^7$ 개의  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ , 또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  T 세포, (약)  $5 \times 10^7$ 개의  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ , 또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  T 세포, 또는 (약)  $1 \times 10^8$ 개의  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ , 또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포의 수는 상기 세포의 생존 세포의 수이다.

[0259] 일부 구현예에서, T 세포의 용량은 (약)  $5 \times 10^7$ 개의 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포 또는 (약)  $2.5 \times 10^7$ 개의 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현  $CD8^+$  T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, T 세포의 용량은 (약)  $1 \times 10^8$ 개의 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포 또는 (약)  $5 \times 10^7$ 개의 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현  $CD8^+$  T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, T 세포의 용량은 (약)  $1.5 \times 10^8$ 개의 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포 또는 (약)  $0.75 \times 10^8$ 개의 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현  $CD8^+$  T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포의 수는 상기 세포의 생존 세포의 수이다.

[0260] 일부 구현예에서, 환자는 다중 용량으로 투여받고, 각각의 용량 또는 총 용량은 전술한 수치 중 어느 하나 내에 있을 수 있다. 일부 구현예에서, 세포의 용량은 (약)  $1 \times 10^5$  내지 (약)  $5 \times 10^8$ 개의 총 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포 또는 총 T 세포, (약)  $1 \times 10^5$  내지 (약)  $1.5 \times 10^8$ 개의 총 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포 또는 총 T 세포, (약)  $1 \times 10^5$  내지 (약)  $1 \times 10^8$ 개의 총 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포 또는 총 T 세포, (약)  $5 \times 10^5$  내지 (약)  $1 \times 10^7$ 개의 총 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포 또는 총 T 세포, 또는 (약)  $1 \times 10^6$  내지 (약)  $1 \times 10^7$ 개의 총 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포 또는 총 T 세포(각 수치 포함)의 투여를 포함한다.

[0261] 일부 구현예에서, 용량의 T 세포는  $CD4^+$  T 세포,  $CD8^+$  T 세포 또는  $CD4^+$  및  $CD8^+$  T 세포를 포함한다.

[0262] 일부 구현예에서, 세포, 예를 들어 제조합 수용체-발현 T 세포의 용량이 단일 용량으로 대상체에 투여되거나 2주, 1개월, 3개월, 6개월, 1년 이상의 기간 내에 1회만 투여된다.

[0263] 입양 세포 요법의 맥락에서, 주어진 “용량(dose)”의 투여는 단일 조성물 및/또는 단일 비중단 투여, 예를 들어 단일 주사 또는 연속 주입으로서 주어진 세포의 양 또는 수의 투여를 포괄하며, 또한 다중 개별 조성물 또는 주입체로 제공된 경우 지정된 기간에 걸쳐, 예컨대 3일 이내에 걸쳐 분할된 용량 또는 복수의 조성물로서 주어진 세포의 양 또는 수의 투여를 포괄한다. 따라서, 일부 맥락에서, 용량은 단일 시점에서 주어진 또는 개시된, 지정된 세포 수의 단일 또는 연속 투여이다. 그러나, 일부 맥락에서, 용량은 3일 동안 또는 2일 동안 하루에 한번 또는 하루의 기간에 걸쳐 다중 주입에 의한 것과 같이 3일 이내의 기간에 걸쳐 다중 주사 또는 주입으로 투여된다.

[0264] 따라서, 일부 측면에서, 용량의 세포는 단일 약학 조성물로 투여된다. 일부 구현예에서, 용량의 세포는 총체적으로 용량의 세포를 함유하는 복수의 조성물로 투여된다.

[0265] 일부 구현예에서, 용량의 세포는 복수의 조성물 또는 용액, 예컨대 제1 및 제2, 선택적으로 그 이상의 투여로 투여될 수 있고, 각각은 용량의 세포를 일부 함유한다. 일부 측면에서, 각각이 상이한 세포의 집단 및/또는 아형을 함유하는 복수의 조성물이 별도로 또는 독립적으로 선택적으로 특정 기간 내에 투여된다. 예를 들어, 세포의 집단 및/또는 아형은 각각  $CD8^+$  및  $CD4^+$  T 세포, 및/또는 각각  $CD8^-$  및  $CD4^-$ -농축된 집단, 예를 들어,  $CD4^+$  및/또는  $CD8^+$  T 세포를 포함할 수 있고 각각은 개별적으로 제조합 수용체를 발현하도록 유전자 조작된 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 용량의 투여는  $CD8^+$  T 세포의 용량 또는  $CD4^+$  T 세포의 용량을 포함하는 제1 조성물의 투여 및  $CD4^+$  T 세포 및  $CD8^+$  T 세포의 다른 용량을 포함하는 제2 조성물의 투여를 포함한다.

- [0266] 일부 구현예에서, 조성물 또는 용량의 투여, 예를 들어, 복수의 세포 조성물의 투여는 세포 조성물의 별도 투여를 수반한다. 일부 측면에서, 별도 투여는 동시에, 또는 임의의 순서로 순차적으로 수행된다. 일부 구현예에서, 별도 투여는  $CD8^+$  T 세포의 용량 또는  $CD4^+$  T 세포의 용량을 포함하는 제1 조성물 및  $CD4^+$  T 세포 및  $CD8^+$  T 세포의 다른 용량을 포함하는 제2 조성물을 임의의 순서로 투여함으로써 순차적으로 수행된다. 일부 구현예에서, 용량은 제1 조성물 및 제2 조성물을 포함하고, 제1 조성물 및 제2 조성물은 서로 48시간 내에, 예컨대 서로 36시간 이내 또는 서로 24시간을 넘지 않게 투여된다. 일부 구현예에서, 제1 조성물 및 제2 조성물은 (약) 0 내지 (약) 12시간 간격, (약) 0 내지 (약) 6시간 간격 또는 (약) 0 내지 (약) 2시간 간격으로 투여된다. 일부 구현예에서, 제1 조성물의 투여 개시 및 제2 조성물의 투여 개시는 (약) 2시간 이내, (약) 1시간 이내 또는 (약) 30분 이내의 간격, (약) 15분 이내, (약) 10분 이내 또는 (약) 5분 이내의 간격으로 수행된다. 일부 구현예에서, 제1 조성물의 투여 개시 및/또는 완료 및 제2 조성물의 투여 개시 및/또는 완료는 (약) 2시간 이내, (약) 1시간 이내 또는 (약) 30분 이내의 간격, (약) 15분 이내, (약) 10분 이내 또는 (약) 5분 이내의 간격으로 수행된다.
- [0267] 일부 조성물에서, 제1 조성물, 예를 들어, 용량의 제1 조성물은  $CD4^+$  T 세포를 포함한다. 일부 조성물에서, 제1 조성물, 예를 들어, 용량의 제1 조성물은  $CD8^+$  T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 조성물은 제2 조성물 전에 투여된다. 특정 구현예에서,  $CD8^+$  T 세포는  $CD4^+$  T 세포 전에 투여된다.
- [0268] 일부 구현예에서, 용량의 세포의 또는 세포 조성물은 재조합 수용체(예를 들어, CAR)를 발현하는  $CD4^+$  세포 대 재조합 수용체(예를 들어, CAR)를 발현하는  $CD8^+$  세포 및/또는  $CD4^+$  세포 대  $CD8^+$  세포의 정의된 비율 또는 표적 비율을 포함하고, 상기 비율은 선택적으로 대략 1:1이거나 대략 1:3 내지 대략 3:1 사이, 예컨대 대략 1:1이다. 일부 구현예에서, 용량의 세포 또는 세포 조성물은 재조합 수용체(예를 들어, CAR)를 발현하는  $CD4^+$  세포 대 재조합 수용체(예를 들어, CAR)를 발현하는  $CD8^+$  세포 및/또는  $CD4^+$  세포 대  $CD8^+$  세포의 정의된 비율 또는 표적 비율을 포함하고, 상기 비율은 대략 1:1이다. 일부 측면에서, 표적 비율 또는 원하는 비율의 상이한 세포의 집단(예컨대  $CD4^+ : CD8^+$  비율 또는  $CAR^+ CD4^+ : CAR^+ CD8^+$  비율, 예를 들어, 1:1)을 갖는 조성물 또는 용량의 투여는 집단들 중 하나를 함유하는 세포 조성물의 투여 후 집단들 중 다른 하나를 포함하는 별도의 세포 조성물의 투여를 수반하고, 상기 투여는 표적 비율 또는 원하는 비율이거나 대략적인 표적 비율 또는 원하는 비율로 수행된다. 일부 측면에서, 정의된 비율로 용량의 세포 또는 세포 조성물의 투여는 T 세포 요법의 증폭, 지속성 및/또는 항종양 활성의 향상으로 이어진다.
- [0269] 일부 구현예에서, 용량의 세포 또는 세포 조성물은 재조합 수용체를 발현하는  $CD4^+$  세포 대 재조합 수용체를 발현하는  $CD8^+$  세포 및/또는  $CD4^+$  세포 대  $CD8^+$  세포의 정의된 비율 또는 표적 비율을 포함하고, 상기 비율은 선택적으로 대략 1:1이다. 일부 측면에서, 표적 비율 또는 원하는 비율의 상이한 세포의 집단(예컨대  $CD4^+ : CD8^+$  비율 또는  $CAR^+ CD4^+ : CAR^+ CD8^+$  비율, 예를 들어, 1:1)을 갖는 조성물 또는 용량의 투여는 집단들 중 하나를 함유하는 세포 조성물의 투여 후 집단들 중 다른 하나를 포함하는 별도의 세포 조성물의 투여를 수반하고, 상기 투여는 표적 비율 또는 원하는 비율이거나 대략적인 표적 비율 또는 원하는 비율로 수행된다. 일부 측면에서, 정의된 비율로 용량의 세포 또는 세포 조성물의 투여는 T 세포 요법의 증폭, 지속성 및/또는 항종양 활성의 향상으로 이어진다.
- [0270] 특정 구현예에서, 세포의 수 및/또는 농도는 재조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 세포의 수 또는 이의 재조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포 또는  $CD3^+$  또는  $CD4^+$  및/또는  $CD8^+$  T 세포 서브세트의 수를 지칭한다. 일부 구현예에서, 세포의 수 및/또는 농도는 생존 세포인 상기 세포의 수를 지칭한다.
- [0271] 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 (약)  $5 \times 10^7$ 개의  $CD3^+CAR^+$  생존 세포이고, 이는 (약)  $2.5 \times 10^7$ 개의  $CD4^+CAR^+$  생존 세포 및 (약)  $2.5 \times 10^7$   $CD8^+CAR^+$  생존 세포의 별도 용량을 포함한다. 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 (약)  $1 \times 10^8$ 개의  $CD3^+CAR^+$  생존 세포이고, 이는 (약)  $5 \times 10^8$ 개의  $CD4^+CAR^+$  생존 세포 및 (약)  $5 \times 10^8$   $CD8^+CAR^+$  생존 세포의 별도 용량을 포함한다. 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포의 용량은 (약)  $1.5 \times 10^8$ 개의  $CD3^+CAR^+$  생존 세포이고, 이는 (약)  $0.75 \times 10^8$ 개의  $CD4^+CAR^+$  생존 세포 및 (약)  $0.75 \times 10^8$   $CD8^+CAR^+$  생존 세포의 별도 용량을 포함한다.

[0272] C. 반응, 효능, 및 생존

[0273] 일부 구현예에서, 상기 투여는 대상체가 다른 요법에 실패했고, 이에 불응성이 되었고 및/또는 이에 대해 내성이 있게 되었다더라도 대상체를 효과적으로 치료한다. 일부 구현예에서, 상기 투여는 대상체가 다른 요법에 불응성이 되었다더라도 대상체를 효과적으로 치료한다. 일부 구현예에서, 상기 투여는 대상체가 다른 요법에 내성이 있게 되었다더라도 대상체를 효과적으로 치료한다. 일부 구현예에서, 본 방법에 따라 치료받은 대상체의 적어도 30%는 완전 관해(CR)를 달성하고/거나; 본 방법에 따라 치료받은 대상체의 적어도 약 75%는 객관적 반응(OR)을 달성한다. 일부 구현예에서, 본 방법에 따라 치료받은 대상체의 적어도 (약) 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60% 또는 그 이상은 CR을 달성하고/거나 적어도 (약) 50%, 60%, 70%, 또는 80%는 객관적 반응(OR)을 달성한다. 일부 구현예에서, 본 방법에 따라 치료받은, 선행 BTK 억제제(예를 들어, 이브루티닙) 요법 및 베네토클락스 둘 모두에 실패한 대상체의 적어도 30%는 완전 관해(CR)를 달성하고/거나; 본 방법에 따라 치료받은, 선행 BTK 억제제(예를 들어, 이브루티닙) 요법 및 베네토클락스 둘 모두에 실패한 대상체의 적어도 약 75%는 객관적 반응(OR)을 달성한다. 일부 구현예에서, 본 방법에 따라 치료받은, 선행 BTK 억제제(예를 들어, 이브루티닙) 요법 및 베네토클락스 둘 모두에 실패한 대상체의 적어도 (약) 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60% 또는 그 이상은 CR을 달성하고/거나 적어도 (약) 50%, 60%, 70%, 또는 80%는 객관적 반응(OR)을 달성한다. 일부 구현예에서, 효과적인 치료에 대해 평가한 기준은 전체 반응률(ORR; 일부 경우에 객관적 반응률로도 공지됨), 완전 반응(CR; 일부 경우에 완전 관해로도 공지됨), 혈구 수 회복이 불완전한 완전 관해(CR<sub>i</sub>), 안정한 질병(SD), 및/또는 부분 병변(PD)을 포함한다.

[0274] 일부 구현예에서, 진행되기 이전의 반응 지속기간은 1개월 초과, 2개월 초과, 3개월 초과, 6개월 초과 또는 그 이상 동안이다. 일부 구현예에서, 본원에 제공된 방법에 따라서 치료받은 대상체의 적어도 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60% 또는 그 이상은 세포 요법의 투여 후 (약) 3개월에 또는 (약) 6개월에 완전 관해(CR; 일부 경우에 완전 관해로도 공지됨)를 달성한다.

[0275] 일부 측면에서, 제공된 방법, 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물에 부합되는 투여는 일반적으로 대상체에서 질병 또는 병태의 증폭 또는 부담을 감소시키거나 방지한다. 예를 들어, 질병 또는 병태가 종양인 경우, 본 방법은 일반적으로 골수 또는 분자적으로 검출 가능한 암에서 종양 크기, 규모, 전이, 아세포(blast)의 백분율을 감소시키고/거나 예후 또는 생존 또는 종양 부담과 관련된 다른 증상을 개선한다.

[0276] 질병 부담은 대상체 내에서 또는 종양 또는 예를 들어, 전이를 나타내는 다른 위치의 기관 또는 조직과 같은 대상체의 기관, 조직 또는 체액 내에서 질병이 있는 세포의 총 수를 포함할 수 있다. 예를 들어, 종양 세포는 특정 혈액성 악성 종양의 맥락에서 혈액 또는 골수에서 검출 및/또는 정량화될 수 있다. 일부 구현예에서, 질병 부담은 종양의 질량, 전이의 수 또는 범위 및/또는 골수에 존재하는 아세포의 백분율을 포함할 수 있다.

[0277] 일부 구현예에서, 대상체는 백혈병에 걸려 있다. 질병 부담의 정도는 혈액 또는 골수 내 잔류 백혈병의 평가에 의해 결정될 수 있다.

[0278] 일부 측면에서, CLL을 가진 대상체와 같은 대상체에서의 반응율은 만성 림프구성 백혈병에 대한 국제 워크숍(International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia, IWCLL) 반응 기준에 기초한다(Hallek, et al., Blood 2008, Jun 15; 111(12): 5446-5456). 일부 측면에서, CLL을 가진 대상체와 같은 대상체에서의 반응율은 만성 림프구성 백혈병에 대한 국제 워크숍(International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia, IWCLL) 반응 기준에 기초한다(Hallek et al., Blood 2018 131 (25): 2745-2760). 일부 측면에서, 상기 기준은 다음과 같이: 일부 측면에서 면역 표현형에 의한 말초 혈액 클론성 림프구의 부재, 림프절병(lymphadenopathy)의 부재, 간 비대 또는 비장 비대의 부재, 전신 증상의 부재 및 충분한 혈액 수를 요구하는, 완전 관해(CR, 일부 경우에 완전 관해로도 공지됨); 일부 측면에서 상기 CR로 기술되나 정상적인 혈구 수를 갖지 않는, 골수 회복이 불완전한 완전 관해(CR<sub>i</sub>); 일부 측면에서 말초 혈구 수에서의 개선과 함께, 림프구 수에서 ≥ 50% 하락, 림프절병에서 ≥ 50% 감소 또는 간 또는 비장에서 ≥ 50% 감소로 기술되는, 부분 관해(PR; 일부 경우에 부분 반응으로도 공지됨); 일부 측면에서 림프구 수에서 > 5 x 10<sup>9</sup>/L까지의 ≥ 50% 상승, 림프절병에서 ≥ 50% 증가, 간 또는 비장 크기에서 ≥ 50% 증가, 리히터 형질전환(Richter's transformation) 또는 CLL로 인한 새로운 혈구 감소증(cytopenia)으로 기술되는, 진행성 질병(progressive disease, PD); 일부 측면에서 CR, CR<sub>i</sub>, PR 또는 PD에 대한 기준을 충족하지 않는 것으로 기술되는, 안정한 질병;으로 기술된다.

[0279] 일부 구현예에서, 대상체는 용량의 세포 투여 후 1개월 이내에, 대상체의 림프절 크기가 (약) 20mm 미만, (약) 10mm 미만 또는 (약) 10mm 미만인 경우 CR 또는 OR을 나타낸다.



- [0280] 일부 구현예에서, CLL의 지표 클론은 대상체의 골수에서(또는 본 방법에 따라 치료받은 대상체의 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 이상의 골수에서) 검출되지 않는다. 일부 구현예에서, CLL의 지표 클론은 IgH 심층 염기서열분석(deep sequencing)에 의해 평가된다. 일부 구현예에서, 지표 클론은 세포의 투여 후 (약) 또는 적어도 (약) 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 18 또는 24개월의 시점에 검출되지 않는다.
- [0281] 일부 구현예에서, 대상체는, 예를 들어 광학 현미경에 의해 검출된 바와 같이, 골수에서 5% 이상의 아세포, 예컨대 골수에서 10% 이상의 아세포, 골수에서 20% 이상의 아세포, 골수에서 30% 이상의 아세포, 골수에서 40% 이상의 아세포 또는 골수에서 50% 이상의 아세포가 존재할 경우 형태학적 질병을 나타낸다. 일부 구현예에서, 골수에 5% 이상의 아세포(blast)가 있을 경우, 대상체는 형태학적 질병을 나타낸다. 일부 구현예에서, 골수에 5% 미만의 아세포가 있을 경우, 대상체는 완전 반응 또는 임상적 관해를 나타낸다.
- [0282] 일부 구현예에서, 대상체는 백혈병에 걸려 있다. 질병 부담의 정도는 혈액 또는 골수 내 잔류 백혈병의 평가에 의해 결정될 수 있다.
- [0283] 일부 구현예에서, 대상체는, 예를 들어 광학 현미경에 의해 검출된 바와 같이, 골수에서 5% 이상의 아세포, 예컨대 골수에서 10% 이상의 아세포, 골수에서 20% 이상의 아세포, 골수에서 30% 이상의 아세포, 골수에서 40% 이상의 아세포 또는 골수에서 50% 이상의 아세포가 존재할 경우 형태학적 질병을 나타낸다. 일부 구현예에서, 골수에 5% 이상의 아세포(blast)가 있을 경우, 대상체는 형태학적 질병을 나타낸다. 일부 구현예에서, 골수에 5% 미만의 아세포가 있을 경우, 대상체는 완전 반응 또는 임상적 관해를 나타낸다.
- [0284] 일부 구현예에서, 대상체는 완전 반응을 나타낼 수 있으나, 형태학적으로 검출 불가능한(광학 현미경 기술에 의한) 작은 비율의 잔류 백혈병 세포가 존재한다. 대상체가 골수에서 5% 미만의 아세포를 나타내고 분자적으로 검출 가능한 암을 나타내는 경우 대상체는 최소 잔류 질병(minimum residual disease, MRD)을 나타낸다고 말한다. 일부 구현예에서, 분자적으로 검출 가능한 암은 소수 세포의 민감한 검출이 가능한 다양한 임의의 분자 기술을 사용하여 산정될 수 있다. 일부 측면에서, 상기 기술은 염색체 전좌(chromosome translocation)에 의해 생성된 유일한 Ig/T-세포 수용체 유전자 재배열 또는 융합 전사물을 결정할 수 있는 PCR 분석을 포함한다. 일부 구현예에서, 유세포 분석은 백혈병 특이적 면역 표현형에 기초한 암 세포 식별에 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 암의 분자적 검출은 100,000개 정상 세포 중에서 1개의 백혈병 세포만큼 적은 수를 검출할 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 예컨대 PCR 또는 유세포 분석에 의해, 100,000개 세포 중에서 적어도 1개 이상의 백혈병 세포가 검출되는 경우, 분자적으로 검출 가능한 MRD를 나타낸다. 일부 구현예에서, 대상체의 질병 부담은 일부 경우에 PCR 또는 유세포 분석 기술을 사용하여 대상체에서 백혈병 세포를 검출할 수 없는 정도로, 분자적으로 검출 가능하지 않거나 MRD<sup>-</sup>이다.
- [0285] 일부 구현예에서, 백혈병(예를 들어, CLL)의 지표 클론은 대상체의 골수(또는 본 방법에 따라 치료된 대상체의 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 이상을 초과한 골수)에서 검출되지 않는다. 일부 구현예에서, 백혈병(예를 들어, CLL)의 지표 클론은 IGH 심층 염기서열분석(deep sequencing)에 의해 평가된다. 일부 구현예에서, 지표 클론은 세포의 투여 후 (약) 또는 적어도 (약) 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 18 또는 24개월의 시점에 검출되지 않는다.
- [0286] 일부 측면에서, MRD는 유세포 분석에 의해 검출된다. 유세포 분석은 골수 및 말초 혈액 샘플에서 암 세포를 모니터링하는 데 사용될 수 있다. 특정 측면에서, 유세포 분석은 골수에서 암 세포의 존재를 검출 또는 모니터링하는 데 사용된다. 일부 측면에서, 유세포 분석에 의한 다중 파라미터 면역 검출이 암 세포 검출에 사용된다(예를 들어, 문헌[Coustan-Smith et al., (1998) *Lancet* 351:550-554] 참조). 일부 측면에서, 질량세포 분석(mass cytometry)에 의한 다중 파라미터 면역 검출이 암 세포 검출에 사용된다. 일부 예에서, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 또는 50개 파라미터가 암 세포 검출에 사용될 수 있다. 검출에 사용되는 항원은 검출되는 암에 기초하여 선택된다(Foon and Todd (1986) *Blood* 68:1-31). 일부 구현예에서, MRD는 말초 혈액 또는 골수에서 CLL의 증거가 없는 대상체, 즉, 잔류 림프절병 또는 비장 비대에 기초하여 CR 또는 PR로 설명된다. 일부 측면에서, MRD는 말초 혈액의 유세포 분석과 골수의 IgHV 심층 염기서열 분석을 통해 측정된다.
- [0287] 일부 예에서, 골수 흡인물 또는 골수 생검에 의해 골수가 수확되고, 분석을 위해 림프구가 단리된다. 단리된 림프구에서 형광 색소(예를 들어, 플루오레세인 이소티오시아네이트(FITC), 피코에리트린, 페리딘 염록소 단백질, 또는 비오틴)에 접합된 단클론 및/또는 다클론 항체를 사용하여 말단 디옥시뉴클레오타이드 전달효소(TdT), CD3, CD10, CD11c, CD13, CD14, CD33, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD34, CD45, CD56, CD79b, IgM, 및/또는 KORS3544와 같은 에피토프를 검출할 수 있다. 그런 후 다중 파라미터 유세포 분석, 또는 질량세포 분석과

같은 유세포 분석을 사용하여 표지된 세포를 검출하여 다수의 에피토프를 검출할 수 있다.

[0288]

림프성 세포를 식별하여 빛 산란 점도표에 기초하여 게이팅한 후 2차로 게이팅하여 관심 있는 면역 표현형 특징을 발현하는 세포 집단을 식별할 수 있다. 예시적인 에피토프가 아래 표 2에 제시된다. 백혈병과 림프종의 다른 면역학적 분류가 Foon 및 Todd에 의해 제공된다(Blood (1986) 68(1): 1-31). 일부 측면에서, MRD의 유세포 분석 평가는 하나 이상의 CLL 면역 표현형(예를 들어, 낮은 전방/측방 산란; CD3<sup>neg</sup>; CD5<sup>+</sup>; CD14<sup>neg</sup>; CD19<sup>+</sup>; CD23<sup>+</sup>; CD45<sup>+</sup>; CD56<sup>neg</sup>)을 가진 생 림프구를 정량화하여 달성될 수 있다.

표 2

[0289]

표 2. 예시적인 면역 표현형 및 세포 유전학적 특성		
질병	면역 표현형	세포 유전학
만성 림프구성 백혈병 (CLL)	Pan-B+; CD5+; CD23+; CD79b/CD22 약함; sIg 약함	Trisomy12 del(13)(q14.3) del 11q22-q23 del 17p13 (p53) t(11;14)(q13;q32) BCL1/IgH 재배열 t(14;19)(q32;q13) IgH 결실 (14q32) del(6q) +8q24 +3 +18 del 6q21
소형 림프구성 림프종 (SLL)	Pan-B+; CD5+; CD23+; CD10-; sIgM+ 미약함	del(6)(q21-23)
+: 케이스의 >90%에서 양성 +/-: 케이스의 50% 초과에서 양성 -/+ : 케이스의 50% 미만에서 양성 -: 케이스의 <10%에서 양성 Pan-B 마커: 예를 들어, CD19, CD20, CD79a sIG: 표면 면역글로불린 cyIg: 세포질 면역글로불린		

[0290]

일부 측면에서, 수확된 B 세포의 면역글로불린 중쇄(IGH) 자리의 심층 염기서열분석을 사용하여 최소 잔류 질병(MRD)을 검출할 수 있다. 특정 IgG 재배열의 클론의 존재는 CLL과 같은 B 세포 악성 종양의 존재 및/또는 이의 악성 종양 세포의 잔류 존재를 검출하기 위한 마커를 제공할 수 있다. 일부 측면에서, B 세포를 함유하거나 함유하는 것으로 의심되는 집단과 같은 세포를 혈액으로부터 수확하고 분리한다. 일부 측면에서, 골수로부터, 예를 들어, 골수 흡입물 또는 골수 생검으로부터 및/또는 다른 생물학적 샘플로부터 세포를 수확하고 분리한다. 일부 측면에서, 상보성 결정 영역 3(CDR3)의 중합효소연쇄반응(PCR) 증폭이 유전자 자리의 V 및 J 영역 내 고 보존 서열에 프라이머를 사용하여 달성되며, 이는 최소 잔류 질병을 평가하는 목적으로 세포의 클론 집단을 식별하는 데 사용될 수 있다. 특정 계통의 세포 및/또는 클론 집단과 같은 가변 중쇄 또는 이의 결합 부위와 같은 특정 가변 사슬을 발현하는 세포의 수에 관한 정보를 제공하는 것을 포함하여, 단일 세포 염기서열분석 접근법과 같은 클론 집단을 검출하는 다른 방법이 사용될 수 있다. 일부 측면에서, 퇴화 프라이머 또는 IGH 서열의 공통 V 및 퇴화 공통 J 영역을 인식하는 것과 같이 상이한 세포 클론들 사이에서 공유된 가변 사슬의 영역들을 인식하는 프라이머를 사용하여 IGH DNA가 증폭된다. V 영역의 예시적인 서열은 ACACGGCTCGTATTACTGT(서열번호 57)이다. J 영역의 예시적인 퇴화 공통 서열은 ACCTGAGGAGACGGTGACC(서열번호 58)이다.

[0291]

일부 측면에서, PCR 산물 또는 염기서열분석 결과는 재배열된 대립유전자에 특이적이고 MRD 검출을 위한 클론 마커로 기능한다. CDR3 영역의 PCR 증폭 후, PCR 산물을 염기서열분석하여 CAR-T 세포 요법(예를 들어, CD19 CAR-T 세포 요법)으로 B-세포 악성 종양의 치료 후 MRD의 민감성 검출에 대한 대립유전자-특이적 PCR을 위한 프로토프로 작제된 환자-특이적 올리고뉴클레오타이드를 산출할 수 있다. PCR 산물이 공통 프라이머를 사용하여 생성되지 않는 예에서, 프레임워크 영역 1에 대한 V 영역 측-특이적 프라이머를 대신 사용할 수 있다.

- [0292] 일부 측면에서, 치료 후, PCR-검출 가능 종양 세포 예컨대 B 세포 악성 종양의 세포 예컨대 CLL, 예컨대 악성 또는 클론 IGH 서열에 상응하는 검출 가능한 IGH 서열의 지속은 재발의 위험 증가와 관련된다. 일부 측면에서, 치료 후 악성 IGH 서열에 음성인 환자(일부 측면에서, 확장된 림프절의 지속과 같은 진행성 질병 또는 부분 관해만을 나타내는 다른 기준 또는 일부 맥락에서 질병 또는 완전 관해의 결여와 관련될 수 있는 다른 기준의 맥락에서)는 지속성 악성 IGH 서열을 가진 환자와 비교하여, CR 또는 오래 지속되는 CR 또는 장기간 생존으로 들어갈 가능성이 증가하는 것으로 간주될 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 예후 및 병기 결정은 예를 들어 림프절 크기 또는 다른 병기 결정 기준과 같은 다른 임상적 증상의 해결과 비교하여, 요법의 투여 후 짧은 기간 내에 악성 세포의 클리어런스가 관찰되는 치료에 특히 적절하다. 예를 들어, 상기 일부 측면에서, 골수와 같은 샘플에서 검출 가능한 IGH 또는 최소 잔류 질병의 부재는 다른 이용 가능한 병기 결정 또는 예후 접근법과 비교하여 반응 또는 반응 가능성 또는 이의 지속성에 대한 바람직한 관독 정보일 수 있다. 일부 측면에서, MRD의 결과 예를 들어 IGH 심층 염기서열분석 정보는 추가 개입 또는 이의 부족에 대한 정보를 제공할 수 있다. 예를 들어, 일부 맥락에서 본 방법 및 다른 제공된 구현예는 악성 IGH에 음성으로 여겨지는 대상체가 일부 측면에서 더 치료받지 않을 수 있을지 또는 제공된 요법의 용량을 투여받지 않을 수 있을지, 또는 대상체가 더 낮은 또는 감소된 용량을 투여받을 수 있을지를 제공한다. 역으로, IGH 심층 염기서열분석을 통해 MRD를 나타내는 대상체는 예를 들어 유사한 또는 더 높은 용량으로 최초로 실시된 요법으로 또는 추가 치료로 더 치료받도록 제공되거나 지정될 수 있다. 일부 측면에서, 질병 또는 병태가 제1 용량의 투여 후 지속되고/거나 제1 용량의 투여는 대상체에서 질병 또는 병태를 근절하기에 충분하지 않다.
- [0293] 일부 구현예에서, 대상체가 하나 이상의 대체 치료제를 받는 것 및/또는 대상체가 제공된 방법, 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물에 부합되게 세포의 용량 및/또는 림프구 고갈제를 맞지 않는 것과 같이 대체 투약 요법을 사용하는 비교대상 방법에서 관찰될 수 있는 감소와 비교하여, 본 방법은 질병 또는 병태의 부담(예를 들어, 종양 세포의 수, 종양의 크기, 환자의 생존 또는 무사건 생존 기간)을 감소시킨다. 일부 구현예에서, 대상체에서 질병 또는 병태의 부담을 검출, 평가 또는 측정한다. 질병 부담은 일부 측면에서 대상체 내, 또는 대상체의 기관, 조직 또는 체액, 예컨대 혈액 또는 혈청 내의 질병 또는 질병 관련 세포, 예를 들어, 종양 세포의 총 수를 검출하여 검출할 수 있다. 일부 측면에서, 대상체의 생존, 특정 기간 내의 생존, 생존의 정도, 무사건 또는 무증상 생존의 존재 또는 기간, 또는 재발 없는 생존을 평가한다. 일부 구현예에서, 질병 또는 병태의 임의의 증상을 평가한다. 일부 구현예에서, 질병 또는 병태 부담의 측정이 지정된다.
- [0294] 일부 구현예에서, 본 방법에 의한 치료 후, 재발 확률은, 다른 방법, 예를 들어 대상체가 하나 이상의 대체 치료제를 받는 것이 특징인 방법 및/또는 대상체가 제공된 방법, 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물에 부합되게 세포의 용량 및/또는 림프구 고갈제를 맞지 않는 것이 특징인 방법과 비교하여 감소된다.
- [0295] 일부 경우에, 투여된 세포의 이용률, 예를 들어, 생체이용률을 평가하기 위해 투여된 세포, 예를 들어, 입양으로 전달된 세포의 약동학적 특성(PK)이 측정된다. 입양으로 전달된 세포의 약동학적 특성을 측정하는 방법은 조작된 세포를 투여받은 대상체로부터 말초 혈액을 채혈하는 것과 말초 혈액에서 조작된 세포의 수 또는 비율을 측정하는 것을 포함한다. 세포를 선택 및/또는 단리하는 접근법은 키메라 항원 수용체(CAR)-특이적 항체의 사용(예를 들어, Brentjens et al., *Sci. Transl. Med.* 2013 Mar; 5(177): (177ra38) Protein L (Zheng et al., *J. Transl. Med.* 2012 Feb; 10:29)), 에피토프 표지, 예컨대 CAR 내 특이적 부위로 직접 도입되는 Strep-Tag 서열의 사용을 포함하며, 이로써 Strep-Tag를 위한 결합 시약이 사용되어 CAR(Liu et al. (2016) *Nature Biotechnology*, 34:430; 국제 특허 출원 공개 번호 W02015095895)을 직접 산정하고 그리고 CAR 폴리펩타이드에 특이적으로 결합하는 단클론 항체를 직접 산정한다(국제 특허 출원 공개 번호 W02014190273 참조). 외인성 마커 유전자는 일부 경우에 세포의 검출 또는 선택을 가능하게 하도록, 일부 경우에 또한 세포 자살을 촉진하도록, 조작된 세포 요법과 관련하여 사용될 수 있다. 일부 경우에 절단형 표피 성장 인자 수용체(epidermal growth factor receptor, EGFRt)는 형질도입된 세포에서 관심 전이 유전자(CAR 또는 TCR)와 함께 공발현될 수 있다(예를 들어, 미국 특허 번호 8,802,374 참조). EGFRt는 항체 세톡시맵(Erbix®) 또는 다른 치료용 항-EGFR 항체 또는 결합 분자에 의해 인식되는 에피토프를 함유할 수 있으며, 이는 EGFRt 작제물 및 다른 재조합 수용체, 예컨대 키메라 항원 수용체(CAR)로 조작된 세포를 식별 또는 선택하기 위해 및/또는 상기 수용체를 발현하는 세포를 제거 또는 분리하기 위해 사용될 수 있다. 문헌[미국 특허 번호 8,802,374 및 Liu et al., *Nature Biotech.* 2016 April; 34(4): 430-434]을 참조한다.
- [0296] 일부 구현예에서, 환자로 부터 수득된 생물학적 샘플(예를 들어, 혈액) 내 CAR<sup>+</sup> T 세포의 수를 세포 요법의 투여 후 일정 기간에 측정하여 예를 들어 세포의 약동학적 특성을 결정할 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체의 혈액

에서, 또는 본 방법에 의해 치료받은 대상체의 대부분에서 검출 가능한 CAR<sup>+</sup> T 세포, 선택적으로 CAR<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 세포 및/또는 CAR<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T 세포의 수는 1개 세포/ $\mu$ L 초과, 5개 세포/ $\mu$ L 초과 또는 10개 세포/ $\mu$ L 초과이다.

[0297] **D. 독성**

[0298] 일부 구현예에서, 제공된 방법은, 대체 CAR<sup>+</sup> T 세포 조성물과 같은 대체 세포 요법의 투여 및/또는 대체 세포의 투약(예를 들어, 정의된 비율로 투여되지 않는 세포의 투약)과 비교하여, 낮은 비율 및/또는 낮은 정도의 독성, 독성 결과 또는 증상, 독성-촉진 프로파일, 인자, 또는 특성, 예컨대 사이토카인 방출 증후군(CRS) 또는 신경 독성과 관련된 또는 이를 나타내는 증상 또는 결과를 초래하는 특징을 포함하도록 고안된다.

[0299] 일부 구현예에서, 제공된 방법은, 예컨대 다른 특정 세포 요법과 비교하여, 독성 또는 독성 결과의 높은 비율 또는 가능성을 초래하지 않거나, 또는 독성 또는 독성 결과, 예컨대 신경 독성(NT) 또는 사이토카인 방출 증후군(CRS)의 비율 또는 가능성을 낮춘다. 일부 구현예에서, 본 방법은 중증 NT(sNT), 중증 CRS(sCRS), 대식 세포 활성화 증후군, 중앙 용해 증후군, 3일 이상 동안 적어도 (약) 섭씨 38도 이상의 열 및 적어도 (약) 20mg/dL의 CRP의 혈장 수준을 초래하지 않거나, 이의 위험을 증가시키지 않는다. 일부 구현예에서, 제공된 방법에 따라 치료받은 대상체의 (약) 30%, 35%, 40%, 50%, 55%, 60% 또는 그 이상이 어느 등급의 CRS든 또는 어느 등급의 신경 독성이든 나타나지 않는다. 일부 구현예에서, 치료받은 대상체의 50% 이내(예를 들어, 치료받은 대상체의 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 그 이상)가 2급보다 높은 사이토카인 방출 증후군(CRS) 및/또는 2급보다 높은 신경 독성을 나타낸다. 일부 구현예에서, 본 방법에 따라 치료받은 대상체의 적어도 50% 이상(예를 들어, 치료받은 대상체의 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 그 이상)이 중증 독성 결과(예를 들어, 중증 CRS 또는 중증 신경 독성)를 나타내지 않고, 예컨대 3급 이상의 신경 독성을 나타내지 않고/거나 중증 CRS를 나타내지 않고, 또는 치료 이후 특정 기간 이내에, 예컨대 세포의 투여 후 1주, 2주, 또는 1개월 이내에 나타나지 않는다. 일부 구현예에서, 제공된 방법에 따라 치료받은, 선행 BTK 억제제(예를 들어, 이브루티닙) 요법 및 베네토클락스 둘 모두에 실패한 대상체의 (약) 30%, 35%, 40%, 50%, 55%, 60% 또는 그 이상이 어느 등급의 CRS든 또는 어느 등급의 신경 독성이든 나타나지 않는다. 일부 구현예에서, 치료받은 대상체의 50% 이내(예를 들어, 선행 BTK 억제제(예를 들어, 이브루티닙) 요법 및 베네토클락스 둘 모두에 실패한 치료받은 대상체의 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 그 이상)가 2급보다 높은 사이토카인 방출 증후군(CRS) 및/또는 2급보다 높은 신경 독성을 나타낸다. 일부 구현예에서, 본 방법에 따라 치료받은, 선행 BTK 억제제(예를 들어, 이브루티닙) 요법 및 베네토클락스 둘 모두에 실패한 대상체의 적어도 50% 이상(예를 들어, 치료받은 대상체의 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 그 이상)이 중증 독성 결과(예를 들어, 중증 CRS 또는 중증 신경 독성)를 나타내지 않고, 예컨대 3급 이상의 신경 독성을 나타내지 않고/거나 중증 CRS를 나타내지 않고, 또는 치료 이후 특정 기간 이내에, 예컨대 세포의 투여 후 1주, 2주, 또는 1개월 이내에 나타나지 않는다. 일부 구현예에서, 특정 독성을 결정하기 위해 평가하는 파라미터에는 이상 반응(AE), 치료로 유발된 이상 반응, 용량 제한 독성(DLT), CRS, 신경학적 사건 및 NT.

[0300] 키메라 항원 수용체를 발현하는 T 세포를 이용한 치료와 같은 입양 T 세포 요법의 투여는 사이토카인 방출 증후군 및 신경 독성과 같은 독성 효과 또는 결과를 포함할 수 있다. 일부 예에서, 상기와 같은 효과 또는 결과는 관찰된 독성의 기초가 될 수 있는 높은 수준의 순환 사이토카인에 필적한다.

[0301] 일부 측면에서, 독성 결과는 사이토카인 방출 증후군(CRS) 또는 중증 CRS(sCRS)이거나 이와 관련이 있거나 이를 나타낸다. CRS, 예를 들어, sCRS는 일부 경우에 입양 T 세포 요법 및 대상체에 다른 생물학적 산물의 투여 이후에 발생할 수 있다. 문헌[Davila et al., *Sci Transl Med* 6, 224ra25 (2014); Brentjens et al., *Sci. Transl. Med.* 5, 177ra38 (2013); Grupp et al., *N. Engl. J. Med.* 368, 1509-1518 (2013); 및 Kochenderfer et al., *Blood* 119, 2709-2720 (2012); Xu et al., *Cancer Letters* 343 (2014) 172-78]을 참조한다.

[0302] 통상적으로, CRS는 예를 들어 T 세포, B 세포, NK 세포, 단핵구, 및/또는 대식 세포에 의해 매개되는 과도한 전신 면역 반응에 의해 일어난다. 상기 세포들은 사이토카인 및 케모카인과 같은 많은 양의 염증성 매개인자를 방출할 수 있다. 사이토카인은 급성 염증 반응을 촉발할 수 있고/거나 내피 기관 손상을 유도할 수 있으며, 이는 미세 혈관 누출, 심부전, 또는 사망을 초래할 수 있다. 중증의 생명을 위협하는 CRS는 폐침윤 및 폐손상, 신부전, 또는 과중성 혈관내 응고로 이어질 수 있다. 다른 중증의 생명을 위협하는 독성에는 심장 독성, 호흡곤란, 신경학적 독성 및/또는 간부전이 포함될 수 있다.

[0303] CRS는 항-염증 요법 예컨대 항-IL-6 요법, 예를 들어, 항-IL-6 항체, 예를 들어, 토실리주맙, 또는 항생제 또는 기술된 바와 같은 다른 제제를 사용하여 치료될 수 있다. CRS의 결과, 징후 및 증상은 공지되어 있으며 본원에

기술된 것들이 포함된다. 일부 구현예에서, 특정 투여량 요법 또는 투여가 주어진 CRS-관련 결과, 징후, 또는 증상에 효과가 있거나 효과가 없는 경우, 특정 결과, 징후, 및 증상 및/또는 이의 수량 또는 정도가 지정될 수 있다.

[0304] CAR 발현 세포를 투여하는 맥락에서, CRS는 통상적으로 CAR을 발현하는 세포의 주입 후 6 내지 20일에 발생한다. 문헌[Xu et al., Cancer Letters 343 (2014) 172-78]을 참조한다. 일부 경우에, CRS는 CAR T 세포 주입 후 6일 미만 또는 20일 넘어서 발생한다. CRS의 발생률 및 시기는 주입 시점의 기준선 사이토카인 수준 또는 종양 부담과 관련이 있을 수 있다. 보통으로, CRS는 인터페론(IFN)- $\gamma$ , 종양 괴사 인자(TNF)- $\alpha$ , 및/또는 인터루킨(IL)-2의 혈청 수준 상승을 수반한다. CRS에서 급속하게 유도될 수 있는 다른 사이토카인은 IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, 및 IL-10이다.

[0305] CRS와 관련된 예시적인 결과에는 열, 경직, 오한, 저혈압, 호흡장애, 급성 호흡곤란 증후군(ARDS), 뇌병증, ALT/AST 상승, 신부전, 심장 장애, 저산소증, 신경계 장애, 및 사망이 포함된다. 신경계 합병증에는 섬망, 발작 유사 활성화, 착란상태, 단어 찾기 장애, 실어증, 및/또는 둔감해짐 등이 있다. 다른 CRS 관련 결과에는 피로, 구역질, 두통, 발작, 심계항진, 근육통, 발진, 급성 혈관 누출 증후군, 간 기능 장애, 및 신부전이 포함된다. 일부 측면에서, CRS는 혈청 페리틴, d-2량체, 아미노기 전달효소, 젖산 탈수소효소 및 트리글리세리드와 같은 하나 이상의 인자의 증가와 관련되거나 또는 저섬유소원혈증 또는 간비장비대증과 관련된다. CRS와 관련된 다른 예시적인 징후 또는 증상에는 혈류역학적 불안정, 열성 호중구 감소증, 혈청 C 반응성 단백질(CRP)의 증가, 응고 파라미터(예를 들어, 국제 표준화 비율(INR), 프로트롬빈 시간(PTI) 및/또는 피브리노겐)의 변화, 및/또는 절대 호중구 수(ANC)가 포함된다.

[0306] 일부 구현예에서, CRS와 관련된 결과는: 지속적인 열, 예를 들어, 2일 이상, 예를 들어, 3일 이상, 예를 들어, 4일 이상 또는 적어도 3연속일 이상 동안, 지정된 온도(예를 들어, (약) 섭씨 38도를 넘는 열; (약) 섭씨 38도를 넘는 열; 적어도 둘 이상의 사이토카인(예를 들어, 인터페론 감마(IFN $\gamma$ ), GM-CSF, IL-6, IL-10, F1t-3L, 프랙탈카인, 및 IL-5, 및/또는 종양 괴사 인자 (TNF $\alpha$ )로 구성된 군 중 적어도 둘 이상)의 치료전 수준, 또는 예를 들어, 상기 사이토카인들 중 적어도 하나 이상의 적어도 (약) 250의 최대 배수 변화와 비교하여, 예를 들어, 적어도 (약) 75의 최대 배수 변화와 같은 사이토카인의 상승; 및/또는 저혈압(예를 들어, 적어도 하나 이상의 정맥 혈관 수압제에 의해 측정된 바와 같음)과 같은 적어도 하나 이상의 임상적 독성 징후; 저산소증(예를 들어, (약) 90% 미만의 혈장 산소(PO<sub>2</sub>) 수준); 및/또는 (정신 상태 변화, 둔감, 및 발작을 포함한) 하나 이상의 신경 장애 중 하나 이상을 포함한다.

[0307] 예시적인 CRS 관련 결과는 사이토카인과 케모카인, 및 CRS와 관련된 다른 인자를 포함하여 하나 이상의 인자의 증가된 또는 높은 혈청 수준을 포함한다. 예시적인 결과는 상기 인자들 중 하나 이상의 합성 또는 분비의 증가를 더 포함한다. 상기 합성 또는 분비는 T 세포, 또는 선천 면역 세포 또는 B 세포와 같이 T 세포와 상호작용하는 세포에 의한 것일 수 있다.

[0308] 일부 구현예에서, CRS와 관련된 혈청 인자 또는 CRS 관련 결과는 인터페론 감마(IFN- $\gamma$ ), TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, sIL-2Ra, 과립구 대식 세포 집락 자극 인자(GM-CSF), 대식 세포 염증성 단백질(MIP)-1, 종양 괴사 인자 알파(TNF $\alpha$ ), IL-6, 및 IL-10, IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-2, MIP-1, F1t-3L, 프랙탈카인, 및/또는 IL-5를 포함한, 염증성 사이토카인 및/또는 케모카인을 포함한다. 일부 구현예에서, 인자 또는 결과는 C 반응성 단백질(CRP)을 포함한다. 초기에 그리고 쉽게 측정 가능한 CRS 위험 인자인 것에 더하여, CRP는 또한 세포 증폭에 대한 마커이다. 일부 구현예에서, 높은 수준의 CRP, 예컨대  $\geq 15\text{mg/dL}$ 을 가진 것으로 측정되는 대상체는 CRS를 가지고 있다. 일부 구현예에서, 높은 수준의 CRP를 가진 것으로 측정된 대상체는 CRS를 가지고 있지 않다. 일부 구현예에서, CRS의 측정은 CRP 및 CRS를 나타내는 다른 인자의 측정을 포함한다.

[0309] 어느 환자가 sCRS 발생 위험 가능성이 더 있는지 예측하기 위해 CRS의 시작과 상관관계가 있는 것으로 보이는 CRS 기준이 개발되었다(문헌[Davilla et al. Science translational medicine. 2014;6(224):224ra25] 참조). 인자들에는 열, 저산소증, 저혈압, 신경계 변화, 염증성 사이토카인의 혈청 수준 상승, 예컨대 치료로 인해 유도된 상승이 치료전 종양 부담 및 sCRS 증상 모두와 상관관계가 있을 수 있는 일곱 가지 사이토카인(IFN $\gamma$ , IL-5, IL-6, IL-10, F1t-3L, 프랙탈카인, 및 GM-CSF) 세트가 포함된다. CRS의 진단 및 관리에 대한 다른 지침은 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Lee et al, Blood. 2014;124(2):188-95] 참조). 일부 구현예에서, CRS 등급을 반영하는 기준은 아래 표 3에 세부 사항이 나와 있다.

표 3

표 3: 예시적인 CRS 등급 매기기 기준	
등급	증상의 설명
1 경미함(Mild)	생명을 위협하는 정도는 아니고, 해열제 및 항구토제와 같은 증상 치료만 필요함(예를 들어, 열, 구역질, 피로, 두통, 신체 불쾌감)
2 보통(Moderate)	중도적 개입이 필요하며 이에 대해 대응함: ● 산소 요구량 < 40%, 또는 ● 체액 또는 저용량의 단일 승압약에 빠르게 반응하는 저혈압, 또는 ● 2급 기관 독성(CTCAE v4.0에 의함)
3 중증(Severe)	공격적 개입이 필요하며 이에 대해 대응함: ● 산소 요구량 ≥ 40%, 또는 ● 고용량의 단일 승압약(예를 들어, 노르에피네프린 ≥ 20 µg/kg/min, 도파민 ≥ 10 µg/kg/min, 페닐에프린 ≥ 200 µg/kg/min, 또는 에피네프린 ≥ 10 µg/kg/min)을 필요로 하는 저혈압, 또는 ● 다수의 승압약(예를 들어, 바소프레신 + 상기 제제들 중 하나, 또는 ≥ 20 µg/kg/min 노르에피네프린에 상응하는 조합 승압약들)을 필요로 하는 저혈압, 또는 ● 3급 기관 독성 또는 4급 transaminitis(간 효소 수치 상승 현상)(CTCAE v4.0에 의함)
4 생명 위협	생명 위협: ● 산소호흡기 지원 필요, 또는 ● 4급 기관 독성(transaminitis 제외)
5 치명적	사망

[0311] 일부 구현예에서, 중증 CRS 또는 3급 CRS 이상, 예컨대 4급 이상과 관련된 결과는: 지속적인 열, 예를 들어, 2 일 이상, 예를 들어, 3 일 이상, 예를 들어, 4 일 이상 또는 적어도 3연속일 이상 동안, 지정된 온도의, 예를 들어, (약) 섭씨 38도를 넘는 열; (약) 섭씨 38도 넘는 열; 적어도 둘 이상의 사이토카인(예를 들어, 인터페론 감마(IFN γ), GM-CSF, IL-6, IL-10, Flt-3L, 프렉탈카인, 및 IL-5, 및/또는 종양 괴사 인자 알파(TNF α)로 구성된 군 중 적어도 둘 이상)의 치료전 수준, 또는 예를 들어, 상기 사이토카인들 중 적어도 하나 이상의 적어도 (약) 250의 최대 배수 변화와 비교하여, 예를 들어, 적어도 (약) 75의 최대 배수 변화와 같은 사이토카인의 상승; 및/또는 저혈압(예를 들어, 적어도 하나 이상의 정맥 혈관 승압제에 의해 측정된 바와 같음)과 같은 적어도 하나 이상의 임상적 독성 징후; 저산소증(예를 들어, (약) 90% 미만의 혈장 산소(PO2) 수준); 및/또는 (정신 상태 변화, 둔감, 및 발작을 포함한) 하나 이상의 신경 장애 중 하나 이상을 포함한다. 일부 구현예에서, 중증 CRS에는 집중 치료실(ICU)에서 관리 또는 치료가 필요한 CRS가 포함된다.

[0312] 일부 구현예에서, 중증 CRS와 같은 CRS는 (1) 지속적인 열(적어도 3 일 이상 동안 적어도 섭씨 38도 이상의 열) 및 (2) 적어도 (약) 20mg/dL 이상의 CRP의 혈청 수준의 조합을 포괄한다. 일부 구현예에서, CRS는 둘 이상의 승압약의 사용을 필요로 하는 저혈압 또는 기계적 인공호흡이 필요한 호흡부전을 포괄한다. 일부 구현예에서, 승압약의 투여량은 두 번째 또는 후속 투여에서 증가한다.

[0313] 일부 구현예에서, 중증 CRS 또는 3급 CRS는 알라닌 아미노기 전달효소의 증가, 아스파르트산 아미노기 전달효소의 증가, 오한, 열성 호중구 감소증, 두통, 좌심실 기능 부전, 뇌병증, 뇌수종, 및/또는 떨림을 포괄한다.

[0314] 다양한 결과를 측정 또는 검출하는 방법은 지정될 수 있다.

[0315] 일부 측면에서, 독성 결과는 신경 독성이거나 이와 관련된다. 일부 구현예에서, 신경 독성의 임상적 위험과 관련된 증상에는 착란상태, 섬망, 실어증, 표현실어증, 둔감, 간대성 근경련, 무기력, 정신 상태 변화, 경련, 발작 유사 활성화, 발작(선택적으로 뇌전도[EEG]에 의해 확인된 바와 같음), 베타 아밀로이드(Aβ)의 수준 상승, 글루타메이트의 수준 상승, 및 산소 라디칼의 수준 상승이 포함된다. 일부 구현예에서, 신경 독성은 예를 들어, 1~5급 척도를 사용하는 중증도에 기초하여 등급이 매겨진다(예를 들어, 문헌[Guido Cavaletti & Paola Marmiroli Nature Reviews Neurology 6, 657-666 (December 2010); National Cancer Institute-Common Toxicity Criteria version 4.03 (NCI-CTCAE v4.03)] 참조).

[0316] 일부 경우에, 신경계 증상은 sCRS의 가장 초기 증상일 수 있다. 일부 구현예에서, 신경계 증상은 세포 요법 주

입 후 5 내지 7일 후에 시작되는 것으로 보인다. 일부 구현예에서, 신경계 변화의 기간은 3 내지 19일 범위일 수 있다. 일부 경우에, sCRS의 다른 증상이 해결된 후에 신경계 변화의 회복이 발생한다. 일부 구현예에서, 신경계 변화의 해결의 시간 또는 정도는 항-IL-6 및/또는 스테로이드(들)를 이용한 치료로 앞당겨지지 않는다.

[0317] 일부 구현예에서, 세포 요법 또는 이의 세포의 단위 용량의 투여 이후에, 대상체가: 1) 말초 운동 신경의 염증 또는 변성(degeneration)을 포함한, 말초 운동 신경 장애의 증상들; 2) 말초 감각 신경의 염증 또는 변성을 포함한 말초 감각 신경 장애; 비정상적이고 불쾌한 감각을 초래하는 감각 지각의 왜곡과 같은 감각 장애; 신경 또는 신경근을 따라 느껴지는 극심하게 고통스러운 감각과 같은 신경통; 및/또는 따끔거림, 무감각, 압박감, 자극이 없는 차가움 및 따듯함의 비정상적인 피부 감각을 초래하는 감각 뉴런의 기능 장애와 같은 감각 이상의 증상들; 중에서 자기 스스로 돌보기(예를 들어, 목욕, 옷 입고 벗기, 음식 먹기, 변기 사용하기, 약 복용)를 제한하는 증상들을 나타내는 경우, 대상체는 세포 요법 또는 이의 세포의 단위 용량의 투여에 반응하여 또는 이에 대해 부차적으로 “중증 신경 독성”이 발생한 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 중증 신경 독성에는 표 4에 제시된 바와 같이 3급 이상의 신경 독성이 포함된다.

표 4

[0318]

표 4: 예시적인 신경 독성 등급 매기기 기준	
등급	증상의 설명
1 무증상 또는 경미함	경미한 증상 또는 무증상
2 보통(Moderate)	식사 준비, 식료품이나 의복 구매, 전화기 사용, 돈 관리 등 수단적 일상 생활 활동(ADL)을 제한하는 증상의 존재
3 중증(Severe)	목욕, 옷 입고 벗기, 스스로 음식 먹기, 변기 사용하기, 약 복용하기 등 자기 스스로를 돌보는 ADL을 제한하는 증상의 존재
4 생명 위협	긴급한 개입이 필요한, 생명을 위협하는 증상
5 치명적	사망

[0319] 일부 구현예에서, 본 방법은 다른 방법과 비교하여 CRS 또는 신경 독성과 관련된 증상을 감소시킨다. 일부 측면에서, 제공된 방법은 다른 방법과 비교하여 중증 CRS 또는 3급 이상의 CRS와 관련된 증상, 결과 또는 인자를 포함하여, CRS와 연관된 증상, 결과 또는 인자를 감소시킨다. 예를 들어, 본 방법에 따라 치료받은 대상체에서 예를 들어 표 3에 제시된 임의의 기술된 바와 같은 CRS, 예를 들어, 중증 CRS 또는 3급 이상 CRS의 증상, 결과 또는 인자가 검출 가능하지 않고/거나 감소될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 방법에 따라 치료받은 대상체는 다른 방법으로 치료받은 대상체와 비교하여, 팔다리 쇠약 또는 무감각; 기억, 시력 및/또는 지적 능력의 손실; 통제할 수 없는 집착적이고/거나 강박적인 행동; 망상; 두통; 운동 통제력 상실, 인지 열화, 및 자율 신경계 기능 장애를 포함한 인지 및 행동 문제; 및 성 기능 장애와 같은, 신경 독성의 증상이 감소할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 방법에 따라 치료받은 대상체는 말초 운동 신경 장애, 말초 감각 신경 장애, 감각 장애, 신경통 또는 감각 이상과 관련된 증상이 감소될 수 있다.

[0320] 일부 구현예에서, 본 방법은 뉴런의 사멸과 같이 신경계 및/또는 뇌의 손상을 포함한 신경 독성과 관련된 결과를 감소시킨다. 일부 측면에서, 본 방법은 베타 아밀로이드(Aβ), 글루타메이트, 및 산소 라디칼과 같은 신경 독성과 관련된 인자의 수준을 감소시킨다.

[0321] 일부 구현예에서, 독성 결과는 용량 제한 독성(DLT)이다. 일부 구현예에서, 독성 결과는 용량 제한 독성이다. 일부 구현예에서, 독성 결과는 용량 제한 독성의 부재이다. 일부 구현예에서, 용량 제한 독성(DLT)은, 예컨대 상기 설명된 바와 같은 그리고 미국 국립 암 연구소(NCI)의 CTCAE(Common Terminology Criteria for Adverse Events) 버전 4.0을 포함하는, 특정 독성을 산정하기 위한 임의의 공지된 또는 출판된 지침에 의해 산정되는 바와 같은 임의의 3급 이상 독성으로 정의된다.

[0322] 일부 측면에서, DLT는 아래 예외 사항에 나열된 것을 제외한 임의의 치료로 유발된 4급 또는 5급의 AE; 아래 예외에 나열된 것을 제외한 7일 이내에 2급 이하로 해소되지 않는 임의의 치료로 유발된 3급 AE; 3일 이내에 2급 이하로 해소되지 않는 임의의 치료로 유발된 3급 발작; 및 (조작된 세포의 투여와 관련된 예상된 위험인) B-세포 결여증을 제외하고, 임의의 치료로 유발된 3급 이상의 자가면역 독성; 아래 나열되는 예외는 DLT로 간주되지

않는다: 조작된 세포의 투여와 명백하게 관련이 없는 임의의 치료로 유발된 AE(예를 들어, 자동차 사고); 8시간에 2급 이하로 되돌릴 수 있는 4급 주입 독성; 2주 이하 동안 3급 또는 4급 열 또는 열성 호중구 감소증; CRS의 증상으로 간주되는 4급 transaminitis(간 효소 수치 상승 현상); 2주 이하 동안 3급 transaminitis(간 효소 수치 상승 현상); 2주 이하 동안 골수 구획에서 T 세포 증폭으로 인한 3급 뼈 통증; 7일 이하 동안 3급 또는 4급 TLS; 72시간 이하에 3급 미만으로 해소되는 지원을 위한 단일 승압약이 필요한 (다른 CRS 증상은 없는) 3급 또는 4급 저혈압; 72시간 이하에 3급 미만으로 해소되는 지원을 위한 (삽관이 필요하지 않은) 단일 승압약이 필요한 저혈압만 있는 3급 또는 4급 CRS, 또는 4급 transaminitis(간 효소 수치 상승 현상)에 기초한 중증도를 가진 3급 CRS; 3급 이상의 사건의 시작부터 14일 미만에 기준선으로 해소되는 7일 이하 동안 3급 또는 4급 뇌병증; 3급 오한; 3급 또는 4급 림프구 감소증; 3급 또는 4급 백혈구 감소증; 교체로 해소되는 3급 또는 4급 무증상 전해질 이상; 3급 또는 4급 혈소판 감소증; 3급 또는 4급 빈혈; 및 3급 또는 4급 B 세포 결여증 및 저감마글로불린혈증.

[0323] 일부 구현예에서, 제공된 방법, 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물에 부합되게 T 세포의 용량을 투여하고 관찰되는, 독성, 예를 들어, CRS 또는 신경 독성 또는 중증 CRS 또는 신경 독성, 예를 들어, 3급 이상의 CRS 또는 신경 독성의 낮은 비율, 위험 또는 가능성은 통원 기준으로 세포 요법의 투여를 가능하게 한다. 일부 구현예에서, 제공된 방법, 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물에 부합되게 세포 요법, 예를 들어, T 세포(예를 들어, CAR+ T 세포)의 용량의 투여는 통원 기준으로 수행되거나 또는 숙박이 필요한 병원 입원 등처럼 대상체가 병원에 입원할 필요가 없다.

[0324] 일부 측면에서, 제공된 방법, 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물에 부합되게 세포 요법, 예를 들어, T 세포(예를 들어, CAR+ T 세포)의 용량을 투여 받은 대상체는, 통원 기준으로 치료받은 대상체를 포함하여, 대상체가 독성, 예컨대 신경 독성 또는 CRS의 징후 또는 증상을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 세포 용량의 투여 전에 또는 투여와 함께 임의의 독성을 치료하기 위한 개입을 받지 않는다. 독성을 치료, 지연, 약화 또는 개선하기 위한 예시적인 제제가 섹션 III에서 기술된다.

[0325] 일부 구현예에서, 세포 요법, 예를 들어, T 세포(예를 들어, CAR+ T 세포)의 용량을 투여받은 대상체가, 통원 기준으로 치료받은 대상체를 포함하여, 열을 나타내면, 대상체는 열을 낮추기 위한 치료를 제공받거나 해당 치료를 받거나 실시하도록 안내를 받는다. 일부 구현예에서, 대상체의 열은 특정 임계 온도 또는 수준 이상인 (또는 그렇게 측정된) 대상체의 신체 온도를 특징으로 한다. 일부 측면에서, 임계 온도는 적어도 낮은 등급 이상의 열, 적어도 중간 정도의 열, 및/또는 적어도 높은 등급의 열과 관련된다. 일부 구현예에서, 임계 온도는 특정 온도 또는 범위이다. 예를 들어, 임계 온도는 (약) 섭씨 38, 39, 40, 41 또는 42도 또는 적어도 (약) 섭씨 38, 39, 40, 41 또는 42도 이상일 수 있고/거나, (약) 섭씨 38도 내지 (약) 섭씨 39도의 범위, (약) 섭씨 39도 내지 (약) 섭씨 40도의 범위, (약) 섭씨 40도 내지 (약) 섭씨 41도의 범위, 또는 (약) 섭씨 41도 내지 (약) 섭씨 42도의 범위일 수 있다.

[0326] 일부 구현예에서, 열을 줄이기 위해 설계된 치료는 해열제를 이용한 치료를 포함한다. 해열제에는 NSAID(이부프로펜, 나프록센, 케토프로펜, 및 니메살리드 등); 아스피린, 살리실산콜린, 살리실산마그네슘, 및 살리실산나트륨과 같은 살리실산염; 파라세타몰; 아세트아미노펜; 메타미졸, 나부메톤, 페낙손(Phenaxone), 안티피린, 해열제(febrifuge)와 같이 해열 효과가 있는 것으로 공지된 다수의 임의의 제제 중 하나와 같이 열을 내리는 임의의 제제, 예를 들어 화합물, 조성물, 또는 성분이 포함될 수 있다. 일부 구현예에서, 해열제는 아세트아미노펜이다. 일부 구현예에서, 아세트아미노펜은 12.5mg/kg의 용량으로 최대 4시간마다 경구로 또는 정맥 내로 투여할 수 있다. 일부 구현예에서, 이것은 이부프로펜 또는 아스피린이거나 이를 포함할 수 있다.

[0327] 일부 구현예에서, 열이 지속열인 경우, 대상체는 독성을 치료하기 위해 아래 섹션 III에 기술된 것과 같은 대체 치료를 받는다. 통원 기준으로 치료받는 대상체의 경우, 대상체가 지속열을 가졌고/거나 가진 것으로 확인된 경우 대상체는 병원으로 돌아가도록 안내 받는다. 일부 구현예에서, 대상체가 타당한 임계 온도 이상의 열을 나타내는 경우, 그리고 지정된 치료 이후에, 예컨대 열을 내리기 위해 설계된 치료, 예컨대 해열제, 예를 들어, NSAID 또는 살리실산염, 예를 들어, 이부프로펜, 아세트아미노펜 또는 아스피린을 이용한 치료 이후에, 대상체의 열 또는 신체 온도가 내려가지 않거나, 또는 지정된 양 이상(예를 들어, 1° C 이상, 그리고 일반적으로 변동되지 않고, 또는 약 0.5° C, 0.4° C, 0.3° C, 또는 0.2° C 이상) 내려가지 않는 경우, 대상체는 지속열이 있고/거나 가진 것으로 확인되거나 간주된다. 예를 들어, 대상체가 적어도 (약) 섭씨 38 또는 39도 이상의 열을 나타내거나 나타내는 것으로 확인되고, 아세트아미노펜과 같은 해열제로 치료를 받은 이후에도, 6시간 동안, 8시간 동안, 또는 12시간 동안, 또는 24시간 동안, 열이 (약) 0.5° C, 0.4° C, 0.3° C, 또는 0.2° C 이상, 또는 (약) 1%, 2%, 3%, 4%, 또는 5% 이상 내려가지 않는 경우, 대상체는 지속열을 가진 것으로 간주된다. 일부



구현예에서, 해열제의 투여량은 열 또는 세균 또는 바이러스 감염, 예를 들어, 국소 또는 전신 감염과 관련된 열과 같은 특정 유형의 열을 내리기 위해 대상체 등에 일반적으로 효과적인 투여량이다.

[0328] 일부 구현예에서, 대상체가 타당한 임계 온도 이상의 열을 나타내는 경우, 그리고 대상체의 열 또는 신체 온도가 약 1° C 이상 변동되지 않고, 그리고 일반적으로 약 0.5° C, 0.4° C, 0.3° C, 또는 0.2° C 이상 변동되지 않는 경우, 대상체는 지속열이 있고/거나 가진 것으로 확인되거나 간주된다. 상기 특정 양 이상의 변동의 부재는 일정 기간 동안(예컨대 24시간, 12시간, 8시간, 6시간, 3시간, 또는 1시간 동안, 열의 첫 징후부터 또는 표시된 임계값을 넘는 첫 온도부터 측정할 수 있음) 측정된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 대상체가 적어도 (약) 섭씨 38 또는 39도 이상의 열을 나타내거나 나타내는 것으로 확인되고, 6시간 동안, 8시간 동안, 또는 12시간 동안, 또는 24시간 동안, (약) 0.5° C, 0.4° C, 0.3° C, 또는 0.2° C 이상 변동이 없으면, 대상체는 지속열을 나타내는 것으로 간주되거나 확인된다.

[0329] 일부 구현예에서, 열은 지속열이고; 일부 측면에서, 독성을 유도할 잠재성이 있는 최초 요법, 예컨대, 세포 요법, 예컨대 T 세포의 용량(예를 들어, CAR+ T 세포) 투여 이후에, 대상체가 지속열을 가진 것으로 확인된 시점에, 예컨대 상기 확인한 지 또는 첫 번째로 상기 확인한 지 1, 2, 3, 4, 5, 6시간 또는 더 적은 시간 내에, 대상체는 치료를 받는다.

[0330] 일부 구현예에서, 예를 들어, 전술한 구현예 중 어느 하나에 따라 측정된 바와 같이, 대상체가 지속열을 나타내는 것으로 확인되거나 확정된(예컨대 처음으로 확인 또는 확정된) 시점에 또는 직후에 독성을 치료하기 위한 하나 이상의 개입 또는 제제, 예컨대 독성-표적화 요법이 투여된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 독성-표적화 요법은 상기 확정 또는 확인된 지 특정 시간 내에, 예컨대 그로부터 30분, 1시간, 2시간, 3시간, 4시간, 6시간, 또는 8시간 내에 투여된다.

[0331] **III. 독성의 증상을 치료 또는 개선하는 개입 또는 제제 및 병용 요법**

[0332] 일부 구현예에서, 제공된 방법 및 제조품은 독성의 발생을 치료, 예방, 지연, 또는 약화하는 하나 이상의 제제 또는 치료와 관련되어 사용되거나, 이를 수반 또는 포함할 수 있다. 일부 예에서, 독성의 발생을 치료, 예방, 지연, 또는 개선할 수 있는 제제 또는 치료가 유전자 조작된 세포를 포함하는 세포 치료 조성물을 투여하기 전에 및/또는 투여와 동시에 투여된다.

[0333] 일부 구현예에서, 독성의 발생을 치료, 예방, 지연, 또는 개선할 수 있는 제제(예를 들어, 독성-표적화제), 또는 치료는 스테로이드이거나, 길항제이거나 또는 IL-6 수용체, CD122 수용체(IL-2R베타 수용체), 또는 CCR2와 같은 사이토카인 수용체의 억제제이거나, 또는 IL-6, MCP-1, IL-10, IFN- $\gamma$ , IL-8, 또는 IL-18와 같은 사이토카인의 억제제이다. 일부 구현예에서, 제제는 사이토카인 수용체의 작용제 및/또는 TGF- $\beta$ 와 같은 사이토카인이다. 일부 구현예에서, 제제(예를 들어, 작용제, 길항제 또는 억제제)는 항체 또는 항원 결합 단편, 저분자, 단백질 또는 펩타이드, 또는 핵산이다.

[0334] 일부 구현예에서, 수액 볼루스(fluid bolus)가 예컨대 CRS와 관련된 저혈압을 치료하기 위한 개입으로서 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 표적 적혈구용적률 수준은 >24%이다. 일부 구현예에서, 개입은 혈액 또는 혈장 여과가 포함된 흡수성 수지 기술의 사용을 포함한다. 일부 경우에, 개입은 투석, 혈장분리교환술, 또는 유사한 기술을 포함한다. 일부 구현예에서, 승압약 또는 아세트아미노펜이 사용될 수 있다.

[0335] 일부 구현예에서, 제제는 순차적으로, 간헐적으로 또는 입양 세포 요법을 위한 세포와 같은 요법과 동시에 또는 요법과 같은 조성물에 넣어 투여될 수 있다. 예를 들어, 제제는 면역 요법 및/또는 세포 요법 전에, 도중에, 그와 동시에, 또는 후에 투여될 수 있다.

[0336] 일부 구현예에서, 제제는 본원에 기술된 바와 같은 시점에 그리고 제공된 방법, 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물에 부합되게 투여된다. 일부 구현예에서, 독성-표적화제는 면역 요법 및/또는 세포 요법의 개시 후 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10일 안의 시점에, 예컨대 미만에 또는 이내에 투여된다. 일부 구현예에서, 독성-표적화제는 면역 요법 및/또는 세포 요법의 개시 후 (약) 1일, 2일 또는 3일 안에 투여된다.

[0337] 일부 구현예에서, 제제(예를 들어, 독성-표적화제)는 면역 요법 및/또는 세포 요법의 투여 개시 후 대상체가 2급 이상의 CRS 또는 2급 이상의 신경 독성을 나타내지 않는 시점에 대상체에 투여된다. 일부 측면에서, 독성-표적화제는 면역 요법 및/또는 세포 요법의 투여 개시 후 대상체가 중증 CRS 또는 중증 신경 독성을 나타내지 않는 시점에 대상체에 투여된다. 따라서, 면역 요법 및/또는 세포 요법의 투여 개시와 독성-표적화제 사이에, 대상체는 2급 이상의 CRS, 예컨대 중증 CRS를 나타내지 않고/거나, 2급 이상의 신경 독성, 예컨대 중증 신경 독성

을 나타내지 않는 대상체이다.

[0338] 독성, 예컨대 중증 CRS(sCRS) 또는 중증 신경 독성을 치료 또는 개선하기 위한 개입의 비제한적인 예가 표 5에 기술된다. 일부 구현예에서, 개입은 토실리주맙 또는 기술된 바와 같은 독성-표적화제를 포함하고, 이는 대상체에서 약 38° C 초과 또는 약 39° C 초과의 지속열이 있는 시점일 수 있다. 일부 구현예에서, 열은 대상체에서 개입 이전에 10시간 이상, 12시간 이상, 16시간 이상, 또는 24시간 이상 지속된다.

표 5

[0339]

표 5. 예시적인 개입.	
CRS와 관련된 증상	제안되는 개입
열 ≥ 38.3° C	최대 4시간마다 아세트아미노펜 (12.5mg/kg) PO/IV
10시간 동안 아세트아미노펜에 반응하지 않는 ≥ 39° C의 지속적인 열	토실리주맙(8-12mg/kg) IV
토실리주맙 후 ≥ 39° C의 지속적인 열	열이 계속되는 상태에서 최대 6-12시간마다 텍사메타손 5-10mg IV/PO
토실리주맙의 초기 투여 후 48시간 후에 증상 재발	토실리주맙(8-12mg/kg) IV
저혈압	수액 볼루스, 표적 적혈구용적률 >24%
초기 수액 볼루스 후 (6시간 이내) 지속적/반복적 저혈압	토실리주맙(8-12mg/kg) IV
12시간 이상의 저혈압에 저용량의 혈압 상승제 사용	혈압 상승제를 계속 사용하며 최대 6시간마다 텍사메타손 5-10mg IV/PO
더 고용량의 혈압 상승제의 개시 또는 저혈압용 제2 혈압 상승제의 추가	혈압 상승제를 계속 사용하며 최대 6시간마다 텍사메타손 5-10mg IV/PO
산소 보충의 개시	토실리주맙(8-12mg/kg) IV
삽관이 임박할 우려가 있는 가운데 호흡 지원이 증가중	혈압 상승제를 계속 사용하며 최대 6시간마다 텍사메타손 5-10mg IV/PO
초기 용량이 투여된 이후 48시간 이상 토실리주맙을 투여한 증상의 재발/지속	토실리주맙(8-12mg/kg) IV

[0340] 일부 경우에, 제제 또는 요법 또는 개입, 예를 들어, 독성-표적화제는 단독으로 투여되거나 또는 본원에 기술된 바와 같은, 조성물 또는 제형, 예컨대 약학 조성물 또는 제형의 일부로 투여된다. 따라서, 제제는 단독으로 또는 약학 조성물의 일부로 정맥 내로 또는 경구로, 또는 다른 허용 가능한 공지된 투여 경로로 또는 본원에 기술된 바와 같이 투여될 수 있다.

[0341] 일부 구현예에서, 제제의 투여량 또는 투여량 요법에서 제제의 투여 빈도는, 대상체가 2급 이상의 CRS 또는 신경 독성, 예컨대 중증, 예를 들어 3급 이상의 CRS 또는 중증, 예를 들어 3급 이상의 신경 독성이 발병하거나 진단된 후에(예를 들어, 3급 이상의 CRS 또는 신경 독성의 신체 징후 또는 증상이 나타난 후에) 제제로 치료받는 방법에서 제제의 투여량 또는 빈도와 비교하여, 감소된다. 일부 구현예에서, 투여량 요법에서 제제의 투여량 또는 제제의 투여 빈도는, 대상체가 면역 요법 및/또는 세포 요법의 투여 후 3일, 4일, 5일, 6일, 1주일, 2주일, 3주일, 또는 그 이상 후에 CRS 또는 신경 독성에 대해 치료받는 방법에서 제제의 투여량 또는 빈도와 비교하여, 감소된다. 일부 구현예에서, 투여량은 (약) 1.2배, 1.5배, 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배 또는 그 이상 초과하여 감소된다. 일부 구현예에서, 투여량은 (약) 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 그 이상 초과하여 감소된다. 일부 구현예에서, 투여 빈도는 감소하고, 예컨대 일일 용량의 수가 감소하거나 또는 투여 일수가 감소한다.

[0342] A. 스테로이드

[0343] 일부 구현예에서, 면역 요법 및/또는 세포 요법에 대한 독성의 발생 또는 발생의 위험을 치료 및/또는 예방, 지연, 또는 약화하는 제제(예를 들어, 독성-표적화제)는 스테로이드(예를 들어, 코르티코스테로이드)이다. 일부 구현예에서, 면역 요법에 대한 독성의 발생 또는 발생의 위험을 치료 및/또는 예방, 지연, 또는 약화하는 제제는 스테로이드이다. 일부 구현예에서, 스테로이드는 코르티코스테로이드이다. 코르티코스테로이드는 통상적으로 글루코코르티코이드 및 미네랄로코르티코이드를 포함한다.

[0344] 본원에 제공된 방법에 임의의 코르티코스테로이드(예를 들어, 글루코코르티코이드)가 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 글루코코르티코이드는 합성 및 비합성 글루코코르티코이드를 포함한다. 예시적인 글루코코르티코이드에는 알클로메타손(alclomethasone), 알제스톤(algestone), 베클로메타손(예를 들어, 다이프로피온산 베클로메타손),

베타메타손(예를 들어, 베타메타손 17-발레르산염, 베타메타손 초산나트륨, 베타메타손 인산나트륨, 베타메타손 발레르산염), 부데소니드, 클로베타솔(예를 들어, 클로베타솔 프로피오네이트), 클로베타손, 클로코르톨론(예를 들어, 피발산 클로코르톨론), 클로프레드놀(cloprednol), 코르티코스테론, 코르티손 및 하이드로코르티손(예를 들어, 하이드로코르티손 아세테이트), 코르티바졸(cortivazol), 데플라자코트, 데소나이드, 데속시메타손, 텍사메타손(예를 들어, 텍사메타손 21-인산염, 텍사메타손 아세테이트, 텍사메타손 인산나트륨), 다이플로라손(예를 들어, 다이플로라손 아세테이트), 디플루코르톨론, 디플루프레드네이트, 예녹솔론, 플루아자코르트(fluazacort), 플루드로코티손(예를 들어, 플루드로코티손 아세테이트), 플루메타손(예를 들어, 피발산 플루메타손), 플루니솔라이드, 플루오시놀론(예를 들어, 플루오시놀론 아세토나이드), 플루오시노나이드, 플루오코르틴, 플루오코르톨론, 플루오로메톨론(예를 들어, 플루오로메톨론 아세테이트), 플루페롤론(예를 들어, 플루페롤론 아세테이트), 플루프레드나이드인(fluprednidene), 플루프레드니솔론, 플루란드레놀라이드, 플루티카손(예를 들어, 플루티카손 프로피오네이트), 포르모코르탈, 할시노나이드, 할로베타솔, 할로메타손, 할로프레돈, 하이드로코르타메이트, 하이드로코르티손(예를 들어, 하이드로코르티손 21-부티레이트, 하이드로코르티손 아세포네이트, 하이드로코르티손 아세테이트, 하이드로코르티손 부테프레이트, 하이드로코르티손 부티레이트, 하이드로코르티손 시피오네이트, 하이드로코르티손 헤미숙시네이트, 하이드로코르티손 프로부테이트, 하이드로코르티손 인산나트륨, 하이드로코르티손 숙신산나트륨, 하이드로코르티손 발러레이트), 로테프레드놀 에타보네이트, 마지프레돈, 메트리손, 메프레드니손, 메틸프레드니솔론(메틸프레드니솔론 아세포네이트, 메틸프레드니솔론 아세테이트, 메틸프레드니솔론 헤미숙시네이트, 메틸프레드니솔론 숙신산나트륨), 모메타손(예를 들어, 모메타손 푸로에이트), 파라메타손(예를 들어, 파라메타손 아세테이트), 프레드니카르베이트, 프레드니솔론(예를 들어, 프레드니솔론 25-디에틸아미노아세테이트, 프레드니솔론 인산나트륨, 프레드니솔론 21-헤미숙시네이트, 프레드니솔론 아세테이트; 프레드니솔론 파네실산, 프레드니솔론 헤미숙시네이트, 프레드니솔론-21(베타-D-글루쿠로나이드), 프레드니솔론 메타솔벤조에이트, 프레드니솔론 스테아글산염, 프레드니솔론 테부트산염, 프레드니솔론 테트라하이드로프탈레이트), 프레드니손, 프레드니발, 프레드닐리텐, 리백솔론, 텍소코르톨, 트리암시놀론(예를 들어, 트리암시놀론 아세토나이드, 트리암시놀론 베네토나이드, 트리암시놀론 헥사세토나이드, 트리암시놀론 아세토나이드 21-팔미테이트, 트리암시놀론 디아세테이트)이 포함되나, 이에 한정되지 않는다. 상기 글루코코르티코이드 및 이의 염들은 예를 들어 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, A. Osol, ed., Mack Pub. Co., Easton, Pa. (16th ed. 1980)]에서 상세하게 논의된다.

- [0345] 일부 예에서, 글루코코르티코이드는 코르티손, 텍사메타손, 하이드로코르티손, 메틸프레드니솔론, 프레드니솔론 및 프레드니손 중에서 선택된다. 특정 예에서, 글루코코르티코이드는 텍사메타손이다.
- [0346] 일부 구현예에서, 제제는 코르티코스테로이드이고 면역 요법 및/또는 세포 요법에 대한 독성, 예컨대 CRS 또는 신경 독성의 하나 이상의 증상을 치료, 개선 또는 감소시키는 데 치료적으로 효과적인 양으로 투여된다. 일부 구현예에서, 개선 또는 성공적인 치료의 지표는 독성 등급 척도(예를 들어, CRS 또는 신경 독성 등급 척도)에 해당 점수, 예컨대 3 미만의 점수, 또는 본원에 논의되는 바와 같이 등급 척도에서 등급 또는 중증도의 변화, 예컨대 4점에서 3점으로 변화, 또는 4점에서 2, 1, 또는 0점으로 변화가 나타나지 않는 것의 확정을 포함한다.
- [0347] 일부 측면에서, 코르티코스테로이드는 치료적 유효 용량으로 제공된다. 치료적 유효 농도는 공지된 시험관 내 또는 생체 내(예를 들어, 동물 모델) 시스템에서 시험에 의해 경험적으로 결정될 수 있다. 예를 들어, 면역 요법 및/또는 세포 요법에 대한 독성, 예컨대 CRS 또는 신경 독성의 증상 또는 역효과(adverse effect)를 개선하기 위해 투여되도록 선택된 코르티코스테로이드의 양은 표준 임상 기술에 의해 결정될 수 있다. 또한, 동물 모델을 사용하면 최적의 투여량 범위를 찾는 데 도움이 될 수 있다. 경험적으로 결정될 수 있는 정밀한 투여량은 특정 치료 준비, 투약 방식 및 투약 일정, 투여 경로 및 질병의 심각한 정도에 따라 달라질 수 있다.
- [0348] 코르티코스테로이드는 독성, 예컨대 CRS 또는 신경 독성과 관련된 하나 이상의 증상을 개선하기에 효과적인 임의의 양으로 투여될 수 있다. 코르티코스테로이드(예를 들어, 글루코코르티코이드)는 예를 들어, 용량 당 (약) 0.1 내지 100mg 사이의 양으로, 0.1 내지 80mg, 0.1 내지 60mg, 0.1 내지 40mg, 0.1 내지 30mg, 0.1 내지 20mg, 0.1 내지 15mg, 0.1 내지 10mg, 0.1 내지 5mg, 0.2 내지 40mg, 0.2 내지 30mg, 0.2 내지 20mg, 0.2 내지 15mg, 0.2 내지 10mg, 0.2 내지 5mg, 0.4 내지 40mg, 0.4 내지 30mg, 0.4 내지 20mg, 0.4 내지 15mg, 0.4 내지 10mg, 0.4 내지 5mg, 0.4 내지 4mg, 1 내지 20mg, 1 내지 15mg 또는 1 내지 10mg의 양으로 70kg의 성인 인간 대상체에 투여될 수 있다. 통상적으로, 글루코코르티코이드와 같은 코르티코스테로이드는 용량당 (약) 0.4 내지 20mg 사이의 양으로, 예를 들어, (약) 0.4mg, 0.5mg, 0.6mg, 0.7mg, 0.75mg, 0.8mg, 0.9mg, 1mg, 2mg, 3mg, 4mg, 5mg, 6mg, 7mg, 8mg, 9mg, 10mg, 11mg, 12mg, 13mg, 14mg, 15mg, 16mg, 17mg, 18mg, 19mg 또는 20mg의 양으로 평균적인 성인 인간 대상체에 투여된다.

- [0349] 일부 구현예에서, 코르티코스테로이드는 예를 들어 (대상체의) (약) 0.001mg/kg, 0.002mg/kg, 0.003mg/kg, 0.004mg/kg, 0.005mg/kg, 0.006mg/kg, 0.007mg/kg, 0.008mg/kg, 0.009mg/kg, 0.01mg/kg, 0.015mg/kg, 0.02mg/kg, 0.025mg/kg, 0.03mg/kg, 0.035mg/kg, 0.04mg/kg, 0.045mg/kg, 0.05mg/kg, 0.055mg/kg, 0.06mg/kg, 0.065mg/kg, 0.07mg/kg, 0.075mg/kg, 0.08mg/kg, 0.085mg/kg, 0.09mg/kg, 0.095mg/kg, 0.1mg/kg, 0.15mg/kg, 0.2mg/kg, 0.25mg/kg, 0.30mg/kg, 0.35mg/kg, 0.40mg/kg, 0.45mg/kg, 0.50mg/kg, 0.55mg/kg, 0.60mg/kg, 0.65mg/kg, 0.70mg/kg, 0.75mg/kg, 0.80mg/kg, 0.85mg/kg, 0.90mg/kg, 0.95mg/kg, 1mg/kg, 1.05mg/kg, 1.1mg/kg, 1.15mg/kg, 1.20mg/kg, 1.25mg/kg, 1.3mg/kg, 1.35mg/kg 또는 1.4mg/kg의 투여량으로 통상적으로 약 70kg 내지 75kg의 평균적인 성인 인간 대상체에 투여될 수 있다.
- [0350] 코르티코스테로이드, 또는 글루코코티코이드, 예를 들어, 텍사메타손은 경구로(정제, 액상 또는 액상 농축물), PO로, 정맥 내로(IV), 근육내로 또는 기타 임의의 공지된 경로 또는 (예를 들어, 약학 제형과 관련하여) 본원에 기술된 경로로 투여될 수 있다. 일부 측면에서, 코르티코스테로이드는 볼루스로 투여되고 다른 측면에서 일정 기간에 걸쳐 투여될 수 있다.
- [0351] 일부 측면에서, 글루코코티코이드는 1일 이상의 기간에 걸쳐, 예컨대 2일에 걸쳐, 3일에 걸쳐, 또는 4일 이상에 걸쳐 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 코르티코스테로이드는 하루에 한 번, 하루에 두 번, 또는 하루에 세 번 이상 투여될 수 있다. 예를 들어, 코르티코스테로이드(예를 들어, 텍사메타손)는 일부 예에서 3일 동안 하루에 두 번 IV로 10mg(또는 당량)씩 투여될 수 있다.
- [0352] 일부 구현예에서, 코르티코스테로이드(예를 들어, 글루코코티코이드)의 투여량은 치료당 더 낮은 투여량으로 연속적으로 투여된다. 따라서, 상기 일부 치료 투약 방식에서, 코르티코스테로이드의 용량은 점점 감소한다. 예를 들어, 코르티코스테로이드는 4mg의 최초 용량(또는 당량의 용량, 예컨대 텍사메타손에 관하여)으로 투여될 수 있고, 각각의 연속 투여에서 용량은 낮아질 수 있는데, 다음 투여 용량이 3mg이 되고, 그 다음 투여는 2mg, 및 그 다음 투여는 1mg이 되는 식이다.
- [0353] 일반적으로, 투여되는 코르티코스테로이드의 용량은 상이한 코르티코스테로이드들 사이에 효능의 차이가 존재하는 바와 같이 특정 코르티코스테로이드에 따라 달라진다. 통상적으로 약물들은 효능이 다르며, 따라서 용량은 등가의 효과를 얻기 위해 달라질 수 있는 것으로 이해된다. 표 6은 다양한 글루코코티코이드 및 투여 경로에 대해 효능 측면에서 등량을 보여준다. 임상적 투약에서 등가의 효능은 잘 알려져 있다. (비-시간 요법 방식에서) 당량의 스테로이드 투약에 관한 정보는 문헌[British National Formulary (BNF) 37, March 1999]에서 찾을 수 있다.

표 6

표 6: 글루코코티코이드 투여	
글루코코티코이드(경로)	등가 효능
하이드로코르티손(IV 또는 PO)	20
프레드니손	5
프레드니솔론(IV 또는 PO)	5
메틸프레드니솔론 숙신산나트륨(IV)	4
텍사메타손(IV 또는 PO)	0.5-0.75

- [0355] 따라서, 일부 구현예에서, 스테로이드는 1일당 (약) 1.0mg 내지 20mg 텍사메타손, 예컨대 1일당 1.0mg 내지 15mg 텍사메타손, 1일당 1.0mg 내지 10mg 텍사메타손, 1일당 2.0mg 내지 8mg 텍사메타손, 또는 1일당 2.0mg 내지 6.0mg 텍사메타손(각 수치 포함)의 등가 투여량으로 투여된다. 일부 경우에, 스테로이드는 1일당 (약) 4mg 또는 (약) 8mg 텍사메타손의 등가 용량으로 투여된다.
- [0356] 일부 구현예에서, 토실리주맙으로 치료 후에 열이 지속될 경우 스테로이드가 투여된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 텍사메타손이 열이 계속되는 상태에서 최대 6-12시간마다 5-10mg의 투여량으로 경구 또는 정맥 내로 투여된다. 일부 구현예에서, 토실리주맙이 산소 보충과 동시에 또는 그 후에 투여된다.
- [0357] **B. 미세아교세포 억제제**
- [0358] 일부 구현예에서, 병용 요법에서 억제제는 미세아교세포 활성의 억제제이다. 일부 구현예에서, 억제제의 투여는 미세아교세포의 활성을 조절한다. 일부 구현예에서, 억제제는 미세아교세포에서 신호 전달 경로의 활성을 억제하는 길항제이다. 일부 구현예에서, 미세아교세포 억제제는 미세아교세포의 항상성, 생존, 및/또는 증식에 영향

을 준다. 일부 구현예에서, 억제제는 CSF1R 신호 전달 경로를 표적화한다. 일부 구현예에서, 억제제는 CSF1R의 억제제이다. 일부 구현예에서, 억제제는 저분자이다. 일부 경우에, 억제제는 항체이다.

[0359] 일부 측면에서, 억제제의 투여는 미세아교세포의 항상성 및 생존력의 변경, 미세아교세포 증식의 감소 또는 차단, 미세아교세포의 감소 또는 제거, 미세아교세포 활성화 감소, 미세아교세포로부터 산화 질소 생산의 감소, 미세아교세포에서 산화 질소 신타아제 활성의 감소, 또는 미세아교세포의 활성화에 의해 영향받는 운동 뉴런의 보호 중에서 선택되는 하나 이상의 효과를 초래한다. 일부 구현예에서, 제제는 억제제의 투여 개시 직전 시점과 비교하여 CSF1R 억제제의 혈청 또는 혈액 바이오마커의 수준, 또는 오줌 콜라겐 1형 교차-결합 N-텔로펩타이드 (NTX)의 수준 감소를 변경시킨다. 일부 구현예에서, 제제의 투여는 미세아교세포 활성화의 활성을 일시적으로 억제하고/거나 여기서 미세아교세포 활성화의 억제는 영구적이지 않다. 일부 구현예에서, 제제의 투여는 CSF1R의 활성을 일시적으로 억제하고/거나 여기서 CSF1R 활성화의 억제는 영구적이지 않다.

[0360] 일부 구현예에서, 미세아교세포 활성을 감소시키는 제제는 저분자, 펩타이드, 단백질, 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 항체 모방체(antibody mimetic), 앵타머, 또는 핵산 분자이다. 일부 구현예에서, 본 방법은 미세아교세포 활성화의 억제제의 투여를 수반한다. 일부 구현예에서, 제제는 미세아교세포에서 신호 전달 경로의 활성을 억제하는 길항제이다. 일부 구현예에서, 미세아교세포 활성을 감소시키는 제제는 미세아교세포의 항상성, 생존, 및/또는 증식에 영향을 준다.

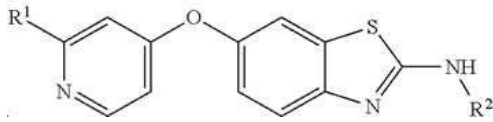
[0361] 일부 구현예에서, 미세아교세포 활성화를 감소시키는 제제는 항-염증제, NADPH 산화효소(NOX2)의 억제제, 칼슘 통로 차단제, 나트륨 통로 차단제 중에서 선택되고, GM-CSF를 억제하고, CSF1R을 억제하고, CSF-1에 특이적으로 결합하고, IL-34에 특이적으로 결합하고, 핵인자 카파 B(NF-κB)의 활성화를 억제하고, CB<sub>2</sub> 수용체를 활성화하고/거나 CB<sub>2</sub> 작용제, 포스포디에스테라아제 억제제이고, 마이크로RNA-155(miR-155)를 억제하고, 마이크로RNA-124(miR-124)를 상향 조절하고, 미세아교세포에서 산화 질소 생산을 억제하고, 산화 질소 신타아제를 억제하고, 또는 전사인자 NRF2(핵인자(적혈구-유래 2)-유사 2, 또는 NFE2L2로도 불림)를 활성화한다.

[0362] 일부 구현예에서, 미세아교세포 활성을 감소시키는 제제는 CSF1(대식 세포 집락-자극 인자 MCSF로도 불림)을 표적화한다. 일부 구현예에서, 미세아교세포 활성을 감소시키는 제제는 M-CSF 수용체의 MCSF-자극된 인산화에 영향을 준다(Pryer et al. *Proc Am Assoc Cancer Res*, AACR Abstract nr DDT02-2 (2009)). 일부 경우에, 미세아교세포 활성을 감소시키는 제제는 MCS110(국제 특허 출원 공개 번호 WO2014001802; 임상 시험 연구 기록 번호: A1 NCT00757757; NCT02807844; NCT02435680; NCT01643850)이다.

[0363] 일부 구현예에서, 미세아교세포 활성을 감소시키는 제제는 CSF1 경로를 표적화하는 저분자이다. 일부 구현예에서, 제제는 CSF1R에 결합하는 저분자이다. 일부 구현예에서, 제제는 CSF1R 키나아제에 대한 ATP 결합과 경쟁하여 CSF1R 키나아제 활성을 억제하는 저분자이다. 일부 구현예에서, 제제는 CSF1R 수용체의 활성화를 억제하는 저분자이다. 일부 경우에, CSF1R에 대한 CSF-1 리간드의 결합은 억제된다. 일부 구현예에서, 미세아교세포 활성을 감소시키는 제제는 미국 특허 출원 공개 번호 US20160032248에 기술된 억제제들 중 임의의 것이다.

[0364] 일부 구현예에서, 제제는 PLX-3397, PLX7486, JNJ-40346527, JNJ28312141, ARRY-382, PLX73086 (AC-708), DCC-3014, AZD6495, GW2580, Ki20227, BLZ945, PLX647 및 PLX5622 중에서 선택되는 저분자 억제제이다. 일부 구현예에서, 제제는 문헌[Conway et al., *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102(44):16078-83 (2005); Dagher et al., *Journal of Neuroinflammation*, 12:139 (2015); Ohno et al., *Mol Cancer Ther.* 5(11):2634-43 (2006); von Tresckow et al. *Clin Cancer Res.*, 21(8) (2015); Manthey et al. *Mol Cancer Ther.* (8(11):3151-61 (2009); Pyonteck et al., *Nat Med.* 19(10): 1264-1272 (2013); Haegel et al., *Cancer Res* AACR Abstract nr 288 (2015); Smith et al., *Cancer Res* AACR Abstract nr 4889 (2016); 임상 시험 연구 기록 번호: NCT01525602; NCT02734433; NCT02777710; NCT01804530; NCT01597739; NCT01572519; NCT01054014; NCT01316822; NCT02880371; NCT02673736; 국제 특허 출원 공개 번호 WO2008063888A2, WO2006009755A2, 미국 특허 출원 공개 번호 US20110044998, US 2014/0065141, 및 US2015/0119267]에 기술된 억제제들 중 임의의 것이다.

[0365] 일부 구현예에서, 미세아교세포 활성을 감소시키는 제제는 4-((2-(((1R,2R)-2-하이드록시사이클로헥실)아미노)벤조[d]티아졸-6-일)옥시)-N-메틸피롤리나미드 (BLZ945) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 이의 유도체이다. 일부 구현예에서, 제제는 다음 화합물:



[0366]

[0367]

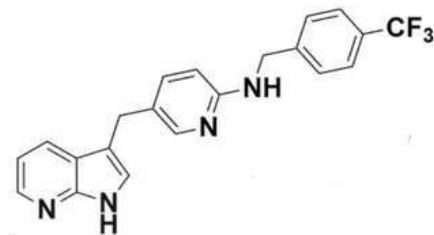
이고, 여기서 R1은 알킬 피라졸 또는 알킬 카르복사미드이고, R2는 하이드록시사이클로알킬 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이다.

[0368]

일부 구현예에서, 미세아교세포 활성을 감소시키는 제제는 5-((5-클로로-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-3-일)메틸)-N-((6-(트리플루오로메틸)피리딘-3-일)메틸)피리딘-2-아민, N-[5-[(5-클로로-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-3-일)메틸]-2-피리딘일]-6-(트리플루오로메틸)-3-피리딘메테나민 (PLX 3397) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 이의 유도체이다. 일부 구현예에서, 제제는 5-(1H-피롤로[2,3-b]피리딘-3-일메틸)-N-[[4-(트리플루오로메틸)페닐]메틸]-2-피리딘아민 디하이드로클로라이드 (PLX647) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 이의 유도체이다. 일부 구현예에서, 미세아교세포 활성을 감소시키는 제제는 다음 화합물:

[0369]

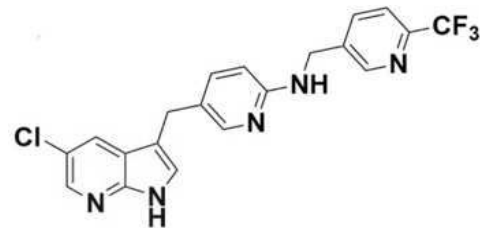
[0370]



또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이다. 일부 구현예에서, 미세아교세포 활성을 감소시키는 제제는 다음 화합물:

[0371]

[0372]



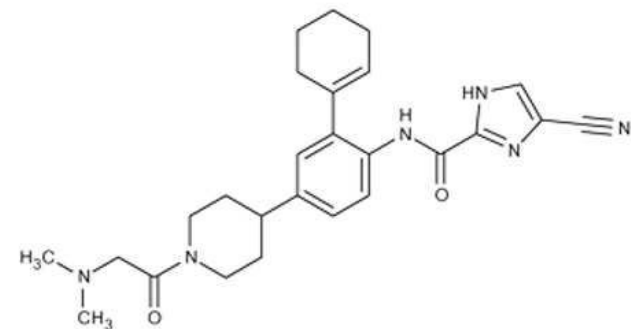
또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이다. 일부 구현예에서, 제제는 미국 특허 번호 US7893075에 기술된 억제제들 중 임의의 것이다.

[0373]

일부 구현예에서, 미세아교세포 활성을 감소시키는 제제는 4-시아노-N-[2-(1-사이클로헥센-1-일)-4-[1-[(디메틸아미노)아세틸]-4-피페리딘일]페닐]-1H-이미다졸-2-카르복사미드 모노하이드로클로라이드 (JNJ28312141) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 이의 유도체이다. 일부 구현예에서, 제제는 다음 화합물:

[0374]

[0375]



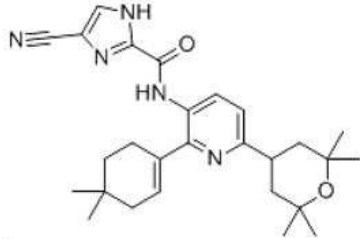
또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이다. 일부 구현예에서, 제제는 미국 특허 번호 US7645755에 기술된 억제제들 중 임의의 것이다.

[0376]

일부 구현예에서, 미세아교세포 활성을 감소시키는 제제는 1H-이미다졸-2-카르복사미드, 5-시아노-N-(2-(4,4-디

메틸-1-사이클로헥센-1-일)-6-(테트라하이드로-2,2,6,6-테트라메틸-2H-피란-4-일)-3-피리디닐)-, 4-시아노-1H-이미다졸-2-카르복실산

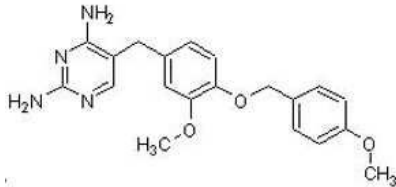
N-(2-(4,4-디메틸사이클로헥-1-세닐)-6-(2,2,6,6-테트라메틸테트라하이드로피란-4-일)피리딘-3-일)아미드, 4-시아노-N-(2-(4,4-디메틸사이클로헥-1-세-1-닐)-6-(2,2,6,6-테트라메틸-테트라하이드로-2H-피란-4-일)피리딘-3-일)-1H-이미다졸-2-카르복사미드 (JNJ-40346527) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 이의 유도체이다. 일부 구현예에서, 제제는 다음 화합물:



[0377]

[0378] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이다.

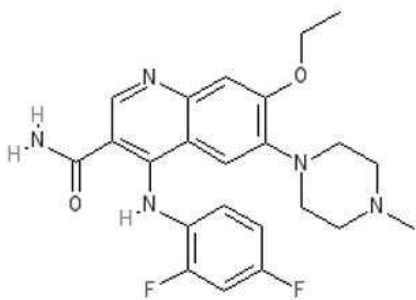
[0379] 다른 구현예에서, 미세아교세포 활성을 감소시키는 제제는 5-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)피리미딘-2,4-디아민 (GW2580) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 이의 유도체이다. 일부 구현예에서, 제제는 다음 화합물:



[0380]

[0381] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이다(국제 특허 출원 공개 번호 W02009099553).

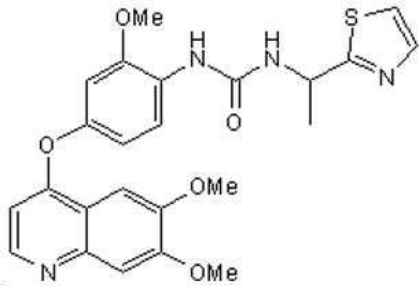
[0382] 일부 구현예에서, 미세아교세포 활성을 감소시키는 제제는 4-(2,4-디플루오로아닐리노)-7-에톡시-6-(4-메틸피페라진-1-일)퀴놀린-3-카르복사미드 (AZD6495) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 이의 유도체이다. 일부 구현예에서, 제제는 다음 화합물:



[0383]

[0384] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이다.

[0385] 일부 구현예에서, 미세아교세포 활성을 감소시키는 제제는 N-{4-[(6,7-디메톡시-4-퀴놀일)옥시]-2-메톡시페닐}-N0-[1-(1,3-티아졸-2-일)에틸]우레아 (Ki20227) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 이의 유도체이다. 일부 구현예에서, 제제는 다음 화합물:



[0386]

[0387]

[0388]

[0389]

[0390]

[0391]

[0392]

또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이다.

일부 구현예에서, 미세아교세포 활성화를 감소시키는 제제는 CSF1 경로를 표적화하는 항체이다. 일부 구현예에서, 제제는 CSF1R에 결합하는 항체이다. 일부 구현예에서, 항-CSF1R 항체는 CSF1R 2량체화를 차단한다. 일부 구현예에서, 항-CSF1R 항체는 도메인 D4와 D5에 의해 형성되는 CSF1R 2량체화 계면을 차단한다(Ries et al. *Cancer Cell* 25(6):846-59 (2014)). 일부 경우에, 제제는 예막투주맙(RG7155; R05509554), 카비탈리주맙(FPA-008), LY-3022855 (IMC-CS4), AMG-820, TG-3003, MCS110, H27K15, 12-2D6, 2-4A5(Rovida and Sbarba, *J Clin Cell Immunol*.6:6 (2015); 임상 시험 연구 기록 번호: NCT02760797; NCT01494688; NCT02323191; NCT01962337; NCT02471716; NCT02526017; NCT01346358; NCT02265536; NCT01444404; NCT02713529, NCT00757757; NCT02807844; NCT02435680; NCT01643850) 중에서 선택된다.

일부 구현예에서, 미세아교세포 활성화를 감소시키는 제제는 테트라사이클린 항생제이다. 예를 들어, 제제는 미세아교세포에서 IL-1b, IL-6, TNF $\alpha$ , 또는 iNOS 농도에 영향을 준다(Yrjanheikki et al. *PNAS* 95(26): 15769-15774 (1998); 임상 시험 연구 기록 번호: NCT01120899). 일부 구현예에서, 제제는 오피오이드 길항제이다(Younger et al. *Pain Med.* 10(4):663-672 (2009)). 일부 구현예에서, 제제는 글루타민성 신경 전달을 감소시킨다(미국 특허 번호 5,527,814). 일부 구현예에서, 제제는 NF $\kappa$ B 신호 전달을 조절한다(Valera et al *J. Neuroinflammation* 12:93 (2015); 임상 시험 연구 기록 번호: NCT00231140). 일부 구현예에서, 제제는 카나비노이드 수용체를 표적화한다(Ramirez et al. *J. Neurosci* 25(8):1904-13(2005)). 일부 구현예에서, 제제는 미노사이클린, 날록손, 릴루졸, 레날리도마이드, 및 카나비노이드(선택적으로 WIN55 또는 212-2) 중에서 선택된다.

미세아교세포로부터 산화 질소 생산은 일부 경우에 신경 독성을 초래하거나 증가시키는 것으로 여겨진다. 일부 구현예에서, 제제는 미세아교세포로부터 산화 질소 생산을 조절하거나 억제한다. 일부 구현예에서, 제제는 산화 질소 신타아제(NOS)를 억제한다. 일부 구현예에서, NOS 억제제는 로노프테린(Ronopterin)(VAS-203)이며, 또한 4-아미노-테트라하이드로바이오프테린(4-ABH4)으로도 공지되어 있다. 일부 구현예에서, NOS 억제제는 신두니스타트(cindunistat), A-84643, ONO-1714, L-NOARG, NCX-456, VAS-2381, GW-273629, NXN-462, CKD-712, KD-7040, 또는 구아니디노에틸디설파이드이다. 일부 구현예에서, 제제는 문헌[Hoing et al., *Cell Stem Cell*. 2012 Nov 2;11(5):620-32]에 기술된 억제제들 중 임의의 것이다.

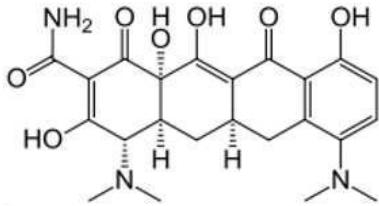
일부 구현예에서, 제제는 예컨대 중추신경계로 가는 T 세포 교환을 차단한다. 일부 구현예에서, T 세포 교환을 차단하면 면역 세포가 혈관벽을 넘어 혈액뇌장벽을 넘어가는 것을 포함하여 중추신경계로 들어가는 것을 감소시키거나 예방할 수 있다. 일부 경우에, 활성화된 항원-특이적 T 세포는 CNS에서 재활성화시 IFN- $\gamma$  및 TNF를 포함하여 전-염증성 사이토카인을 생산하여 미세아교세포 및 별아교세포(astrocyte)와 같은 정주성 세포의 활성화로 이어진다. 문헌[Kivisakk et al., *Neurology*. 2009 Jun 2; 72(22): 1922-1930]을 참조한다. 따라서, 일부 구현예에서, 미세아교세포로부터 활성화된 T 세포를 격리시키는 것은, 예컨대 교환을 차단하고/거나 상기 세포의 혈액뇌장벽을 넘어가는 능력을 억제함으로써 미세아교세포의 활성화를 감소시키거나 제거할 수 있다. 일부 구현예에서, 제제는 T 세포를 포함하여 면역 세포상의 부착 분자를 억제한다. 일부 구현예에서, 제제는 인테그린을 억제한다. 일부 구현예에서, 인테그린은 알파-4 인테그린이다. 일부 구현예에서, 제제는 나탈리주맙(Tysabri®)이다. 일부 구현예에서, 제제는 세포 표면 수용체를 조절한다. 일부 구현예에서, 제제는 S1PR1 또는 S1PR5와 같은 스핑고신-1-인산(SIP) 수용체를 조절한다. 일부 구현예에서, 제제는 S1PR1 또는 S1PR5와 같은 스핑고신-1-인산(SIP) 수용체 등 세포 수용체의 내부화를 일으킨다. 일부 구현예에서, 제제는 핑골리모드(Gilenya®) 또는 오자니모드(RPC-1063)이다.

전사인자 NRF2는 예를 들어 프로모터 영역에 시스-작용 요소를 함유하는 유전자를 켜서 항산화 반응을 조절하는 것으로 여겨진다. 상기 요소의 예는 항산화 반응 요소(ARE)를 포함한다. 일부 구현예에서, 제제는 NRF2를 활성



화한다. 일부 구현예에서, 미세아교세포에서 NRF2를 활성화하면 IFN 및 LPS에 대한 미세아교세포의 반응성을 감소시킨다. 일부 구현예에서, NRF2를 활성화하면 탈수초(demyelination), 축삭돌기 손실(axonal loss), 신경세포 죽음(neuronal death), 및/또는 희소돌기아교세포 죽음(oligodendrocyte death)을 억제하거나, 늦추거나, 감소시킨다. 일부 구현예에서, 제제는 NRF2에 의해 조절되는 세포의 세포 보호 경로를 상향 조절한다. 일부 구현예에서, NRF2를 활성화하는 제제는 디메틸 푸마레이트(Tecfidera®)이다. 일부 구현예에서, 제제는 미국 특허 번호 8,399,514에 기술된 억제제들 중 임의의 것이다. 일부 구현예에서, 제제는 문헌[Hoing et al., Cell Stem Cell. 2012 Nov 2;11(5):620-32]에 기술된 억제제들 중 임의의 것이다.

[0393] 일부 구현예에서, 미세아교세포 활성화를 감소시키는 제제는 (4S,4aS,5aR,12aS)-4,7-비스(디메틸아미노)-3,10,12,12a-테트라하이드록시-1,11-디옥소-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-옥타하이드로테트라센-2-카르복사미드 (미노사이클린) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 이의 유도체이다. 일부 구현예에서, 제제는 미국 특허 출원 공개 번호 US20100190755에 기술된 화합물들 중 임의의 것이다. 일부 구현예에서, 제제는 다음 화합물:

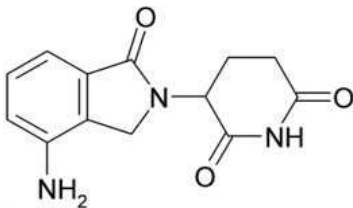


[0394]

또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이다.

[0395]

[0396] 일부 구현예에서, 미세아교세포 활성화를 감소시키는 제제는 3-(7-아미노-3-옥소-1H-이소인돌-2-일)피페리딘-2,6-디온 (레날리도마이드) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 이의 유도체이다. 일부 구현예에서, 제제는 다음 화합물:

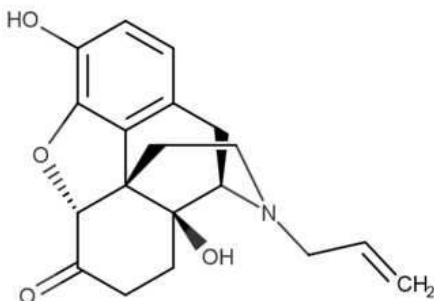


[0397]

또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이다.

[0398]

[0399] 일부 구현예에서, 미세아교세포 활성화를 감소시키는 제제는 (4R,4aS,7aR,12bS)-4a,9-디하이드록시-3-프롭-2-펜일-2,4,5,6,7a,13-헥사하이드로-1H-4,12-메타노벤조푸로[3,2-e]이소퀴놀린-7-온 (날록손) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 이의 유도체이다. 일부 구현예에서, 제제는 미국 특허 번호 US8247425에 기술된 화합물들 중 임의의 것이다. 일부 구현예에서, 제제는 다음 화합물:

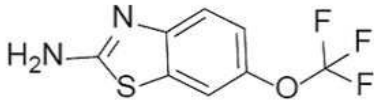


[0400]

또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이다.

[0401]

[0402] 일부 구현예에서, 미세아교세포 활성화를 감소시키는 제제는 2-아미노-6-(트리플루오로메톡시)벤조티아졸, 6-(트리플루오로메톡시)벤조[d]티아졸-2-아민, 또는 6-(트리플루오로메톡시)-1,3-벤조티아졸-2-아민 (릴루졸) 또는 미국 특허 번호 US5527814에 기술된 바와 같은 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 이의 유도체이다. 일부 구현예에서, 제제는 다음 화합물:



[0403]

[0404]

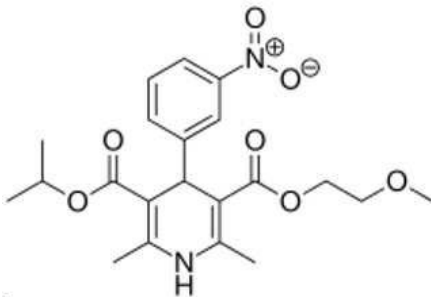
또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이다.

[0405]

일부 구현예에서, 미세아교세포 활성화를 감소시키는 제제는 미세아교세포에서 신호 전달 경로의 조절제이다. 일부 경우에, 제제는 미세아교세포 신호 전달을 감소시킨다. 일부 구현예에서, 제제는 GM-CSF(CSF2) 억제제이다. 다른 구현예에서, 미세아교세포 활성화를 감소시키는 제제는 이온 통로 차단제이다. 일부 특정 구현예에서, 제제는 칼슘 통로 차단제이다. 예를 들어, 일부 특정 구현예에서, 제제는 디하이드로피리딘 칼슘 통로 차단제이다. 일부 구현예에서, 제제는 마이크로RNA 억제제이다. 예를 들어, 제제는 miR-155를 표적화한다. 일부 구현예에서, 미세아교세포 활성화를 감소시키는 제제는 MOR103, 니모디핀, IVIg, 및 LNA-항-miR-155 중에서 선택된다(Butoxsky et al. *Ann Neurol.*, 77(1):75-99 (2015) and Sanz et al., *Br J Pharmacol.* 167(8): 1702-1711 (2012); Winter et al., *Ann Clin and Transl Neurol.* 2328-9503 (2016); 임상 시험 연구 기록 번호: NCT01517282, NCT00750867).

[0406]

일부 구현예에서, 미세아교세포 활성화를 감소시키는 제제는 3-(2-메톡시에틸)5-프로판-2-일 2,6-디메틸-4-(3-니트로페닐)-1,4-디하이드로피리딘-3,5-디카르복실레이트 (니모디핀) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 이의 유도체이다. 일부 구현예에서, 제제는 미국 특허 번호 US3799934에 기술된 억제제들 중 임의의 것이다. 일부 구현예에서, 제제는 다음 화합물:



[0407]

[0408]

또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이다.

[0409]

일부 경우에, 미세아교세포 활성화를 감소시키는 제제는 중추신경계에만 영향을 주고/거나 종양-관련 대식 세포에는 영향을 주지 않는 형식으로 투여된다. 일부 구현예에서, 제제는 미세아교세포 휴면을 촉진하지만 미세아교세포의 수를 없애거나 감소시키지 않는다. 일부 구현예에서, 본 방법은 문헌[Ponomarev et al., *Nature Medicine*, (1):64-70 (2011)]에 기술된 바와 같이 뇌에서 특이적으로 미세아교세포 활성을 억제하는 것을 수반한다.

[0410]

미세아교세포 활성화를 감소시키는 예시적인 제제, 및 상기 제제를 투여하기 위한 예시적인 투약 요법이 아래 표 7에 제시된다.

표 7

[0411]

표 7. 예시적인 미세아교세포 억제제 및 투여량 요법			
예시적인 억제제	분자 유형	분자 표적(들)	예시적인 투약 요법(들)
펙시다티닙 (PLX3397)	저분자	CSF1R; c-Kit; FLT3	200mg 제형, 28일 동안 매일 두 번; 분할 용량 요법으로 매일 투여, 용량 증량 부분에서 가능한 5가지 용량 수준: 400mg 5일에 2일 휴무(간헐적 일정), 400mg, 600mg, 800mg 또는 1000mg; 2주 동안 1000 mg/일 이후 22주 동안 800 mg/일
에막투주맙 (RG1755; RO5509554)	단클론 항체	CSF1R	2주마다 한 번 100-3000mg
카비랄리주맙 (FPA-008)	항체	CSF1R	2주마다 30분에 걸쳐 정맥내 주입
LY-3022855 (IMC-CS4)	단클론 항체	CSF1R	6주 동안 2주마다 1.25mg/kg 정맥내 전달

JNJ-40346527	저분자	CSF1R	12주 동안 매일 두 번 100mg; 매일 100-1000mg 캡슐
MCS110	항체	MCSF (CSF1)	1일차부터 시작하여 4주마다 한 번 10mg/kg MCS110의 최대 4 용량까지 정맥내 투여
MOR103	항체	GM-CSF	70일에 걸쳐 0.5-2.0mg/kg의 6 용량
IVIg	면역글로불린	미공지	6개월 동안 각 달마다 0.4g/kg의 정맥내 주입
미노사이클린	저분자	광범위 항생제: IL-1b; IL-6, TNF-a; iNOS	24개월 동안 매일 두 번 미노사이클린 100mg 경구 투여
날록손	저분자	오피오이드 수용체	8주 동안 1회/일 4.5mg 날록손 하이드로클로라이드 캡슐
레날리도마이드/탈리도마이드	저분자	NFkB 신호 전달	100-400mg 매일
릴루졸	저분자	미세아교세포에 의한 글루타메이트 방출	매일 두 번 50mg
카나비노이드/칸나비디올 (예를 들어 WIN55,212-2)	저분자	카나비노이드 수용체	6주 동안 경구로 10 mg/kg/일(평균 700mg/일)
디메틸 푸마레이트(Tecfidera®)	저분자	Nrf2 신호 전달	시작 용량 120mg을 7일 동안 2회/일 경구 투여. 이후 2회/일 240mg으로 증량하여 경구 투여
나탈리주맙(Tysabri®)	항체	알파-4 인테그린	4주마다 1시간에 걸쳐 300mg을 정맥내 주입
핑글리모드(Gilenya®)	저분자	S1PR1 포함 S1P 수용체	1일 1회 0.5mg 경구로
오자니모드(RPC-1063)	저분자	S1PR1 및 S1PR5	1일 1회 0.25mg, 0.5mg, 또는 1mg

[0412] C. 다른 제제(예를 들어, 사이토카인 표적화 제제)

[0413] 일부 구현예에서, CRS 또는 신경 독성과 같은 면역 요법 및/또는 세포 요법의 독성의 증상을 치료 또는 개선하는 제제, 예를 들어 독성-표적화제는 사이토카인을 표적하는 것이다. 일부 측면에서, 제제는 형질전환 성장 인자 베타(TGF-베타), 인터루킨 6(IL-6), 인터루킨 10(IL-10), IL-2, MIP1β(CCL4), TNF 알파, IL-1, 인터페론 감마(IFN-감마), 또는 단핵구 화학유인 단백질-1(MCP-1)과 같은 사이토카인의 길항제 또는 억제제이다. 일부 구현예에서, CRS 또는 신경 독성과 같은 면역 요법 및/또는 세포 요법의 독성의 증상을 치료 또는 개선하는 제제는 IL-6 수용체(IL-6R), IL-2 수용체(IL-2R/CD25), MCP-1 (CCL2) 수용체(CCR2 또는 CCR4), TGF-베타 수용체(TGF-베타 I, II, 또는 III), IFN-감마 수용체(IFNGR), MIP1β 수용체(예를 들어, CCR5), TNF 알파 수용체(예를 들어, TNFR1), IL-1 수용체(IL1-Rα/IL-1Rβ), 또는 IL-10 수용체(IL-10R)와 같은 사이토카인 수용체를 표적화하는(예를 들어, 억제하는 또는 이의 길항제인) 제제이다.

[0414] CRS 또는 신경 독성과 같은 면역 요법 및/또는 세포 요법에 대한 독성의 증상 또는 역효과를 개선하기 위해 투여할, CRS 또는 신경 독성과 같은 면역 요법 및/또는 세포 요법의 독성의 증상을 치료 또는 개선하는 선택된 제제의 양은 표준 임상 기술에 의해 결정될 수 있다. 예시적인 이상 반응(adverse event)은 알려진 아미노기 전달 효소의 증가, 아스파르트산 아미노기 전달효소의 증가, 오한, 열성 호중구 감소증, 두통, 저혈압, 좌심실 기능 부전, 뇌병증, 뇌수종, 발작, 및/또는 떨림을 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0415] 일부 구현예에서, 제제는 (약) 30mg 내지 5000mg, 예컨대 50mg 내지 1000mg, 50mg 내지 500mg, 50mg 내지 200mg, 50mg 내지 100mg, 100mg 내지 1000mg, 100mg 내지 500mg, 100mg 내지 200mg, 200mg 내지 1000mg, 200mg 내지 500mg 또는 500mg 내지 1000mg의 투여량으로 투여된다.

[0416] 일부 구현예에서, 제제는 (약) 0.5mg/kg 내지 100mg/kg, 예컨대 (약) 1mg/kg 내지 50mg/kg, 1mg/kg 내지 25mg/kg, 1mg/kg 내지 10mg/kg, 1mg/kg 내지 5mg/kg, 5mg/kg 내지 100mg/kg, 5mg/kg 내지 50mg/kg, 5mg/kg 내지 25mg/kg, 5mg/kg 내지 10mg/kg, 10mg/kg 내지 100mg/kg, 10mg/kg 내지 50mg/kg, 10mg/kg 내지 25mg/kg, 25mg/kg 내지 100mg/kg, 25mg/kg 내지 50mg/kg 내지 50mg/kg 내지 100mg/kg 투여된다. 일부 구현예에서, 제제는 (약) 1mg/kg 내지 10mg/kg, 2mg/kg 내지 8mg/kg, 2mg/kg 내지 6mg/kg, 2mg/kg 내지 4mg/kg 또는 6mg/kg 내지 8mg/kg(각 수치 포함)의 투여량으로 투여된다. 일부 측면에서, 제제는 적어도 (약) 또는 약 1mg/kg, 2mg/kg, 4mg/kg, 6mg/kg, 8mg/kg, 10mg/kg 또는 그 이상의 투여량으로 투여된다. 일부 구현예에서, 제제는 4mg/kg 또는

8mg/kg의 용량으로 투여된다.

- [0417] 일부 구현예에서, 제제는 주사, 예를 들어 정맥내 또는 피하 주사, 안구내(intraocular) 주사, 안구주위(periorcular) 주사, 망막하(subretinal) 주사, 유리체내(intravitreal) 주사, 중격-경유성(trans-septal) 주사, 공막하(subscleral) 주사, 맥락막내(intrachoroidal) 주사, 전방내(intracameral) 주사, 결막하 주사(subconjunctival injection, subconjunctival injection), 서브 테논(sub-Tenon) 주사, 안구뒤(retrobulbar) 주사, 안구주위(peribulbar) 주사 또는 후부 점막 주사(posterior juxtasclear) 전달에 의해 투여된다. 일부 구현예에서, 이는 비경구, 폐내 및 비강내 및 국소 치료가 바람직한 경우 병변내 투여에 의해 투여된다. 비경구 주입은 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내 또는 피하 투여를 포함한다.
- [0418] 일부 구현예에서, 상기 제제의 양이 약 또는 대략 1일에 2회, 매일, 격일마다, 일주일에 3회, 매주, 격주마다 또는 한달에 한 번 투여된다.
- [0419] 일부 구현예에서, 제제는 조성물 또는 제형, 예컨대 아래 기술되는 바와 같은 약학 조성물 또는 제형의 일부로서 투여된다. 따라서, 일부 경우에, 제제를 포함하는 조성물이 아래 기술된 바와 같이 투여된다. 다른 측면에서, 제제는 단독으로 투여되고 예컨대 조성물 및 약학적 제형과 관련하여 임의의 공지된 허용 가능한 투여 경로에 의해 또는 본원에 기술된 경로에 의해 투여될 수 있다.
- [0420] 일부 구현예에서, CRS 또는 신경 독성과 같은 면역 요법 및/또는 세포 요법의 독성의 증상을 치료 또는 개선하는 제제는 항체 또는 항원 결합 단편이다. 일부 구현예에서, 제제는 토실리주맙, 실톡시맙, 사릴루맙, 올로키주맙(CDP6038), 엘실리모맙, ALD518/BMS-945429, 시루쿠맙(CNTO 136), CPSI-2634, ARGX-109, FE301, 또는 FM101이다.
- [0421] 일부 구현예에서, 제제는 IL-6 또는 IL-6 수용체(IL-6R)의 길항제 또는 억제제이다. 일부 측면에서, 제제는 IL-6 활성을 중화하는 항체, 예컨대 IL-6 또는 IL-6R에 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편이다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 제제는 토실리주맙(아틀리주맙) 또는 사릴루맙, 항-IL-6이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 제제는 미국 특허 번호 8,562,991에 기술된 항-IL-6R 항체이다. 일부 경우에, IL-6을 표적화하는 제제는 실톡시맙, 엘실리모맙, ALD518/BMS-945429, 시루쿠맙(CNTO 136), CPSI-2634, ARGX-109, FE301, FM101, 또는 올로키주맙(CDP6038)과 같은 항-IL-6 항체이다. 일부 측면에서, 제제는 리간드-수용체 상호작용을 억제하여 IL-6 활성을 중화할 수 있다. 이러한 일반적인 유형의 접근 방식의 실행 가능성은 인터루킨-1에 대한 자연 발생 수용체 길항제를 이용하여 입증되었다. 문헌[Harmurn, C. H. et al., Nature (1990) 343:336-340]을 참조한다. 일부 측면에서, IL-6/IL-6R 길항제 또는 억제제는 미국 특허 번호 5591827에 기술된 것과 같은 IL-6 뮤테인이다. 일부 구현예에서, IL-6/IL-6R의 길항제 또는 억제제인 제제는 저분자, 단백질 또는 펩타이드, 또는 핵산이다.
- [0422] 일부 구현예에서, 제제는 토실리주맙이다. 일부 구현예에서, 토실리주맙은 제공된 방법, 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물에 부합되게, (약) 1mg/kg 내지 12mg/kg, 예컨대 (약) 4mg/kg, 8mg/kg, 또는 10mg/kg의 투여량으로 초기 개입으로서 투여된다. 일부 구현예에서, 토실리주맙은 정맥내 주입에 의해 투여된다. 일부 구현예에서, 토실리주맙은 아세트아미노펜에 반응이 없는, 39° C를 초과하여 10시간 지속되는 지속열에 대해 투여된다. 일부 구현예에서, 최초 용량 투여 48시간 후 증상이 재발되면 토실리주맙의 두 번째 투여가 제공된다.
- [0423] 일부 구현예에서, 제제는 TGF-β 또는 TGF-β 수용체(예를 들어, TGF-β 수용체 I, II, 또는 III)의 작용제 또는 자극제이다. 일부 측면에서, 제제는 TGF-β 활성을 증가시키는 항체, 예컨대 TGF-β 또는 그 수용체 중 하나에 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편이다. 일부 구현예에서, TGF-β 및/또는 그 수용체의 작용제 또는 자극제인 제제는 저분자, 단백질 또는 펩타이드, 또는 핵산이다.
- [0424] 일부 구현예에서, 제제는 MCP-1 (CCL2) 또는 MCP-1 수용체(예를 들어, MCP-1 수용체 CCR2 또는 CCR4)의 길항제 또는 억제제이다. 일부 측면에서, 제제는 MCP-1 활성을 중화하는 항체, 예컨대 MCP-1 또는 그 수용체(CCR2 또는 CCR4) 중 하나에 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편이다. 일부 구현예에서, MCP-1 길항제 또는 억제제는 문헌[Gong et al. J Exp Med. 1997 Jul 7; 186(1): 131-137 또는 Shahrara et al. J Immunol 2008; 180:3447-3456]에 기술된 임의의 것이다. 일부 구현예에서, MCP-1 및/또는 그 수용체(CCR2 또는 CCR4)의 길항제 또는 억제제인 제제는 저분자, 단백질 또는 펩타이드, 또는 핵산이다.
- [0425] 일부 구현예에서, 제제는 IFN-γ 또는 IFN-γ 수용체(IFNGR)의 길항제 또는 억제제이다. 일부 측면에서, 제제는 IFN-γ 활성을 중화하는 항체, 예컨대 IFN-γ 또는 그 수용체(IFNGR)에 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편이다. 일부 측면에서, IFN-감마 중화 항체는 문헌[Dobber et al. Cell Immunol. 1995 Feb;160(2):185-92 또는 Ozmen et al. J Immunol. 1993 Apr 1;150(7):2698-705]에 기술된 임의의 것이다. 일부 구현예에서, IFN-

$\gamma$ /IFNGR의 길항제 또는 억제제인 제제는 저분자, 단백질 또는 펩타이드, 또는 핵산이다.

- [0426] 일부 구현예에서, 제제는 IL-10 또는 IL-10 수용체(IL-10R)의 길항제 또는 억제제이다. 일부 측면에서, 제제는 IL-10 활성을 중화하는 항체, 예컨대 IL-10 또는 IL-10R에 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편이다. 일부 측면에서, IL-10 중화 항체는 문헌[Dobber et al. Cell Immunol. 1995 Feb;160(2):185-92 또는 Hunter et al. J Immunol. 2005 Jun 1;174(11):7368-75]에 기술된 임의의 것이다. 일부 구현예에서, IL-10/IL-10R의 길항제 또는 억제제인 제제는 저분자, 단백질 또는 펩타이드, 또는 핵산이다.
- [0427] 일부 구현예에서, 제제는 IL-1 또는 IL-1 수용체(IL-1R)의 길항제 또는 억제제이다. 일부 측면에서, 제제는 IL-1 수용체 길항제이고, 이는 IL-1R의 변형된 형태, 예컨대 아나킨라(anakinra)이다(예를 들어, 문헌[Fleischmann et al., (2006) Annals of the rheumatic diseases. 65(8):1006-12] 참조). 일부 측면에서, 제제는 IL-1 활성을 중화하는 항체, 예컨대 IL-1 또는 IL-1R에 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편, 예컨대 카나키누맙이다(EP 2277543 또한 참조). 일부 구현예에서, IL-1/IL-1R의 길항제 또는 억제제인 제제는 저분자, 단백질 또는 펩타이드, 또는 핵산이다.
- [0428] 일부 구현예에서, 제제는 종양 괴사 인자(TNF) 또는 종양 괴사 인자 수용체(TNFR)의 길항제 또는 억제제이다. 일부 측면에서, 제제는 TNF 활성을 차단하는 항체, 예컨대 TNF(예컨대, TNF  $\alpha$ ), 또는 그 수용체(TNFR, 예를 들어, TNFRp55 또는 TNFRp75)에 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편이다. 일부 측면에서, 제제는 인플릭시맙, 아달리무맙, 세르톨리주맙 페골, 골리무맙 및 에타너셉트 중에서 선택된다. 일부 구현예에서, TNF/TNFR의 길항제 또는 억제제인 제제는 저분자, 단백질 또는 펩타이드, 또는 핵산이다. 일부 구현예에서, 제제는 TNF에 영향을 주는 저분자, 예컨대 레날리도마이드이다(예를 들어, 문헌[Muller et al. (1999) Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 9 (11):1625] 참조).
- [0429] 일부 구현예에서, 제제는 야누스 키나아제(JAK) 및 두 신호변환자-전사활성자(STAT) 신호 전달 계단식 다단계 반응을 통한 신호 전달의 길항제 또는 억제제이다. JAK/STAT 단백질은 사이토카인 및 사이토카인 수용체 신호 전달의 공통 구성요소이다. 일부 구현예에서, 제제는 록솔리티닙(예를 들어, 문헌[Mesa et al. (2012) Nature Reviews Drug Discovery. 11(2):103-104] 참조), 토파시니닙(Xeljanz, Jakvinus 타소시티닙 및 CP-690550으로도 공지됨), 바리시티닙(LY-3009104, INCB-28050으로도 공지됨), 필고티닙(G-146034, GLPG-0634), 간도티닙(LY-2784544), 레스타르티닙(CEP-701), 모벨로티닙(GS-0387, CYT-387), 파크리티닙(SB1518), 및 우과다시티닙(ABT-494)과 같은 JAK/STAT의 길항제 또는 억제제이다. 일부 구현예에서, 제제는 저분자, 단백질 또는 펩타이드, 또는 핵산이다.
- [0430] 일부 구현예에서, 사이토카인 수준을 감소시키기 위해 혈액 또는 혈장 여과가 포함된 흡수성 수지 기술과 같은 장치를 사용할 수 있다. 일부 구현예에서, 사이토카인 수준을 감소시키기 위해 사용되는 장치는 체외 사이토카인 흡수기와 같은 물리적 사이토카인 흡수기이다. 일부 구현예에서, 생체 외 시험(ex vivo), 체외 방식으로 혈류로부터 사이토카인을 제거하기 위해 물리적 사이토카인 흡수기를 사용할 수 있다. 일부 구현예에서, 제제는 다공성 중합체이다. 일부 구현예에서, 제제는 사이토소브(CytoSorb)이다(예를 들어, 문헌[Basu et al. Indian J Crit Care Med. (2014) 18(12): 822-824] 참조).
- [0431] **D. 추가 치료제**
- [0432] 일부 구현예에서, 또한 세포 요법 및 추가 치료제의 투여를 포함하는 병용 요법이 제공된다. 일부 구현예에서, 추가 치료제는 독성의 발병 또는 발병 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법일 수 있는 제제를 포함하는, 본원에 기재된 임의의 다른 치료제이다. 일부 측면에서, 추가 치료제는 세포의 증폭 및/또는 지속성을 향상 또는 증가시킬 수 있는 제제이며, 이는 일부 경우에 세포 요법에 대한 개선된 반응을 유도할 수 있다.
- [0433] 일부 구현예에서, 그러한 방법은 세포 요법(예: CAR-발현 T 세포)의 투여(예: 투여의 개시) 전, 그와 동시에, 동안, 과정 동안(과정 동안 1회 및/또는 주기적으로 포함), 및/또는 이후에 추가 치료제의 투여를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 투여는 추가 치료제 및 세포 요법의 순차적 또는 간헐적 투여를 포함할 수 있다.
- [0434] 일부 구현예에서, 제제는 키나아제 억제제이다. 일부 구현예에서, 키나아제의 TEC 패밀리에서의 억제제는 브루톤 티로신 키나아제 (BTK), IL2 유도성 T-세포 키나아제 (ITK), 텍 단백질 티로신 키나아제 (TEC), BMX 비-수용체 티로신 키나아제 (Etk), 및 TXK 티로신 키나아제 (TXK)를 포함한 하나 이상의 TEC 패밀리의 키나아제를 억제한다. 일부 구현예에서, 억제제는 브루톤 티로신 키나아제(BTK)이다. 일부 구현예에서, 이 억제제는 이브루티닙 또는 아칼라브루티닙이거나 이를 포함한다(예를 들어, 문헌[Barrett et al., ASH 58<sup>th</sup> Annual Meeting San

Diego, CA December 3-6, 2016, Abstract 654; Ruella et al., ASH 58<sup>th</sup> Annual Meeting San Diego, CA December 3-6, 2016, Abstract 2159] 참조). 일부 구현예에서, 제제는 미국 특허 번호 7,514,444; 8,008,309; 8,476,284; 8,497,277; 8,697,711; 8,703,780; 8,735,403; 8,754,090; 8,754,091; 8,957,079; 8,999,999; 9,125,889; 9,181,257; 또는 9,296,753에 기술된 바와 같은 억제제이다.

- [0435] 일부 측면에서, BTKi, 예를 들어 이브루티닙의 투여는 대상체로부터 샘플을 획득하기 전 또는 적어도 약 5 내지 (약) 7일, 예컨대 (약) 5, 6 또는 7일 전에 개시되고, BTKi, 예를 들어 이브루티닙의 투여를 포함하는 투여 요법으로, 적어도 대상체로부터 샘플을 획득하고 계속될 때까지 수행되고 및/또는 세포 요법의 투여 개시 후 약 3 개월 이상 동안 연장되는 BTKi, 예를 들어 이브루티닙을 추가로 투여한다. 일부 구현예에서, BTKi, 예를 들어 이브루티닙은 투여 요법 동안 각 1일 1회 (약) 140 mg 내지 (약) 560 mg의 양으로 투여된다. 일부 구현예에서, BTKi, 예를 들어, 이브루티닙의 투여를 개시한 후 및 세포 요법의 투여 전에, 대상체는 림프구 고갈 요법으로 사전 조절되었다. 일부 구현예에서, 방법은 BTKi, 예를 들어, 이브루티닙의 투여 후 및 세포 요법의 투여 전에 대상체에게 림프구 고갈 요법을 투여하는 것을 더 포함한다. 일부 구현예에서, 림프구 고갈 요법의 투여는 세포 요법의 투여 개시 전 7일 이내에 완료된다. 일부 구현예에서, 림프구 고갈 요법의 투여는 세포 요법의 투여 개시 전 (약) 2 내지 (약) 7일, 예컨대 (약) 7일에 완료된다. 일부 구현예에서, 투여 요법은 림프구 고갈 요법 동안 BTKi, 예를 들어 이브루티닙의 투여를 중단하거나 일시 중지하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 투여 요법은 림프구 고갈 요법의 완료 후 BTKi, 예를 들어 이브루티닙을 재개하거나 더 투여하는 것을 포함한다.
- [0436] 일부 구현예에서, 방법 또는 용도는 BTKi, 예를 들어, 이브루티닙 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 암을 갖는 대상체에게 투여하는 것; 및 대상체에게 림프구 고갈 요법을 투여하는 것; 및 림프구 고갈 요법을 완료한 후 2 내지 7일 이내에 대상체에게 세포 요법을 투여하는 것을 포함한다.
- [0437] 일부 측면에서, BTKi, 예를 들어 이브루티닙의 투여는 대상체로부터 샘플을 획득하기 전 또는 적어도 약 5 내지 7일, 예컨대 7일 전에 개시되고, BTKi, 예를 들어 이브루티닙의 투여를 포함하는 투여 요법으로 림프구 고갈 요법의 개시까지 수행되고, BTKi, 예를 들어 이브루티닙의 투여를 림프구 고갈 요법 동안 중단 또는 정지시키고, BTKi, 예를 들어 이브루티닙을 세포 요법의 투여 개시 후 3개월 이상 연장되는 기간 동안 재개 또는 추가로 투여하며, 여기서 BTKi, 예를 들어 이브루티닙은 투여 요법 동안 각 1일 1회 (약) 140 mg 내지 (약) 560 mg의 양으로 투여된다. 일부 구현예에서, 1일 당 BTKi, 예를 들어 이브루티닙의 투여는 (약) 280 mg 내지 (약) 560 mg으로 투여된다. 일부 구현예에서, BTKi, 예를 들어 이브루티닙의 투여는 대상체로부터 샘플을 획득하기 전 또는 적어도 약 7일 전에 개시된다.
- [0438] 일부 구현예에서, BTKi, 예를 들어 이브루티닙의 투여는 세포 요법의 투여를 개시하기 (약) 30 내지 약 40일 전에 개시되고; 샘플은 세포 요법의 투여를 개시하기 전 (약) 23일 내지 약 38일에 대상체로부터 획득되고; 및/또는 림프구 고갈 요법은 세포 요법의 투여를 개시하기 전 (약) 5 내지 7일, 예컨대 7일에 완료된다.
- [0439] 일부 구현예에서, BTKi, 예를 들어 이브루티닙의 투여는 세포 요법의 투여를 개시하기 (약) 35일 전에 개시되고; 샘플은 세포 요법의 투여를 개시하기 전 (약) 28일 내지 약 32일에 대상체로부터 획득되고; 및/또는 림프구 고갈 요법은 세포 요법의 투여를 개시하기 전 약 5 내지 약 7일, 예컨대 7일에 완료된다.
- [0440] BTKi의 억제제, 예를 들어 이브루티닙이 세포 요법의 투여 개시 전에 투여되는 임의의 상기 구현예의 일부에서, BTKi의 투여는 세포 요법의 개시까지 및/또는 세포 요법의 개시 후의 시간 동안 규칙적인 간격으로 계속된다.
- [0441] 상기 임의의 구현예 중 일부에서, BTKi, 예를 들어, 이브루티닙은 세포 요법의 투여 개시 전 및 후에 투여된다. 일부 구현예에서, BTKi, 예를 들어, 이브루티닙, 예를 들어, 이브루티닙은 세포 요법의 투여 후에 투여되거나, 또는 계속되고 및/또는 더 투여된다. 일부 구현예에서, BTKi, 예를 들어, 이브루티닙은 세포 요법의 투여 개시 후 동시에 (약) 1 시간, 2 시간, 6 시간, 12 시간, 24 시간, 48 시간, 96 시간, 4 일, 5 일, 6 일 또는 7 일, 14 일, 15 일, 21 일, 24 일, 28 일, 30 일, 36 일, 42 일, 60 일, 72 일, 90 일, 120 일, 180 일, 210 일, 240 일, 270 일, 300 일, 330 일, 360 일 또는 720 일에 동시에 또는 그 이내에 투여된다. 일부 구현예에서, 제공된 방법은 예를 들어, 세포 요법의 개시 후 임의의 상기 기간의 지속기간 동안, 세포 요법의 투여 개시 후 BTKi, 예를 들어, 이브루티닙의 규칙적인 간격과 같은 계속되고 및/또는 추가의 투여를 포함한다.
- [0442] 일부 구현예에서, BTKi, 예를 들어, 이브루티닙은 예컨대 매일 투여되며, 세포 요법의 투여 후 최대 (약) 1일, 최대 (약) 2일, 최대 (약) 3일, 최대 (약) 4일, 최대 (약) 5일, 최대 (약) 6일, 최대 (약) 7일, 최대 (약) 12 일, 최대 (약) 14일, 최대 (약) 21일, 최대 (약) 24일, 최대 (약) 28일, 최대 (약) 30일, 최대 (약) 35일, 최대 (약) 42일, 최대 (약) 60일 또는 최대 (약) 90일, 최대 (약) 120일, 최대 (약) 180일, 최대 (약) 240일, 최

대 (약) 360일, 또는 최대 (약) 720일 또는 그 이상 동안 계속되고 및/또는 더 투여된다. 일부 구현예에서, BTKi, 예를 들어 이브루티닙은 세포 투여 후 최대 (약) 1주, 2주, 3주, 4주, 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 12개월, 1년 또는 2년 이상 동안 계속되고 및/또는 더 투여된다. 일부 구현예에서, 예를 들어 BTKi, 예를 들어 이브루티닙의 계속되고 및/또는 추가의 투여를 위한 기간은 세포 요법의 투여 개시 후 (약) 4개월 이상 동안 연장된다. 일부 구현예에서, 예를 들어 BTKi, 예를 들어 이브루티닙의 계속된 투여를 위한 기간은 세포 요법의 투여 개시 후 (약) 5개월 이상 동안 연장된다. 일부 구현예에서, 예를 들어 BTKi, 예를 들어 이브루티닙의 연속된 투여를 위한 기간은 세포 요법의 투여 개시 후 (약) 6개월 이상 동안 연장된다.

[0443] 일부 구현예에서, BTKi, 예를 들어 이브루티닙의 투여는 적어도 3개월의 기간 동안 연장된다. 일부 구현예에서, BTKi, 예를 들어 이브루티닙의 투여는 세포 요법의 투여 개시 후 (약) 90일, (약) 100일, (약) 105일, (약) 110일, (약) 115일, (약) 120일, (약) 125일, (약) 130일, (약) 135일, (약) 140일, (약) 145일, (약) 150일, (약) 155일, (약) 160일, (약) 165일, (약) 170일, (약) 175일, (약) 180일, (약) 185일, (약) 190일, (약) 195일, 또는 (약) 200일 또는 그 이상의 기간 동안 연장된다.

[0444] 일부 구현예에서, BTKi, 예를 들어 이브루티닙은 (약) 50 mg 내지 420 mg, 50 mg 내지 400 mg, 50 mg 내지 380 mg, 50 mg 내지 360 mg, 50 mg 내지 340 mg, 50 mg 내지 320 mg, 50 mg 내지 300 mg, 50 mg 내지 280 mg, 100 mg 내지 400 mg, 100 mg 내지 380 mg, 100 mg 내지 360 mg, 100 mg 내지 340 mg, 100 mg 내지 320 mg, 100 mg 내지 300 mg, 100 mg 내지 280 mg, 100 mg 내지 200 mg, 140 mg 내지 400 mg, 140 mg 내지 380 mg, 140 mg 내지 360 mg, 140 mg 내지 340 mg, 140 mg 내지 320 mg, 140 mg 내지 300 mg, 140 mg 내지 280 mg, 140 mg 내지 200 mg, 180 mg 내지 400 mg, 180 mg 내지 380 mg, 180 mg 내지 360 mg, 180 mg 내지 340 mg, 180 mg 내지 320 mg, 180 mg 내지 300 mg, 180 mg 내지 280 mg, 200 mg 내지 400 mg, 200 mg 내지 380 mg, 200 mg 내지 360 mg, 200 mg 내지 340 mg, 200 mg 내지 320 mg, 200 mg 내지 300 mg, 200 mg 내지 280 mg, 220 mg 내지 400 mg, 220 mg 내지 380 mg, 220 mg 내지 360 mg, 220 mg 내지 340 mg, 220 mg 내지 320 mg, 220 mg 내지 300 mg, 220 mg 내지 280 mg, 240 mg 내지 400 mg, 240 mg 내지 380 mg, 240 mg 내지 360 mg, 240 mg 내지 340 mg, 240 mg 내지 320 mg, 240 mg 내지 300 mg, 240 mg 내지 280 mg, 280 mg 내지 420 mg 또는 300 mg 내지 400 mg의 투여량으로 투여된다.

[0445] 일부 구현예에서, BTKi, 예를 들어 이브루티닙은 적어도 (약) 50 mg/일, 100 mg/일, 140 mg/일, 150 mg/일, 175 mg/일, 200 mg/일, 250 mg/일, 280 mg/일, 300 mg/일, 350 mg/일, 400 mg/일, 420 mg/일, 440 mg/일, 460 mg/일, 480 mg/일, 500 mg/일, 520 mg/일, 540 mg/일, 560 mg/일, 580 mg/일, 600 mg/일, 700 mg/일, 750 mg/일, 800 mg/일, 850 mg/일 또는 960 mg/일의 총 매일 투여량으로 투여된다. 일부 구현예에서, 억제제는 약 420 mg/day의 양으로 투여된다. 일부 구현예에서, 억제제는 (약) 560 mg/day 미만 및 적어도 (약) 140 mg/day의 양으로 투여된다. 일부 구현예에서, 억제제는 (약) 420 mg/day 미만 및 적어도 (약) 280 mg/day의 양으로 투여된다. 일부 구현예에서, 억제제는 (약) 또는 적어도 (약) 140 mg/일, 280 mg/일, 420 mg/일 또는 560 mg/일의 양으로 투여된다. 일부 구현예에서, 억제제는 (약) 또는 적어도 (약) 420 mg/일 또는 560 mg/일의 양으로 투여된다. 일부 구현예에서, 억제제는 140 mg/일, 280 mg/일, 420 mg/일 또는 560 mg/일 이하의 양으로 투여된다. 일부 구현예에서, 억제제는 420 mg/일 또는 560 mg/일 이하의 양으로 투여된다. 일부 구현예에서, 양은 BTKi, 예를 들어 이브루티닙이 투여되는 각 1일 당 (약) 140 mg 내지 (약) 840 mg을 포함한다. 일부 구현예에서, 양은 BTKi, 예를 들어 이브루티닙이 투여되는 각 1일 당 (약) 140 mg 내지 (약) 560 mg을 포함한다. 일부 측면에서, BTKi, 예를 들어 이브루티닙은 독성을 관리하기 위해 사전 용량 감소가 필요한 경우에 매일 (약) 420 mg의 용량, 또는 더 낮은 용량으로 투여된다.

[0446] 일부 구현예에서, 억제제는 매일 1회 투여된다. 일부 구현예에서, 억제제는 매일 2회 투여된다.

[0447] 전술한 구현예 중 임의의 것에서, 이브루티닙은 경구 투여될 수 있다.

[0448] 일부 구현예에서, 일일 투여량과 같은 투여량은 하나 이상의 분할된 용량으로, 예컨대 2, 3, 또는 4개의 용량으로, 또는 단일 제형으로 투여된다. 억제제는 단독으로, 약학적으로 허용 가능한 운반체의 존재 하에서, 또는 다른 치료제의 존재 하에서 투여될 수 있다.

[0449] 일부 측면에서, BTKi, 예를 들어 이브루티닙은 세포 요법, 예를 들어 CAR T 세포 요법으로의 치료를 위해 대상체를 평가하는 시점에 투여된다. 일부 구현예에서, BTKi, 예를 들어 이브루티닙의 투여는 세포 요법, 예를 들어 CAR T 세포 요법의 투여 개시 후까지 계속된다. 일부 구현예에서, BTKi, 예를 들어 이브루티닙은 세포 요법, 예를 들어 CAR T 세포 요법으로의 치료를 위해 대상체를 평가하는 시점에 투여되지 않고, BTKi, 예를 들어 이브루

티넵은 세포 요법, 예를 들어 CAR T 세포 요법의 개시 전에 투여된다.

[0450] **IV. 세포에 의해 발현되는 재조합 항원 수용체**

[0451] 일부 구현예에서, 제공된 방법과 관련하여 사용 또는 투여되는 세포는 조작된 수용체, 예를 들어 키메라 항원 수용체(CAR)와 같은 조작된 항원 수용체 또는 T 세포 수용체(TCR)를 함유하거나 함유하도록 조작된다. 상기 세포의 집단, 상기 세포를 함유하는 조성물 및/또는 상기 세포에 대해 농축된, 예컨대 T 세포 또는 CD8<sup>+</sup> 또는 CD4<sup>+</sup> 세포와 같은 특정 유형의 세포가 농축되거나 선택된 조성물이 또한 제공된다. 조성물 중에는 예컨대 입양 세포 요법을 위한 투여용 약학 조성물 및 제형이 있다. 제공된 방법, 및/또는 제공된 제조품 또는 조성물에 부합되게, 대상체, 예를 들어 환자에게 세포 및 조성물을 투여하기 위한 치료 방법이 또한 제공된다.

[0452] 일부 구현예에서, 세포는 유전자 조작을 통해 도입된 하나 이상의 핵산을 포함하고 이로써 상기 핵산의 재조합 또는 유전자 조작된 산물을 발현한다. 일부 구현예에서, 유전자 전달은 먼저 세포를 자극하고, 예컨대 세포를 증식, 생존 및/또는 활성화와 같은 반응을 유도하는 자극과 조합하고, 예를 들어 사이토카인 또는 활성화 마커의 발현에 의해 측정된 바와 같이, 뒤이어 활성화된 세포의 형질도입 및 임상 적용에 충분한 수로 배양에서 증폭시켜 달성된다.

[0453] 세포는 일반적으로 기능성 비-TCR 항원 수용체, 예를 들어, 키메라 항원 수용체(CAR), 및 형질전환 T 세포 수용체(TCR)와 같은 다른 항원 결합 수용체를 포함하는 항원 수용체와 같은 재조합 수용체를 발현한다. 또한 수용체 중에는 다른 키메라 수용체가 있다.

[0454] **A. 키메라 항원 수용체(CAR)**

[0455] 제공된 방법 및 용도의 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체와 같은 키메라 수용체는 원하는 항원(예를 들어, 종양 항원)에 대한 특이성을 제공하는 리간드-결합 도메인(예를 들어, 항체 또는 항체 단편)을 세포내 신호 전달 도메인과 결합하는 하나 이상의 도메인을 함유한다. 일부 구현예에서, 세포내 신호 전달 도메인은 T 세포 자극 또는 활성화 도메인과 같은 자극 또는 활성화 세포내 도메인 부분이고, 1차 활성화 신호 또는 1차 신호를 제공한다. 일부 구현예에서, 세포내 신호 전달 도메인은 이펙터 기능을 촉진하기 위한 공자극 신호 전달 도메인을 함유하거나 추가로 함유한다. 일부 구현예에서, 면역 세포로 유전자 조작될 때 키메라 수용체는 T 세포 활성을 조절할 수 있고, 일부 경우에, T 세포 분화 또는 항상성을 조절할 수 있으며, 이로써 예컨대 입양 세포 요법 방법에서 사용하기 위해, 생체 내 수명, 생존 및/또는 지속성이 향상된 유전자 조작된 세포를 초래한다.

[0456] CAR을 포함하는 예시적 항원 수용체 및 상기 수용체를 조작하고 세포 내로 도입하는 방법은 예를 들어 문헌[국제 특허 출원 공개 번호 WO200014257, WO2013126726, WO2012/129514, WO2014031687, WO2013/166321, WO2013/071154, WO2013/123061, 미국 특허 출원 공개 번호 US2002131960, US2013287748, US20130149337, 미국 특허 번호 6,451,995, 7,446,190, 8,252,592, 8,339,645, 8,398,282, 7,446,179, 6,410,319, 7,070,995, 7,265,209, 7,354,762, 7,446,191, 8,324,353 및 8,479,118 및 유럽 특허 출원 번호 EP2537416]에 기재된 것들 및/또는 문헌[Sadelain et al., Cancer Discov. 2013 April; 3(4): 388-398; Davila et al. (2013) PLoS ONE 8(4): e61338; Turtle et al., Curr. Opin. Immunol., 2012 October; 24(5): 633-39; Wu et al., Cancer, 2012 March 18(2): 160-75]에 기재된 것들을 포함한다. 일부 측면에서, 항원 수용체는 문헌[미국 특허 번호 7,446,190]에 기재된 바와 같은 CAR 및 문헌[국제 특허 출원 공개 번호 WO/2014055668 A1]에 기재된 것을 포함한다. CAR의 예로는 전술한 간행물 중 어느 하나, 예컨대 문헌[WO2014031687, US 8,339,645, US 7,446,179, US 2013/0149337, U.S. Patent No.: 7,446,190, US Patent No.: 8,389,282, Kochenderfer et al., 2013, Nature Reviews Clinical Oncology, 10, 267-276 (2013); Wang et al. (2012) J. Immunother. 35(9): 689-701; 및 Brentjens et al., Sci Transl Med. 2013 5(177)]에 개시된 바와 같은 CAR이 포함된다. 또한 문헌 [WO2014031687, US 8,339,645, US 7,446,179, US 2013/0149337, 미국 특허 번호 7,446,190 및 미국 특허 번호 8,389,282]을 참조한다.

[0457] CAR과 같은 키메라 수용체는 일반적으로 항체 분자의 부분과 같은 세포외 항원 결합 도메인, 일반적으로 항체의 가변 중쇄(V<sub>H</sub>) 영역 및/또는 가변 경쇄(V<sub>L</sub>) 영역, 예를 들어, scFv 항체 단편을 포함한다.

[0458] 일부 구현예에서, 수용체에 의해 표적화되는 항원은 폴리펩타이드이다. 일부 구현예에서, 이는 탄수화물 또는 다른 분자이다. 일부 구현예에서, 항원은 정상 또는 비-표적화 세포 또는 조직과 비교하여 질병 또는 병태의 세포 상에서, 예를 들어 종양 또는 병원성 세포 상에서 선택적으로 발현되거나 과발현된다. 다른 구현예에서, 항원은 정상 세포 상에서 발현되고/거나 조작된 세포 상에서 발현된다.



[0459] 일부 구현예에서, 수용체에 의해 표적화된 항원은  $\alpha\text{v}\beta 6$  인테그린( $\alpha\text{v}\beta 6$  integrin), B 세포 성숙 항원(BCMA), B7-H3, B7-H6, 탄산 탈수 효소 9(CA9; CAIX 또는 G250으로도 공지), 암 고환 항원, 암/고환 항원 1B(CTAG; NY-ESO-1 및 LAGE-2로도 공지), 암배아 항원(CEA), 사이클린, 사이클린 A2, C-C 모티프 케모카인 리간드 1(CCL-1), CD19, CD20, CD22, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, CD44v6, CD44v7/8, CD123, CD133, CD138, CD171, 콘드로이틴 황산 프로테오글리칸 4(chondroitin sulfate proteoglycan 4, CSPG4), 표피 성장 인자 단백질(EGFR), 타입 III 표피 성장 인자 수용체 돌연변이(EGFR vIII), 상피 당단백질 2(EPG-2), 상피 당단백질 40(EPG-40), 에프린B2, 에프린 수용체 A2(EpHA2), 에스트로젠 수용체, Fc 수용체 유사 5(FCRL5; Fc 수용체 동족체 5 또는 FCRH5로도 공지), 태아 아세틸콜린 수용체(태아 AchR), 엽산 결합 단백질(FBP), 엽산 수용체 알파, 강글리오사이드 GD2, O-아세틸화 GD2(OGD2), 강글리오사이드 GD3, 당단백질 100(gp100), 글리피칸-3(GPC3), G 단백질 결합 수용체 C 클래스 5 그룹 D 멤버(GPRC5D), Her2/neu(수용체 티로신 키나아제 erb-B2), Her3(erb-B3), Her4(erb-B4), erbB 이량체, 인간 고분자량 흑색종 관련 항원(HMW-MAA), B형 간염 표면 항원, 인간 백혈구 항원 A1(HLA-A1), 인간 백혈구 항원 A2(HLA-A2), IL-22 수용체 알파(IL-22R  $\alpha$ ), IL-13 수용체 알파 2(IL-13R  $\alpha 2$ ), 키나아제 삽입 도메인 수용체(kinase insert domain receptor, kdr), 카파 경쇄, L1 세포 부착 분자(L1-CAM), L1-CAM의 CE7 에피토프, 8족 A 멤버를 함유하는 류신 풍부 반복(Leucine Rich Repeat Containing 8 Family Member A, LRRRC8A), 루이스 Y, 흑색종 관련 항원(MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, MAGE-A10, 메소텔린(MSLN), c-Met, 뮤린 시토크말로 바이러스(CMV), 뮤신 1(MUC1), MUC16, 자연 살생 2 그룹 D 멤버(NKG2D) 리간드, 멜란 A(MART-1), 신경 세포 부착 분자(NCAM), 종양태아성 항원, 흑색종 우선 발현 항원(PRAME), 프로게스테론 수용체, 전립선 특이적 항원, 전립선 줄기 세포 항원(PSCA), 전립선 특이적 막 항원(PSMA), 수용체 티로신 키나아제 유사 회귀 수용체 1(ROR1), 서바이빈(survivin), 영양막 당단백질(TPBG, 5T4로도 공지), 종양 관련 당단백질 72(TAG72), 티로시나아제 관련 단백질 1(TRP1; TYRP1 또는 gp75로도 공지), 티로시나아제 관련 단백질 2(TRP2; 도파크롬 타우토메라제, 도파크롬 텔타 이성화 효소 또는 DCT로도 공지), 혈관 내피 성장 인자 수용체(VEGFR), 혈관 내피 성장 인자 수용체 2(VEGFR2), 빌름스 종양 1(WT-1), 병원체 특이적 또는 병원체 발현 항원, 또는 보편적 표지(universal tag) 관련 항원, 및/또는 비오틴화 분자 및/또는 HIV, HCV, HBV 또는 다른 병원체에 의해 발현된 분자 중에서 선택된다. 일부 구현예에서, 수용체에 의해 표적화되는 항원은 다수의 공지된 B 세포 마커 중 어느 하나와 같은 B 세포 악성 종양과 연관된 항원을 포함한다. 일부 구현예에서, 수용체에 의해 표적화되는 항원은 CD20, CD19, CD22, ROR1, CD45, CD21, CD5, CD33, Ig가파, Ig람다, CD79a, CD79b 또는 CD30이다. 일부 구현예에서, 항원은 병원체 특이적 또는 병원체 발현 항원이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 항원은 바이러스 항원(예컨대 HIV, HCV, HBV 등으로부터 유래된 바이러스 항원), 세균 항원 및/또는 기생 항원이다.

[0460] 일부 구현예에서, 항원은 CD19이다. 일부 구현예에서, scFv는 CD19에 특이적인 항체 또는 항체 단편으로부터 유래된  $V_H$  및  $V_L$ 를 함유한다. 일부 구현예에서, CD19에 결합하는 항체 또는 항체 단편은 FMC63 및 SJ25C1과 같은 마우스 유래 항체이다. 일부 구현예에서, 항체 또는 항체 단편은 예를 들어, 문헌[미국 특허 공개 번호 US 2016/0152723]에 기재된 바와 같은 인간 항체이다.

[0461] 일부 구현예에서, scFv 및/또는  $V_H$  도메인은 FMC63으로부터 유래된다. FMC63은 일반적으로 인간 기원의 CD19를 발현하는 Nalm-1 및 -16 세포에 대하여 발생된 마우스 단클론성 IgG1 항체를 지칭한다(Ling, N. R., *et al.* (1987). *Leucocyte typing III*. 302). 일부 구현예에서, FMC63 항체는 서열번호 38 및 39에 각각 제시된 CDR-H1 및 CDR-H2 및 서열번호 40 또는 54에 제시된 CDR-H3 및 서열번호 35에 제시된 CDR-L1 및 서열번호 36 또는 55에 제시된 CDR-L2 및 서열번호 37 또는 56에 제시된 CDR-L3을 포함한다. 일부 구현예에서, FMC63 항체는 서열번호 41의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역( $V_H$ ) 및 서열번호 42의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역( $V_L$ )을 포함한다.

[0462] 일부 구현예에서, scFv는 서열번호 35의 CDR-L1 서열, 서열번호 36의 CDR-L2 서열, 서열번호 37의 CDR-L3 서열을 함유하는 가변 경쇄 및/또는 서열번호 38의 CDR-H1 서열, 서열번호 39의 CDR-H2 서열, 및 서열번호 40의 CDR-H3 서열을 함유하는 가변 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, scFv는 서열번호 41에 제시된 가변 중쇄 영역 및 서열번호 42에 제시된 가변 경쇄 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 가변 중쇄 및 가변 경쇄는 링커에 의해 연결된다. 일부 구현예에서, 링커는 서열번호 24에 제시된다. 일부 구현예에서, scFv는  $V_H$ , 링커 및  $V_L$ 를 순서대로 포함한다. 일부 구현예에서, scFv는  $V_L$ , 링커 및  $V_H$ 를 순서대로 포함한다. 일부 구현예에서, scFv는 서열번호 25에 제시된 뉴클레오타이드 서열 또는 서열번호 25에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 나타내는 서열에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서,

scFv는 서열번호 43에 제시된 아미노산 서열 또는 서열번호 43에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 나타내는 서열을 포함한다.

[0463] 일부 구현예에서, scFv는 SJ25C1로부터 유래된다. SJ25C1은 인간 기원의 CD19를 발현하는 Nalm-1 및 -16 세포에 대하여 발생된 마우스 단클론성 IgG1 항체이다(Ling, N. R., *et al.* (1987). *Leucocyte typing III*. 302). 일부 구현예에서, SJ25C1 항체는 서열번호 47-49에 각각 제시된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열 및 서열번호 44-46에 각각 제시된 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, SJ25C1 항체는 서열번호 50의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역( $V_H$ ) 및 서열번호 51의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역( $V_L$ )을 포함한다.

[0464] 일부 구현예에서, scFv는 서열번호 44의 CDR-L1 서열, 서열번호 45의 CDR-L2 서열, 서열번호 46의 CDR-L3 서열을 함유하는 가변 경쇄 및/또는 서열번호 47의 CDR-H1 서열, 서열번호 48의 CDR-H2 서열, 및 서열번호 49의 CDR-H3 서열을 함유하는 가변 중쇄를 포함한다. 일부 구현예에서, scFv는 서열번호 50에 제시된 가변 중쇄 영역 및 서열번호 51에 제시된 가변 경쇄 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 가변 중쇄 및 가변 경쇄는 링커에 의해 연결된다. 일부 구현예에서, 링커는 서열번호 52에 제시된다. 일부 구현예에서, scFv는  $V_H$ , 링커 및  $V_L$ 을 순서대로 포함한다. 일부 구현예에서, scFv는  $V_L$ , 링커 및  $V_H$ 를 순서대로 포함한다. 일부 구현예에서, scFv는 서열번호 53에 제시된 아미노산 서열 또는 서열번호 53에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 나타내는 서열을 포함한다.

[0465] 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체는 항체 또는 항체 단편을 함유하는 세포의 부분을 포함한다. 일부 측면에서, 키메라 항원 수용체는 항체 또는 단편을 함유하는 세포의 부분 및 세포내 신호 전달 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 항체 또는 단편은 scFv를 포함한다.

[0466] 본 명세서에서 용어 “항체(antibody)”는 가장 넓은 의미로 사용되며, 온전한 항체 및 기능성(항원-결합) 항체 단편을 포함하는 다클론 및 단클론 항체를 포함하며, 항원에 특이적으로 결합할 수 있는 단편 항원 결합(Fab) 단편,  $F(ab')_2$  단편, Fab' 단편, Fv 단편, 재조합 IgG(rIgG) 단편, 가변 중쇄( $V_H$ ) 영역, 단일 사슬 가변 단편(scFv)을 포함한 단일 사슬 항체 단편 및 단일 도메인 항체(예를 들어, sdAb, sdFv, 나노바디(nanobody)) 단편을 포함한다. 상기 용어는 유전자 조작된 및/또는 달리 변형된 형태의 면역글로불린, 예컨대 인트라바디(intrabodies), 펩티바디(peptibodies), 키메라 항체, 완전한 인간 항체, 인간화된 항체 및 이중 접합 항체, 다중 특이적(예를 들어, 이중 특이적 또는 삼중 특이적) 항체, 디아바디(diabodies), 트리아바디(triabodies) 및 테트라바디(tetrabodies), 텐덤 디-scFv, 텐덤 트리-scFv를 포괄한다. 달리 언급되지 않는 한, 용어 “항체”는 본 명세서에서 “항원 결합 단편(antigen-binding fragment)”으로도 지칭되는 이의 기능성 항체 단편을 포괄하는 것으로 이해되어야 한다. 상기 용어는 또한 IgG 및 이의 하위 클래스, IgM, IgE, IgA 및 IgD를 포함하는 임의의 클래스 또는 하위 클래스의 항체를 포함하는 온전한 또는 전장 항체를 포괄한다.

[0467] 일부 경우에 용어 “초가변 영역(hypervariable region)” 또는 “HVR”과 동의어인 “상보성 결정 영역(complementarity determining region)” 및 “CDR”은 항원 특이성 및/또는 결합 친화도를 부여하는 항체 가변 영역 내의 비인접 아미노산 서열을 지칭하는 것으로 공지되어 있다. 일반적으로, 각각의 중쇄 가변 영역에는 3개의 CDR(CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3)이 있고 각각의 경쇄 가변 영역에는 3개의 CDR(CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3)이 있다. 일부 경우에, “프레임워크 영역(framework region)” 및 “FR”은 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 비-CDR 부분을 지칭하는 것으로 공지되어 있다. 일반적으로, 각각의 전장 중쇄 가변 영역에는 4개의 FR(FR-H1, FR-H2, FR-H3 및 FR-H4)이 있고, 각각의 전장 경쇄 가변 영역에는 4개의 FR(FR-L1, FR-L2, FR-L3 및 FR-L4)이 있다.

[0468] 주어진 CDR 또는 FR의 정확한 아미노산 서열 경계는 문헌[Kabat *et al.* (1991), “Sequences of Proteins of Immunological Interest,” 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (“Kabat” 넘버링 체계); Al-Lazikani *et al.*, (1997) JMB 273,927-948 (“Chothia” 넘버링 체계); MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996), “Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography,” J. Mol. Biol. 262, 732-745.” (“Contact” 넘버링 체계); Lefranc MP *et al.*, “IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains,” Dev Comp Immunol, 2003 Jan;27(1):55-77 (“IMGT” 넘버링 체계); Honegger A and Pluckthun A, “Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool,” J Mol Biol, 2001 Jun 8;309(3):657-70, (“Aho” 넘버링 체계); 및 Martin *et al.*, “Modeling antibody hypervariable loops: a combined algorithm,” PNAS, 1989, 86(23):9268-9272,

(“AbM” 넘버링 체계)]에 기재된 것을 포함한 다수의 잘 알려진 체계 중 어느 하나를 사용하여 용이하게 결정될 수 있다.

[0469] 주어진 CDR 또는 FR의 경계는 식별에 사용된 체계에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, Kabat 체계는 구조적 정렬을 기반으로 하는 반면 Chothia 체계는 구조 정보를 기반으로 한다. Kabat 및 Chothia 체계 모두에 대한 넘버링은 삽입 문자, 예를 들어 “30a”에 의해 수용되는 삽입(insertion) 및 일부 항체에서 나타나는 결실(deletion)이 있는 가장 일반적인 항체 영역 서열 길이에 기반한다. 이 두 체계는 상이한 위치에 특정 삽입 및 결실(“삽입-결실(indel)”)을 배치하여 차이가 있는 넘버링이 된다. Contact 체계는 복잡한 결정 구조의 분석에 기반하며 여러 관점에서 Chothia 넘버링 체계와 유사하다. AbM 체계는 Oxford Molecular’s AbM 항체 모델링 소프트웨어에서 사용된 것에 기반한 Kabat와 Chothia 정의 사이의 절충안이다.

[0470] 하기 표 8은 Kabat, Chothia, AbM 및 Contact 체계에 의해 각각 식별된 바와 같은 CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 및 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3의 예시적인 위치 경계를 열거한다. CDR-H1의 경우, Kabat 및 Chothia 넘버링 체계 둘 다를 사용하여 잔기 넘버링이 나열된다. FR들은 예를 들어 CDR-L1 앞에 위치한 FR-L1, CDR-L1과 CDR-L2 사이에 위치한 FR-L2, CDR-L2와 CDR-L3 사이에 위치한 FR-L3과 같은 식으로 CDR들 사이에 위치한다. 도시된 Kabat 넘버링 체계는 H35A 및 H35B에 삽입을 배치하기 때문에, 도시된 Kabat 넘버링 관례를 사용하여 넘버링될 때 Chothia CDR-H1 루프의 끝은 루프의 길이에 따라 H32와 H34 사이에서 변한다.

**표 8**

[0471] 다양한 넘버링 체계에 따른 CDR의 경계

CDR	Kabat	Chothia	AbM	Contact
CDR-L1	L24--L34	L24--L34	L24--L34	L30--L36
CDR-L2	L50--L56	L50--L56	L50--L56	L46--L55
CDR-L3	L89--L97	L89--L97	L89--L97	L89--L96
CDR-H1 (Kabat 넘버링 <sup>1</sup> )	H31--H35B	H26--H32.34	H26--H35B	H30--H35B
CDR-H1 (Chothia 넘버링 <sup>2</sup> )	H31--H35	H26--H32	H26--H35	H30--H35
CDR-H2	H50--H65	H52--H56	H50--H58	H47--H58
CDR-H3	H95--H102	H95--H102	H95--H102	H93--H101

[0472] 1 - Kabat *et al.* (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD

[0473] 2 - Al-Lazikani *et al.*, (1997) JMB 273,927-948

[0474] 따라서, 달리 지정되지 않는 한, 주어진 항체 또는 이의 영역, 예컨대 이의 가변 영역의 “CDR” 또는 “상보적 결정 영역(complementary determining region)” 또는 개별 지정 CDR(예를 들어, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3)은 전술한 체계 중 어느 하나 또는 다른 공지된 체계에 의해 정의된 바와 같은 (또는 특정) 상보성 결정 영역을 포괄하는 것으로 이해되어야 한다. 예를 들어, 특정 CDR(예를 들어, CDR-H3)이 주어진 V<sub>H</sub> 또는 V<sub>L</sub> 영역 아미노산 서열에 있는 해당 CDR의 아미노산 서열을 함유한다고 언급될 경우, 상기 CDR은 전술한 체계 중 어느 하나 또는 다른 공지된 체계에 의해 정의된 바와 같은 가변 영역 내의 해당 CDR(예를 들어, CDR-H3)의 서열을 갖는다고 이해된다. 일부 구현예에서, 특정 CDR 서열이 지정된다. 제공된 항체의 예시적인 CDR 서열은 다양한 넘버링 체계를 사용하여 기재되지만, 제공된 항체는 전술한 다른 넘버링 체계 중 어느 하나 또는 당업자에게 공지된 다른 넘버링 체계에 따라 기재된 바와 같은 CDR을 포함할 수 있는 것으로 이해된다.

[0475] 마찬가지로, 달리 지정되지 않는 한, 주어진 항체 또는 이의 영역, 예컨대 이의 가변 영역의 FR 또는 개별 지정 FR(들)(예를 들어, FR-H1, FR-H2, FR-H3, FR-H4)은 공지된 체계 중 어느 하나에 의해 정의된 바와 같은 (또는 특정) 프레임워크 영역을 포괄하는 것으로 이해되어야 한다. 일부 경우에, CDR과 같은 특정 CDR, FR 또는 FR들 또는 CDR들의 식별을 위한 체계는 Kabat, Chothia, AbM 또는 Contact 방법 또는 다른 공지된 체계에 의해 정의된 바와 같이 지정된다. 다른 경우에, CDR 또는 FR의 특정 아미노산 서열이 제공된다.

[0476] 용어 “가변 영역(variable region)” 또는 “가변 도메인(variable domain)”은 항체가 항원에 결합하는 데 관

여하는 항체의 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 지칭한다. 천연 항체의 중쇄 및 경쇄(각각  $V_H$  및  $V_L$ ) 가변 영역은 일반적으로 유사한 구조를 가지며, 각각의 도메인은 4개의 보존된 프레임워크 영역(*framework region*, FR) 및 3개의 CDR을 포함한다. (예를 들어, 문헌[Kindt *et al.* Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007)]을 참조한다). 단일  $V_H$  또는  $V_L$  도메인은 항원 결합 특이성을 부여하기에 충분할 수 있다. 또한, 특정 항원에 결합하는 항체는 상보적  $V_L$  또는  $V_H$  도메인 라이브러리를 각각 선택하기 위해 항원에 결합하는 항체로부터의  $V_H$  또는  $V_L$  도메인을 사용하여 단리될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Portolano *et al.*, *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson *et al.*, *Nature* 352:624-628 (1991)]을 참조한다.

[0477] 제공된 CAR에 포함된 항체 중에는 항체 단편이 있다. “항체 단편(*antibody fragment*)” 또는 “항원 결합 단편(*antigen-binding fragment*)”은 온전한 항체가 결합하는 항원에 결합하는 온전한 항체의 일부를 포함하는 온전한 항체 이외의 분자를 지칭한다. 항체 단편의 예는 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')<sub>2</sub>; 디아바디; 선형 항체; 중쇄 가변( $V_H$ ) 영역, scFv와 같은 단일 사슬 항체 분자 및  $V_H$  영역만을 포함하는 단일 도메인 항체; 및 항체 단편들로 형성된 다중 특이적 항체를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 제공된 CAR에 있는 항원 결합 도메인은 가변 중쇄( $V_H$ ) 및 가변 경쇄( $V_L$ ) 영역을 포함하는 항체 단편이거나 이를 포함한다. 특정 구현예에서, 항체는 scFv와 같은 중쇄 가변( $V_H$ ) 영역 및/또는 경쇄 가변( $V_L$ ) 영역을 포함하는 단일 사슬 항체 단편이다.

[0478] 용어 “가변 영역(*variable region*)” 또는 “가변 도메인(*variable domain*)”은 항체가 항원에 결합하는 데 관여하는 항체의 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 지칭한다. 천연 항체의 중쇄 및 경쇄(각각  $V_H$  및  $V_L$ ) 가변 도메인은 일반적으로 유사한 구조를 가지며, 각각의 도메인은 4개의 보존된 프레임워크 영역(*framework region*, FR) 및 3개의 CDR을 포함한다. (예를 들어, 문헌[Kindt *et al.* Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007)]을 참조한다). 단일  $V_H$  또는  $V_L$  도메인은 항원 결합 특이성을 부여하기에 충분할 수 있다. 또한, 특정 항원에 결합하는 항체는 상보적  $V_L$  또는  $V_H$  도메인 라이브러리를 각각 선택하기 위해 항원에 결합하는 항체로부터의  $V_H$  또는  $V_L$  도메인을 사용하여 단리될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Portolano *et al.*, *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson *et al.*, *Nature* 352:624-628 (1991)]을 참조한다.

[0479] 단일 도메인 항체는 항체의 중쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부 또는 경쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부를 포함하는 항체 단편이다. 특정 구현예에서, 단일 도메인 항체는 인간 단일 도메인 항체이다. 일부 구현예에서, CAR은 분원에 기술되거나 공지된 표적 항원 중 어느 하나와 같이, 종양 세포 또는 암세포와 같은 표적화될 세포 또는 질병의 암 마커 또는 세포 표면 항원과 같은 항원에 특이적으로 결합하는 항체 중쇄 도메인을 포함한다.

[0480] 항체 단편은 온전한 항체의 단백질 가수 분해 소화 및 재조합 숙주 세포에 의한 생산을 포함하나 이에 한정되지 않는 다양한 기술에 의해 제조될 수 있다. 일부 구현예에서, 항체는 합성 링커, 예를 들어 펩타이드 링커에 의해 연결된 둘 이상의 항체 영역 또는 사슬을 갖는 것과 같이 자연적으로 발생하지 않고/거나 자연적으로 발생하는 온전한 항체의 효소 소화에 의해 생성되지 않을 수 있는 배열을 포함하는 단편과 같은 재조합으로 생성된 단편이다. 일부 구현예에서, 항체 단편은 scFv이다.

[0481] “인간화된(*humanized*)” 항체는, 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 아미노산 잔기가 비인간 CDR로부터 유래되고 모든 또는 실질적으로 모든 FR 아미노산 잔기가 인간 FR로부터 유래된, 항체이다. 인간화된 항체는 선택적으로 인간 항체로부터 유래된 항체 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 비인간 항체의 “인간화된 형태(*humanized form*)”는 모체 비인간 항체의 특이성 및 친화도를 유지하면서, 통상적으로 인간에 대한 면역원성을 감소시키기 위해 인간화를 거친 비인간 항체의 변이체를 지칭한다. 일부 구현예에서, 인간화된 항체의 일부 FR 잔기는 비인간 항체(예를 들어, CDR 잔기가 유래된 항체)의 해당 잔기로 치환되어 예를 들어, 항체 특이성 또는 친화도가 회복되거나 개선된다.

[0482] 일부 구현예에서, 재조합 수용체(예를 들어, CAR)의 항체 부분은 면역글로불린 불변 영역, 예컨대 힌지 영역, 예를 들어, IgG4 힌지 영역의 적어도 일부, 및/또는 C<sub>H</sub>1/C<sub>L</sub> 및/또는 Fc 영역을 더 포함한다. 일부 구현예에서, 불변 영역 또는 부분은 IgG4 또는 IgG1과 같은 인간 IgG의 것이다. 일부 측면에서, 불변 영역의 일부는 항원-인식 성분, 예를 들어, scFv와 막관통 도메인 사이에서 스페이서 영역으로 기능한다. 스페이서는 스페이서의 부재와 비교하여 항원 결합 후에 세포의 반응성 증가를 제공하는 길이의 것일 수 있다. 예시적인 스페이서는 문헌[Hudecek *et al.* (2013) *Clin. Cancer Res.*, 19:3153, 국제 특허 출원 공개 번호 W02014031687, 미국 특허 번

호 8,822,647 또는 특허 출원 공개 번호 US2014/0271635]에 기재된 것을 포함하나 이에 한정되지 않는다.

- [0483] 일부 구현예에서, 불변 영역 또는 부분은 IgG4 또는 IgG1과 같은 인간 IgG의 것이다. 일부 구현예에서, 스페이서는 (서열번호 1에 제시된) 서열 ESKYGPPCPPC를 가지며, 서열번호 2에 제시된 서열에 의해 암호화된다. 일부 구현예에서, 스페이서는 서열번호 3에 제시된 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 스페이서는 서열번호 4에 제시된 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 불변 영역 또는 부분은 IgD의 것이다. 일부 구현예에서, 스페이서는 서열번호 5에 제시된 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 스페이서는 서열번호 1, 3, 4 또는 5 중 어느 하나에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 스페이서는 서열번호 26-34에 제시된 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 스페이서는 서열번호 26-34 중 어느 하나에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 갖는다.
- [0484] 일부 구현예에서, 항원 수용체는 세포의 도메인에 직접 또는 간접적으로 연결된 세포내 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체는 세포의 도메인과 세포내 신호 전달 도메인을 연결하는 막관통 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 세포내 신호 전달 도메인은 ITAM을 포함한다. 예를 들어, 일부 측면에서, 항원 인식 도메인(예를 들어, 세포의 도메인)은 일반적으로 CAR의 경우에 TCR 복합체와 같은 항원 수용체 복합체를 통한 활성화 및/또는 다른 세포 표면 수용체를 통한 신호를 모방하는 신호 전달 성분과 같은 하나 이상의 세포내 신호 전달 성분에 연결된다. 일부 구현예에서, 키메라 수용체는 세포의 도메인(예를 들어, scFv) 및 세포내 신호 전달 도메인 사이에 연결되거나 융합된 막관통 도메인을 포함한다. 따라서, 일부 구현예에서, 항원 결합 성분(예를 들어, 항체)은 하나 이상의 막관통 도메인 및 세포내 신호 전달 도메인에 연결된다.
- [0485] 일 구현예에서, 수용체, 예를 들어 CAR에 있는 도메인 중 하나와 자연적으로 회합하는 막관통 도메인이 사용된다. 일부 경우에, 막관통 도메인은 동일하거나 상이한 표면 막 단백질의 막관통 도메인에 대한 상기 도메인의 결합을 피하도록 아미노산 치환에 의해 변형되거나 선택되어 수용체 복합체의 다른 멤버와의 상호 작용이 최소화된다.
- [0486] 일부 구현예에서, 막관통 도메인은 천연 또는 합성 공급원으로부터 유래된다. 공급원이 천연인 경우, 일부 측면에서, 도메인은 임의의 막-결합 또는 막관통 단백질로부터 유래된다. 막 관통 영역은 T 세포 수용체의 알파, 베타 또는 제타 사슬, CD28, CD3 엡실론, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154로부터 유래된 것을 포함한다(즉 적어도 이들의 막관통 영역(들)을 포함한다). 대안적으로 일부 구현예에서 막관통 도메인은 합성이다. 일부 측면에서, 합성 막관통 도메인은 주로 류신 및 발린과 같은 소수성 잔기를 포함한다. 일부 측면에서, 페닐알라닌, 트립토판 및 발린의 트리플렛(triplet)이 합성 막관통 도메인의 각 말단에서 발견될 것이다. 일부 구현예에서, 연결은 링커, 스페이서 및/또는 막관통 도메인에 의한 것이다. 일부 측면에서, 막관통 도메인은 CD28의 막관통 부분을 함유한다.
- [0487] 일부 구현예에서, 세포의 도메인과 막관통 도메인은 직접 또는 간접적으로 연결될 수 있다. 일부 구현예에서, 세포의 도메인과 막관통은 본원에 기술된 임의의 것과 같은 스페이서에 의해 연결된다. 일부 구현예에서, 수용체는 막관통 도메인이 유래된 분자의 세포의 부분, 예컨대 CD28 세포의 부분을 함유한다.
- [0488] 세포내 신호 전달 도메인 중에는 천연 항원 수용체를 통한 신호, 공자극 수용체와 조합으로 상기 수용체를 통한 신호 및/또는 공자극 수용체 단독을 통한 신호를 모방하거나 이와 유사한 것이 있다. 일부 구현예에서, 짧은 올리고- 또는 폴리펩타이드 링커, 예를 들어 글리신 및 세린, 예를 들어 글리신-세린 더블렛(doublet)을 함유하는 것과 같은 2 내지 10개 아미노산 길이의 링커가 CAR의 막관통 도메인과 세포질 신호 전달 도메인 사이에 존재하고 연결을 형성한다.
- [0489] 일부 측면에서, T 세포 활성화는 두 종류의 세포질 신호 전달 서열, 즉 TCR을 통한 항원-의존적 1차 활성화를 개시하는 서열(1차 세포질 신호 전달 서열) 및 항원-비의존적 방식으로 작용하여 2차 또는 공자극 신호를 제공하는 서열(2차 세포질 신호 전달 서열)에 의해 매개되는 것으로 설명된다. 일부 측면에서, CAR은 상기 신호 전달 성분 중 하나 또는 둘 모두를 포함한다.
- [0490] 수용체, 예를 들어 CAR은 일반적으로 적어도 하나의 세포내 신호 전달 성분 또는 성분들을 포함한다. 일부 측면에서, CAR은 TCR 복합체의 1차 활성화를 조절하는 1차 세포질 신호 전달 서열을 포함한다. 자극 방식으로 작용하는 1차 세포질 신호 전달 서열은 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프 또는 ITAM으로 공지된 신호 전달 모티프를 함유할 수 있다. 1차 세포질 신호 전달 서열을 함유하는 ITAM의 예에는 CD3 제타 사슬, FcR 감마, CD3

감마, CD3 델타 및 CD3 엡실론으로부터 유래된 것이 포함된다. 일부 구현예에서, CAR의 세포질 신호 전달 분자(들)은 CD3 제타로부터 유래된 세포질 신호 전달 도메인, 이의 부분, 또는 서열을 함유한다.

[0491] 일부 구현예에서, 수용체는 T-세포 활성화 및 세포 독성을 매개하는 TCR CD3 사슬, 예를 들어 CD3 제타 사슬과 같은 TCR 복합체의 세포내 성분을 포함한다. 따라서, 일부 측면에서, 항원 결합 부분은 하나 이상의 세포 신호 전달 모듈에 연결된다. 일부 구현예에서, 세포 신호 전달 모듈은 CD3 막관통 도메인, CD3 세포내 신호 전달 도메인 및/또는 기타 CD 막관통 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 수용체, 예를 들어 CAR은 또한 Fc 수용체  $\gamma$ , CD8, CD4, CD25 또는 CD16과 같은 하나 이상의 추가 분자의 일부를 포함한다. 예를 들어, 일부 측면에서, CAR 또는 다른 키메라 수용체는 CD3-제타(CD3- $\zeta$ ) 또는 Fc 수용체  $\gamma$ 와 CD8, CD4, CD25 또는 CD16 사이에 키메라 분자를 포함한다.

[0492] 일부 구현예에서, CAR 또는 다른 키메라 수용체의 결합시, 수용체의 세포질 도메인 또는 세포내 신호 전달 도메인은 면역 세포, 예를 들어 CAR을 발현하도록 조작된 T 세포의 정상 효과기 기능 또는 반응 중 적어도 하나를 활성화시킨다. 예를 들어, 일부 맥락에서, CAR은 T 세포의 기능, 예컨대 세포 용해 활성 또는 T-헬퍼 활성, 예컨대 사이토카인 또는 기타 인자의 분비를 유도한다. 일부 구현예에서, 항원 수용체 성분 또는 공자극 분자의 세포내 신호 전달 도메인의 절단 부분은 예를 들어 그것이 효과기 기능 신호를 전달하는 경우 운전한 면역 자극 사슬 대신에 사용된다. 일부 구현예에서, 세포내 신호 전달 도메인 또는 도메인들은 T 세포 수용체(TCR)의 세포질 서열 및 일부 측면에서 천연 맥락에서 항원 수용체 결합 후에 신호 전달을 개시하기 위해 상기 수용체와 협력하여 작용하는 공-수용체의 세포질 서열을 또한 포함한다.

[0493] 천연 TCR의 맥락에서, 완전한 활성화는 일반적으로 TCR을 통한 신호 전달뿐만 아니라 공자극 신호가 필요하다. 따라서, 일부 구현예에서, 완전한 활성화를 촉진하기 위해, 2차 또는 공자극 신호를 생성하기 위한 성분이 CAR에 또한 포함된다. 다른 구현예에서, CAR은 공자극 신호를 생성하기 위한 성분을 포함하지 않는다. 일부 측면에서, 추가의 CAR이 동일한 세포에서 발현되고 2차 또는 공자극 신호를 생성하기 위한 성분을 제공한다.

[0494] 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체는 T 세포 공자극 분자의 세포내 도메인을 함유한다. 일부 구현예에서, CAR은 CD28, 4-1BB, OX40, DAP10 및 ICOS와 같은 공자극 수용체의 신호 전달 도메인 및/또는 막관통 부분을 포함한다. 일부 측면에서, 동일한 CAR은 활성화 및 공자극 성분 둘 다를 포함한다. 일부 구현예에서, 키메라 항원 수용체는 T 세포 공자극 분자로부터 유래된 세포내 도메인 또는 이의 기능적 변이체를, 예컨대 막관통 도메인과 세포내 신호 전달 도메인 사이에 함유한다. 일부 측면에서, T 세포 공자극 분자는 CD28 또는 41BB이다.

[0495] 일부 구현예에서, 활성화 도메인은 하나의 CAR 내에 포함되는 반면, 공자극 성분은 다른 항원을 인식하는 다른 CAR에 의해 제공된다. 일부 구현예에서, CAR은 활성화 또는 자극성 CAR, 공자극 CAR을 포함하며, 둘 다 동일한 세포 상에서 발현된다(WO2014/055668 참조). 일부 측면에서, 세포는 하나 이상의 자극성 또는 활성화 CAR 및/또는 공자극 CAR을 포함한다. 일부 구현예에서, 세포는 억제성 CAR(iCAR, Fedorov et al., Sci. Transl. Medicine, 5(215) (December, 2013) 참조), 예컨대 질병 또는 병태에 특이적이고/거나 이와 관련된 것 외의 항원을 인식하는 - 이로써 질병 표적화 CAR을 통해 전달된 활성화 신호가 예를 들어 표적의 효과를 감소시키도록 이의 리간드에 대한 억제성 CAR의 결합에 의해 감소 또는 억제되는 - CAR을 추가로 포함한다.

[0496] 특정 구현예에서, 세포내 신호 전달 도메인은 CD3(예를 들어, CD3-제타) 세포내 도메인에 연결된 CD28 막관통 및 신호 전달 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 세포내 신호 전달 도메인은 CD3 제타 세포내 도메인에 연결된 키메라 CD28 및 CD137(4-1BB, TNFRSF9) 공자극 도메인을 포함한다.

[0497] 일부 구현예에서, CAR은 세포질 부분에서 하나 이상의, 예를 들어 2개 이상의 공자극 도메인 및 활성화 도메인, 예를 들어 1차 활성화 도메인을 포함한다. 예시적인 CAR에는 CD3-제타, CD28 및 4-1BB의 세포내 성분이 포함된다.

[0498] 일부 구현예에서, 항원 수용체, 및/또는 CAR 또는 기타 항원 수용체를 발현하는 세포를 암호화하는 벡터는 하나 이상의 마커(들)를 암호화하는 핵산 서열을 더 포함한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 마커(들)는 형질도입 마커, 대리 마커 및/또는 선택 마커이다. 일부 구현예에서, 마커는 대리 마커, 예컨대 세포 표면 마커이고, 이는 수용체를 발현하는 세포의 형질도입 또는 조작을 확인하기 위해 사용될 수 있다.

[0499] 일부 구현예에서, 마커는 형질도입 마커 또는 대리 마커이다. 형질도입 마커 또는 대리 마커는 폴리뉴클레오타이드, 예를 들어, 재조합 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드가 도입된 세포를 검출하는 데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 형질도입 마커는 세포의 변형을 나타내거나 확인할 수 있다. 일부 구현예에서, 대리 마커는 재조합 수용체(예를 들어, CAR)와 함께 세포 표면 상에 공발현되도록 만들어진 단백질이다. 구체적인 구현예

에서, 상기 대리 마커는 거의 또는 전혀 활성을 갖지 않도록 변형된 표면 단백질이다. 특정 구현예에서, 대리 마커는 재조합 수용체를 암호화하는 동일한 폴리뉴클레오타이드 상에 암호화된다. 일부 구현예에서, 재조합 수용체를 암호화하는 핵산 서열은, 선택적으로 내부 리보솜 유입점(IRES)에 의해 분리되는, 마커를 암호화하는 핵산 서열에 또는 자가 절단 펩타이드 또는 T2A, P2A, E2A 또는 F2A와 같은 2A 서열과 같은 리보솜 스킵핑을 일으키는 펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된다. 외인성 마커 유전자는 일부 경우에 세포의 검출 또는 선택을 가능하게 하도록, 일부 경우에 또한 세포 자살을 촉진하도록, 조작된 세포와 관련하여 사용될 수 있다.

[0500] 예시적인 대리 마커는, 비기능적이며 신호 또는 일반적으로 전장 형태의 세포 표면 폴리펩타이드에 의해 전달되는 신호를 전달할 수 없거나 전달하지 않고/거나 내재화될 수 없거나 내재화되지 않는 절단 형태와 같은, 세포 표면 폴리펩타이드의 절단 형태를 포함할 수 있다. 예시적인 절단된 세포 표면 폴리펩타이드는 절단된 인간 표피 성장 인자 수용체 2(tHER2), 절단된 표피 성장 인자 수용체(tEGFR, 서열번호 11 또는 76에 제시된 예시적인 tEGFR 서열) 또는 전립선-특이적 막 항원(PSMA) 또는 이의 변형된 형태와 같은 성장 인자 또는 다른 수용체의 절단 형태를 포함한다. tEGFR은 항체 세톡시맙(Erbitux®) 또는 다른 치료용 항-EGFR 항체 또는 결합 분자에 의해 인식되는 에피토프를 함유할 수 있으며, 이는 tEGFR 작제물 및 암호화된 외인성 단백질로 조작된 세포를 식별 또는 선택하기 위해 및/또는 암호화된 외인성 단백질을 발현하는 세포를 제거 또는 분리하기 위해 사용될 수 있다. 문헌[미국 특허 번호 8,802,374 및 Liu et al., Nature Biotech. 2016 April; 34(4): 430-434]을 참조한다. 일부 측면에서, 마커(예를 들어, 대리 마커)에는 CD34의 전부 또는 일부(예를 들어, 절단 형태), NGFR, CD19 또는 절단된 CD19(예를 들어, 절단된 비-인간 CD19), 또는 표피 성장 인자 수용체(예를 들어, tEGFR)가 포함된다. 일부 구현예에서, 마커는 형광 단백질의 중 변이체, 단량체 변이체, 및 코돈-최적화된 및/또는 강화된 변이체를 포함하여, 녹색 형광 단백질(green fluorescent protein, GFP), 강화된 녹색 형광 단백질(EGFP), 예컨대 슈퍼-폴드 GFP(super-fold GFP, sfGFP), 적색 형광 단백질(red fluorescent protein, RFP), 예컨대 tdTomato, mCherry, mStrawberry, AsRed2, DsRed 또는 DsRed2, 시안 형광 단백질(cyan fluorescent protein, CFP), 청록 형광 단백질(blue green fluorescent protein, BFP), 강화된 청색 형광 단백질(EBFP) 및 노랑 형광 단백질(YFP) 및 이들의 변이체와 같은 형광 단백질이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 마커는 루시페라아제, 대장균(*E. Coli*)의 lacZ 유전자, 알칼리 포스파타아제, 분비 배아 알칼리 포스파타아제(SEAP), 클로람페니콜 아세틸 트랜스퍼라아제(CAT)와 같은 효소이거나 이를 포함한다. 예시적인 발광 리포터 유전자에는 루시페라아제(luc), β-갈락토시다아제, 클로람페니콜 아세틸트랜스퍼라아제(CAT), β-글루쿠로니다아제(GUS) 또는 이들의 변이체가 포함된다.

[0501] 일부 구현예에서, 마커는 선택 마커이다. 일부 구현예에서, 선택 마커는 외인성 제제 또는 약물에 대한 내성을 부여하는 폴리펩타이드이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 선택 마커는 항생제 내성 유전자이다. 일부 구현예에서, 선택 마커는 포유류 세포에 대해 항생제 내성을 부여하는 항생제 내성 유전자이다. 일부 구현예에서, 선택 마커는 퓨로마이신 내성 유전자, 히그로마이신 내성 유전자, 블라스티사이드인 내성 유전자, 네오마이신 내성 유전자, 게네티신 내성 유전자 또는 제오신 내성 유전자 또는 이들의 변형된 형태이거나 이를 포함한다.

[0502] 일부 구현예에서, 분자는 비자기(non-self) 분자, 예를 들어 비자기 단백질, 즉 세포가 입양으로 전달될 숙주의 면역 시스템에 의해 “자기(self)” 로 인식되지 않는 분자이다.

[0503] 일부 구현예에서, 마커는 치료 기능을 제공하지 않고/거나 유전자 조작, 예를 들어 성공적으로 조작된 세포를 선택하기 위한 마커로서 사용되는 것 외에 다른 효과를 생성하지 않는다. 다른 구현예에서, 마커는 치료적 분자 또는 달리 일부 원하는 효과를 나타내는 분자, 예컨대 생체 내에서 세포가 조우하게 될 리간드, 예컨대 입양 전달 및 리간드와의 조우 시 세포의 반응을 강화하고/거나 약화시키는 공자극 또는 면역 관문 분자일 수 있다.

[0504] 일부 구현예에서, 마커를 암호화하는 핵산은 절단 가능한 링커 서열(예를 들어, T2A)과 같은 링커 서열을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드에 작동 가능하게 연결된다. 예를 들어, 마커 및 선택적으로 링커 서열은 문헌[국제 출원 공개 번호 W02014031687]에 개시된 바와 같은 어느 하나일 수 있다. 예를 들어, 마커는 선택적으로 링커 서열, 예컨대 T2A 절단 가능한 링커 서열에 연결된 절단형 EGFR(tEGFR)일 수 있다.

[0505] 절단형 EGFR(예를 들어, tEGFR)에 대한 예시적인 폴리펩타이드는 서열번호 7 또는 16에 제시된 아미노산 서열 또는 서열번호 7 또는 16에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 포함한다. 예시적인 T2A 링커 서열은 서열번호 6 또는 17에 제시된 아미노산 서열 또는 서열번호 6 또는 17에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 포함

한다.

- [0506] 일부 구현예에서, 마커는 T 세포에서 자연적으로 발견되지 않거나 또는 T 세포 표면에서 자연적으로 발견되지 않는 분자(예를 들어, 세포 표면 단백질) 또는 이의 부분이다.
- [0507] 일부 경우에, CAR은 제1, 제2 및/또는 제3 세대 CAR로 지칭된다. 일부 측면에서, 제1 세대 CAR은 항원 결합 시 CD3 사슬 유도 신호만을 제공하는 것이고; 일부 측면에서, 제2 세대 CAR은 상기 신호 및 CD28 또는 CD137과 같은 공자극 수용체로부터의 세포내 신호 전달 도메인을 포함하는 것과 같은 공자극 신호를 제공하는 것이고; 일부 측면에서, 제3 세대 CAR은 상이한 공자극 수용체의 다중 공자극 도메인을 포함하는 것이다.
- [0508] 예를 들어, 일부 구현예에서, CAR은 항체(예를 들어, 항체 단편), CD28의 막관통 부분 또는 이의 기능적 변이체이거나 이를 함유하는 막관통 도메인, 및 CD28의 신호 전달 부분 또는 이의 기능적 변이체와 CD3 제타의 신호 전달 부분 또는 이의 기능적 변이체를 함유하는 세포내 신호 전달 도메인을 함유한다. 일부 구현예에서, CAR은 항체(예를 들어, 항체 단편), CD28 또는 이의 기능적 변이체의 막관통 부분이거나 이를 함유하는 막관통 도메인, 및 4-1BB 또는 이의 기능적 변이체의 신호 전달 부분과 CD3 제타 또는 이의 기능적 변이체의 신호 전달 부분을 함유하는 세포내 신호 전달 도메인을 함유한다. 일부 상기 구현예에서, 수용체는 Ig 분자의 일부, 예컨대 인간 Ig 분자, 예컨대 Ig 힌지, 예를 들어 IgG4 힌지, 예컨대 힌지 단독 스페이서를 함유하는 스페이서를 더 포함한다.
- [0509] 일부 구현예에서, 재조합 수용체(예를 들어, CAR)의 막관통 도메인은 인간 CD28(예를 들어, 수탁 번호 P01747.1) 또는 이의 변이체의 막관통 도메인, 예컨대 서열번호 8에 제시된 아미노산 서열 또는 서열번호 8에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 포함하는 막관통 도메인이거나 이를 포함하고; 일부 구현예에서, 재조합 수용체의 일부를 함유하는 막관통 도메인은 서열번호 9에 제시된 아미노산 서열 또는 이에 대해 적어도 (약) 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0510] 일부 구현예에서, 재조합 수용체(예를 들어, CAR)의 세포내 신호 전달 성분(들)은 인간 CD28의 세포내 공자극 신호 전달 도메인 또는 이의 기능적 변이체 또는 부분, 예컨대 천연 CD28 단백질의 위치 186-187에 LL의 GG로의 치환이 있는 도메인을 함유한다. 예를 들어, 세포내 신호 전달 도메인은 서열번호 10 또는 11에 제시된 아미노산 서열 또는 서열번호 10 또는 11에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 세포내 도메인은 4-1BB(예를 들어, 수탁 번호: Q07011.1)의 세포내 공자극 신호 전달 도메인 또는 이의 기능적 변이체 또는 부분, 예컨대 서열번호 12에 제시된 아미노산 서열 또는 서열번호 12에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0511] 일부 구현예에서, 재조합 수용체(예를 들어, CAR)의 세포내 신호 전달 도메인은 인간 CD3 제타 자극성 신호 전달 도메인 또는 이의 기능적 변이체, 예컨대 인간 CD3ζ(수탁 번호: P20963.2)의 이소형 단백질 3의 112 AA 세포질 도메인 또는 문헌[미국 특허 번호: 7,446,190 또는 미국 특허 번호 8,911,993]에 기재된 바와 같은 CD3 제타 신호 전달 도메인을 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 세포내 신호 전달 도메인은 서열번호 13, 14 또는 15에 제시된 아미노산 서열 또는 서열번호 13, 14 또는 15에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0512] 일부 측면에서, 스페이서는 IgG의 힌지 영역 단독, 예컨대 IgG4 또는 IgG1의 힌지 단독, 예컨대 서열번호 1에 제시된 힌지 단독 스페이서를 함유한다. 다른 구현예에서, 스페이서는 C<sub>H</sub>2 및/또는 C<sub>H</sub>3 도메인에 선택적으로 연결된 Ig 힌지(예를 들어, IgG4 유래 힌지)이거나 이를 함유한다. 일부 구현예에서, 스페이서는 서열번호 4에 제시된 바와 같이 C<sub>H</sub>2 및 C<sub>H</sub>3 도메인에 연결된 Ig 힌지(예를 들어, IgG4 힌지)이다. 일부 구현예에서, 스페이서는 서열번호 3에 제시된 바와 같이 C<sub>H</sub>3 도메인에만 연결된 Ig 힌지(예를 들어, IgG4 힌지)이다. 일부 구현예에서, 스페이서는 글리신-세린 풍부 서열 또는 공지된 가요성 링커(flexible linker)와 같은 다른 가요성 링커이거나 이를 포함한다.
- [0513] 예를 들어, 일부 구현예에서, CAR은 scFv를 포함한 항체 단편과 같은 항체, 스페이서, 예컨대 면역글로불린 분자의 부분, 예컨대 힌지 영역을 및/또는 중쇄 분자의 하나 이상의 불변 영역을 함유한 스페이서, 예컨대 Ig-힌



지 함유 스페이스, CD28-유래 막관통 도메인의 전부 또는 일부를 함유한 막관통 도메인, CD28-유래 세포내 신호 전달 도메인, 및 CD3 제타 신호 전달 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, CAR은 scFv와 같은 항체 또는 단편, 임의의 Ig-헐지 함유 스페이스와 같은 스페이스, CD28-유래 막관통 도메인, 4-1BB-유래 세포내 신호 전달 도메인, 및 CD3 제타-유래 신호 전달 도메인을 포함한다.

[0514] 특정 구현예에서, CAR은 FMC63의 scFv 항원 결합 도메인; 면역글로불린 헐지 스페이스, 막관통 도메인, 및 4-1BB의 신호 전달 도메인 및 CD3-제타(CD3ζ) 사슬의 신호 전달 도메인인 공자극 신호 전달 영역을 함유하는 세포내 신호 전달 도메인을 함유하는 CD19-유도 CAR이다. 일부 구현예에서, scFv는 서열번호 43에 제시된 서열을 함유한다. 일부 구현예에서, scFv는 아미노산 서열 RASQDISKYLN(서열번호 35), 아미노산 서열 SRLHSGV(서열번호 36), 및 아미노산 서열 GNTLPYTFG(서열번호 37)을 갖는 CDR들을 갖는 VL; 및 아미노산 서열 DYGVV(서열번호 38), 아미노산 서열 VIWGETTYNSALKS(서열번호 39) 및 YAMDYWG(서열번호 40)를 갖는 CDR들을 갖는 VH를 갖는다. 일부 구현예에서, 막관통 도메인은 서열번호 8에 제시된 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 막관통 도메인은 서열번호 8에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 갖는 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 4-1BB 공자극 신호 전달 도메인은 서열번호 12에 제시된 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, 4-1BB 공자극 신호 전달 도메인은 서열번호 12에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 갖는 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, CD3-제타 도메인은 서열번호 13에 제시된 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, CD3-제타 신호 전달 도메인은 이와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 갖는 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, CD19-유도 CAR은 CD19에 결합하고, T 세포에서 발견되어 예컨대 CD19에 결합되어 CAR을 통해 자극될 때 CD19+ 표적 세포에 대한 사이토키인 생산 및/또는 세포 독성 활성을 매개한다.

[0515] 일부 구현예에서, 상기 CAR 작제물을 암호화하는 핵산 분자는 T2A 리보솜 스킵 요소 및/또는 tEGFR 서열, 예를 들어, CAR을 암호화하는 서열의 하류를 더 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 서열은 서열번호 6 또는 17에 제시된 T2A 리보솜 스킵 요소, 또는 서열번호 6 또는 17에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 암호화한다. 일부 구현예에서, 항원 수용체(예를 들어, CAR)를 발현하는 T 세포는 또한 (예를 들어, 동일한 작제물로부터 두 개의 단백질을 발현하도록 T2A 리보솜 스위치에 의해 분리된 CAR 및 EGFRt를 암호화하는 작제물의 도입에 의해) 비-면역원성 선택 에피토프로서 절단형 EGFR(EGFRt)을 발현하도록 생성될 수 있고, 그런 후 이는 상기 세포를 검출하는 마커로 사용될 수 있다(예를 들어, 문헌[미국 특허 번호 8,802,374] 참조). 일부 구현예에서, 상기 서열은 서열번호 7 또는 16에 제시된 tEGFR 서열, 또는 서열번호 7 또는 16에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 암호화한다.

[0516] 일부 구현예에서, 단일 프로모터는 단일 개방형 해독틀(open reading frame, ORF)에서 자가-절단 펩타이드(예를 들어, 2A 서열) 또는 프로테아제 인식 부위(예를 들어, 퓨린)를 암호화하는 서열에 의해 서로 분리된 (예를 들어, 대사 경로를 조절하는 데 관여하는 분자를 암호화하고 재조합 수용체를 암호화하는) 두 개 또는 세 개의 유전자를 함유하는 RNA의 발현을 지시할 수 있다. 따라서, ORF는 번역 동안(2A의 경우) 또는 번역 후에 개별 단백질로 가공되는 단일 폴리펩타이드를 암호화한다. 일부 경우에, T2A와 같은 펩타이드는 리보솜이 2A 요소의 C-말단에서 펩타이드 결합의 합성을 건너뛰도록(리보솜 스킵핑) 유발할 수 있으며, 이는 2A 서열의 말단과 다음(next) 펩타이드 하류 사이의 분리로 이어진다(예를 들어, 문헌[de Felipe. *Genetic Vaccines and Ther.* 2:13 (2004) and de Felipe *et al. Traffic* 5:616-626 (2004)] 참조). 많은 2A 요소가 공지되어 있다. 본원에 개시된 방법 및 핵산에 사용될 수 있는 2A 서열의 예에는 문헌[미국 특허 공개 번호 20070116690]에 기술된 바와 같은 구체역 바이러스(F2A, 예를 들어, 서열번호 21), 말 비염 A 바이러스(E2A, 예를 들어, 서열번호: 20), 토세아 아시그나 바이러스(T2A, 예를 들어, 서열번호: 6 또는 17) 및 돼지 테스코 바이러스-1(P2A, 예를 들어, 서열번호: 18 또는 19)이 있으며, 하지만 이에 한정되지 않는다.

[0517] 대상체에 투여되는 세포에 의해 발현되는 CAR과 같은 재조합 수용체는 일반적으로 치료하는 질병 또는 병태 또는 그 세포에서 발현되고, 그와 연관되고 및/또는 이에 특이적인 분자를 인식하거나 그 분자에 특이적으로 결합한다. 분자(예를 들어, 항원)에 특이적 결합 시, 수용체는 일반적으로 면역 자극 신호, 예컨대 ITAM-변환 신호를 세포에 전달하여 질병 또는 병태에 표적화된 면역 반응을 촉진한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 세포는 질병 또는 병태의 또는 질병 또는 병태와 관련된 세포 또는 조직에 의해 발현되는 항원에 특이적으로 결합하는 CAR을 발현한다.

[0518] B. T 세포 수용체(TCR)

[0519] 일부 구현예에서, 제공된 방법, 용도, 제조품 또는 조성물과 관련하여 사용되는 T 세포와 같은 조작된 세포는 종양, 바이러스 또는 자가 면역 단백질의 항원과 같은 표적 폴리펩타이드의 펩타이드 에피토프 또는 T 세포 에피토프를 인식하는 T 세포 수용체(TCR) 또는 이의 항원 결합 부분을 발현하는 세포이다.

[0520] 일부 구현예에서, “T 세포 수용체(T cell receptor)” 또는 “TCR”은 가변  $\alpha$  및  $\beta$  사슬(각각 TCR  $\alpha$  및 TCR  $\beta$  로도 공지) 또는 가변  $\gamma$  및  $\delta$  사슬(각각 TCR  $\gamma$  및 TCR  $\delta$  로도 공지) 또는 이의 항원 결합 부분을 함유하는 분자이고 이는 MHC 분자에 결합된 펩타이드에 특이적으로 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, TCR은  $\alpha\beta$  형태이다. 통상적으로,  $\alpha\beta$  및  $\gamma\delta$  형태로 존재하는 TCR은 일반적으로 구조적으로 유사하지만, 이들을 발현하는 T 세포는 구별되는 해부학적 위치 또는 기능을 가질 수 있다. TCR은 세포 표면 상에서 또는 가용성 형태로 발견될 수 있다. 일반적으로 TCR은 T 세포(또는 T 림프구)의 표면 상에서 발견되며, 이는 일반적으로 주요 조직 적합성 복합체(MHC) 분자에 결합된 항원의 인식을 담당한다.

[0521] 달리 언급되지 않는 한, 용어 “TCR”은 완전한(full) TCR뿐만 아니라 이의 항원 결합 부분 또는 항원 결합 단편을 포괄하는 것으로 이해되어야 한다. 일부 구현예에서, TCR은  $\alpha\beta$  형태 또는  $\gamma\delta$  형태의 TCR을 포함하는 온전한 또는 전장 TCR이다. 일부 구현예에서, TCR은 전장 미만의 TCR이지만 MHC-펩타이드 복합체에 결합하는 것과 같이 MHC 분자에서 결합된 특정 펩타이드에 결합하는 항원 결합 부분이다. 일부 경우에, TCR의 항원 결합 부분 또는 단편은 전장 또는 온전한 TCR의 구조적 도메인의 일부만을 함유할 수 있으나, 그럼에도 완전한 TCR이 결합하는 MHC-펩타이드 복합체와 같은 펩타이드 에피토프에 결합할 수 있다. 일부 경우에, 항원 결합 부분은 특정 MHC-펩타이드 복합체에 결합하기 위한 결합 부위를 형성하기에 충분한, TCR의 가변  $\alpha$  사슬 및 가변  $\beta$  사슬과 같은 TCR의 가변 도메인을 함유한다. 일반적으로, TCR의 가변 사슬은 펩타이드, MHC 및/또는 MHC-펩타이드 복합체의 인식에 관여하는 상보성 결정 영역을 함유한다.

[0522] 일부 구현예에서, TCR의 가변 도메인은 초가변 루프 또는 상보성 결정 영역(CDR)을 함유하며, 이는 일반적으로 항원 인식 및 결합 능력 및 특이성에 대한 1차 기여자이다. 일부 구현예에서, TCR의 CDR 또는 이의 병용은 주어진 TCR 분자의 항원 결합 부위의 전부 또는 실질적으로 전부를 형성한다. TCR 사슬의 가변 영역 내의 다양한 CDR은 일반적으로 CDR에 비해 TCR 분자 중에서 일반적으로 가변성을 덜 나타내는 프레임워크 영역(FR)으로 분리된다(예를 들어, 문헌[Jores et al., Proc. Nat’l Acad. Sci. U.S.A. 87:9138, 1990; Chothia et al., EMBO J. 7:3745, 1988 참조; 또한 Lefranc et al., Dev. Comp. Immunol. 27:55, 2003] 참조). 일부 구현예에서, CDR3은 항원 결합 또는 특이성을 담당하는 주요 CDR이거나, 항원 인식을 위한 및/또는 펩타이드-MHC 복합체의 가공된 펩타이드 부분과의 상호작용을 위한 주어진 TCR 가변 영역상에서 3개의 CDR 중 가장 중요한 CDR이다. 일부 맥락에서, 알파 사슬의 CDR1은 특정 항원 펩타이드의 N-말단 부분과 상호작용할 수 있다. 일부 맥락에서, 베타 사슬의 CDR1은 상기 펩타이드의 C-말단 부분과 상호작용할 수 있다. 일부 맥락에서, CDR2는 MHC-펩타이드 복합체의 MHC 부분과의 상호작용 또는 이의 인식을 담당하는 1차 CDR이거나 이에 가장 강력하게 기여한다. 일부 구현예에서,  $\beta$  사슬의 가변 영역은 추가 초가변 영역(CDR4 또는 HVR4)을 함유할 수 있으며, 이는 일반적으로 항원 인식이 아닌 초항원 결합에 관여한다(Kotb (1995) Clinical Microbiology Reviews, 8:411-426).

[0523] 일부 구현예에서, TCR은 또한 불변 도메인, 막관통 도메인 및/또는 짧은 세포질 꼬리를 함유할 수 있다(예를 들어, 문헌[Janeway et al., Immunobiology: The Immune System in Health and Disease, 3rd Ed., Current Biology Publications, p. 4:33, 1997] 참조). 일부 관점에서, TCR의 각 사슬은 1개의 N-말단 면역글로불린 가변 도메인, 1개의 면역글로불린 불변 도메인, 막관통 영역 및 C-말단 끝에 짧은 세포질 꼬리를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, TCR은 신호 전달 매개에 관여하는 CD3 복합체의 불변 단백질과 회합한다.

[0524] 일부 구현예에서, TCR 사슬은 하나 이상의 불변 도메인을 함유한다. 예를 들어, 주어진 TCR 사슬(예를 들어,  $\alpha$ -사슬 또는  $\beta$ -사슬)의 세포의 부분은 세포막에 인접한 2개의 면역글로불린 유사 도메인, 예컨대 가변 도메인(예를 들어, V $\alpha$  또는 V $\beta$ ; 전형적으로 Kabat 넘버링 Kabat et al., “Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services, Public Health Service National Institutes of Health, 1991, 5th ed.에 기초한 1 내지 116 아미노산) 및 불변 도메인(예를 들어  $\alpha$  사슬 불변 도메인 즉 C $\alpha$ , 전형적으로 Kabat 넘버링에 기초한 사슬의 117 내지 259 위치 또는  $\beta$  사슬 불변 도메인 또는 C $\beta$ , 전형적으로 Kabat에 기초한 사슬의 117 내지 295 위치)을 함유할 수 있다. 예를 들어, 일부 경우에, 2개의 사슬에 의해 형성된 TCR의 세포의 부분은 2개의 막 근위 불변 도메인과 2개의 막 원위 가변 도메인을 함유하고, 상기 가변 도메인 각각은 CDR을 함유한다. TCR의 불변 도메인은 시스테인 잔기가 이황화 결합을 형성하여 이로써 2개의 TCR 사슬을 연결하는 짧은 연결 서열을 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, TCR은 각각의  $\alpha$  및  $\beta$  사슬에 추가 시스테인 잔기

를 가질 수 있어서, TCR은 불변 도메인에 2개의 이황화 결합을 함유한다.

- [0525] 일부 구현예에서, TCR 사슬은 막관통 도메인을 함유한다. 일부 구현예에서, 막관통 도메인은 양으로 하전된다. 일부 경우에, TCR 사슬은 세포질 꼬리를 함유한다. 일부 경우에, 이 구조는 TCR이 CD3 및 이의 서브유닛과 같은 다른 분자와 회합하도록 허용한다. 예를 들어, 막관통 영역을 갖는 불변 도메인을 함유하는 TCR은 세포막에 단백질을 고정하고 CD3 신호 전달 장치 또는 복합체의 불변 서브유닛과 회합할 수 있다. CD3 신호 전달 서브유닛 (예를 들어 CD3  $\gamma$ , CD3  $\delta$ , CD3  $\epsilon$  및 CD3  $\zeta$  사슬)의 세포내 꼬리는 TCR 복합체의 신호 전달 용량에 관여하는 하나 이상의 면역수용체 티로신 기반 활성화 모티프 즉 ITAM을 함유한다.
- [0526] 일부 구현예에서, TCR은 2개의 사슬  $\alpha$  및  $\beta$  (또는 선택적으로  $\gamma$  및  $\delta$ )의 이종이량체이거나 단일 사슬 TCR 자체일 수 있다. 일부 구현예에서, TCR은 예컨대 이황화 결합 또는 이황화 결합들에 의해 연결되는 2개의 별개의 사슬( $\alpha$  및  $\beta$  사슬 또는  $\gamma$  및  $\delta$  사슬)을 함유하는 이종이량체이다.
- [0527] 일부 구현예에서, TCR은 V $\alpha$ ,  $\beta$  사슬의 서열과 같은 공지된 TCR 서열(들)로부터 생성될 수 있으며, 이에 대해 실질적으로 전장 코딩 서열이 용이하게 이용가능하다. V 사슬 서열을 포함한 전장 TCR 서열을 세포 공급원으로부터 획득하는 방법은 잘 알려져 있다. 일부 구현예에서, TCR을 암호화하는 핵산은 예컨대 주어진 세포 또는 세포들 내의 또는 이로부터 단리된 TCR 암호화 핵산의 중합효소연쇄반응(PCR) 증폭에 의해 또는 공개적으로 이용가능한 TCR DNA 서열의 합성에 의해 다양한 공급원으로부터 획득될 수 있다.
- [0528] 일부 구현예에서, TCR은 생물학적 공급원, 예컨대 세포, 예컨대 T 세포(예를 들어, 세포 독성 T 세포), T 세포 혼성세포 또는 기타 공개적으로 이용 가능한 공급원으로부터 획득된다. 일부 구현예에서, T 세포는 *생체 내* 단리된 세포로부터 획득될 수 있다. 일부 구현예에서, TCR은 흉선에서 선택된 TCR이다. 일부 구현예에서, TCR은 네오에피토프 제한(neoepitope-restricted) TCR이다. 일부 구현예에서, T 세포는 배양된 T 세포 혼성세포(hybridoma) 또는 클론일 수 있다. 일부 구현예에서, TCR 또는 이의 항원 결합 부분 또는 이의 항원 결합 단편은 TCR 서열에 대한 지식을 이용해 합성하여 생성될 수 있다.
- [0529] 일부 구현예에서, TCR은 표적 폴리펩타이드 항원 또는 이의 표적 T 세포 에피토프에 대한 후보 TCR의 라이브러리를 스크리닝하여 식별되거나 선택된 TCR로부터 생성된다. TCR 라이브러리는 PBMC, 비장 또는 기타 림프구 기관에 존재하는 세포를 포함하여 대상체로부터 단리된 T 세포로부터의 V $\alpha$  및 V $\beta$  레퍼토리를 증폭하여 생성될 수 있다. 일부 경우에, T 세포는 종양 침윤 림프구(tumor-infiltrating lymphocyte, TIL)로부터 증폭될 수 있다. 일부 구현예에서, TCR 라이브러리는 CD4<sup>+</sup> 또는 CD8<sup>+</sup> 세포로부터 생성될 수 있다. 일부 구현예에서, TCR은 정상적인 건강한 대상체의 T 세포 공급원, 즉 정상 TCR 라이브러리로부터 증폭될 수 있다. 일부 구현예에서, TCR은 유병 대상체의 T 세포 공급원, 즉 유병 TCR 라이브러리로부터 증폭될 수 있다. 일부 구현예에서, 인간으로부터 획득된 T 세포와 같은 샘플에서 예컨대 RT-PCR에 의해 V $\alpha$  및 V $\beta$ 의 유전자 레퍼토리를 증폭시키기 위해 퇴화(degenerate) 프라이머가 사용된다. 일부 구현예에서, scTv 라이브러리는 증폭된 산물이 클로닝되거나 결합되어 링커에 의해 분리되는 나이브(naive) V $\alpha$  및 V $\beta$  라이브러리로부터 결합될 수 있다. 대상체와 세포의 공급원에 따라, 라이브러리는 HLA 대립유전자 특이적일 수 있다. 대안적으로, 일부 구현예에서, TCR 라이브러리는 모체(parent) 또는 지지체(scaffold) TCR 분자의 돌연변이 유발 또는 다양화에 의해 생성될 수 있다. 일부 관점에서, TCR은 예를 들어  $\alpha$  또는  $\beta$  사슬의 예컨대 돌연변이 유발에 의해 유도 진화를 거친다. 일부 관점에서, TCR의 CDR 내 특정 잔기가 변경된다. 일부 구현예에서, 선택된 TCR은 친화도 성숙에 의해 변형될 수 있다. 일부 구현예에서, 항원 특이적 T 세포는 예컨대, 스크리닝에 의해 펩타이드에 대한 CTL 활성을 산정하여 선택될 수 있다. 일부 관점에서, 예를 들어 항원 특이적 T 세포에 존재하는 TCR은 예컨대 결합 활성화, 예를 들어 항원에 대한 특정 친화도 또는 친화력에 의해 선택될 수 있다.
- [0530] 일부 구현예에서, TCR 또는 이의 항원 결합 부분은 변형되었거나 조작된 것이다. 일부 구현예에서, 특정 MHC-펩타이드 복합체에 대한 더 높은 친화도를 갖는 것과 같은 변경된 특성을 갖는 TCR을 생성하기 위해 유도 진화 방법이 사용된다. 일부 구현예에서, 유도 진화는 효모 디스플레이(Holler et al. (2003) Nat Immunol, 4, 55-62; Holler et al. (2000) Proc Natl Acad Sci U S A, 97, 5387-92), 과지 디스플레이(Li et al. (2005) Nat Biotechnol, 23, 349-54) 또는 T 세포 디스플레이(Chervin et al. (2008) J Immunol Methods, 339, 175-84)를 포함하되 이에 한정되지 않는 디스플레이 방법에 의해 달성된다. 일부 구현예에서, 디스플레이 접근법은 공지된 모체(parent) 또는 기준 TCR을 조작 또는 변형하는 것을 수반한다. 예를 들어, 일부 경우에, 하나 이상의 CDR 잔기에서 돌연변이된 돌연변이를 일으킨 TCR을 생성하기 위한 주형(template)으로 야생형 TCR이 사용될 수 있고, 원하는 변경된 특성, 예컨대 원하는 표적 항원에 대한 보다 높은 친화도를 갖는 돌연변이가 선택된다.
- [0531] 일부 구현예에서, 관심 TCR의 제조 또는 생성에 사용하기 위한 표적 폴리펩타이드의 펩타이드는 공지되어 있거나

나 용이하게 식별될 수 있다. 일부 구현예에서, TCR 또는 항원 결합 부분을 생성하는 데 사용하기에 적합한 펩타이드는 하기 기재된 표적 폴리펩타이드와 같은 관심 표적 폴리펩타이드에서 HLA 제한 모티프의 존재에 기초하여 결정될 수 있다. 일부 구현예에서, 펩타이드는 이용 가능한 컴퓨터 예측 모델을 사용하여 식별된다. 일부 구현예에서, MHC 클래스 I 결합 부위를 예측하기 위해, 상기 모델은 ProPred1(Singh and Raghava (2001) *Bioinformatics* 17(12):1236-1237) 및 SYFPEITHI(Schuler et al. (2007) *Immunoinformatics Methods in Molecular Biology*, 409(1): 75-93 2007 참조)를 포함하되 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, MHC 제한 에피토프는 HLA-A0201이며, 이는 모든 백인의 약 39-46%에서 발현되고 따라서, TCR 또는 다른 MHC-펩타이드 결합 분자를 제조하는 데 사용하기 위한 MHC 항원의 적합한 선택을 의미한다.

[0532] 컴퓨터 예측 모델을 사용한 프로테아좀 및 면역 프로테아좀에 대한 HLA-A0201 결합 모티프 및 절단 부위는 공지되어 있다. MHC 클래스 I 결합 부위를 예측하기 위해, 상기 모델은 ProPred1(Singh and Raghava, ProPred: prediction of HLA-DR binding sites. *BIOINFORMATICS* 17(12):1236-1237 2001에 보다 상세하게 기재됨) 및 SYFPEITHI(Schuler et al. SYFPEITHI, Database for Searching and T-Cell Epitope Prediction, in *Immunoinformatics Methods in Molecular Biology*, vol 409(1): 75-93 2007 참조)를 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0533] 일부 구현예에서, TCR 또는 이의 항원 결합 부분은 결합 특성과 같은 하나 이상의 특성이 변경된 재조합으로 생산된 천연 단백질 또는 이의 돌연변이 형태일 수 있다. 일부 구현예에서, TCR은 인간, 마우스, 랫트 또는 기타 포유동물과 같은 다양한 동물 종 중 하나에서 유래될 수 있다. TCR은 세포 결합 또는 가용성 형태일 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 방법의 목적을 위해, TCR은 세포의 표면 상에 발현된 세포 결합 형태이다.

[0534] 일부 구현예에서, TCR은 전장 TCR이다. 일부 구현예에서, TCR은 항원 결합 부분이다. 일부 구현예에서, TCR은 2량체 TCR(dTCR)이다. 일부 구현예에서, TCR은 단일 사슬 TCR(sc-TCR)이다. 일부 구현예에서, dTCR 또는 scTCR은 문헌[WO 03/020763, WO 04/033685, WO2011/044186]에 기술된 바와 같은 구조를 가지고 있다.

[0535] 일부 구현예에서, TCR은 막관통 서열에 해당하는 서열을 함유한다. 일부 구현예에서, TCR은 세포질 서열에 해당하는 서열을 함유한다. 일부 구현예에서, TCR은 CD3과 TCR 복합체를 형성할 수 있다. 일부 구현예에서, dTCR 또는 scTCR을 포함하여 임의의 TCR은 T 세포 표면 상에 활성 TCR을 생성하는 신호 전달 도메인에 연결될 수 있다. 일부 구현예에서, TCR은 세포의 표면 상에 발현된다.

[0536] 일부 구현예에서 dTCR은 TCR  $\alpha$  사슬 가변 영역 서열에 해당하는 서열이 TCR  $\alpha$  사슬 불변 영역 세포의 서열에 해당하는 서열의 N 말단에 융합된 제1 폴리펩타이드, 및 TCR  $\beta$  사슬 가변 영역 서열에 해당하는 서열이 TCR  $\beta$  사슬 불변 영역 세포의 서열에 해당하는 N 말단 서열에 융합된 제2 폴리펩타이드를 함유하고, 제1 및 제2 폴리펩타이드는 이황화 결합에 의해 연결된다. 일부 구현예에서, 이 결합은 천연 이량체  $\alpha\beta$  TCR에 존재하는 천연 사슬 간 이황화 결합에 해당할 수 있다. 일부 구현예에서, 사슬 간 이황화 결합은 천연 TCR에 존재하지 않는다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 하나 이상의 시스테인이 dTCR 폴리펩타이드 쌍의 불변 영역 세포의 서열에 편입될 수 있다. 일부 경우에, 천연 및 비천연 이황화 결합이 모두 바람직할 수 있다. 일부 구현예에서, TCR은 막에 고정하는 막관통 서열을 함유한다.

[0537] 일부 구현예에서, dTCR은 가변  $\alpha$  도메인, 불변  $\alpha$  도메인 및 이 불변  $\alpha$  도메인의 C-말단에 부착된 제1 2량체화(dimerization) 모티프를 함유하는 TCR  $\alpha$  사슬, 및 가변  $\beta$  도메인, 불변  $\beta$  도메인 및 이 불변  $\beta$  도메인의 C-말단에 부착된 제2 2량체화 모티프를 포함하는 TCR  $\beta$  사슬을 함유하고, 여기에서 제1 및 제2 2량체화 모티프는 용이하게 상호작용하여 TCR  $\alpha$  사슬과 TCR  $\beta$  사슬을 서로 연결하는 제1 2량체화 모티프에 있는 아미노산과 제2 2량체화 모티프에 있는 아미노산 사이에서 공유결합을 형성한다.

[0538] 일부 구현예에서, TCR은 scTCR이다. 전형적으로, scTCR은 공지된 방법을 사용하여 생성될 수 있다(예를 들어, 문헌[Soo Hoo, W. F. et al. *PNAS (USA)* 89, 4759 (1992); Wülfing, C. and Pluckthun, A., *J. Mol. Biol.* 242, 655 (1994); Kurucz, I. et al. *PNAS (USA)* 90 3830 (1993); 국제 출원 공개 번호 WO 96/13593, WO 96/18105, WO99/60120, WO99/18129, WO 03/020763, WO2011/044186; 및 Schlueter, C. J. et al. *J. Mol. Biol.* 256, 859 (1996)] 참조). 일부 구현예에서, scTCR은 도입된 비천연 사슬 간 이황화 결합을 함유하여 TCR 사슬의 회합을 용이하게 한다(예를 들어, 국제 출원 공개 번호 WO 03/020763 참조). 일부 구현예에서, scTCR은 비이황화물 연결 절단형 TCR이며 여기에서 이종 류신 지퍼(heterologous leucine zipper)가 이의 C-말단에 융합하여 사슬 결합을 촉진한다(예를 들어, 국제 출원 공개 번호 WO99/60120 참조). 일부 구현예에서, scTCR은 펩타이드 링커를 통해 TCR $\beta$  가변 도메인에 공유적으로 연결된 TCR  $\alpha$  가변 도메인을 함유하고 있다(예를 들어, 국제

출원 공개 번호 W099/18129 참조).

- [0539] 일부 구현예에서, scTCR은 TCR α 사슬 가변 영역에 해당하는 아미노산 서열로 구성된 제1 분절, TCR β 사슬 불변 도메인 세포의 서열에 해당하는 아미노산 서열의 N 말단에 융합된 TCR β 사슬 가변 영역 서열에 해당하는 아미노산 서열로 구성된 제2 분절, 및 제2 분절의 N 말단에 제1 분절의 C 말단을 연결하는 링커 서열을 함유한다.
- [0540] 일부 구현예에서, scTCR은 α 사슬 세포의 불변 도메인 서열의 N 말단에 융합된 α 사슬 가변 영역 서열로 구성된 제1 분절, 및 β 사슬 세포의 불변 및 막관통 서열의 N 말단에 융합된 β 사슬 가변 영역 서열로 구성된 제2 분절, 및 선택적으로 제2 분절의 N 말단에 제1 분절의 C 말단을 연결하는 링커 서열을 함유한다.
- [0541] 일부 구현예에서, scTCR은 β 사슬 세포의 불변 도메인 서열의 N 말단에 융합된 TCRβ 사슬 가변 영역 서열로 구성된 제1 분절, 및 α 사슬 세포의 불변 및 막관통 서열의 N 말단에 융합된 α 사슬 가변 영역 서열로 구성된 제2 분절, 및 선택적으로 제2 분절의 N 말단에 제1 분절의 C 말단을 연결하는 링커 서열을 함유한다.
- [0542] 일부 구현예에서, 제1 및 제2 TCR 분절을 연결하는 scTCR의 링커는 TCR 결합 특이성을 유지하면서 단일 폴리펩타이드 가닥을 형성할 수 있는 임의의 링커일 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 서열은 예를 들어, 화학식 -P-AA-P-를 가질 수 있고, 여기서 P는 프롤린이고 AA는 아미노산 서열을 나타내며 여기서 아미노산은 글리신과 세린이다. 일부 구현예에서, 제1 및 제2 분절은 이의 가변 영역 서열이 상기 결합을 향해 배향되도록 쌍을 이룬다. 따라서, 일부 경우에, 링커는 제1 분절의 C 말단과 제2 분절의 N 말단 사이(또는 그 반대)의 거리를 포괄할 수 있는 충분한 길이를 가지나 표적 리간드와 scTCR의 결합을 차단하거나 감소시킬 정도로 너무 길지 않다. 일부 구현예에서, 링커는 (약) 10 내지 45개의 아미노산, 예컨대 10 내지 30개의 아미노산 또는 26 내지 41개의 아미노산 잔기, 예를 들어 29, 30, 31 또는 32개의 아미노산을 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는 화학식 -PGGG-(SGGG)₅-P-를 갖고 여기서 P는 프롤린이고, G는 글리신이고 S는 세린이다(서열번호 28). 일부 구현예에서, 링커는 서열 GSADDAKKDAKKDGKS(서열번호 29)를 갖는다.
- [0543] 일부 구현예에서, scTCR은 β 사슬의 불변 도메인의 면역글로불린 영역의 잔기에 α 사슬의 불변 도메인의 면역글로불린 영역의 잔기를 연결하는 공유 이황화 결합을 함유한다. 일부 구현예에서, 천연 TCR에서 사슬 간 이황화 결합은 존재하지 않는다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 하나 이상의 시스테인이 scTCR 폴리펩타이드의 제1 및 제2 분절의 불변 영역 세포의 서열로 편입될 수 있다. 일부 경우에, 천연 및 비천연 이황화 결합이 모두 바람직할 수 있다.
- [0544] 도입된 사슬 간 이황화 결합을 함유하는 dTCR 또는 scTCR의 일부 구현예에서, 천연 이황화 결합은 존재하지 않는다. 일부 구현예에서, 천연 사슬 간 이황화 결합을 형성하는 천연 시스테인 중 하나 이상이 다른 잔기, 예컨대 세린 또는 알라닌으로 치환된다. 일부 구현예에서, 도입된 이황화 결합은 제1 및 제2 분절에 있는 비시스테인 잔기를 시스테인으로 돌연변이시키므로써 형성될 수 있다. TCR의 예시적인 비천연 이황화 결합은 문헌[국제출원 공개 번호 W02006/000830]에 기술되어 있다.
- [0545] 일부 구현예에서, TCR 또는 이의 항원 결합 단편은 표적 항원에 대해 (약) 10<sup>-5</sup> 내지 10<sup>-12</sup> M 및 그 안의 모든 개별 수치 및 범위의 평형 결합 상수를 갖는 친화도를 나타낸다. 일부 구현예에서, 표적 항원은 MHC-펩타이드 복합체 또는 리간드이다.
- [0546] 일부 구현예에서, α 및 β 사슬과 같은 TCR을 암호화하는 핵산 또는 핵산들은 PCR, 클로닝 또는 기타 적합한 수단에 의해 증폭되어 적합한 발현 벡터 또는 벡터들로 클로닝될 수 있다. 발현 벡터는 임의의 적합한 재조합 발현 벡터일 수 있으며, 임의의 적합한 숙주를 형질전환하거나 형질주입시키는 데 사용될 수 있다. 적합한 벡터는 플라스미드 및 바이러스와 같이 증식 및 증폭 또는 발현 또는 둘 모두를 위해 설계된 것을 포함한다.
- [0547] 일부 구현예에서, 벡터는 pUC 시리즈(Fermentas Life Sciences), pBluescript 시리즈(Stratagene, LaJolla, Calif.), pET 시리즈(Novagen, Madison, Wis.), pGEX 시리즈(Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden) 또는 pEX 시리즈(Clontech, Palo Alto, Calif.)의 벡터일 수 있다. 일부 경우에, λG10, λGT11, λZapII(Stratagene), λEMBL4 및 λNM1149와 같은 박테리오파지 벡터도 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 식물 발현 벡터가 사용될 수 있고 식물 발현 벡터에는 pBI01, pBI101.2, pBI101.3, pBI121 및 pBIN19(Clontech)가 포함될 수 있다. 일부 구현예에서, 동물 발현 벡터에는 pEUK-C1, pMAM 및 pMAMneo(Clontech)가 포함된다. 일부 구현예에서, 레트로바이러스 벡터와 같은 바이러스 벡터가 사용된다.
- [0548] 일부 구현예에서, 재조합 발현 벡터는 표준 재조합 DNA 기술을 사용하여 제조될 수 있다. 일부 구현예에서, 벡

터는 백터가 도입되어야 하는 숙주 유형(예를 들어, 박테리아, 곰팡이, 식물 또는 동물)에 특이적인 전사 및 번역 개시 및 종결 코돈과 같은 조절 서열을, 백터가 DNA 기반인지 또는 RNA 기반인지 고려하여 적절한 것으로 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, 백터는 TCR 또는 항원 결합 부분(또는 다른 MHC-펩타이드 결합 분자)을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열에 작동 가능하게 연결된 비천연 프로모터를 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, 프로모터는 시토크갈로 바이러스(CMV) 프로모터, SV40 프로모터, RSV 프로모터 및 뮤린 줄기세포 바이러스의 긴 말단 반복에서 발견되는 프로모터와 같은 비-바이러스 프로모터 또는 바이러스 프로모터일 수 있다. 기타 공지된 프로모터도 고려된다.

[0549] 일부 구현예에서, TCR을 암호화하는 백터를 생성하기 위해, 관심 TCR을 발현하는 T 세포 클론으로부터 단리된 총 cDNA로부터  $\alpha$  및  $\beta$  사슬이 PCR 증폭되고 발현 백터로 클로닝된다. 일부 구현예에서,  $\alpha$  및  $\beta$  사슬은 동일한 백터로 클로닝된다. 일부 구현예에서,  $\alpha$  및  $\beta$  사슬은 상이한 백터로 클로닝된다. 일부 구현예에서, 생성된  $\alpha$  및  $\beta$  사슬은 레트로바이러스, 예를 들어 렌티바이러스, 백터로 편입된다.

[0550] **C. 키메라 자가-항체 수용체(CAAR)**

[0551] 일부 구현예에서, 제공된 방법, 용도, 제조품 및 조성물과 관련하여 사용되는 조작된 세포에 의해 발현되는 재조합 수용체 중에는 키메라 자가항체 수용체(CAAR)가 있다. 일부 구현예에서, CAAR은 자가항체에 특이적이다. 일부 구현예에서, CAAR을 발현하도록 조작된 T 세포와 같은 CAAR을 발현하는 세포는 정상적인 항체 발현 세포가 아닌 자가항체 발현 세포에 특이적으로 결합하여 이를 사멸하는 데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, CAAR 발현 세포는 자가면역 질환과 같은 자가항원 발현과 관련된 자가면역 질환을 치료하는 데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, CAAR 발현 세포는 궁극적으로 자가항체를 생산하고 세포 표면에 자가항체를 나타내는 B 세포를 표적화할 수 있고, 치료적 개입을 위한 질병 특이적 표적으로 상기 B 세포를 표지할 수 있다. 일부 구현예에서, CAAR 발현 세포는 항원 특이적 키메라 자가항체 수용체를 이용하여 질병을 유발하는 B 세포를 표적화함으로써 자가면역 질환에서 병원성 B 세포를 효율적으로 표적화하고 사멸시키는 데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 재조합 수용체는 문헌[미국 특허 출원 공개 번호 US 2017/0051035]에 기술된 어느 하나와 같은 CAAR이다.

[0552] 일부 구현예에서, CAAR은 자가항체 결합 도메인, 막관통 도메인 및 세포내 신호 전달 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 세포내 신호 전달 영역은 세포내 신호 전달 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 세포내 신호 전달 도메인은 1차 신호 전달 도메인, T 세포에서 1차 활성화 신호를 유도할 수 있는 신호 전달 도메인, T 세포 수용체(TCR) 성분의 신호 전달 도메인 및/또는 면역수용체 티로신 기반 활성화 모티프(immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM)를 포함하는 신호 전달 도메인이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포내 신호 전달 영역은 2차 또는 공자극 신호 전달 영역(2차 세포내 신호 전달 영역)을 포함한다.

[0553] 일부 구현예에서, 자가항체 결합 도메인은 자가항원 또는 이의 단편을 포함한다. 자가항원의 선택은 표적화되는 자가항체의 유형에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 자가항원은 특정 질병 상태, 예를 들어 자가면역 질환, 예컨대 자가항체 매개 자가면역 질환과 관련된 B 세포와 같은 표적 세포 상의 자가항체를 인식하기 때문에 선택될 수 있다. 일부 구현예에서, 자가면역 질환은 심상성 천포창(pemphigus vulgaris, PV)을 포함한다. 예시적인 자가항원은 데스모글레인 1(desmoglein 1, Dsg1) 및 Dsg3을 포함한다.

[0554] **D. 다중 표적화**

[0555] 일부 구현예에서, 제공된 방법, 용도, 제조품 및 조성물과 관련하여 사용되는 세포는 세포 상에 2개 이상의 유전자 조작 수용체의 발현과 같은 다중 표적화 전략을 사용하는 세포를 포함하며, 각각은 상이한 항원 중 동일한 것을 인식하고 전형적으로 각각은 상이한 세포내 신호 전달 성분을 포함한다. 상기 다중 표적화 전략은 예를 들어, 문헌[국제 특허 출원 공개 번호: WO 2014055668 A1(활성화 및 공자극 CAR의 조합, 예를 들어, 표적외, 예를 들어 정상 세포 상에 개별적으로 존재하나 치료될 질병 또는 병태가 있는 세포에만 함께 존재하는 2개의 상이한 항원을 표적화하는 것에 관해 기술함) 및 Fedorov et al., *Sci. Transl. Medicine*, 5(215)(2013)(활성화 및 억제 CAR을 발현하는 세포, 예컨대 활성화 CAR이 정상 또는 비-질병 세포 및 치료될 질병 또는 병태가 있는 세포 둘 다에서 발현된 하나의 항원에 결합하고, 억제 CAR이 정상 세포 또는 치료가 바람직하지 않은 세포 상에서만 발현되는 다른 항원에 결합하는 것에 관해 기술함)]에 기술되어 있다.

[0556] 예를 들어, 일부 구현예에서, 세포는 일반적으로 제1 수용체에 의해 인식되는 항원, 예를 들어 제1 항원에 특이적인 결합 시 세포에 대한 활성화 또는 자극성 신호를 유도할 수 있는 제1 유전자 조작 항원 수용체(예를 들어, CAR 또는 TCR)를 발현하는 수용체를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포는 또한 일반적으로 제2 수용체에 의해 인식되는 제2 항원에 특이적인 결합시 면역 세포에 대해 공자극 신호를 유도할 수 있는 제2 유전자 조작된 항원

수용체(예를 들어, CAR 또는 TCR), 예를 들어, 키메라 공자극 수용체를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 항원 및 제2 항원은 동일하다. 일부 구현예에서, 제1 항원 및 제2 항원은 상이하다.

- [0557] 일부 구현예에서, 제1 및/또는 제2 유전자 조작 항원 수용체(예를 들어, CAR 또는 TCR)는 세포에 대한 활성화 신호를 유도할 수 있다. 일부 구현예에서, 수용체는 ITAM 또는 ITAM 유사 모티프를 함유하는 세포내 신호 전달 성분을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 수용체에 의해 유도된 활성화는 면역 반응의 개시, 예컨대 ITAM 인산화 및/또는 ITAM 매개 신호 전달 계단식 다단계 반응의 개시, 면역 시냅스의 형성 및/또는 결합된 수용체(예를 들어, CD4 또는 CD8 등) 근처 분자의 클러스터링, 하나 이상의 전사 인자, 예컨대 NF- $\kappa$ B 및/또는 AP-1의 활성화, 및/또는 사이토카인과 같은 인자의 유전자 발현, 증식 및/또는 생존의 유도를 초래하는 세포에서의 신호 전달 또는 단백질 발현의 변화를 수반한다.
- [0558] 일부 구현예에서, 제1 및/또는 제2 수용체는 CD28, CD137(4-1BB), OX40 및/또는 ICOS와 같은 공자극 수용체의 세포내 신호 전달 도메인 또는 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 및 제2 수용체는 상이한 공자극 수용체의 세포내 신호 전달 도메인을 포함한다. 일 구현예에서, 제1 수용체는 CD28 공자극 신호 전달 영역을 함유하고 제2 수용체는 4-1BB 공자극 신호 전달 영역을 함유하거나 반대로 함유한다.
- [0559] 일부 구현예에서, 제1 및/또는 제2 수용체는 ITAM 또는 ITAM 유사 모티프를 함유하는 세포내 신호 전달 도메인 및 공자극 수용체의 세포내 신호 전달 도메인 둘 다를 포함한다.
- [0560] 일부 구현예에서, 제1 수용체는 ITAM 또는 ITAM 유사 모티프를 함유하는 세포내 신호 전달 도메인을 함유하고 제2 수용체는 공자극 수용체의 세포내 신호 전달 도메인을 함유한다. 동일한 세포에서 유도된 활성화 신호와 결합한 공자극 신호는 면역 반응, 예컨대 강력하고 지속적인 면역 반응, 예컨대 유전자 발현, 사이토카인 및 기타 인자의 분비 및 세포 사멸과 같은 T 세포 매개 효과기 기능의 증가를 초래하는 것이다.
- [0561] 일부 구현예에서, 제1 수용체 단독의 결찰 또는 제2 수용체 단독의 결찰은 모두 강력한 면역 반응을 유도하지 못한다. 일부 측면에서, 하나의 수용체만 결찰되는 경우에, 세포는 항원에 내성화되거나 반응하지 않게 되거나 억제되고/거나 증식 또는 인자 분비를 하도록 또는 효과기 기능을 수행하도록 유도되지 않는다. 그러나, 일부 상기 구현예에서, 복수의 수용체가 결찰되고 예컨대 제1 및 제2 항원을 발현하는 세포와의 조우 시, 예를 들어, 하나 이상의 사이토카인 분비, 증식, 지속성 및/또는 표적 세포의 세포 독성 사멸과 같은 면역 작동 기능의 수행에 의해 나타난 바와 같이 전체 면역 활성화 또는 자극과 같은 원하는 반응이 달성된다.
- [0562] 일부 구현예에서, 2개의 수용체는 각각 세포에 활성화 및 억제 신호를 유도하는데, 항원에 수용체 중 하나가 결합하면 세포를 활성화하거나 반응을 유도하지만, 항원에 제2 억제성 수용체가 결합하면 해당 반응을 억제하거나 약화시키는 신호를 유도한다. 활성화 CAR 및 억제성 CAR 즉 iCAR을 조합하는 예가 있다. 예를 들어, 상기 전략은 활성화 CAR이 질병 또는 병태에서 발현되거나 정상 세포에서도 발현되는 항원에 결합하고, 억제성 수용체는 정상 세포에서 발현되거나 질병 또는 병태의 세포에서는 발현되지 않는 별개의 항원에 결합하는 것과 같이 사용될 수 있다.
- [0563] 일부 구현예에서, 다중 표적화 전략은 특정 질병 또는 병태와 관련된 항원이 비질병 세포에서 발현되고/거나 조작된 세포 자체에서 일시적으로(예를 들어, 유전자 조작과 관련된 자극시) 또는 상시적으로 발현되는 경우에 사용된다. 상기 경우에, 2개의 별도의 및 개별적으로 특이적인 항원 수용체의 결찰을 요구함으로써, 특이성, 선택성 및/또는 효능이 향상될 수 있다.
- [0564] 일부 구현예에서, 복수의 항원, 예를 들어, 제1 및 제2 항원이 암세포 상과 같이 표적화되는 세포, 조직 또는 질병 또는 병태 상에서 발현된다. 일부 측면에서, 세포, 조직, 질병 또는 병태는 다발성 골수종 또는 다발성 골수종 세포이다. 일부 구현예에서, 복수의 항원 중 하나 이상은 일반적으로 정상 또는 비질병 세포 또는 조직 및/또는 조작된 세포 자체와 같이 세포 요법으로 표적화하는 것이 바람직하지 않은 세포 상에서도 발현된다. 상기 구현예에서, 세포의 반응을 달성하기 위해 다중 수용체의 결찰을 요구함으로써, 특이성 및/또는 효능이 달성된다.
- [0565] **V. 유전자 조작된 세포 및 세포 생산 방법**
- [0566] 일부 구현예에서, 제공된 방법은 질병 또는 병태를 갖는 대상체에 재조합 항원 수용체를 발현하는 세포를 투여하는 것을 포함한다. 유전자 조작된 성분, 예를 들어 재조합 수용체, 예를 들어 CAR 또는 TCR을 도입하는 다양한 방법이 널리 공지되어 있으며 제공된 방법 및 조성물과 함께 사용될 수 있다. 예시적인 방법은 바이러스(예를 들어, 레트로바이러스 또는 렌티바이러스), 형질도입, 트랜스포손 및 전기 천공법을 통한 것을 포함하여 수

용체를 암호화하는 핵산의 전달을 위한 방법을 포함한다.

- [0567] 수용체를 발현하고 제공된 방법에 의해 투여되는 세포 중에는 조작된 세포가 있다. 유전자 조작은 일반적으로 재조합 또는 조작된 성분을 암호화하는 핵산을, 예컨대 레트로바이러스 형질도입, 형질주입 또는 형질전환에 의해, 세포를 함유하는 조성물 내로 도입하는 것을 포함한다.
- [0568] 특정 구현예에서, 조작된 세포는 하나 이상의 입력 조성물로부터 및/또는 단일 생물학적 샘플로부터 농축된 T 세포의 출력 조성물을 생성하는 프로세스에 의해 생산된다. 특정 구현예에서, 출력 조성물은 재조합 수용체, 예를 들어, CAR, 예컨대 항-CD19 CAR을 발현하는 세포를 함유한다. 특정 구현예에서, 출력 조성물의 세포는 요법 (예를 들어, 자가 세포 요법)으로서 대상체에 투여하기에 적합하다. 일부 구현예에서, 출력 조성물은 농축된 CD4+ 또는 CD8+ T 세포의 조성물이다.
- [0569] 일부 구현예에서, 조작된 세포를 생성 또는 생산하는 공정은 생물학적 샘플을 수집 또는 수득하는 단계; 생물학적 샘플로부터 입력 세포를 단리, 선택, 또는 농축하는 단계; 입력 세포를 냉동 보존하고 보관하는 단계; 입력 세포를 해동하고/거나 자극 조건에서 인큐베이션하는 단계; 자극된 세포를 재조합 폴리뉴클레오타이드, 예를 들어 CAR과 같은 재조합 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 발현 또는 함유하도록 조작하는 단계; 조작된 세포를, 예를 들어, 임계 양, 밀도, 또는 증폭으로 배양하는 단계; 배양된 세포를 출력 조성물 내에 제형화하는 단계; 및/또는 세포가 주입을 위해 방출되고/거나 대상체에 투여하기에 적합하게 될 때까지 제형화된 출력 세포를 냉동 보존 및 보관하는 단계 중 일부 또는 전부를 포함하는 공정에 의한다. 특정 구현예에서, 이 공정은 동일한 출발 또는 초기 생물학적 샘플로부터 개별적으로 가공 및 조작되고 정의된 비율로, 예를 들어 CD4+ 대 CD8+ T 세포의 1:1 비율로 대상체에 재주입되는, 개별적인 CD4+ 조성물 및 개별적인 CD8+ 조성물과 같은 농축된 T 세포의 둘 이상의 입력 조성물을 이용하여 수행된다. 일부 구현예에서, 농축된 T 세포는 조작된 T 세포, 예를 들어, 재조합 수용체를 발현하도록 형질도입된 T 세포이거나 이를 포함한다.
- [0570] 특정 구현예에서, 재조합 수용체(예를 들어, 항-CD19 CAR)를 발현하는 조작된 세포의 출력 조성물이 세포의 초기 및/또는 입력 조성물로부터 생산된다. 일부 구현예에서, 입력 조성물은 농축된 T 세포, 농축된 CD4+ T 세포, 및/또는 농축된 CD8+ T 세포의 조성물이다(이하 각각 농축된 T 세포의 조성물, 농축된 CD4+ T 세포의 조성물, 및 농축된 CD8+ T 세포의 조성물로도 지칭된다). 일부 구현예에서, 본원에 제공된 구현예에서 채용된 조작된 T 세포의 용량이 대상체에 투여를 위해 CD4+ 또는 CD8+ T 세포에 대해 농축된다. 일부 측면에서, 농축이 입력 조성물 및/또는 단일 생물학적 샘플, 예컨대 대상체로부터 수득된 샘플에 존재하는 CD4+ 또는 CD8+ 세포의 양 또는 백분율과 비교된다. 일부 구현예에서, CD4+ T 세포로 농축된 조성물은 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99%, 또는 99.9%의 CD4+ T 세포를 함유한다. 특정 구현예에서, 농축된 CD4+ T 세포의 조성물은 100% CD4+ T 세포를 함유하거나 약 100% CD4+ T 세포를 함유한다. 특정 구현예에서, 농축된 T 세포의 조성물은 20% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 1% 미만, 0.1% 미만, 또는 0.01% 미만의 CD8+ T 세포를 함유하고/거나, CD8+ T 세포를 함유하지 않고/거나, CD8+ T 세포가 없거나 실질적으로 없다. 일부 구현예에서, 세포의 집단은 CD4+ T 세포를 필수적으로 포함하여 구성된다. 일부 구현예에서, CD8+ T 세포로 농축된 조성물은 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99%, 또는 99.9%의 CD8+ T 세포를 함유하거나, 또는 (약) 100%의 CD8+ T 세포를 함유한다. 특정 구현예에서, 농축된 CD8+ T 세포의 조성물은 20% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 1% 미만, 0.1% 미만, 또는 0.01% 미만의 CD4+ T 세포를 함유하고/거나, CD4+ T 세포를 함유하지 않고/거나, CD4+ T 세포가 없거나 실질적으로 없다. 일부 구현예에서, 세포의 집단은 CD8+ T 세포를 필수적으로 포함하여 구성된다.
- [0571] 특정 구현예에서, 조작된 세포를 생산하는 공정은 세포, 예를 들어 입력 조성물의 세포를 활성화 및/또는 자극하는 단계; 활성화된 및/또는 자극된 세포를, 예를 들어, 형질도입 또는 형질주입에 의해 재조합 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 도입하도록 유전자 조작하는 단계; 및/또는 조작된 세포를, 예를 들어 증식 및/또는 증폭을 촉진하는 조건에서 배양하는 단계; 중 하나 이상을 더 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 제공된 방법은 세포가 인큐베이션, 활성화, 자극, 조작, 형질도입, 형질주입, 및/또는 배양된 후에 생산된 출력 조성물을 수확, 수집, 및/또는 제형화하는 것과 관련하여 사용될 수 있다.
- [0572] 일부 구현예에서, 제공된 방법에 따라 사용되는, 기술된 바와 같은 항-CD19 CAR을 발현하는 것과 같은 조작된 세포는 세포를 선택, 단리, 활성화, 자극, 증폭, 배양, 및/또는 제형화하는 공정에 의해 생산 또는 생성된다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 기술된 바와 같은 임의의 방법을 포함한다.
- [0573] 일부 구현예에서, 제공된 방법 및 용도에 따라 사용되는, 기술된 바와 같은 항-CD19 CAR을 발현하는 것과 같은 조작된 세포는 세포를 선택, 단리, 활성화, 자극, 증폭, 배양, 및/또는 제형화하는 공정에 의해 생산 또는 생성된다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 기술된 바와 같은 임의의 방법을 포함한다.



- [0574] 일부 구현예에서, 제공된 방법 및 용도에 따라 사용되는, 기술된 바와 같은 항-CD19 CAR을 발현하는 것과 같은 조작된 세포는 예를 들어 문헌[WO 2019/089855 및 WO 2015/164675]에 기술된 바와 같은 예시적인 공정에 의해 생산 또는 생성된다.
- [0575] 임의의 구현예의 일부에서, 기술된 바와 같은 항-CD19 CAR을 발현하는 것과 같은 조작된 세포, 또는 상기 세포를 포함하는 조성물, 예컨대 조작된 CD4+ T 세포와 조작된 CD8+ T 세포를 포함하고 각각이 동일한 항-CD19 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조성물을 생성, 생산 또는 제조하는 예시적인 공정은 농축된 CD4+ 및 농축된 CD8+ 세포 집단을 개별적으로 공정 단계들을 거치는 것을 포함한다. 조작된 세포를 생성 또는 제조하는 예시적인 공정의 일부 측면에서, CD4+ 및 CD8+ 세포는 예를 들어 백혈구 성분채집술에 의해 수득된 인간 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)로부터 개별적으로 선택되고, 개별적인 농축된 CD4+ 및 농축된 CD8+ 세포 조성물이 생성된다. 일부 측면에서, 상기 세포는 냉동 보존될 수 있다. 일부 측면에서, CD4+ 및 CD8+ 조성물은 이어서 해동되고 개별적으로 자극, 형질도입, 및 증폭의 단계를 거칠 수 있다.
- [0576] 조작된 세포를 생성 또는 제조하는 예시적인 공정의 일부 측면에서, 해동된 CD4+ 및 CD8+ 세포는 예를 들어 항-CD3 및 항-CD28에 결합된 상자성 폴리스티렌-코딩된 비드의 존재 하에서 (예컨대 1:1 비드 대 세포 비율로) 개별적으로 자극된다. 일부 측면에서, 자극은 인간 재조합 IL-2, 인간 재조합 IL-15, 및 N-아세틸 시스테인(NAC)을 함유한 배지에서 수행된다. 일부 측면에서, CD4+ 세포를 위한 세포 배양 배지는 또한 인간 재조합 IL-7을 포함할 수 있다.
- [0577] 조작된 세포를 생성 또는 제조하는 예시적인 공정의 일부 측면에서, 비드의 도입 이후, CD4+ 및 CD8+ 세포는 동일한 CAR, 예컨대 동일한 항-CD19 CAR을 암호화하는 렌티바이러스 벡터로 개별적으로 형질도입된다. 일부 측면에서, CAR은 뮤린 항체로부터 유래된 항-CD19 scFv, 면역글로불린 스페이스, CD28로부터 유래된 막관통 도메인, 4-1BB로부터 유래된 공자극 영역, 및 CD3-제타 세포내 신호 전달 도메인을 함유할 수 있다. 일부 측면에서, 벡터는 T2A 서열에 의해 CAR 작제물에 연결된 CAR 발현을 위한 대리 마커로 기능하는 절단형 수용체를 암호화할 수 있다. 예시적인 공정의 일부 측면에서, 세포는 10 µg/ml 프로타민 황산염의 존재 하에서 형질도입된다.
- [0578] 조작된 세포를 생성 또는 제조하는 예시적인 공정의 일부 측면에서, 형질도입 이후, 자기장에 노출을 통해 세포 조성물에서 비드를 제거한다. 일부 측면에서, CD4+ 및 CD8+ 세포 조성물은 생물 반응기(예를 들어, Xuri W25 생물 반응기)에 의한 연속 혼합과 산소 전달을 통해 증폭을 위해 개별적으로 배양된다. 일부 경우에, 폴록사머가 배지에 첨가된다. 일부 측면에서, CD4+ 및 CD8+ 세포 조성물 모두 IL-2 및 IL-15의 존재 하에서 배양된다. 일부 측면에서, CD4+ 세포 배지는 IL-7도 포함하였다. 일부 경우에, CD4+ 및 CD8+ 세포는 수확 전에 각각 배양되어 4 배 증폭된다. 일부 측면에서, 임계치에 도달한 지 1일 후에, 각 조성물로부터 세포를 개별적으로 수확하고, 제형화하고, 냉동 보존할 수 있다. 일부 측면에서, 기술된 바와 같은 항-CD19 CAR을 발현하는 것과 같은 조작된 세포, 또는 상기 세포를 포함하는 조성물, 예컨대 조작된 CD4+ T 세포와 조작된 CD8+ T 세포를 포함하고 각각이 동일한 항-CD19 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 조성물을 생성, 생산 또는 제조하는 예시적인 공정은 아래 표 11에 기술된 바와 같은 것을 포함한다.

표 11: CD4+ 및 CD8+ CAR-T 세포를 생성하는 예시적인 공정

단계	CD4+ 세포	CD8+ 세포
자극 (1-2 일차)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 항-CD3/CD28 항체 접합 비드</li> <li>• 1:1 비드 대 세포 비율</li> <li>• 배지: IL-2, IL-7, IL-15, 및 NAC</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 항-CD3/CD28 항체 접합 비드</li> <li>• 1:1 비드 대 세포 비율</li> <li>• 배지: IL-2, IL-15, 및 NAC</li> </ul>
형질도입 (2-5 일차)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 형질도입 보조제(예를 들어, 10 µg/ml 프로타민 황산염)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 형질도입 보조제(예를 들어, 10 µg/ml 프로타민 황산염)</li> </ul>
비드 제거 (5 일차*)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 자성 비드 제거</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 자성 비드 제거</li> </ul>
증폭 (5 일차* - 수확)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 흔들리는 동작 생물 반응기 및/또는 연속 혼합</li> <li>• 배지: IL-2, IL-7, IL15, 및 폴록사머</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 흔들리는 동작 생물 반응기 및/또는 연속 혼합</li> <li>• 배지: IL-2, IL15, 및 폴록사머</li> </ul>

\*근사치

[0579]

[0580]

다른 측면에서, 조작된 세포 또는 상기 세포를 포함하는 조성물을 생성, 생산 또는 제조하는 상이한 예시적인 공정은: NAC가 자극 중에 배지에 첨가되지 않고; CD4+ 세포 배지가 IL-2를 함유하지 않고; 세포가 3:1의 비드 대 세포 비율로 자극되고; 세포가 더 높은 농도의 프로타민 황산염으로 형질도입되고; 비드 제거가 약 7일차에 발생하고; 그리고 증폭이 정적 환경에서, 즉 연속 혼합 또는 관류(예를 들어, 반연속 및/또는 단계적인 관류)가 없고, 폴록사머가 없이 수행된다는 점에서 상기 예시적인 공정과 다른 공정을 포함한다.

[0581]

일부 구현예에서, 적어도 하나의 농축된 CD4+ T 세포의 개별 조성물 및 적어도 하나의 농축된 CD8+ T 세포의 개별 조성물은 환자 또는 건강한 개체와 같은 동일한 공여체로부터 유래된 단일 생물학적 샘플, 예를 들어, PBMC 또는 다른 백혈구의 샘플로부터 단리, 선택, 농축, 또는 수득된다. 일부 구현예에서, 농축된 CD4+ T 세포의 개별 조성물 및 농축된 CD8+ T 세포의 개별 조성물은 단일 대상체로부터 수득, 수집, 및/또는 채취한 단일 생물학적 샘플과 같은 동일한 생물학적 샘플로부터 유래하였다(예를 들어, 처음에 단리, 선택, 및/또는 농축되었다). 일부 구현예에서, 생물학적 샘플은 우선 CD4+ 세포의 선택을 거치며, 이때 음성 및 양성 분획 모두 유지되고, 음성 분획은 CD8+ T 세포의 선택을 더 거친다. 다른 구현예에서, 생물학적 샘플은 우선 CD8+ 세포의 선택을 거치며, 이때 음성 및 양성 분획 모두 유지되고, 음성 분획은 CD4+ T 세포의 선택을 더 거친다. 일부 구현예에서, 선택 방법은 국제 PCT 공개 번호 W02015/164675에 기술된 바와 같이 수행된다. 일부 구현예에서, 선택 방법은 국제 PCT 공개 번호 W02019/089855에 기술된 바와 같이 수행된다. 일부 관점에서, 생물학적 샘플은 우선 CD8+ T 세포에 대해 양성 선택되어 적어도 하나의 농축된 CD8+ T 세포의 조성물이 생성되고, 이어서 음성 분획이 CD4+ T 세포에 대해 양성 선택되어 적어도 하나의 농축된 CD4+ T 세포의 조성물이 생성되고, 이로써 적어도 하나의 농축된 CD8+ T 세포의 조성물과 적어도 하나의 농축된 CD4+ T 세포의 조성물은 동일한 생물학적 샘플로부터, 예를 들어, 동일한 환자 또는 건강한 개체로부터 유래된 개별 조성물이 된다. 일부 관점에서, 동일한 공여체로부터 유래된 농축된 T 세포의 둘 이상의 개별 조성물이, 예를 들어, 적어도 하나는 농축된 CD4+ T 세포의 조성물이 되고 적어도 하나는 농축된 CD8+ T 세포의 개별 조성물이 되어, 개별적으로 냉동되며, 예를 들어, 냉동 보존 배지에서 냉동 보호 또는 냉동 보존된다.

[0582]

일부 측면에서, 동일한 생물학적 샘플로부터 유래된 농축된 T 세포의 둘 이상의 개별 조성물이, 예를 들어, 적어도 하나는 농축된 CD4+ T 세포의 조성물이 되고 적어도 하나는 농축된 CD8+ T 세포의 개별 조성물이 되어, 자극 시약과 접촉하여(예를 들어, T 세포 활성화를 위해 항-CD3/항-CD28 접합 자성 비드로 인큐베이션하여) 활성화 및/또는 자극된다. 일부 관점에서, 활성화된/자극된 세포 조성물의 각각이 예를 들어 재조합 단백질(예를 들어, CAR)을 암호화하는 바이러스 벡터를 이용하여 각 세포 조성물의 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포에서 동일한 재조합 단백질을 발현하도록 조작, 형질도입, 및/또는 형질주입된다. 일부 관점에서, 본 방법은 세포 조성물로부터 자극 시약, 예를 들어 자성 비드를 제거하는 것을 포함한다. 일부 측면에서, 조작된 CD4+ T 세포를 함유하는

세포 조성물 및 조작된 CD8+ T 세포를 함유하는 세포 조성물이 예를 들어 그 안에서 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포 집단의 개별적인 증폭을 위해 개별적으로 배양된다. 특정 구현예에서, 배양으로부터 세포 조성물이 수확 및/또는 수집 및/또는 제형화되며, 예를 들어, 제형 완충제에서 세포 조성물을 세척하여 이루어진다. 특정 구현예에서, CD4+ T 세포를 포함하는 제형화된 세포 조성물 및 CD8+ T 세포를 포함하는 제형화된 세포 조성물이 냉동되며, 예를 들어 냉동 보존 배지에서 냉동 보호 또는 냉동 보존된다. 일부 관점에서, 각각 제형화된 조작된 CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포는 동일한 공여체 또는 생물학적 샘플로부터 유래하며 동일한 재조합 단백질(예를 들어, 항-CD19 CAR과 같은 CAR)을 발현한다. 일부 관점에서, 개별 조작된 세포 CD4+ 제형 및 개별 조작된 CD8+ 제형이 정의된 비율, 예를 들어 1:1로 이를 필요로 하는 대상체 예컨대 동일한 공여체에 투여된다.

**[0583] A. 유전자 조작을 위한 세포 및 세포 제조**

**[0584]** 일부 구현예에서, 제공된 방법, 용도, 제조품 또는 조성물과 관련하여 사용되는 T 세포와 같은 세포는 본원에 기술된 재조합 수용체, 예를 들어, CAR 또는 TCR을 발현하도록 유전자 조작된 세포이다. 일부 구현예에서, 조작된 세포는 세포 요법, 예를 들어, 입양 세포 요법의 맥락에서 사용된다. 일부 구현예에서, 조작된 세포는 면역 세포이다. 일부 구현예에서, 조작된 세포는 CD4+ 또는 CD8+ T 세포와 같은 T 세포이다.

**[0585]** 일부 구현예에서, 핵산, 예컨대 재조합 수용체를 암호화하는 핵산은 이중 기원인데, 즉, 다른 유기체 또는 세포로부터 획득된 것과 같이 세포 또는 세포로부터 획득된 샘플에는 정상적으로 존재하지 않으며, 예를 들어, 이는 조작되는 세포 및/또는 상기 세포가 유래된 유기체에서 보통 발견되지 않는다. 일부 구현예에서, 핵산은 천연 발생이 아니고, 예컨대 다수의 상이한 세포 유형으로부터 다양한 도메인을 암호화하는 핵산의 키메라 조합을 포함하는 것을 포함해, 자연에서 발견되지 않는 핵산이다.

**[0586]** 세포는 일반적으로 포유류 세포와 같은 진핵 세포이며, 통상적으로 인간 세포이다. 일부 구현예에서, 세포는 혈액, 골수, 림프, 또는 림프성 기관으로부터 유래되며, 선천성 또는 적응성 면역 세포와 같은, 면역 계통의 세포, 예를 들어 림프구, 통상적으로 T 세포 및/또는 NK 세포를 포함한 골수성 또는 림프성 세포이다. 다른 예시적인 세포에는 유도된 다능성 줄기 세포(induced pluripotent stem cell: iPSC)를 포함한, 다분화능 및 다능성 줄기 세포와 같은 줄기 세포가 포함된다. 세포는 통상적으로 대상체로부터 직접 단리되고/거나 대상체로부터 단리되고 동결된 세포와 같은 1차 세포이다. 일부 구현예에서, 세포에는 T 세포 또는 다른 세포 유형의 하나 이상의 서브세트, 예컨대 전체 T 세포의 집단, CD4<sup>+</sup> 세포, CD8<sup>+</sup> 세포 및 이의 하위 집단, 예컨대 기능, 활성화 상태, 성숙도, 분화 가능성, 증폭, 재순환, 국소화 및/또는 지속성 용량, 항원 특이성, 항원 수용체 유형, 특정 기관 또는 구획의 존재, 마커 또는 사이토카인 분비 프로파일 및/또는 분화 정도에 의해 정의되는 것이 포함된다. 치료될 대상체와 관련하여, 세포는 동종이계 및/또는 자가 조직일 수 있다. 상기 방법 중에는 기성 방법이 포함된다. 일부 측면에서, 예컨대 기성 기술에 대해, 세포는 유도된 다능성 줄기세포(iPSC)와 같은 줄기세포 등과 같은 다능성 및/또는 다분화능이다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 대상체로부터 세포를 단리하고, 세포를 제조, 가공, 배양 및/또는 조작하고, 동결보존 전 또는 후에 동일한 대상체에 이 세포를 재도입하는 것을 포함한다.

**[0587]** T 세포 및/또는 CD4<sup>+</sup> 및/또는 CD8<sup>+</sup> T 세포의 하위 유형 및 하위 집단 중에는 나이브 T(naive T, T<sub>N</sub>) 세포, 효과기 T 세포(effector T cell, T<sub>EFF</sub>), 기억 T 세포 및 이들의 하위-유형, 예컨대 줄기세포 기억 T(stem cell memory T, T<sub>SCM</sub>), 중앙 기억 T(central memory T, T<sub>CM</sub>), 효과기 기억 T(effector memory T, T<sub>EM</sub>) 또는 말단 분화된 효과기 기억 T 세포, 종양 침윤성 림프구(tumor-infiltrating lymphocytes, TIL), 미성숙 T 세포, 성숙 T 세포, 헬퍼 T 세포, 세포 독성 T 세포, 점막 연관 불변 T(mucosa-associated invariant T, MAIT) 세포, 천연 발생 및 적응성 조절 T(regulatory T, Treg) 세포, 헬퍼 T 세포, 예컨대 TH1 세포, TH2 세포, TH3 세포, TH17 세포, TH9 세포, TH22 세포, 여포성 헬퍼 T 세포, 알파/베타 T 세포 및 델타/감마 T 세포가 있다.

**[0588]** 일부 구현예에서, 세포는 자연 살해(natural killer, NK) 세포이다. 일부 구현예에서, 세포는 단핵구 또는 과립구, 예를 들어 골수성 세포, 대식 세포, 호중구, 수지상 세포, 비만 세포, 호산구 및/또는 호염기구이다.

**[0589]** 일부 구현예에서, 세포는 유전자 조작을 통해 도입된 하나 이상의 핵산을 포함하고 이로써 상기 핵산의 재조합 또는 유전자 조작된 산물을 발현한다. 일부 구현예에서, 핵산은 이중 기원인데, 즉, 다른 유기체 또는 세포로부터 획득된 것과 같이 세포 또는 세포로부터 획득된 샘플에는 정상적으로 존재하지 않으며, 예를 들어, 이는 조작되는 세포 및/또는 상기 세포가 유래된 유기체에서 보통 발견되지 않는다. 일부 구현예에서, 핵산은 천연 발생이 아니고, 예컨대 다수의 상이한 세포 유형으로부터 다양한 도메인을 암호화하는 핵산의 키메라 조합을 포함

하는 것을 포함해, 자연에서 발견되지 않는 핵산이다.

- [0590] 일부 구현예에서, 조작된 세포의 제조는 하나 이상의 배양 및/또는 제조 단계를 포함한다. CAR과 같은 형질전환 수용체(transgenic receptor)를 암호화하는 핵산의 도입을 위한 세포는, 생물학적 샘플, 예를 들어 대상체로부터 수득되거나 유래된 것과 같은 샘플로부터 단리될 수 있다. 일부 구현예에서, 세포가 단리되는 대상체는 질병 또는 병태가 있거나 세포 요법이 필요하거나 또는 세포 요법이 투여될 대상체이다. 일부 구현예에서, 대상체는 세포가 단리, 가공 및/또는 조작되는 입양 세포 요법과 같은 특정한 치료적 개입이 필요한 인간이다.
- [0591] 따라서, 일부 구현예에서 세포는 1차 세포, 예를 들어 1차 인간 세포이다. 샘플에는 대상체에서 직접 채취한 조직, 체액 및 기타 샘플뿐만 아니라 분리, 원심분리, 유전자 조작(예를 들어, 바이러스 벡터를 이용한 형질도입), 세척 및/또는 인큐베이션과 같은 하나 이상의 가공 단계에서 생성된 샘플이 포함된다. 생물학적 샘플은 생물학적 공급원으로부터 직접 수득된 샘플 또는 가공된 샘플일 수 있다. 생물학적 샘플에는 혈액, 혈장, 혈청, 뇌척수액, 활액, 소변 및 땀과 같은 체액, 조직 및 장기 샘플(이들로부터 유래된 가공 샘플 포함)이 포함되나, 이에 한정되지 않는다.
- [0592] 일부 측면에서, 세포가 유래되거나 단리된 샘플은 혈액 또는 혈액 유래 샘플이거나, 성분채집술 또는 백혈구 성분채집술 산물이거나 이로부터 유래된다. 예시적인 샘플에는 전혈, 말초 혈액 단핵 세포(peripheral blood mononuclear cell, PBMC), 백혈구, 골수, 흉선, 조직 생검, 종양, 백혈병, 림프종, 림프절, 장 관련 림프 조직, 점막 관련 림프 조직, 비장, 기타 림프 조직, 간, 폐, 위, 창자, 결장, 신장, 췌장, 유방, 뼈, 전립선, 자궁경부, 고환, 난소, 편도 또는 기타 장기 및/또는 이들로부터 유래된 세포가 포함된다. 샘플에는 세포 요법, 예를 들어, 입양 세포 요법의 맥락에서 자가 및 동종이계 공급원으로부터의 샘플이 포함된다.
- [0593] 일부 구현예에서, 세포는 세포주, 예를 들어 T 세포주로부터 유래된다. 일부 구현예에서, 세포는 이종성 공급원, 예를 들어 마우스, 랫트, 비인간 영장류 및 돼지로부터 수득된다.
- [0594] 일부 구현예에서, 세포의 단리는 하나 이상의 제조 단계 및/또는 비친화도 기반 세포 분리 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, 세포는 예를 들어 원치 않는 성분의 제거, 원하는 성분의 농축, 특정 시약에 민감한 세포를 용해하거나 제거하기 위해, 하나 이상의 시약의 존재 하에 세척, 원심분리 및/또는 인큐베이션된다. 일부 실시예에서, 세포는 하나 이상의 특성, 예컨대 밀도, 부착 특성, 크기, 특정 성분에 대한 민감성 및/또는 내성에 기초하여 분리된다.
- [0595] 일부 예에서, 대상체의 순환 혈액으로부터의 세포는 예를 들어 성분채집술 또는 백혈구 성분채집술에 의해 수득된다. 일부 측면에서, 샘플은 T 세포, 단핵구, 과립구, B 세포, 기타 유핵 백혈구, 적혈구 및/또는 혈소판을 포함한 림프구를 함유하고, 일부 측면에서 적혈구 및 혈소판 이외의 세포를 함유한다.
- [0596] 일부 구현예에서, 대상체로부터 수집된 혈액 세포는, 예를 들어 혈장 분획을 제거하고 후속 처리 단계를 위한 적절한 완충제 또는 배지에 세포를 배치하기 위해 세척한다. 일부 구현예에서, 세포는 인산 완충 식염수(phosphate buffered saline, PBS)로 세척된다. 일부 구현예에서, 세척 용액에는 칼슘 및/또는 마그네슘 및/또는 많은 또는 모든 2가 양이온이 결여되어 있다. 일부 측면에서, 세척 단계는 제조업체의 지침에 따라 반자동 “플로우-쓰루(flow-through)” 원심 분리기(예를 들어, Cobe 2991 세포 프로세서, Baxter)로 달성된다. 일부 측면에서, 세척 단계는 제조업체의 지침에 따라 접선 유동 여과(tangential flow filtration, TFF)에 의해 달성된다. 일부 구현예에서, 세포는 세척 후 다양한 생체 적합성 완충제, 예를 들어  $Ca^{++}/Mg^{++}$  이 없는 PBS에 재현탁된다. 특정 구현예에서, 혈액 세포 샘플의 성분이 제거되고 이 세포는 배양 배지에서 직접 재현탁된다.
- [0597] 일부 구현예에서, 상기 방법은 밀도 기반 세포 분리 방법, 예컨대 적혈구를 용해시켜 말초 혈액으로부터 백혈구의 제조 및 Percoll 또는 Ficoll 구배를 통한 원심분리를 포함한다.
- [0598] 일부 구현예에서, 선택 단계의 적어도 일부는 선택 시약과 함께 세포의 인큐베이션을 포함한다. 예를 들어 하나 이상의 상이한 세포 유형의 선택을 위한 하나 이상의 선택 시약을 이용하여 수행될 수 있는 선택 방법의 일부로서 선택 시약 또는 시약들과의 인큐베이션은 하나 이상의 특정 분자, 예컨대 표면 마커, 예를 들어 표면 단백질, 세포내 마커 또는 핵산의 세포 상 또는 세포 내 발현 또는 존재에 기초한다. 일부 구현예에서, 상기 마커에 기초한 분리를 위한 선택 시약 또는 시약들을 사용하는 임의의 공지된 방법이 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 선택 시약 또는 시약들은 친화도 또는 면역 친화도 기반 분리인 분리를 초래한다. 예를 들어, 일부 관점에서 선택은 하나 이상의 마커, 전형적으로 세포 표면 마커의 세포의 발현 또는 발현 수준에 기초하여, 예를 들어 상기 마커에 특이적으로 결합하는 항체 또는 결합 파트너와의 인큐베이션 후 일반적으로 세척 단계 및 항체 또는 결합 파트너와 결합하지 않은 세포와 항체 또는 결합 파트너와 결합한 세포의 분리에 의한 세포 및 세

포의 집단의 분리를 위한 시약 또는 시약들과의 인큐베이션을 포함한다.

- [0599] 상기 공정의 일부 관점에서, 일정 부피의 세포를 일정량의 원하는 친화도 기반 선택 시약과 혼합한다. 면역 친화도 기반 선택은 분리되는 세포와, 세포 상의 마커, 예를 들어 고체 표면, 예를 들어 입자 상의 항체 또는 기타 결합 파트너에 특이적으로 결합하는 분자 간의 양호하고 활발한 상호작용을 초래하는 임의의 시스템 또는 방법을 사용하여 수행될 수 있다. 일부 구현예에서, 방법은 세포의 마커에 특이적인 선택 체제(예를 들어, 항체)로 비드(예를 들어, 자성 비드) 같은 코팅된 입자를 사용하여 수행된다. 입자(예를 들어, 비드)는 일정한 세포 밀도 대 입자(예를 들어, 비드) 비율로 흔들거나 혼합하면서 튜브나 백과 같은 용기에서 세포와 배양 또는 혼합되어 양호한 상호작용의 활발한 촉진을 도울 수 있다. 다른 경우에, 본 방법은 선택의 전부 또는 일부가 원심분리 챔버의 내부 공동에서 예를 들어, 원심분리 회전 하에서 수행되는 세포의 선택을 포함한다. 일부 구현예에서, 면역 친화도 기반 선택 시약과 같은 선택 시약과 함께 세포의 인큐베이션은 원심분리 챔버에서 수행된다. 특정 구현예에서, 단리 또는 분리는 문헌[국제 특허 출원 공개 번호 W02009/072003, 또는 US 20110003380 A1]에 기재된 시스템, 디바이스 또는 장치를 이용하여 수행된다. 일 예에서, 시스템은 문헌[국제 공개 번호 W02016/073602]에 기재된 바와 같은 시스템이다.
- [0600] 일부 구현예에서, 상기 선택 단계 또는 이의 일부(예를 들어, 항체 코팅된 입자, 예를 들어 자성 비드와의 인큐베이션)를 원심분리 챔버의 공동에서 수행함으로써, 사용자는 다양한 용액의 부피, 가공 중 용액의 첨가 및 이의 타이밍과 같은 특정 파라미터를 제어할 수 있으며, 이는 다른 이용 가능한 방법에 비해 이점을 제공할 수 있다. 예를 들어, 인큐베이션 중 공동의 액체 부피를 감소시키는 능력은 선택에 사용되는 입자(예를 들어, 비드 시약)의 농도를 증가시킬 수 있어서 공동 내 세포의 총 수에는 영향을 주지 않고 용액의 화학적 전위를 증가시킬 수 있다. 이는 결국 가공되는 세포와 선택에 사용되는 입자 사이의 쌍 방향 상호작용을 증진할 수 있다. 일부 구현예에서, 예를 들어, 본원에 기술된 바와 같은 시스템, 회로 및 제어와 연관된 경우, 챔버에서의 인큐베이션 단계 수행은 사용자가 인큐베이션 중에 원하는 시간에 용액의 교반에 영향을 미칠 수 있게 하고, 이는 또한 상호작용을 향상시킬 수 있다.
- [0601] 일부 구현예에서, 선택 단계의 적어도 일부는 원심분리 챔버에서 수행되고, 이는 세포와 선택 시약의 인큐베이션을 포함한다. 상기 공정의 일부 관점에서, 일정 부피의 세포를 제조 업체의 지침에 따라 동일한 수의 세포 및/또는 동일한 부피의 세포의 선택을 위해 튜브 또는 용기에서 유사한 선택을 수행할 때 일반적으로 사용되는 것보다 훨씬 적은 양의 원하는 친화도 기반 선택 시약과 혼합한다. 일부 구현예에서, 제조사의 지침에 따라 동일한 수의 세포 및/또는 동일한 부피의 세포에 대해 튜브 또는 용기 기반 인큐베이션에서 세포의 선택을 위해 사용되는 동일한 선택 시약(들)의 양의 5% 이내, 10% 이내, 15% 이내, 20% 이내, 25% 이내, 50% 이내, 60% 이내, 70% 이내 또는 80% 이내 양의 선택 시약 또는 시약들의 양이 사용된다.
- [0602] 일부 구현예에서, 세포의 선택, 예를 들어 면역 친화도 기반 선택을 위해, 세포는 선택 시약, 예컨대 농축 및/또는 고갈이 바림직한 세포 상에는 있으나 임의적으로 지지체(scaffold) 예컨대 중합체 또는 표면, 예를 들어 비드, 예를 들어 자성 비드, 예컨대 CD4 및 CD8에 대해 특이적인 단클론 항체에 결합된 자성 비드에 결합된 항체와 같은 조성물 중의 다른 세포 상에는 없는 표면 마커에 특이적으로 결합하는 분자와 같은 선택 시약을 갖는 선택 완충제를 또한 함유하는 챔버의 공동 내 조성물에서 인큐베이션된다. 일부 구현예에서, 기술된 바와 같이, 선택이 흔들거나 회전하는 튜브에서 수행될 경우 같은 수의 세포 또는 같은 부피의 세포와 대략 동일하거나 유사한 선택 효율을 달성하기 위해 전형적으로 사용되거나 필요한 선택 시약의 양과 비교하여 실질적으로 보다 적은 양(예를 들어, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% 또는 80% 이내의 양)으로 챔버의 공동에 있는 세포에 선택 시약을 첨가한다. 일부 구현예에서, 인큐베이션은 예를 들어 10mL 내지 200mL, 예컨대 적어도 (약) 10mL, 20mL, 30mL, 40mL, 50mL, 60mL, 70mL, 80mL, 90mL, 100mL, 150mL 또는 200mL의 시약의 인큐베이션을 갖는 표적 부피를 달성하기 위해 세포 및 선택 시약에 선택 완충제 첨가로 수행된다. 일부 구현예에서, 선택 완충제 및 선택 시약은 세포에 첨가되기 전에 미리 혼합된다. 일부 구현예에서, 선택 완충제 및 선택 시약은 세포에 별도로 첨가된다. 일부 구현예에서, 선택 인큐베이션은 주기적으로 부드럽게 혼합하는 조건으로 수행되며, 이는 양호한 상호작용을 활발하게 촉진하는 데 도움이 될 수 있으며, 이로써 높은 선택 효율을 달성하면서 전반적으로 선택 시약을 보다 적게 사용하는 것이 가능할 수 있다.
- [0603] 일부 구현예에서, 선택 시약을 이용한 인큐베이션의 총 지속 기간은 (약) 5분 내지 (약) 6시간, 예컨대 30분 내지 3시간, 예를 들어 (약) 30분, 60분, 120분 또는 180분 이상이다.
- [0604] 일부 구현예에서, 인큐베이션은 일반적으로 스피닝(spinning)이 존재하는 것과 같은 혼합 조건 하에서 수행되며, 일반적으로 이는 상대적으로 낮은 힘 또는 속도, 예컨대 세포를 펠릿화하기 위해 사용되는 것보다 더

낮은 속도, 예컨대 (약) 600rpm 내지 (약) 1700rpm(예를 들어, (약) 600rpm, 1000rpm 또는 1500rpm 또는 1700rpm 또는 600rpm, 1000rpm 또는 1500rpm 또는 1700rpm 이상)에서, 예컨대 (약) 80g 내지 100g(예를 들어, (약) 80g, 85g, 90g, 95g 또는 100g 또는 80g, 85g, 90g, 95g 또는 100g 이상)의 챔버 또는 다른 용기의 벽 또는 샘플에서 RCF로 수행된다. 일부 구현예에서, 스핀은 상기와 같은 낮은 속도의 스핀과 이어지는 휴지 기간(rest period), 예컨대 스핀 및/또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10초 동안의 휴지, 예컨대, 대략 1 또는 2초의 스핀과 이어지는 대략 5, 6, 7 또는 8초 동안의 휴지의 구간을 반복하여 수행된다.

[0605] 일부 구현예에서, 상기 공정은 챔버와 일체형인 완전히 폐쇄된 시스템 내에서 수행된다. 일부 구현예에서, 본 공정(및 일부 관점에서 또한 하나 이상의 추가 단계, 예컨대 성분채집술 샘플과 같은 세포를 함유하는 샘플을 세척하는 사전 세척 단계)은 자동화된 방식으로 수행되어, 자동화 프로그램을 이용하여 단일 폐쇄 시스템에서 세척 및 결합 단계를 완료하기 위해 세포, 시약 및 기타 성분이 적절한 시간 및 달성된 원심분리에서 챔버로 유입되고 챔버 밖으로 밀어내어진다.

[0606] 일부 구현예에서, 세포 및 선택 시약 및/또는 시약들의 인큐베이션 및/또는 혼합 후, 인큐베이션된 세포는 특정 시약 또는 시약들의 존재 또는 부재에 기초하여 세포 선택을 위한 분리를 거친다. 일부 구현예에서, 분리는 선택 시약과 세포의 인큐베이션이 수행되었던 동일한 폐쇄 시스템에서 수행된다. 일부 구현예에서, 선택 시약과 함께 인큐베이션 후, 선택 시약이 결합된 세포를 포함하는 인큐베이션된 세포는 세포의 면역 친화도 기반 분리를 위한 시스템으로 전달된다. 일부 구현예에서, 면역 친화도 기반 분리를 위한 시스템은 자성 분리 컬럼이거나 이를 함유한다.

[0607] 일부 구현예에서, 단리 방법은 표면 마커, 예를 들어, 표면 단백질, 세포내 마커 또는 핵산과 같은 하나 이상의 특정 분자의 세포에서의 발현 또는 존재에 기초한 상이한 세포 유형의 분리를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 마커에 기초한 분리를 위한 임의의 공지된 방법이 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 분리는 친화도- 또는 면역 친화도-기반 분리이다. 예를 들어, 일부 측면에서 단리에는 하나 이상의 마커, 통상적으로 세포 표면 마커의 세포 발현 또는 발현 수준에 기초하여, 예를 들어 상기 마커에 특이적으로 결합하는 항체 또는 결합 파트너와의 인큐베이션 후 일반적으로 세척 단계 및 항체 또는 결합 파트너와 결합하지 않은 세포로부터 항체 또는 결합 파트너와 결합한 세포의 분리에 의한 세포 및 세포의 집단의 분리가 포함된다.

[0608] 상기 분리 단계는 시약에 결합된 세포가 추가 사용을 위해 유지되는 양성 선택 및/또는 항체 또는 결합 파트너에 결합하지 않은 세포가 유지되는 음성 선택에 기초할 수 있다. 일부 실시예에서, 두 분획 모두 추가 사용을 위해 유지된다. 일부 측면에서, 음성 선택은 이중 집단에서 세포 유형을 특이적으로 식별하는 항체가 이용 가능하지 않은 경우에 특히 유용할 수 있어서, 분리는 원하는 집단 이외의 세포에 의해 발현된 마커에 기초하여 가장 잘 수행된다.

[0609] 분리는 특정 마커를 발현하는 특정 세포 집단 또는 세포의 100% 농축 또는 제거로 귀결될 필요는 없다. 예를 들어, 마커를 발현하는 것과 같은 특정 유형의 세포에 대한 양성 선택 또는 농축은 상기 세포의 수 또는 백분율을 증가시키는 것을 지칭하나, 상기 마커를 발현하지 않는 세포의 완전한 부재로 귀결될 필요는 없다. 마찬가지로, 마커를 발현하는 것과 같은 특정 유형의 세포의 음성 선택, 제거 또는 고갈은 상기 세포의 수 또는 백분율을 감소시키는 것을 지칭하나, 상기 모든 세포의 완전한 제거로 귀결될 필요는 없다.

[0610] 일부 예에서, 다수 라운드의 분리 단계가 수행되고, 여기서 한 단계에서 양성 또는 음성 선택된 분획은 후속 양성 또는 음성 선택과 같은 또 다른 분리 단계를 거친다. 일부 예에서, 단일 분리 단계는 예컨대 각각 음성 선택을 위해 표적화된 마커에 대해 특이적인 다수의 항체 또는 결합 파트너와 세포를 인큐베이션함으로써 동시에 다수의 마커를 발현하는 세포를 고갈시킬 수 있다. 마찬가지로, 다수의 세포 유형이 다양한 세포 유형에서 발현되는 복수의 항체 또는 결합 파트너와 세포를 인큐베이션함으로써 동시에 양성 선택될 수 있다.

[0611] 예를 들어, 일부 관점에서, 예컨대 하나 이상의 표면 마커를 높은 수준으로 발현하거나 양성인 세포와 같은 T 세포, 예를 들어 CD28<sup>+</sup>, CD62L<sup>+</sup>, CCR7<sup>+</sup>, CD27<sup>+</sup>, CD127<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD45RA<sup>+</sup> 및/또는 CD45RO<sup>+</sup> T 세포의 특정 하위 집단은 양성 또는 음성 선택 기술에 의해 단리된다.

[0612] 예를 들어, CD3<sup>+</sup>, CD28<sup>+</sup> T 세포는 항-CD3/항-CD28 집합 자성 비드(예를 들어, DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T Cell Expander)를 사용하여 양성 선택될 수 있다.

[0613] 일부 구현예에서, 단리는 양성 선택에 의한 특정 세포의 집단에 대한 농축 또는 음성 선택에 의한 특정 세포의 집단의 고갈에 의해 수행된다. 일부 구현예에서, 양성 또는 음성 선택은 각각 양성 또는 음성 선택된 세포 상에

서 발현(마커<sup>+</sup>)되거나 상대적으로 보다 높은 수준으로 발현(마커<sup>high</sup>)된 하나 이상의 표면 마커에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 항체 또는 다른 결합제와 세포를 인큐베이션함으로써 달성된다.

- [0614] 특정 구현예에서, 생물학적 샘플, 예를 들어 PBMC 샘플 또는 다른 백혈구 샘플은 음성 및 양성 분획 모두가 유지되는 CD4<sup>+</sup> T 세포의 선택을 거친다. 특정 구현예에서, CD8<sup>+</sup> T 세포가 음성 분획으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 생물학적 샘플은 음성 및 양성 분획 모두가 유지되는 CD8<sup>+</sup> T 세포의 선택을 거친다. 특정 구현예에서, CD4<sup>+</sup> T 세포가 음성 분획으로부터 선택된다.
- [0615] 일부 구현예에서, T 세포는 B 세포, 단핵구 또는 다른 백혈구, 예컨대 CD14와 같은 비-T 세포 상에서 발현되는 마커의 음성 선택에 의해 PBMC 샘플로부터 분리된다. 일부 측면에서, CD4<sup>+</sup> 또는 CD8<sup>+</sup> 선택 단계는 CD4<sup>+</sup> 헬퍼 및 CD8<sup>+</sup> 세포 독성 T 세포를 분리하는 데 사용된다. 상기 CD4<sup>+</sup> 및 CD8<sup>+</sup> 집단은, 하나 이상의 나이브( naive), 기억 및/또는 이펙터( effector) T 세포 하위 집단 상에서 발현되거나 상대적으로 보다 높은 정도로 발현되는 마커에 대한 양성 또는 음성 선택에 의해 하위 집단으로 추가 분류될 수 있다.
- [0616] 일부 구현예에서, CD8<sup>+</sup> 세포는 예컨대 각각의 하위 집단과 관련된 표면 항원에 기초한 양성 또는 음성 선택에 의해 나이브, 중앙 기억, 이펙터 기억 및/또는 중앙 기억 줄기 세포에 대해 추가로 농축되거나 고갈된다. 일부 구현예에서, 중앙 기억 T(T<sub>CM</sub>) 세포의 농축은 효능을 증가시키기 위해, 예컨대 투여 후의 장기간 생존, 증폭 및/또는 생착을 향상하기 위해 수행되며, 이는 일부 측면에서 상기 하위 집단에서 특히 견고하다. 문헌[Terakura et al. (2012) Blood.1:72-82; Wang et al. (2012) J Immunother. 35(9):689-701]을 참조한다. 일부 구현예에서, T<sub>CM</sub>-농축 CD8<sup>+</sup> T 세포 및 CD4<sup>+</sup> T 세포의 병용은 효능을 더욱 향상시킨다.
- [0617] 일부 구현예에서, 기억 T 세포는 CD8<sup>+</sup> 말초 혈액 림프구의 CD62L<sup>+</sup> 및 CD62L<sup>-</sup> 서브세트 모두에 존재한다. PBMCs는 예컨대 항-CD8 및 항-CD62L 항체를 사용하여 CD62L<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup> 및/또는 CD62L<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> 분획에 대해 농축되거나 고갈될 수 있다.
- [0618] 일부 구현예에서, 중앙 기억 T(T<sub>CM</sub>) 세포의 농축은 CD45RO, CD62L, CCR7, CD28, CD3 및/또는 CD127의 양성 또는 고도의 표면 발현에 기초하고; 일부 측면에서, 이는 CD45RA 및/또는 그랜자임 B를 발현하거나 고도로 발현하는 세포에 대한 음성 선택에 기초한다. 일부 측면에서, T<sub>CM</sub> 세포에 대해 농축된 CD8<sup>+</sup> 집단의 단리는 CD4, CD14, CD45RA를 발현하는 세포의 고갈 및 CD62L을 발현하는 세포에 대한 양성 선택 또는 농축에 의해 수행된다. 일 관점에서, 중앙 기억 T(T<sub>CM</sub>) 세포에 대한 농축은 CD4 발현에 기초하여 선택된 세포의 음성 분획으로 시작하여 수행되며, 이는 CD14 및 CD45RA의 발현에 기초한 음성 선택 및 CD62L에 기초한 양성 선택을 거친다. 일부 측면에서, 상기 선택은 동시에 수행되며, 다른 관점에서, 순차적으로, 어떠한 순서로든 수행된다. 일부 측면에서, CD8<sup>+</sup> 세포의 집단 또는 하위 집단을 제조하는 데 사용된 동일한 CD4 발현 기반 선택 단계가 CD4<sup>+</sup> 세포의 집단 또는 하위 집단을 생성하는 데 또한 사용되어, CD4 기반 분리로부터의 양성 및 음성 분획 모두가 유지되고, 선택적으로 하나 이상의 추가적인 양성 또는 음성 선택 단계 후에 본 방법의 후속 단계에서 사용된다.
- [0619] 구체적인 예에서, PBMC 샘플 또는 다른 백혈구 샘플은, 음성 및 양성 분획 모두가 유지되는 CD4<sup>+</sup> 세포의 선택을 거친다. 이어서 음성 분획은 CD14 및 CD45RA 또는 CD19의 발현에 기초한 음성 선택 및 CD62L 또는 CCR7과 같은 중앙 기억 T 세포의 특유한 마커에 기초한 양성 선택을 거치고, 양성 및 음성 선택은 어느 순서로든 수행된다.
- [0620] CD4<sup>+</sup> T 헬퍼 세포는 세포 표면 항원을 갖는 세포 집단을 식별하여 나이브, 중앙 기억 및 이펙터 세포( effector cell)로 분류된다. CD4<sup>+</sup> 림프구는 표준 방법으로 수득될 수 있다. 일부 구현예에서, 나이브 CD4<sup>+</sup> T 림프구는 CD45RO<sup>-</sup>, CD45RA<sup>+</sup>, CD62L<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> T 세포이다. 일부 구현예에서, 중앙 기억 CD4<sup>+</sup> 세포는 CD62L<sup>+</sup> 및 CD45RO<sup>+</sup>이다. 일부 구현예에서, 이펙터 CD4<sup>+</sup> 세포는 CD62L<sup>-</sup> 및 CD45RO<sup>-</sup>이다.
- [0621] 일 예에서, 음성 선택에 의해 CD4<sup>+</sup> 세포를 농축하기 위해, 단클론 항체 콕테일은 통상적으로 CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR 및 CD8에 대한 항체를 포함한다. 일부 구현예에서, 항체 또는 결합 파트너는 양성 및/또는 음성 선택을 위한 세포의 분리가 가능하도록 자성 비드 또는 상자성 비드와 같은 고체 지지체 또는 매트릭스에

결합된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 세포 및 세포의 집단은 면역자성(또는 자성친화도) 분리 기법을 사용하여 분리되거나 단리된다(문헌[Methods in Molecular Medicine, vol. 58: Metastasis Research Protocols, Vol. 2: Cell Behavior In Vitro and In Vivo, p 17-25 Edited by: S. A. Brooks and U. Schumacher © Humana Press Inc., Totowa, NJ]에서 검토됨).

- [0622] 일부 관점에서, 분리될 세포 샘플 또는 세포 조성물은 작고, 자화 가능한 또는 자성 반응성 물질, 예컨대 자성 반응성 입자 또는 미세입자, 예컨대 상자성 비드(예를 들어, Dynalbeads 또는 MACS 비드)와 함께 인큐베이션된다. 자성 반응성 물질(예를 들어, 입자)은 일반적으로 분리가 바람직한, 예를 들어 음성 또는 양성 선택이 바람직한 세포 또는 세포의 집단에 존재하는 분자(예를 들어, 표면 마커)에 특이적으로 결합하는 결합 파트너(예를 들어, 항체)에 직접 또는 간접적으로 부착된다.
- [0623] 일부 구현예에서, 자성 입자 또는 비드는 항체 또는 다른 결합 파트너와 같은 특이적인 결합 부위에 결합되는 자성 반응성 물질을 포함한다. 자성 분리 방법에 사용되는 널리 공지된 많은 자성 반응 물질이 있다. 적합한 자성 입자에는 본 명세서에 참조로 통합된 문헌[Molday, 미국 특허 번호 4,452,773 및 유럽 특허 명세서 EP 452342 B]에 기재된 것이 포함된다. 콜로이드 크기의 입자, 예컨대 문헌[Owen 미국 특허 번호 4,795,698 및 Liberti et al., 미국 특허 번호 5,200,084]에 기재된 것이 다른 예이다.
- [0624] 인큐베이션은 일반적으로 항체 또는 결합 파트너 또는 분자, 예컨대 자성 입자 또는 비드에 부착된 상기 항체 또는 결합 파트너에 특이적으로 결합하는 2차 항체 또는 다른 시약이 샘플 내의 세포 상에 존재하는 경우 세포 표면 분자에 특이적으로 결합하는 조건하에서 수행된다.
- [0625] 일부 측면에서, 샘플은 자기장에 배치되고, 이에 부착된 자성 반응성 또는 자화 가능 입자를 갖는 상기 세포는 자석에 끌려당겨지고 표지되지 않은 세포로부터 분리될 것이다. 양성 선택의 경우, 자석에 끌려당겨진 세포가 유지되고; 음성 선택의 경우, 끌려당겨지지 않은 세포(비표지 세포)가 유지된다. 일부 측면에서, 양성 및 음성 선택의 조합이 동일한 선택 단계 동안 수행되며, 상기 양성 및 음성 분획은 유지되고 추가적으로 가공되거나 추가적인 분리 단계를 거친다.
- [0626] 특정 구현예에서, 자성 반응성 입자는 1차 항체 또는 다른 결합 파트너, 2차 항체, 렉틴, 효소 또는 스트렙타비딘으로 코팅된다. 특정 구현예에서, 자성 입자는 하나 이상의 마커에 특이적인 1차 항체의 코팅을 통해 세포에 부착된다. 특정 구현예에서, 비드보다는 세포가 1차 항체 또는 결합 파트너로 표지되고, 이어서 세포 유형 특이적 2차 항체- 또는 다른 결합 파트너(예를 들어, 스트렙타비딘)-코팅된 자성 입자가 첨가된다. 특정 구현예에서, 스트렙타비딘 코팅된 자성 입자는 비오틴이 부착된 1차 또는 2차 항체와 함께 사용된다.
- [0627] 일부 구현예에서, 자성 반응성 입자는 후속적인 인큐베이션, 배양 및/또는 조작될 세포에 부착되어 남아있고; 일부 측면에서, 상기 입자는 환자에게 투여하기 위한 세포에 부착되어 남아있다. 일부 구현예에서, 자화 가능 또는 자성 반응성 입자는 세포로부터 제거된다. 세포에서 자화 가능 입자를 제거하는 방법은 공지되어 있고, 예를 들어 경쟁 비-표지 항체 및 절단 가능한 링커에 접합된 자화 가능 입자 또는 항체 등의 사용을 포함한다. 일부 구현예에서, 자화 가능 입자는 생분해성이다.
- [0628] 일부 구현예에서, 친화도 기반 선택은 자성 활성화 세포 분류(magnetic-activated cell sorting, MACS)(Miltenyi Biotec, Auburn, CA)를 통한 것이다. 자성 활성화 세포 분류(MACS) 시스템은 자화된 입자가 부착되어 있는 세포를 고순도로 선택할 수 있다. 특정 구현예에서, MACS는 외부 자기장의 적용 후에 비 표적 종 및 표적 종이 순차적으로 용리되는 방식으로 작동한다. 즉, 자화된 입자에 부착된 세포는 제자리에 유지되는 반면 부착되지 않은 종(species)은 용리된다. 이어서, 상기 제1 용리 단계가 완료된 후, 자기장에 포획되고 용리가 방지된 종은 용리 및 회수될 수 있는 상당한 방식으로 해제된다. 특정 구현예에서, 비 표적 세포는 표지되고 이종 세포의 집단으로부터 고갈된다.
- [0629] 특정 구현예에서, 단리 또는 분리는 본 방법의 단리, 세포 조제, 분리, 가공, 인큐베이션, 배양 및/또는 제형화 단계 중 하나 이상을 수행하는 시스템, 디바이스 또는 장치를 사용하여 수행된다. 일부 측면에서, 시스템은 예를 들어 오류, 사용자 취급 및/또는 오염을 최소화하기 위해 폐쇄 또는 멸균 환경에서 상기 단계 각각을 수행하는 데 사용된다. 일 예에서, 시스템은 문헌[국제 특허 출원 공개 번호 WO2009/072003, 또는 US 20110003380 A1]에 기재된 바와 같은 시스템이다.
- [0630] 일부 구현예에서, 시스템 또는 장치는 통합 또는 독립 언어 시스템 및/또는 자동화되거나 프로그램 가능한 방식으로 단리, 가공, 조작 및 제형화 단계 중 하나 이상, 예를 들어 모두를 수행한다. 일부 측면에서, 시스템 또는 장치는 사용자가 가공, 단리, 조작 및 제형화 단계의 결과를 프로그램, 제어, 평가하고/거나 가공, 단리, 조작



및 제형화 단계의 다양한 관점을 조정할 수 있게 하는, 상기 시스템 또는 장치와 통신하는 컴퓨터 및/또는 컴퓨터 프로그램을 포함한다.

- [0631] 일부 측면에서, 분리 및/또는 다른 단계는 예를 들어 폐쇄 및 멸균 시스템에서 임상 규모 수준으로 세포의 자동 분리를 위해 CliniMACS 시스템(Miltenyi Biotec)을 사용하여 수행된다. 구성 요소에는 통합 마이크로 컴퓨터, 자성 분리 유닛, 연동 펌프 및 다양한 핀치 밸브가 포함될 수 있다. 일부 측면에서, 통합 컴퓨터는 기기의 모든 구성 요소를 제어하고 시스템에 표준화된 순서로 반복된 절차를 수행하도록 지시한다. 일부 측면에서, 자성 분리 유닛은 이동 가능한 영구 자석 및 선택 컬럼을 위한 홀더를 포함한다. 연동 펌프는 배관 세트 전체의 유량을 제어하고, 핀치 밸브와 함께 시스템을 통한 완충제의 흐름 제어와 세포의 지속적인 현탁을 보장한다.
- [0632] 일부 측면에서, CliniMACS 시스템은 멸균, 비발열성 용액에 담겨 공급되는 항체 결합 자화 가능 입자를 사용한다. 일부 구현예에서, 자성 입자로 세포를 표지한 후 세포를 세척하여 과량의 입자를 제거한다. 이어서, 세포 조제 백은 배관 세트에 연결되고, 이는 차례로 완충제를 함유한 백 및 세포 수집 백에 연결된다. 배관 세트는 전치 컬럼 및 분리 컬럼을 포함한 사전 조립된 멸균 배관으로 구성되며 일회용이다. 분리 프로그램이 시작된 후, 시스템은 세포 샘플을 분리 컬럼에 자동으로 적용한다. 표지된 세포는 컬럼 내에 유지되는 반면, 표지되지 않은 세포는 일련의 세척 단계에 의해 제거된다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 방법과 함께 사용하기 위한 세포의 집단은 표지되지 않고 컬럼에 유지되지 않는다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 방법과 함께 사용하기 위한 세포의 집단은 표지되고 컬럼에 유지된다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 방법과 함께 사용하기 위한 세포의 집단은 자기장을 제거한 후 컬럼으로부터 용리되고, 세포 수집 백 내에 수집된다.
- [0633] 특정 구현예에서, 분리 및/또는 다른 단계는 CliniMACS Prodigy 시스템(Miltenyi Biotec)을 사용하여 수행된다. 일부 측면에서, CliniMACS Prodigy 시스템에는 원심 분리에 의한 세포의 자동 세척 및 세포의 분획화가 가능한 세포 가공 유닛이 구비되어 있다. CliniMACS Prodigy 시스템에는 공급원 세포 산물의 거시적인 층을 식별하여 최적의 세포 분획화 중점을 결정하는 내장 카메라 및 이미지 인식 소프트웨어도 포함될 수 있다. 예를 들어, 말초 혈액은 적혈구, 백혈구 및 혈장 층으로 자동 분리된다. CliniMACS Prodigy 시스템에는 또한 예를 들어, 세포 분화 및 증폭, 항원 로딩 및 장기 세포 배양과 같은 세포 배양 프로토콜을 달성하는 통합 세포 배양 챔버가 포함될 수 있다. 입력 포트는 배지의 멸균 제거 및 보충을 가능하게 할 수 있고 통합 현미경을 사용하여 세포를 모니터링할 수 있다. 예를 들어, 문헌[Klebanoff et al. (2012) *J Immunother.* 35(9): 651-660, Terakura et al. (2012) *Blood*.1:72-82, 및 Wang et al. (2012) *J Immunother.* 35(9):689-701]을 참조한다.
- [0634] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 세포 집단은 유세포 분석을 통해 수집 및 농축(또는 고갈)되고, 여기서 다수의 세포 표면 마커에 대해 염색된 세포는 유체 스트림으로 운반된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 세포 집단은 제조 규모(FACS) 분류를 통해 수집 및 농축(또는 고갈)된다. 특정 구현예에서, 본원에 기술된 세포 집단은 FACS 기반 검출 시스템과 조합된 미세전자기계 시스템(microelectromechanical system, MEMS) 칩을 사용하여 수집 및 농축(또는 고갈)된다(예를 들어, 문헌[WO 2010/033140, Cho et al. (2010) *Lab Chip* 10, 1567-1573; and Godin et al. (2008) *J Biophoton.* 1(5):355-376] 참조). 두 경우 모두에서, 세포는 다수의 마커로 표지될 수 있으며, 이는 고순도로 명확한 T 세포 서브세트의 단리를 가능하게 한다.
- [0635] 일부 구현예에서, 항체 또는 결합 파트너는 하나 이상의 검출 가능한 마커로 표지되어, 양성 및/또는 음성 선택을 위한 분리를 용이하게 한다. 예를 들어, 분리는 형광 표지 항체에 대한 결합에 기초할 수 있다. 일부 예에서, 하나 이상의 세포 표면 마커에 특이적인 항체 또는 다른 결합 파트너의 결합에 기초한 세포의 분리는 예를 들어 유세포 분석 검출 시스템과 조합하여 예컨대 제조 규모(FACS) 및/또는 미세전자기계 시스템(MEMS) 칩을 포함하는 형광 활성화 세포 분류(fluorescence-activated cell sorting, FACS)에 의해 유체 스트림에서 수행된다. 상기 방법은 다수의 마커에 기초하여 양성 및 음성 선택을 동시에 가능하게 한다.
- [0636] 일부 구현예에서, 제조 방법은 단리, 인큐베이션 및/또는 조작 전이든 후이든 세포를 동결하는 단계, 예를 들어, 냉동 보존하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 동결 및 후속 해동 단계는 세포 집단에서 과립구 및 어느 정도 단핵구를 제거한다. 일부 구현예에서, 세포는 예를 들어, 혈장 및 혈소판을 제거하기 위한 세척 단계 이후에 동결 용액에서 현탁된다. 일부 측면에서, 공지된 임의의 다양한 동결 용액 및 파라미터가 사용될 수 있다. 일 예는 20% DMSO 및 8% 인간 혈청 알부민(HSA)을 함유하는 PBS, 또는 다른 적합한 세포 동결 배지를 사용하는 것을 포함한다. 이어서, 상기를 DMSO 및 HSA의 최종 농도가 각각 10% 및 4%가 되도록 배지로 1:1로 희석시킨다. 이어서 세포를 일반적으로 분당 1°의 속도로 -80°C까지 동결시키고 액체 질소 저장 탱크에 기체상(vapor phase)으로 저장한다.
- [0637] 일부 구현예에서, 단리 및/또는 선택은 농축된 T 세포, 예를 들어, CD3+ T 세포, CD4+ T 세포, 및/또는 CD8+ T

세포의 하나 이상의 입력 조성을 생성한다. 일부 구현예에서, 둘 이상의 개별 입력 조성이 단일 생물학적 샘플로부터 단리, 선택, 농축, 또는 수득된다. 일부 구현예에서, 개별 입력 조성이 동일한 대상체로부터 수집, 채취, 및/또는 수득된 개별 생물학적 샘플로부터 단리, 선택, 농축, 및/또는 수득된다.

[0638] 특정 구현예에서, 하나 이상의 입력 조성물은 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5%, 적어도 99.9%, 또는 (약) 100%의 CD3+ T 세포를 포함하는 농축된 T 세포의 조성물이거나 이를 포함한다. 특정 구현예에서, 농축된 T 세포의 입력 조성물은 CD3+ T 세포를 필수적으로 포함하여 구성된다.

[0639] 특정 구현예에서, 하나 이상의 입력 조성물은 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5%, 적어도 99.9%, 또는 (약) 100%의 CD4+ T 세포를 포함하는 농축된 CD4+ T 세포의 조성물이거나 이를 포함한다. 특정 구현예에서, CD4+ T 세포의 입력 조성물은 40% 미만, 35% 미만, 30% 미만, 25% 미만, 20% 미만, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 1% 미만, 0.1% 미만, 또는 0.01% 미만의 CD8+ T 세포를 포함하고/거나, CD8+ T 세포를 함유하지 않고/거나, CD8+ T 세포가 없거나 실질적으로 없다. 일부 구현예에서, 농축된 T 세포의 조성물은 CD4+ T 세포를 필수적으로 포함하여 구성된다.

[0640] 특정 구현예에서, 하나 이상의 조성물은 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5%, 적어도 99.9%, 또는 (약) 100%의 CD8+ T 세포이거나 이를 포함하는 CD8+ T 세포의 조성물이거나 이를 포함한다. 특정 구현예에서, CD8+ T 세포의 조성물은 40% 미만, 35% 미만, 30% 미만, 25% 미만, 20% 미만, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 1% 미만, 0.1% 미만, 또는 0.01% 미만의 CD4+ T 세포를 함유하고/거나, CD4+ T 세포를 함유하지 않고/거나, CD4+ T 세포가 없거나 실질적으로 없다. 일부 구현예에서, 농축된 T 세포의 조성물은 CD8+ T 세포를 필수적으로 포함하여 구성된다.

[0641] **B. 활성화 및 자극**

[0642] 일부 구현예에서, 세포는 유전자 조작과 연결하여 또는 그 전에 인큐베이션 및/또는 배양된다. 인큐베이션 단계는 배양, 양성, 자극, 활성화 및/또는 번식(propagation)을 포함할 수 있다. 인큐베이션 및/또는 조작은 배양 용기, 예컨대 유닛, 챔버, 웰(well), 컬럼, 관, 배관 세트, 밸브, 바이알(vial), 배양 접시, 백(bag) 또는 세포 배양 또는 양성을 위한 다른 용기에서 수행될 수 있다. 일부 구현예에서, 조성물 또는 세포는 자극 조건 또는 자극제의 존재 하에 인큐베이션된다. 상기 조건은 집단에서 세포의 증식, 증폭, 활성화 및/또는 생존을 유도하고, 항원 노출을 모방하고, 및/또는 재조합 항원 수용체의 도입과 같은 유전자 조작을 위해 세포를 프라이밍하도록 설계된 것을 포함한다.

[0643] 상기 조건은 특정 배지, 온도, 산소 함량, 이산화탄소 함량, 시간, 제제(agents), 예를 들어 영양소, 아미노산, 항생제, 이온 및/또는 자극 인자, 예컨대 사이토카인, 케모카인(chemokines), 항원, 결합 파트너, 융합 단백질, 재조합 가용성 수용체 및 세포를 활성화시키기 위해 설계된 임의의 기타 제제 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0644] 일부 구현예에서, 자극 조건 또는 제제는 TCR 복합체의 세포내 신호 전달 도메인을 자극 또는 활성화시킬 수 있는 하나 이상의 제제(예를 들어, 리간드)를 포함한다. 일부 측면에서, 상기 제제는 T 세포에서 TCR/CD3 세포내 신호 전달 계단식 다단계 반응을 켜거나 개시한다. 상기 제제는 항체, 예컨대 TCR에 특이적인 것, 예를 들어 항-CD3을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 자극 조건은 공자극 수용체, 예를 들어 항-CD28을 자극할 수 있는 하나 이상의 제제(예를 들어, 리간드)를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 제제 및/또는 리간드는 비드와 같은 고체 지지체 및/또는 하나 이상의 사이토카인에 결합될 수 있다. 선택적으로, 증폭 방법은 (예를 들어, 적어도 약 0.5ng/mL 이상의 농도에서) 배양 배지에 항-CD3 및/또는 항-CD28 항체를 첨가하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 자극제는 IL-2, IL-15 및/또는 IL-7을 포함한다. 일부 측면에서, IL-2 농도는 적어도 약 10단위/mL이다.

[0645] 일부 측면에서, 인큐베이션은 예컨대 문헌[미국 특허 번호 6,040,177 Riddell et al., Klebanoff et al. (2012) J Immunother. 35(9): 651-660, Terakura et al. (2012) Blood.1:72-82 및/또는 Wang et al. (2012) J Immunother. 35(9):689-701]에 기재된 기술에 따라 수행된다.

[0646] 일부 구현예에서, T 세포는 배양-개시 조성물 배양보조 세포, 예컨대 비분할 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)에 첨가하고(예를 들어, 생성된 세포의 집단은 증폭될 초기 집단 중 각각의 T 림프구에 대해 적어도 약 5, 10, 20 또는 40 이상의 PBMC 배양보조 세포를 함유하도록); 상기 배양물을 (예를 들어, T 세포 수를 증폭시키기에 충분한 시간 동안) 인큐베이션하여, 증폭된다. 일부 측면에서, 비분할 배양보조 세포는 감마-조사된(gamma-irradiated)

PBMC 배양보조 세포를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, PBMC에 약 3000 내지 3600 라드(rad) 범위의 감마선을 조사하여 세포 분열을 방지한다. 일부 측면에서, 배양보조 세포는 T 세포의 집단의 첨가 전에 배양 배지에 첨가된다.

[0647] 일부 구현예에서, 자극 조건은 인간 T 림프구의 성장에 적합한 온도, 예를 들어, 적어도 약 25°C 이상, 일반적으로 적어도 약 30°C 이상 및 일반적으로 (약) 37°C를 포함한다. 선택적으로, 인큐베이션은 배양보조 세포로서 비분할 EBV 형질전환 림프아구 세포(LCL)를 첨가하는 것을 더 포함할 수 있다. LCL은 약 6000 내지 10,000 라드 범위의 감마선으로 조사될 수 있다. 일부 측면에서, LCL 배양보조 세포는 임의의 적합한 양으로 제공되며, 예컨대 LCL 배양보조 세포 대 초기 T 림프구의 비율이 적어도 약 10:1 이상으로 제공된다.

[0648] 구현예에서, 항원 특이적 CD4<sup>+</sup> 및/또는 CD8<sup>+</sup> T 세포와 같은 항원 특이적 T 세포는 항원으로 나이트 또는 항원 특이적 T 림프구를 자극하여 수득된다. 예를 들어, 항원 특이적 T 세포주 또는 클론은 감염된 대상체로부터 T 세포를 단리하고 시토크롬 바이러스 항원으로 시험관 내에서 세포를 자극함으로써 같은 항원에 대해 생성될 수 있다.

[0649] 일부 구현예에서, 하나 이상의 자극 조건 또는 자극제의 존재 하에서 인큐베이션의 적어도 일부는 예를 들어 문헌[국제 공개 번호 W02016/073602]에 기술된 바와 같은 원심분리 회전 하에서, 원심분리 챔버의 내부 공동에서 수행된다. 일부 구현예에서, 원심분리 챔버에서 수행되는 인큐베이션의 적어도 일부는 자극 및/또는 활성화를 유도하기 위한 시약 또는 시약들과 혼합하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 선택된 세포와 같은 세포는 원심분리 챔버에서 자극 조건 또는 자극제와 혼합된다. 상기 과정의 일부 관점에서, 일정 부피의 세포를 세포 배양 플레이트 또는 다른 시스템에서 유사한 자극을 수행할 때 일반적으로 사용되는 것보다 훨씬 적은 하나 이상의 자극 조건 또는 제제의 양과 혼합한다.

[0650] 일부 구현예에서, 자극제는, 선택이 원심분리 챔버에서, 예를 들어 주기적으로 흔들거나 회전하는 튜브나 백에서 혼합되지 않고 수행될 경우 같은 수의 세포 또는 같은 부피의 세포와 대략 동일하거나 유사한 선택 효율을 달성하기 위해 전형적으로 사용되거나 필요한 자극제의 양과 비교하여 실질적으로 보다 적은 양(예를 들어, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% 또는 80% 이내의 양)으로 챔버의 공동에 있는 세포에 첨가된다. 일부 구현예에서, 인큐베이션은 예를 들어 10mL 내지 200mL, 예컨대 10mL, 20mL, 30mL, 40mL, 50mL, 60mL, 70mL, 80mL, 90mL, 100mL, 150mL 또는 200mL 이상 또는 약 10mL, 20mL, 30mL, 40mL, 50mL, 60mL, 70mL, 80mL, 90mL, 100mL, 150mL 또는 200mL 또는 10mL, 20mL, 30mL, 40mL, 50mL, 60mL, 70mL, 80mL, 90mL, 100mL, 150mL 또는 200mL의 시약의 인큐베이션을 갖는 표적 부피를 달성하기 위해 세포 및 자극제에 인큐베이션 완충제 첨가로 수행된다. 일부 구현예에서, 인큐베이션 완충제 및 자극제는 세포에 첨가하기 전에 미리 혼합된다. 일부 구현예에서, 인큐베이션 완충제 및 자극제는 세포에 별도로 첨가된다. 일부 구현예에서, 자극 인큐베이션은 주기적으로 부드럽게 혼합하는 조건으로 수행되며, 이는 양호한 상호작용을 활발하게 촉진하는데 도움이 될 수 있으며, 이로써 세포의 자극 및 활성화를 달성하면서 전반적으로 자극제의 보다 적은 사용이 가능할 수 있다.

[0651] 일부 구현예에서, 인큐베이션은 일반적으로 스피닝(spinning)이 존재하는 것과 같은 혼합 조건 하에서 수행되며, 일반적으로 이는 상대적으로 낮은 힘 또는 속도, 예컨대 세포를 펠릿화하기 위해 사용되는 것보다 더 낮은 속도, 예컨대 (약) 600rpm 내지 (약) 1700rpm(예를 들어, (약) 600rpm, 1000rpm 또는 1500rpm 또는 1700rpm 또는 600rpm, 1000rpm 또는 1500rpm 또는 1700rpm 이상)에서, 예컨대 (약) 80g 내지 100g(예를 들어, (약) 80g, 85g, 90g, 95g 또는 100g 또는 80g, 85g, 90g, 95g 또는 100g 이상)의 챔버 또는 다른 용기의 벽 또는 샘플에서 RCF로 수행된다. 일부 구현예에서, 스피닝은 상기와 같은 낮은 속도의 스피닝과 이어지는 휴지 기간(rest period), 예컨대 스피닝 및/또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10초 동안의 휴지, 예컨대, 대략 1 또는 2초의 스피닝과 이어지는 대략 5, 6, 7 또는 8초 동안의 휴지의 구간을 반복하여 수행된다.

[0652] 일부 구현예에서, 예를 들어 자극제와 인큐베이션의 총 지속 시간은 (약) 1시간 내지 96시간, 1시간 내지 72시간, 1시간 내지 48시간, 4시간 내지 36시간, 8시간 내지 30시간 또는 12시간 내지 24시간, 예컨대 (약) 6시간, 12시간, 18시간, 24시간, 36시간 또는 72시간 이상이다. 일부 구현예에서, 추가 인큐베이션은 (약) 1시간 내지 48시간, 4시간 내지 36시간, 8시간 내지 30시간 또는 12시간 내지 24시간(수치 포함) 동안이다.

[0653] 특정 구현예에서, 자극 조건은 하나 이상의 사이토카인과 함께 및/또는 이의 존재 하에서 농축된 T 세포의 조성물을 인큐베이션, 배양 및/또는 육성하는 것을 포함한다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 재조합 사이토카인이다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 인간 재조합 사이토카인이다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 T 세포에 대해 내인성이고/거나 T 세포에 의해 발현되는 수용체에 결합하고/거나 결

합할 수 있다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 사이토카인의 4-알파-나선 번들 패밀리의 멤버이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 사이토카인의 4-알파-나선 번들 패밀리의 멤버는 인터루킨-2(IL-2), 인터루킨-4(IL-4), 인터루킨-7(IL-7), 인터루킨-9(IL-9), 인터루킨 12(IL-12), 인터루킨15(IL-15), 과립구 집락 자극 인자(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF), 및 과립구-대식 세포 집락 자극 인자(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)를 포함하되 이에 한정되지 않는다.

[0654] 일부 구현예에서, 예를 들어 형질도입 전에 자극은 세포의 활성화 및/또는 증식을 초래한다.

[0655] **C. 유전자 조작을 위한 벡터 및 방법**

[0656] 일부 구현예에서, 제공된 방법, 용도, 제조품 또는 조성물과 관련하여 사용되는 T 세포와 같은 조작된 세포는 본원에 기술된 재조합 수용체, 예를 들어, CAR 또는 TCR을 발현하도록 유전자 조작된 세포이다. 일부 구현예에서, 세포는 재조합 수용체 및/또는 다른 분자를 암호화하는 핵산 서열의 도입, 전달 또는 전이에 의해 조작된다.

[0657] 일부 구현예에서, 조작된 세포를 생산하는 방법은 재조합 수용체(예를 들어, 항-CD19 CAR)를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 세포(예를 들어, 예컨대 자극된 또는 활성화된 세포)에 도입하는 것을 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 단백질은 기술된 임의의 것과 같은 재조합 수용체이다. 세포에 재조합 수용체와 같은 재조합 단백질을 암호화하는 핵산 분자의 도입은 공지된 다수의 임의의 벡터를 사용하여 수행될 수 있다. 상기 벡터에는 렌티바이러스 및 감마레트로바이러스 시스템을 포함한 바이러스 및 비-바이러스 시스템뿐만 아니라 PiggyBac 또는 Sleeping Beauty 기반 유전자 전달 시스템과 같은 트랜스포손 기반 시스템이 포함된다. 예시적인 방법은 바이러스, 예를 들어 레트로바이러스 또는 렌티바이러스, 형질도입, 트랜스포손 및 전기 천공법을 통한 것을 포함하여 수용체를 암호화하는 핵산의 전달을 위한 방법을 포함한다. 일부 구현예에서, 조작은 하나 이상의 조작된 농축된 T 세포의 조성물을 생성한다.

[0658] 특정 구현예에서, 자극된 T 세포의 하나 이상의 조성물은 두 개의 별도 자극된 농축된 T 세포의 조성물이거나 이를 포함한다. 특정 구현예에서, 두 개의 별도 농축된 T 세포의 조성물, 예를 들어 동일한 생물학적 샘플로부터 선택, 단리, 및/또는 농축된 두 개의 별도 농축된 T 세포는 별도로 조작된다. 특정 구현예에서, 두 개의 별도 조성물은 농축된 CD4+ T 세포의 조성물을 포함한다. 특정 구현예에서, 두 개의 별도 조성물은 농축된 CD8+ T 세포의 조성물을 포함한다. 일부 구현예에서, 두 개의 별도 농축된 CD4+ T 세포 및 농축된 CD8+ T 세포의 조성물은 별도로 유전자 조작된다.

[0659] 일부 구현예에서, 유전자 전달은 먼저 세포를 자극하고, 예컨대 세포를 증식, 생존 및/또는 활성화와 같은 반응을 유도하는 자극과 조합하고, 예를 들어 사이토카인 또는 활성화 마커의 발현에 의해 측정된 바와 같이, 뒤이어 활성화된 세포의 형질도입 및 임상 적용에 충분한 수로 배양에서 증폭시켜 달성된다. 특정 구현예에서, 유전자 전달은 우선 자극 조건에서 예컨대 기술된 임의의 방법에 의해 인큐베이션되어 달성된다.

[0660] 일부 구현예에서, 유전자 조작 방법은 재조합 단백질, 예를 들어 재조합 수용체를 암호화하는 핵산 분자와 조성물의 하나 이상의 세포를 접촉시킴으로써 수행된다. 일부 구현예에서, 접촉은 회전 접촉(예를 들어, 원심분리 접촉)과 같은 원심분리로 달성될 수 있다. 상기 방법은 문헌[국제 공개 번호 WO2016/073602]에 기재된 바와 같은 임의의 것을 포함한다. 예시적인 원심분리 챔버는 Biosafe SA에 의해 생산 및 판매되는 챔버를 포함하며, Sepax® 및 Sepax® 2 시스템과 함께 사용하기 위한 챔버를 포함하고, A-200/F 및 A-200 원심분리 챔버 및 상기 시스템과 함께 사용하기 위한 다양한 키트를 포함한다. 예시적인 챔버, 시스템 및 공정 기기 및 캐비닛은 예를 들어 문헌[미국 특허 번호 6,123,655, 미국 특허 번호 6,733,433 및 미국 특허 출원 공개 번호 US2008/0171951, 및 국제 특허 출원 공개 번호 WO 00/38762]에 기재되어 있고, 각각의 내용은 본 명세서에 그 전체가 참조로 포함된다. 상기 시스템과 함께 사용하기 위한 예시적인 키트는 제품 이름 CS-430.1, CS-490.1, CS-600.1 또는 CS-900.2로 BioSafe SA에서 판매되는 일회용 키트를 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0661] 일부 구현예에서, 접촉은 회전 접촉(예를 들어, 원심분리 접촉)과 같은 원심분리로 달성될 수 있다. 일부 구현예에서, 세포를 함유하는 조성물, 바이러스 입자 및 시약을 일반적으로 상대적으로 작은 힘 또는 저속으로, 예컨대 세포를 펠팅화하기 위해 사용되는 것보다 더 낮은 속도, 예컨대 (약) 600rpm 내지 1700rpm(예를 들어 (약) 600rpm, 1000rpm 또는 1500rpm 또는 1700rpm 또는 600rpm, 1000rpm 또는 1500rpm 또는 1700rpm 이상)으로 회전시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 회전은 예를 들어 챔버 또는 공동의 내벽 또는 외벽에서 측정된 바와 같이, (약) 100g 내지 3200g의 힘(예를 들어 (약) 100g, 200g, 300g, 400g, 500g, 1000g, 1500g, 2000g, 2500g, 3000g 또는 3200g 또는 (약)100g, 200 g, 300g, 400g, 500g, 1000g, 1500g, 2000g, 2500g, 3000g 또는 3200g

이상)으로, 예를 들어, 상대 원심력으로 수행된다. 용어 “상대 원심력” 또는 RCF는 일반적으로 회전축과 비교하여 공간의 특정 지점에서 지구의 중력에 대해 상대적인 물체 또는 물질(예컨대 세포, 샘플 또는 펠릿 및/또는 회전되는 챔버 또는 다른 용기의 지점)에 부여된 유효힘(effective force)으로 이해된다. 상기 값은 중력, 회전 속도 및 회전 반경(회전 축과 RCF를 측정하는 물체, 물질 또는 입자로부터의 거리)을 고려하여 잘 알려진 공식을 사용하여 결정될 수 있다.

[0662] 일부 구현예에서, 도입은 재조합 단백질, 예를 들어 재조합 수용체를 암호화하는 핵산 분자와 조성물의 하나 이상의 세포를 접촉시킴으로써 수행된다. 일부 구현예에서, 접촉은 회전 접촉(예를 들어, 원심분리 접촉)과 같은 원심분리로 달성될 수 있다. 상기 방법은 문헌[국제 공개 번호 W02016/073602]에 기재된 바와 같은 임의의 것을 포함한다. 예시적인 원심분리 챔버는 Biosafe SA에 의해 생산 및 판매되는 챔버를 포함하며, Sepax® 및 Sepax® 2 시스템과 함께 사용하기 위한 챔버를 포함하고, A-200/F 및 A-200 원심분리 챔버 및 상기 시스템과 함께 사용하기 위한 다양한 키트를 포함한다. 예시적인 챔버, 시스템 및 공정 기기 및 캐비닛은 예를 들어 문헌[미국 특허 번호 6,123,655, 미국 특허 번호 6,733,433 및 미국 특허 출원 공개 번호 US2008/0171951, 및 국제 특허 출원 공개 번호 WO 00/38762]에 기재되어 있고, 각각의 내용은 본 명세서에 그 전체가 참조로 포함된다. 상기 시스템과 함께 사용하기 위한 예시적인 키트는 제품 이름 CS-430.1, CS-490.1, CS-600.1 또는 CS-900.2로 BioSafe SA에서 판매되는 일회용 키트를 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0663] 일부 구현예에서, 시스템은 시스템에서 수행되는 형질도입 단계 및 하나 이상의 다양한 다른 처리 단계, 예를 들어 본 명세서 또는 문헌[국제 공개 번호 W02016/073602]에 기재된 바와 같은 원심분리 챔버 시스템으로 수행되거나 이와 관련하여 수행될 수 있는 하나 이상의 처리 단계의 관점을 작동, 자동화, 제어 및/또는 모니터링하기 위한 기기를 포함하여 다른 기기와 공동으로 포함되고/거나 이와 공동으로 배치된다. 일부 구현예에서 상기 기기는 캐비닛 내에 포함되어 있다. 일부 구현예에서, 기기에는 제어 회로, 원심분리기, 커버, 모터, 펌프, 센서, 디스플레이 및 사용자 인터페이스를 수용한 하우징을 포함한 캐비닛이 포함된다. 예시적인 디바이스가 문헌 [미국 특허 번호 6,123,655, 미국 특허 번호 6,733,433 및 US 2008/0171951]에 기재되어 있다.

[0664] 일부 구현예에서, 시스템은 일련의 용기, 예를 들어 백, 튜브, 스톱콕, 클램프, 커넥터 및 원심분리 챔버를 포함한다. 일부 구현예에서, 백과 같은 용기는 동일한 백 또는 별도의 백과 같은 동일한 용기 또는 별도의 용기에 형질도입될 세포 및 바이러스 벡터 입자를 함유하는 백과 같은 하나 이상의 용기를 포함한다. 일부 구현예에서, 시스템은 챔버 내로 들어오는 희석제 및/또는 세척 용액 및/또는 방법 중에 성분 및/또는 조성물을 희석, 재현탁 및/또는 세척하기 위한 기타 성분 같은 배지를 함유하는, 백 같은 하나 이상의 용기를 추가로 포함한다. 용기는 시스템의 하나 이상의 위치에, 예컨대 입력 라인, 희석 라인, 세척 라인, 폐기물 라인 및/또는 출력 라인에 대응하는 위치에 연결될 수 있다.

[0665] 일부 구현예에서, 챔버는 예컨대 회전축 주위로 챔버를 회전시킬 수 있는 원심분리기와 결합되어 있다. 회전은 세포의 형질도입과 관련하여 및/또는 다른 처리 단계 중 하나 이상에서 인큐베이션 이전, 도중 및/또는 이후에 발생할 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 하나 이상의 다양한 처리 단계는 예를 들어, 특정 힘으로 회전되면서 수행된다. 챔버는 챔버가 원심분리 중에 수직으로 위치하고 관점 벽과 축은 수직 또는 일반적으로 수직이며, 말단 벽은 수평 또는 일반적으로 수평이 되도록, 챔버는 전형적으로 수직 또는 일반적으로 수직 회전할 수 있다.

[0666] 일부 구현예에서, 세포를 함유하는 조성물, 벡터(예를 들어, 바이러스 입자) 및 시약을 일반적으로 상대적으로 작은 힘 또는 저속으로, 예컨대 세포를 펠릿화하기 위해 사용되는 것보다 더 낮은 속도, 예컨대 (약) 600rpm 내지 1700rpm(예를 들어 (약) 600rpm, 1000rpm 또는 1500rpm 또는 1700rpm 또는 600rpm, 1000rpm 또는 1500rpm 또는 1700rpm 이상)으로 회전시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 회전은 예를 들어 챔버 또는 공동의 내벽 또는 외벽에서 측정된 바와 같은, (약) 100g 내지 3200g의 힘(예를 들어 (약) 100g, 200g, 300g, 400g, 500g, 1000g, 1500g, 2000g, 2500g, 3000g 또는 3200g 또는 (약)100g, 200 g, 300g, 400g, 500g, 1000g, 1500g, 2000g, 2500g, 3000g 또는 3200g 이상)으로, 예를 들어, 상대 원심력으로 수행된다. 용어 “상대 원심력” 또는 RCF는 일반적으로 회전축과 비교하여 공간의 특정 지점에서 지구의 중력에 대해 상대적인 물체 또는 물질(예컨대 세포, 샘플 또는 펠릿 및/또는 회전되는 챔버 또는 다른 용기의 지점)에 부여된 유효힘(effective force)으로 이해된다. 상기 값은 중력, 회전 속도 및 회전 반경(회전 축과 RCF를 측정하는 물체, 물질 또는 입자로부터의 거리)을 고려하여 잘 알려진 공식을 사용하여 결정될 수 있다.

[0667] 일부 구현예에서, 유전자 조작의 적어도 일부, 예를 들어 형질도입 중에 및/또는 유전자 조작 이후에, 세포는 세포의 배양 또는 증폭과 같은 유전자 조작된 세포의 배양을 위해 생물 반응기 백 어셈블리로 전달된다.

- [0668] 일부 구현예에서, 재조합 핵산은 예를 들어, 시미안 바이러스 40(SV40), 아데노바이러스, 아데노 연관 바이러스 (adeno-associated virus, AAV)로부터 유래된 벡터와 같은 재조합 감염성 바이러스 입자를 사용하여 세포내로 전달된다. 일부 구현예에서, 재조합 핵산은 재조합 렌티바이러스 벡터 또는 레트로바이러스 벡터, 예컨대 감마-레트로바이러스 벡터를 사용하여 T 세포 내로 전달된다(예를 들어 문헌[Koste et al. (2014) Gene Therapy 2014 Apr 3. doi: 10.1038/gt.2014.25; Carlens et al. (2000) Exp Hematol 28(10): 1137-46; Alonso-Camino et al. (2013) Mol Ther Nucl Acids 2, e93; Park et al., Trends Biotechnol. 2011 November 29(11): 550-557] 참조).
- [0669] 일부 구현예에서, 레트로바이러스 벡터는 긴 말단 반복 서열(long terminal repeat sequence, LTR), 예를 들어 몰로니 뮤린 백혈병 바이러스(MoMLV), 골수 증식육종 바이러스(myeloproliferative sarcoma virus, MPSV), 뮤린 배아 줄기세포 바이러스(murine embryonic stem cell virus, MESV), 뮤린 줄기세포 바이러스(murine stem cell virus, MSCV) 또는 비장 병소 형성 바이러스(spleen focus forming virus, SFFV)로부터 유래된 레트로바이러스 벡터를 갖는다. 대부분의 레트로바이러스 벡터는 뮤린 레트로바이러스로부터 유래된다. 일부 구현예에서, 레트로바이러스는 임의의 조류 또는 포유류 세포 공급원으로부터 유래된 것을 포함한다. 레트로바이러스는 통상적으로 인간을 포함하여 몇몇 종의 숙주 세포를 감염시킬 수 있음을 의미하는, 암포트로픽(amphotropic)이다. 일 구현예에서, 발현될 유전자는 레트로바이러스의 gag(꺾), pol(폴) 및/또는 env(엔브) 서열을 대체한다. 다수의 예시적인 레트로바이러스 시스템이 문헌[예를 들어, 미국 특허 번호 5,219,740; 6,207,453; 5,219,740; Miller and Rosman (1989) BioTechniques 7:980-990; Miller, A. D. (1990) Human Gene Therapy 1:5-14; Scarpa et al. (1991) Virology 180:849-852; Burns et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:8033-8037; 및 Boris-Lawrie and Temin (1993) Cur. Opin. Genet. Develop. 3:102-109]에 기술되어 있다.
- [0670] 렌티바이러스 형질도입 방법은 공지되어 있다. 예시적인 방법이 예를 들어, 문헌[Wang et al. (2012) J. Immunother. 35(9): 689-701; Cooper et al. (2003) Blood. 101:1637-1644; Verhoeven et al. (2009) Methods Mol Biol. 506: 97-114; 및 Cavalieri et al. (2003) Blood. 102(2): 497-505]에 기술되어 있다.
- [0671] 일부 구현예에서, 바이러스 벡터 입자는 렌티바이러스 유전체 기반 벡터로부터 유래된 것과 같은 레트로바이러스 유전체 기반 벡터로부터 유래된 유전체를 함유한다. 제공된 바이러스 벡터의 일부 관점에서, CAR과 같은 항원 수용체와 같은 재조합 수용체를 암호화하는 이중 핵산은 벡터 유전체의 5' LTR 및 3' LTR 서열 사이에 함유되고/거나 위치한다.
- [0672] 일부 구현예에서, 바이러스 벡터 유전체는 HIV-1 유전체 또는 SIV 유전체와 같은 렌티바이러스 유전체이다. 예를 들어, 렌티바이러스 벡터는 독성 유전자를 약화시켜 배가시킴으로써 생성되었으며, 예를 들어, 유전자 env, vif, vpr 및 nef가 결실되어 치료 목적으로 벡터를 더 안전하게 만들 수 있다. 렌티바이러스 벡터는 공지되어 있다. 문헌[Naldini et al., (1996 및 1998); Zufferey et al., (1997); Dull et al., 1998, 미국 특허 번호 6,013,516; 및 5,994,136]을 참조한다. 일부 구현예에서, 상기 바이러스 벡터는 플라스미드 기반 또는 바이러스 기반이며, 숙주 세포로 핵산을 전달하기 위한, 선택을 위한 및 외부 핵산을 통합하기 위한 필수 서열을 운반하도록 구성된다. 공지된 렌티바이러스는 미국형 배양 컬렉션("ATCC"; 10801 University Blvd., Manassas, Va. 20110-2209)과 같은 기탁 기관 또는 컬렉션으로부터 용이하게 취득될 수 있거나 일반적으로 이용 가능한 기술을 사용하여 공지된 공급원으로부터 단리될 수 있다.
- [0673] 렌티바이러스 벡터의 비제한적인 예로는 인간 면역결핍 바이러스 1(Human Immunodeficiency Virus 1, HIV-1), HIV-2, 시미안 면역결핍 바이러스(Simian Immunodeficiency Virus, SIV), 인간 T 림프성 바이러스 1(Human T-lymphotropic virus 1, HTLV-1), HTLV-2 또는 말 감염 빈혈 바이러스(equine infection anemia virus, EIAV)와 같은 렌티바이러스 유래 벡터가 포함된다. 예를 들어, 렌티바이러스 벡터는 HIV 독성 유전자를 약화시켜 배가시킴으로써 생성되었으며, 예를 들어, 유전자 env, vif, vpr, vpu 및 nef가 결실되어 치료 목적으로 벡터를 더 안전하게 만든다. 렌티바이러스 벡터는 당업계에 공지되어 있으며, 문헌[Naldini et al., (1996 및 1998); Zufferey et al., (1997); Dull et al., 1998, 미국 특허 번호 6,013,516; 및 5,994,136]을 참조한다. 일부 구현예에서, 상기 바이러스 벡터는 플라스미드 기반 또는 바이러스 기반이며, 숙주 세포로 핵산을 전달하기 위한, 선택을 위한 및 외부 핵산을 통합하기 위한 필수 서열을 운반하도록 구성된다. 공지된 렌티바이러스는 미국형 배양 컬렉션("ATCC"; 10801 University Blvd., Manassas, Va. 20110-2209)과 같은 기탁 기관 또는 컬렉션으로부터 용이하게 취득될 수 있거나 일반적으로 이용 가능한 기술을 사용하여 공지된 공급원으로부터 단리될 수 있다.

- [0674] 일부 구현예에서, 바이러스 유전체 벡터는 렌티바이러스와 같은 레트로바이러스의 5' 및 3' LTR 서열을 함유할 수 있다. 일부 관점에서, 바이러스 유전체 작제물은 렌티바이러스의 5' 및 3' LTR로부터의 서열을 함유할 수 있고, 특히 렌티바이러스의 5' LTR에서 R 및 U5 서열 및 렌티바이러스에서 비활성화된 또는 자가 비활성화 3' LTR을 함유할 수 있다. LTR 서열은 임의의 종으로부터 임의의 렌티바이러스로부터의 LTR 서열일 수 있다. 예를 들어, 이는 HIV, SIV, FIV 또는 BIV로부터의 LTR 서열일 수 있다. 전형적으로 LTR 서열은 HIV LTR 서열이다.
- [0675] 일부 구현예에서, HIV 바이러스 벡터와 같은 바이러스 벡터의 핵산은 추가 전사 단위가 결여된다. 벡터 유전체는 비활성화된 또는 자가 비활성화 3' LTR을 함유할 수 있다(Zufferey et al. *J Virol* 72: 9873, 1998; Miyoshi et al., *J Virol* 72:8150, 1998). 예를 들어, 바이러스 벡터 RNA를 생성하는 데 사용되는 핵산의 3' LTR의 U3 영역에서의 결실은 자가 비활성화(self-inactivating, SIN) 벡터를 생성하는데 사용될 수 있다. 이어서 상기 결실은 역전사 동안 프로바이러스(proviral) DNA의 5' LTR로 전달될 수 있다. 자가 비활성화 벡터는 일반적으로 벡터 통합 중에 5' LTR로 복사되는 3' 긴 말단 반복(long terminal repeat, LTR)으로부터의 인헨서 및 프로모터 서열의 결실을 갖는다. 일부 구현예에서, LTR의 전사 활성을 폐기하기 위해 TATA 박스의 제거를 포함하여 충분한 서열이 제거될 수 있다. 이는 형질도입된 세포에서 전장 벡터 RNA의 생산을 방지할 수 있다. 일부 관점에서, 3' LTR의 U3 요소는 인헨서 서열, TATA 박스, Sp1 및 NF-κB 부위의 결실을 함유한다. 자가 비활성화 3' LTR의 결과로, 도입 및 역전사 후에 생성되는 프로바이러스(provirus)는 불활성화된 5' LTR을 함유한다. 이는 벡터 유전체의 이동 위험 및 근처 세포 프로모터에 대한 LTR의 영향을 감소시킴으로써 안전성을 개선할 수 있다. 자가 비활성화 3' LTR은 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해 작제될 수 있다. 일부 구현예에서, 이는 벡터 역가 또는 벡터의 시험관 내 또는 생체 내 특성에 영향을 미치지 않는다.
- [0676] 선택적으로, 렌티바이러스 5' LTR로부터의 U3 서열은 바이러스 작제물에서 이중 프로모터 서열과 같은 프로모터 서열로 대체될 수 있다. 이는 패키징 세포주에서 회수되는 바이러스 역가를 증가시킬 수 있다. 인헨서 서열도 포함될 수 있다. 패키징 세포주에서 바이러스 RNA 유전체의 발현을 증가시키는 임의의 인헨서/프로모터 조합이 사용될 수 있다. 일 예에서, CMV 인헨서/프로모터 서열이 사용된다(미국 특허 번호 5,385,839 및 미국 특허 번호 5,168,062).
- [0677] 특정 구현예에서, 삽입 돌연변이 유발의 위험은 렌티바이러스 벡터 유전체와 같은 레트로바이러스 벡터 유전체를 통합 결함이 있는 것으로 작제함으로써 최소화할 수 있다. 비통합 벡터 유전체를 생성하기 위해 다양한 접근법을 추구할 수 있다. 일부 구현예에서, 돌연변이(들)는 비활성 인테그라제가 있는 단백질을 암호화하도록 pol 유전자의 인테그라제 효소 성분으로 조작될 수 있다. 일부 구현예에서, 벡터 유전체 자체는 예를 들어 하나 또는 둘 다의 부착 부위를 돌연변이 또는 결실시키거나 3' LTR-근위 폴리퓨린관(PPT)을 결실 또는 변형을 통해 비기능성으로 만들어 통합을 방지하도록 변형될 수 있다. 일부 구현예에서, 비유전적 접근법이 이용 가능하고; 이는 인테그라제의 하나 이상의 기능을 억제하는 약리학 제제를 포함한다. 상기 접근법은 상호 배타적이지 않다; 즉, 이 중 하나 이상을 한 번에 사용할 수 있다. 예를 들어, 인테그라제와 부착 부위 모두 비기능성일 수 있거나, 인테그라제와 PPT 부위가 비기능성일 수 있거나 또는 부착 부위와 PPT 부위가 비기능성일 수 있거나 또는 이들 모두가 비기능성일 수 있다. 상기 방법과 바이러스 벡터 유전체는 공지되어 있고 이용 가능하다(문헌 [Philpott and Thrasher, *Human Gene Therapy* 18:483, 2007; Engelman et al. *J Virol* 69:2729, 1995; Brown et al. *J Virol* 73:9011 (1999); WO 2009/076524; McWilliams et al., *J Virol* 77:11150, 2003; Powell and Levin *J Virol* 70:5288, 1996] 참조).
- [0678] 일부 구현예에서, 벡터는 원핵생물 숙주 세포와 같은 숙주 세포에 번식을 위한 서열을 함유한다. 일부 구현예에서, 바이러스 벡터의 핵산은 세균 세포와 같은 원핵 세포에 번식을 위한 하나 이상의 복제 기점을 함유한다. 일부 구현예에서, 원핵 생물 복제 기점을 포함하는 벡터는 또한 유전자 발현이 약물 내성과 같은 검출 가능하거나 선택 가능한 마커를 부여하는 유전자를 함유할 수 있다.
- [0679] 바이러스 벡터 유전체는 전형적으로 패키징 또는 생산자 세포주로 형질주입될 수 있는 플라스미드 형태로 작제된다. 유전체가 바이러스 벡터 유전체의 RNA 카피를 함유하는 레트로바이러스 입자를 생성하기 위해 다양한 임의의 공지된 방법이 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 2개 이상의 성분이 바이러스 기반 유전자 전달 시스템을 만드는 데 관여하는데, 첫째, 바이러스 벡터 입자를 생성하는 데 필요한 효소뿐만 아니라 구조 단백질을 포함하는 패키징 플라스미드이고, 둘째, 바이러스 벡터 자체, 즉, 전달될 유전 물질이다. 생물학적 안전성 보호 장치를 상기 성분 중 하나 또는 둘 다의 설계에 도입할 수 있다.
- [0680] 일부 구현예에서, 패키징 플라스미드는 외피 단백질 이외의 HIV-1과 같은 모든 레트로바이러스 단백질을 함유할

수 있다(Naldini et al., 1998). 다른 구현예에서, 바이러스 벡터에는 독성과 관련된 유전자, 예를 들어 vpr, vif, vpu 및 nef 및/또는 Tat, 즉 HIV의 1차 전이 활성 인자(transactivator)와 같은 추가 바이러스 유전자가 결합될 수 있다. 일부 구현예에서, HIV 기반 렌티바이러스 벡터와 같은 렌티바이러스 벡터는 모 바이러스의 3가지 유전자: gag, pol 및 rev만을 포함하며, 이는 재조합을 통한 야생형 바이러스의 재구성 가능성을 감소시키거나 제거한다.

[0681] 일부 구현예에서, 바이러스 벡터 유전체는 바이러스 벡터 유전체로부터 전사된 바이러스 유전체 RNA를 바이러스 입자로 패키징하는 데 필요한 모든 성분을 함유하는 패키징 세포주에 도입된다. 대안적으로, 바이러스 벡터 유전체는 하나 이상의 관심 서열, 예를 들어, 재조합 핵산뿐만 아니라 바이러스 성분을 암호화하는 하나 이상의 유전자를 포함할 수 있다. 그러나, 일부 관점에서, 표적 세포에서 유전체의 복제를 방지하기 위하여, 복제에 필요한 내인성 바이러스 유전자는 제거되고 패키징 세포주에 별도로 제공된다.

[0682] 일부 구현예에서, 패키징 세포주는 입자를 생성하는 데 필요한 성분을 함유하는 하나 이상의 플라스미드 벡터로 형질주입된다. 일부 구현예에서, 패키징 세포주는 LTR, 시스-작용(cis-acting) 패키징 서열 및 관심 서열, 즉 CAR과 같은 항원 수용체를 암호화하는 핵산; 및 바이러스의 효소 성분 및/또는 구조 성분, 예컨대 Gag, pol 및/또는 rev를 암호화하는 하나 이상의 헬퍼 플라스미드를 포함한 바이러스 벡터 유전체를 함유하는 플라스미드로 형질주입된다. 일부 구현예에서, 레트로바이러스 벡터 입자를 생성하는 다양한 유전 성분을 분리하기 위해 다중 벡터가 이용된다. 상기 일부 구현예에서, 패키징 세포에 별도의 벡터를 제공하는 것은 달리 복제 가능 바이러스를 생성할 수 있는 재조합 사건의 기회를 감소시킨다. 일부 구현예에서, 모든 레트로바이러스 성분을 갖는 단일 플라스미드 벡터를 사용할 수 있다.

[0683] 일부 구현예에서, 레트로바이러스 벡터 입자, 예컨대 렌티바이러스 벡터 입자는 숙주 세포의 형질도입 효율을 증가시키기 위한 유사형이다. 예를 들어, 일부 구현예에서 레트로바이러스 벡터 입자, 예컨대 렌티바이러스 벡터 입자는 VSV-G 당단백질을 갖는 유사형이고, 이는 형질도입될 수 있는 세포 유형을 확장하여 광범위한 세포 숙주 범위를 제공한다. 일부 구현예에서, 패키징 세포주는 예컨대 신드비스(Sindbis) 바이러스 외피, GALV 또는 VSV-G와 같은 이종향성(xenotropic), 다방성(polytropic) 또는 암포트로픽(amphotropic) 외피를 포함하는 비천연 외피 당단백질을 암호화하는 플라스미드 또는 폴리뉴클레오타이드로 형질주입된다.

[0684] 일부 구현예에서, 패키징 세포주는 바이러스 유전체 RNA를 렌티바이러스 벡터 입자로 패키징하기 위해 트랜스에서 요구되는 바이러스 조절 및 구조 단백질을 포함한 성분을 제공한다. 일부 구현예에서, 패키징 세포주는 렌티바이러스 단백질을 발현하고 기능성 렌티바이러스 벡터 입자를 생성할 수 있는 임의의 세포주일 수 있다. 일부 관점에서, 적합한 패키징 세포주에는 293(ATCC CCL X), 293T, HeLA(ATCC CCL 2), D17(ATCC CCL 183), MDCK(ATCC CCL 34), BHK(ATCC CCL-10) 및 Cf2Th(ATCC CRL 1430) 세포가 포함된다.

[0685] 일부 구현예에서, 패키징 세포주는 안정적으로 바이러스 단백질(들)을 발현한다. 예를 들어, 일부 관점에서, gag, pol, rev 및/또는 기타 구조 유전자를 함유하나 LTR 및 패키징 성분은 함유하지 않는 패키징 세포주가 작제될 수 있다. 일부 구현예에서, 패키징 세포주는 이중 단백질을 암호화하는 핵산 분자 및/또는 외피 당단백질을 암호화하는 핵산을 함유하는 바이러스 벡터 유전체와 함께 하나 이상의 바이러스 단백질을 암호화하는 핵산 분자로 일시적으로 형질주입될 수 있다.

[0686] 일부 구현예에서, 바이러스 벡터 및 패키징 및/또는 헬퍼 플라스미드는 패키징 세포주 내로 형질주입 또는 감염을 통해 도입된다. 패키징 세포주는 바이러스 벡터 유전체를 함유하는 바이러스 벡터 입자를 생산한다. 형질주입 또는 감염을 위한 방법은 잘 알려져 있다. 비제한적인 예에는 인산 칼슘, DEAE-텍스트란 및 리포펙션(lipofection) 방법, 전기 친공법 및 미세주입이 포함된다.

[0687] 재조합 플라스미드, 및 레트로바이러스 LTR 및 패키징 서열이 특수 세포주(예를 들어, 인산 칼슘 침전에 의해) 도입될 때, 패키징 서열은 재조합 플라스미드의 RNA 전사물이 바이러스 입자로 패키징되도록 허용할 수 있으며, 이어서 이는 배양 배지로 분비될 수 있다. 이어서 일부 구현예에서 재조합 레트로바이러스를 함유하는 배지가 수집되고, 선택적으로 농축 및 유전자 전달을 위해 사용된다. 예를 들어, 일부 관점에서, 패키징 플라스미드 및 전달 벡터를 패키징 세포주로 공형질주입 후, 바이러스 벡터 입자는 배양 배지로부터 회수되어 당업자들에 의해 사용되는 표준 방법에 의해 적정된다.

[0688] 일부 구현예에서, 렌티바이러스 벡터와 같은 레트로바이러스 벡터는 렌티바이러스 입자의 생성을 허용하는 플라스미드의 도입에 의해 예시적인 HEK 293T 세포주와 같은 패키징 세포주에서 생성될 수 있다. 일부 구현예에서, 패키징 세포는 형질주입되고/거나 gag 및 pol을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드, 및 재조합 수용체, 예컨대 항



원 수용체(예를 들어, CAR)를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 함유한다. 일부 구현예에서, 패키징 세포주는 rev 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드로 선택적 및/또는 추가적으로 형질주입되고/거나 이를 함유한다. 일부 구현예에서, 패키징 세포주는 VSV-G와 같은 비천연 외피 당단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드로 선택적 및/또는 추가적으로 형질주입되고/거나 이를 함유한다. 일부 상기 구현예에서, 세포(예를 들어, HEK 293T 세포)의 형질주입 후 대략 2일 후에, 세포 상청액은 재조합 렌티바이러스 벡터를 함유하고 이는 회수되어 적정 될 수 있다.

- [0689] 회수 및/또는 생성된 레트로바이러스 벡터 입자는 기술된 바와 같은 방법을 사용하여 표적 세포를 형질도입하는 데 사용될 수 있다. 일단 표적 세포에서, 바이러스 RNA는 역전사되고, 핵으로 들어가서 안정적으로 숙주 유전체에 통합된다. 바이러스 RNA의 통합 후 1 또는 2일 후, 재조합 단백질(예를 들어, 항원 수용체, 예컨대 CAR)의 발현이 검출될 수 있다.
- [0690] 일부 구현예에서, 제공된 방법은 바이러스 입자와 복수의 세포를 포함하는 세포 조성물을 접촉, 예를 들어, 인큐베이션함으로써 세포를 형질도입하는 방법을 포함한다. 일부 구현예에서, 형질주입 또는 형질도입될 세포는 대상체로부터 농축 및/또는 선택된 세포와 같은 대상체로부터 획득된 1차 세포이거나 이를 포함한다.
- [0691] 일부 구현예에서, 조성물의 형질도입될 세포의 농도는 (약)  $1.0 \times 10^5$  세포/ml 내지  $1.0 \times 10^8$  세포/ml, 예컨대 적어도 (약)  $1.0 \times 10^5$  세포/mL,  $5 \times 10^5$  세포/mL,  $1 \times 10^6$  세포/mL,  $5 \times 10^6$  세포/mL,  $1 \times 10^7$  세포/mL,  $5 \times 10^7$  세포/mL 또는  $1 \times 10^8$  세포/mL이다.
- [0692] 일부 구현예에서, 바이러스 입자는 형질도입될 세포의 총 수당 바이러스 벡터 입자의 특정 비율의 카피 수 또는 이의 감염 단위(IU)로 제공된다(IU/세포). 예를 들어, 일부 구현예에서, 바이러스 입자는 접촉하는 동안 하나의 세포 당 (약) 또는 적어도 (약) 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 또는 60 IU의 바이러스 벡터 입자로 존재한다.
- [0693] 일부 구현예에서, 바이러스 벡터 입자의 역가는 (약)  $1 \times 10^6$  IU/mL 내지  $1 \times 10^8$  IU/mL, 예컨대 (약)  $5 \times 10^6$  IU/mL 내지  $5 \times 10^7$  IU/mL, 예컨대 적어도  $6 \times 10^6$  IU/mL,  $7 \times 10^6$  IU/mL,  $8 \times 10^6$  IU/mL,  $9 \times 10^6$  IU/mL,  $1 \times 10^7$  IU/mL,  $2 \times 10^7$  IU/mL,  $3 \times 10^7$  IU/mL,  $4 \times 10^7$  IU/mL, 또는  $5 \times 10^7$  IU/mL이다.
- [0694] 일부 구현예에서, 형질도입은 100 미만, 예컨대 일반적으로 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5 이하 미만의 감염 다중도(multiplicity of infection, MOI)에서 달성될 수 있다.
- [0695] 일부 구현예에서, 본 방법은 바이러스 입자와 세포를 접촉 또는 인큐베이션하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 접촉은 30분 내지 72시간, 예컨대 30분 내지 48시간, 30분 내지 24시간 또는 1시간 내지 24시간, 예컨대 적어도 (약) 30분, 1시간, 2시간, 6시간, 12시간, 24시간, 36시간 또는 그 이상 동안 이루어진다.
- [0696] 일부 구현예에서, 접촉은 용액에서 수행된다. 일부 구현예에서, 세포 및 바이러스 입자는 (약) 0.5mL 내지 500mL, 예컨대 (약) 0.5mL 내지 200mL, 0.5mL 내지 100mL, 0.5mL 내지 50mL, 0.5mL 내지 10mL, 0.5mL 내지 5mL, 5mL 내지 500mL, 5mL 내지 200mL, 5mL 내지 100mL, 5mL 내지 50mL, 5mL 내지 10mL, 10mL 내지 500mL, 10mL 내지 200mL, 10mL 내지 100mL, 10mL 내지 50mL, 50mL 내지 500mL, 50mL 내지 200mL, 50mL 내지 100mL, 100mL 내지 500mL, 100mL 내지 200mL 또는 200mL 내지 500mL의 부피에서 접촉된다.
- [0697] 특정 구현예에서, 입력 세포는 바이러스 DNA에 의해 암호화되는 재조합 수용체에 결합하거나 이를 인식하는 결합 분자를 포함하는 입자로 처리, 인큐베이션 또는 접촉된다.
- [0698] 일부 구현예에서, 바이러스 벡터 입자와 세포의 인큐베이션은 바이러스 벡터 입자로 형질도입된 세포를 포함하는 출력 조성물을 초래하거나 생성한다.
- [0699] 일부 구현예에서, 재조합 핵산은 전기 천공법을 통해 T 세포로 전달된다(예를 들어, 문헌[Chicaybam et al. (2013) PLoS ONE 8(3): e60298 및 Van Tedeloo et al. (2000) Gene Therapy 7(16): 1431-1437] 참조). 일부 구현예에서, 재조합 핵산은 전위(transposition)를 통해 T 세포로 전달된다(예를 들어, 문헌[Manuri et al. (2010) Hum Gene Ther 21(4): 427-437; Sharma et al. (2013) Molec Ther Nucl Acids 2, e74; and Huang et al. (2009) Methods Mol Biol 506: 115-126] 참조). 면역 세포에서 유전 물질을 도입하고 발현시키는 다른 방법에는 인산칼슘 형질주입(예를 들어, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, N.Y.에 기재된 바와 같음), 원형질체 융합, 양이온성 리포솜-매개 형질주입; 텡스텐 입자 촉진 미세 입자

충격(Johnston, Nature, 346: 776-777 (1990)); 및 인산스트론튬 DNA 공동 침전(Brash et al., Mol. Cell Biol., 7: 2031-2034 (1987))이 포함된다.

[0700] 재조합 산물을 암호화하는 핵산 전달을 위한 다른 접근법 및 벡터는 예를 들어, 문헌[국제 특허 출원 공개 번호: W02014055668 및 미국 특허 번호 7,446,190]에 기재된 것이다.

[0701] 일부 구현예에서, 세포, 예를 들어, T 세포는 증폭 중 또는 증폭 후에 예를 들어 T 세포 수용체(TCR) 또는 키메라 항원 수용체(CAR)로 형질주입될 수 있다. 원하는 수용체의 유전자 도입을 위한 상기 형질주입은 예를 들어 임의의 적합한 레트로바이러스 벡터로 수행될 수 있다. 이어서 유전자 변형 세포의 집단은 초기 자극(예를 들어, 항-CD3/항-CD28 자극)으로부터 유리될 수 있으며, 후속적으로 제2 유형의 자극으로, 예를 들어 새로이 도입된 수용체를 통해 자극될 수 있다. 상기 제2 유형의 자극은 새로운 수용체의 프레임워크 내에서 직접 결합하는(예를 들어, 수용체 내의 불변 영역을 인지함으로써) 유전자 도입된 수용체의 펩타이드/MHC 분자, 즉 동종(교차 결합) 리간드(예를 들어, CAR의 천연 리간드) 또는 임의의 리간드(예컨대 항체) 형태의 항원 자극을 포함할 수 있다. 예를 들어, 문헌[Cheadle et al., "Chimeric antigen receptors for T-cell based therapy" Methods Mol Biol. 2012; 907:645-66 또는 Barrett et al., Chimeric Antigen Receptor Therapy for Cancer Annual Review of Medicine Vol. 65: 333-347 (2014)]을 참조한다.

[0702] 일부 경우에, 세포, 예를 들어, T 세포가 활성화되는 것이 필요하지 않은 벡터를 사용할 수 있다. 일부 상기의 경우에, 세포는 활성화되기 전에 선택 및/또는 형질도입될 수 있다. 따라서, 세포는 세포 배양 이전에 또는 이후에 조작될 수 있고, 일부 경우에는 배양의 적어도 일부와 동시에 또는 그 동안에 조작될 수 있다.

[0703] 추가 핵산 중에서, 예를 들어 도입을 위한 유전자는, 예컨대 전달된 세포의 생존력 및/또는 기능을 촉진함으로써 요법의 효능을 개선하기 위한 유전자; 예컨대 생체 내 생존 또는 국소화를 평가하기 위한 세포의 선택 및/또는 평가를 위한 유전자 마커를 제공하기 위한 유전자; 문헌[Lupton S. D. et al., Mol. and Cell Biol., 11:6 (1991); and Riddell et al., Human Gene Therapy 3:319-338 (1992)]에 기재된 바와 같이 예를 들어 생체 내에서 음성 선택에 세포를 예민하게 만들어 안정성을 개선하기 위한 유전자가 있고; 또한 우성 양성 선택 가능한 마커를 음성 선택 가능한 마커와 융합시켜 유래된 2작용성 선택 가능한 융합 유전자의 용도를 기술하는 문헌[국제 출원 공개 PCT/US91/08442 및 PCT/US94/05601 by Lupton et al.]을 참조한다. 예를 들어, 문헌[Riddell et al., 미국 특허 번호 6,040,177의 14-17열]을 참조한다.

[0704] **D. 조작된 세포의 배양, 증폭 및 제형화**

[0705] 일부 구현예에서, 예를 들어 제공된 임의의 방법, 용도, 제조품 또는 조성물에 따른 세포 요법을 위해 조작된 세포를 생성하는 방법은 세포를 배양하는, 예를 들어 증식 및/또는 증폭을 촉진하는 조건 하에서 세포를 배양하는 하나 이상의 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포는 유전자 조작 단계 이후에, 예를 들어 형질도입 또는 형질주입에 의해 재조합 폴리펩타이드를 세포에 도입하는 단계 이후에 증식 및/또는 증폭을 촉진하는 조건 하에서 배양된다. 특정 구현예에서, 세포가 자극 조건 하에서 인큐베이션되고 재조합 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 재조합 수용체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드)로 형질도입되거나 형질주입된 후, 세포가 배양된다. 따라서, 일부 구현예에서, CAR을 암호화하는 재조합 폴리뉴클레오타이드로 형질도입 또는 형질주입에 의해 조작된 CAR-양성 T 세포의 조성물이 증식 및/또는 증폭을 촉진하는 조건 하에서 배양된다.

[0706] 특정 구현예에서, 조작된 T 세포의 하나 이상의 조성물은 두 개의 별도 농축된 T 세포의 조성물, 예컨대 재조합 수용체(예를 들어, CAR)를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드로 조작된 두 개의 별도 농축된 T 세포의 조성물이거나 이를 포함한다. 특정 구현예에서, 두 개의 별도 농축된 T 세포의 조성물, 예를 들어, 동일한 생물학적 샘플로부터 선택, 단리, 및/또는 농축된 두 개의 별도 농축된 T 세포의 조성물이 자극 조건 하에서, 예컨대 유전자 조작 단계, 예를 들어, 형질도입 또는 형질주입에 의해 재조합 폴리펩타이드를 세포에 도입하는 단계 이후에 별도로 배양된다. 특정 구현예에서, 두 개의 별도 조성물은 농축된 CD4+ T 세포의 조성물, 예컨대 재조합 수용체(예를 들어, CAR)를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드로 조작된 농축된 CD4+ T 세포의 조성물을 포함한다. 특정 구현예에서, 두 개의 별도 조성물은 농축된 CD8+ T 세포의 조성물, 예컨대 재조합 수용체(예를 들어, CAR)를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드로 조작된 농축된 CD4+ T 세포의 조성물을 포함한다. 일부 구현예에서, 두 개의 별도 농축된 CD4+ T 세포 및 농축된 CD8+ T 세포의 조성물, 예컨대 재조합 수용체(예를 들어, CAR)를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드로 각각 별도로 조작된 농축된 CD4+ T 세포의 조성물 및 농축된 CD8+ T 세포의 조성물이 예를 들어 증식 및/또는 증폭을 촉진하는 조건 하에서 별도로 배양된다.

[0707] 일부 구현예에서, 배양은 증식 및/또는 증폭을 촉진하는 조건 하에서 수행된다. 일부 구현예에서, 상기 조건은

집단 내에서 세포의 증식, 증폭, 활성화, 및/또는 생존을 유도하도록 설계될 수 있다. 특정 구현예에서, 자극 조건은 특정 배지, 온도, 산소 함량, 이산화탄소 함량, 시간, 제제(agents), 예를 들어 영양소, 아미노산, 항생제, 이온 및/또는 자극 인자, 예컨대 사이토카인, 케모카인, 항원, 결합 파트너, 용합 단백질, 재조합 가용성 수용체, 및 세포의 성장, 분열, 및/또는 증폭을 촉진하도록 설계된 임의의 기타 제제 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0708] 특정 구현예에서, 세포는 하나 이상의 사이토카인의 존재 하에서 배양된다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 재조합 사이토카인이다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 인간 재조합 사이토카인이다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인은 T 세포에 대해 내인성이고/거나 T 세포에 의해 발현되는 수용체에 결합하고/거나 결합할 수 있다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 사이토카인(예를 들어, 재조합 사이토카인)은 사이토카인의 4-알파-나선 번들 패밀리의 멤버이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 사이토카인의 4-알파-나선 번들 패밀리의 멤버는 인터루킨-2(IL-2), 인터루킨-4(IL-4), 인터루킨-7(IL-7), 인터루킨-9(IL-9), 인터루킨 12(IL-12), 인터루킨15(IL-15), 과립구 집락 자극 인자(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF), 및 과립구-대식 세포 집락 자극 인자(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)를 포함하되 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 재조합 사이토카인은 IL-2, IL-7 및/또는 IL-15를 포함한다. 일부 구현예에서, 세포(예를 들어, 조작된 세포)는 1 IU/mL 내지 2,000 IU/mL, 10 IU/mL 내지 100 IU/mL, 50 IU/mL 내지 200 IU/mL, 100 IU/mL 내지 500 IU/mL, 100 IU/mL 내지 1,000 IU/mL, 500 IU/mL 내지 2,000 IU/mL, 또는 100 IU/mL 및 1,500 IU/mL 사이 농도의 사이토카인(예를 들어, 재조합 인간 사이토카인)의 존재 하에서 배양된다.

[0709] 일부 구현예에서, 배양은 일반적으로 인간 T 림프구와 같은 1차 면역 세포의 성장에 적합한 온도, 예를 들어, 적어도 약 25°C, 일반적으로 적어도 약 30°C, 및 일반적으로 (약) 37°C를 포함하는 조건 하에서 수행된다. 일부 구현예에서, 농축된 T 세포의 조성물은 25 내지 38°C, 예컨대 30 내지 37°C, 예를 들어, (약) 37°C ± 2°C의 온도에서 인큐베이션된다. 일부 구현예에서, 인큐베이션은 배양(예를 들어, 육성 또는 증폭)이 원하는 또는 임계 밀도, 세포 수 또는 세포의 용량으로 귀결될 때까지의 기간 동안 수행된다. 일부 구현예에서, 인큐베이션은 24 시간, 48시간, 72시간, 96시간, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일 또는 그 이상 초과 또는 약 24시간, 48시간, 72시간, 96시간, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일 또는 그 이상 초과 또는 약 24시간, 48시간, 72시간, 96시간, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일 또는 그 이상 동안 수행된다.

[0710] 특정 구현예에서, 배양은 폐쇄된 시스템에서 수행된다. 특정 구현예에서, 배양은 멸균 조건 하에서 폐쇄된 시스템으로 수행된다. 특정 구현예에서, 배양은 제공된 시스템의 하나 이상의 단계와 동일한 폐쇄 시스템에서 수행된다. 일부 구현예에서 농축된 T 세포 조성물은 폐쇄된 시스템에서 제거되어 배양을 위한 생물 반응기에 배치되고/거나 연결된다. 배양에 적합한 생물 반응기의 예에는 GE Xuri™ W25, GE Xuri™ W5, Sartorius BioSTAT® RM 20 | 50, Finesse SmartRocker™ Bioreactor Systems 및 Pall XRS Bioreactor Systems이 포함되나 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 생물 반응기는 배양 단계 중 적어도 일부 동안 세포를 관류 및/또는 혼합하는데 사용된다.

[0711] 일부 구현예에서, 혼합은 흔들림 및/또는 움직임이거나 이를 포함한다. 일부 경우에, 생물 반응기는 움직임이나 흔들림을 거칠 수 있고, 이는 일부 관점에서, 산소 전달을 증가시킬 수 있다. 생체 반응기를 움직이는 것은 수평 축을 따라 회전하는 것, 수직 축을 따라 회전하는 것, 생물 반응기의 경사진 또는 기울어진 수평 축을 따라 흔들리는 움직임 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있으나 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 인큐베이션의 적어도 일부는 흔들리면서 수행된다. 흔들리는 속도 및 흔들리는 각도는 원하는 교반을 달성하기 위해 조정될 수 있다. 일부 구현예에서 흔들기 각도는 20°, 19°, 18°, 17°, 16°, 15°, 14°, 13°, 12°, 11°, 10°, 9°, 8°, 7°, 6°, 5°, 4°, 3°, 2° 또는 1°이다. 특정 구현예에서, 흔들기 각도는 6-16°이다. 다른 구현예에서, 흔들기 각도는 7-16°이다. 다른 구현예에서, 흔들기 각도는 8-12°이다. 일부 구현예에서, 흔들기 속도는 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, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 또는 40rpm이다. 일부 구현예에서, 흔들기 속도는 4 내지 12rpm, 예컨대 4 내지 6rpm(수치 포함) 사이이다.

[0712] 일부 구현예에서, 생물 반응기는 약 또는 적어도 0.01L/min, 0.05L/min, 0.1L/min, 0.2L/min, 0.3L/min, 0.4L/min, 0.5L/min, 1.0L/min, 1.5L/min 또는 2.0L/min 또는 2.0 L/min 초과와 안정적인 공기 흐름을 가지면서 37°C 또는 근방 온도 및 5% 또는 근방 CO2 수준을 유지한다. 특정 구현예에서, 배양의 적어도 일부는 예를 들어, 배양 세포의 배양 개시 및/또는 밀도와 관련한 시기에 따라, 관류, 예컨대 290ml/일, 580 ml/일 및/또는 1160 ml/일의 속도로 수행된다. 일부 구현예에서, 세포 배양 증폭의 적어도 일부는 흔들리는 동작, 예컨대 5°

내지 10° 사이, 예컨대 6°의 각도에서, 일정한 흔들림 속도, 예컨대 5 내지 15RPM 사이, 예컨대 6RMP 또는 10RPM의 속도로 수행된다.

- [0713] 일부 구현예에서, 제공된 방법, 용도 또는 제조품에 따라 세포 요법 및/또는 조작된 세포를 제조, 생성 또는 생산하는 방법은 기재된 바와 같은 인큐베이션, 조작 및 배양 및/또는 하나 이상의 다른 공정 단계 전 또는 후의 공정 단계에서 초래된 유전자 조작 세포의 제형과 같은 세포의 제형을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 세포의 제형을 포함하는 하나 이상의 공정 단계는 폐쇄 시스템에서 수행될 수 있다. 일부 경우에, 세포는 세포 요법 및/또는 조작된 세포를 제조, 생성 또는 생산하기 위한 하나 이상의 단계로 가공(예를 들어 원심분리 챔버 및/또는 폐쇄 시스템에서 수행)되고, 기재된 바와 같은 배양, 예를 들어 육성 및 증폭 및/또는 하나 이상의 다른 공정 단계 전 또는 후의 형질도입 공정 단계에서 생성된 유전자 조작 세포의 제형과 같은 세포의 제형을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 유전자 조작된 세포는 주어진 용량 또는 이의 분획으로 투여를 위한 세포의 수를 포함하는 용량 형태 조작된 세포로서 제형화된다.
- [0714] 일부 구현예에서, 제조할 항원 수용체, 예를 들어, CAR 또는 TCR로 조작된 세포를 포함하는 세포의 용량은 약학 조성물 또는 제형과 같은 조성물 또는 제형으로 제공된다. 상기 조성물은 제공된 방법에 부합되게, 예컨대 질병, 병태, 및 장애의 치료에서, 또는 검출, 진단, 및 예후 방법에서, 그리고 용도 및 제조품에 부합하게 사용될 수 있다. 일부 경우에, 세포는 단일 단위 투여량 투여 또는 다중 투여량 투여를 위한 것과 같은 투여량 투여를 위한 양으로 제형화될 수 있다.
- [0715] 일부 구현예에서, 세포는 백이나 바이알 같은 용기 내로 제형화될 수 있다. 일부 구현예에서, 바이알은 주입 바이알일 수 있다. 일부 구현예에서, 바이알은 조작된 세포의 단일 용량으로, 예컨대 주어진 용량 또는 이의 분획으로 투여하기 위한 세포의 수를 포함하여 제형화된다.
- [0716] 일부 구현예에서, 세포는 약학적으로 허용 가능한 완충제로 제형화되며, 이는 일부 관점에서, 약학적으로 허용 가능한 운반체 또는 부형제를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 공정은 약학적으로 허용 가능하거나 대상체에 투여하기에 바람직한 배지 또는 제형 완충제로 배지의 교환을 포함한다. 일부 구현예에서, 처리 단계는 하나 이상의 선택적인 약학적으로 허용 가능한 운반체 또는 부형제를 포함할 수 있는 약학적으로 허용 가능한 완충제에서 세포를 교체하기 위해 형질도입 및/또는 증폭된 세포를 세척하는 것을 포함할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 운반체 또는 부형제를 포함한 상기 약학적 형태의 예시는 대상체에 세포 및 조성물을 투여하기에 허용 가능한 형태와 함께 하기에 기재된 임의의 것일 수 있다. 일부 구현예에서 약학 조성물은 치료적 유효량 또는 예방적 유효량과 같이 질병 또는 병태를 치료 또는 예방하기에 효과적인 양으로 세포를 함유한다.
- [0717] 일부 구현예에서, 제형 완충제는 냉동 보존제를 함유한다. 일부 구현예에서, 세포는 1.0% 내지 30% DMSO 용액, 예컨대 5% 내지 20% DMSO 용액 또는 5% 내지 10% DMSO 용액을 함유하는 냉동 보존 용액으로 제형화된다. 일부 구현예에서, 냉동 보존 용액은 예를 들어, 20% DMSO 및 8% 인간 혈청 알부민(HSA) 또는 기타 적합한 세포 동결 배지를 함유하는 PBS이거나 이를 함유한다. 일부 구현예에서, 냉동 보존 용액은 예를 들어 적어도 또는 약 7.5% DMSO이거나 이를 함유한다. 일부 구현예에서, 처리 단계는 냉동 보존 용액에서 세포를 교체하기 위해 형질도입된 및/또는 증폭된 세포를 세척하는 것을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 세포는 최종 농도가 (약) 12.5%, 12.0%, 11.5%, 11.0%, 10.5%, 10.0%, 9.5%, 9.0%, 8.5%, 8.0%, 7.5%, 7.0%, 6.5%, 6.0%, 5.5%, 또는 5.0% DMSO, 또는 1% 내지 15%, 6% 내지 12%, 5% 내지 10%, 또는 6% 내지 8% DMSO인 배지 및/또는 용액에서 동결, 예를 들어 냉동 보호 또는 냉동 보존된다. 일부 구현예에서, 세포는 최종 농도가 (약) 5.0%, 4.5%, 4.0%, 3.5%, 3.0%, 2.5%, 2.0%, 1.5%, 1.25%, 1.0%, 0.75%, 0.5%, 또는 0.25% HSA, 또는 0.1% 내지 5%, 0.25% 내지 4%, 0.5% 내지 2%, 또는 1% 내지 2% HSA인 배지 및/또는 용액에서 동결, 예를 들어 냉동 보호 또는 냉동 보존된다.
- [0718] 일부 구현예에서, 제형화는 배양 또는 증폭된 세포와 같은 세포를 세척, 회석 또는 농축시키는 것을 포함하는 하나 이상의 처리 단계를 사용하여 수행된다. 일부 구현예에서, 공정은 주어진 용량 또는 이의 분획으로 투여를 위한 세포의 수를 포함하는 용량 형태 조성물과 같은 원하는 농도 또는 수로 세포의 회석 또는 농축을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 처리 단계는 부피 감소를 통해 원하는 대로 세포의 농도를 증가시키는 것을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 처리 단계는 부피 증가를 통해 원하는 대로 세포의 농도를 감소시키는 것을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 공정은 형질도입 및/또는 증폭된 세포에 제형 완충제의 부피를 추가하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 제형 완충제의 부피는 (약) 10mL 내지 1000mL, 예컨대 적어도 (약) 50mL, 100mL, 200mL, 300mL, 400mL, 500mL, 600mL, 700mL, 800mL, 900mL 또는 1000mL이다.
- [0719] 일부 구현예에서, 세포 조성물을 제형화하기 위한 상기 공정 단계는 폐쇄된 시스템에서 수행된다. 예시적인 상기 처리 단계는 Sepax® 또는 Sepax 2® 세포 처리 시스템과 사용하기 위한 것을 포함하여 Biosafe SA에 의해

생산 및 판매되는 원심분리 챔버와 같은 세포 처리 시스템과 관련된 하나 이상의 시스템 또는 키트와 함께 원심분리 챔버를 사용하여 수행될 수 있다. 예시적인 시스템 및 공정이 문헌[국제 공개 번호 W02016/073602]에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, 본 방법은: 기재된 바와 같이, 상기 구현예 중 어느 하나에서 제형 완충제, 예컨대 약학적으로 허용 가능한 완충제에서 제형화된 세포의 생성된 조성물인 제형화된 조성물을 원심분리 챔버의 내부 공동으로부터 발현을 달성하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 제형화된 조성물의 발현은 원심분리 챔버를 갖는 폐쇄 시스템의 일부로서 작동적으로 연결된 본원에 기재된 생물 의학 재료 용기의 바이알과 같은 용기에 대한 것이다. 일부 구현예에서, 생물 의학 재료 용기는 하나 이상의 공정 단계를 수행하는 폐쇄 시스템 또는 디바이스에 통합 및 작동 가능한 연결을 위해 구성되고/거나 이에 통합되거나 작동 가능하게 연결된다. 일부 구현예에서, 생물 의학 재료 용기는 시스템의 출력 라인 또는 출력 위치에 연결된다. 일부 경우에, 폐쇄 시스템은 입구 튜브에서 생물 의학 재료 용기의 바이알에 연결된다. 본원에 기술된 생물 의학 재료 용기와 함께 사용하기 위한 예시적인 폐쇄 시스템은 Sepax® 및 Sepax® 2 시스템을 포함한다.

[0720] 일부 구현예에서, 예컨대 원심분리 챔버 또는 세포 처리 시스템에 결합된, 폐쇄된 시스템은, 하나 또는 다수의 용기가 제형화된 조성물의 발현을 위해 연결될 수 있는 포트를 갖는 튜브 라인의 각 끝에 결합된 다방향 튜브 매니폴드를 함유하는 다중 포트 출력 키트를 포함한다. 일부 관점에서, 원하는 수 또는 다수의 바이알은 다중 포트 출력 중 하나 이상, 일반적으로 둘 이상, 예컨대 적어도 3, 4, 5, 6, 7, 8 이상의 포트에 평균적으로 연결될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 하나 이상의 용기, 예를 들어, 생물 의학 재료 용기는 포트들에 또는 모든 수 미만의 포트에 부착될 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 시스템은 생물 의학 재료 용기의 다수의 바이알 내로 출력 조성물의 발현을 달성할 수 있다.

[0721] 일부 관점에서, 세포는 다수의 출력 용기의 하나 이상에, 예를 들어, 바이알에, 예컨대 단일 단위 정량 투여 또는 다수 정량 투여를 위해, 정량 투여를 위한 용량으로, 발현될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 바이알 각각은 주어진 용량 또는 이의 분획으로 투여하기 위한 세포의 수를 함유할 수 있다. 따라서, 일부 관점에서, 각 바이알은 투여를 위한 단일 용량을 함유할 수 있거나 다수의 바이알 중 하나 초과가, 예컨대 바이알 중 둘, 또는 바이알 중 셋이 함께 투여를 위한 용량을 구성하도록 원하는 용량의 분획을 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, 4개 바이알이 함께 투여를 위한 용량을 구성한다.

[0722] 따라서, 용기(예를 들어, 백 또는 바이알)는 일반적으로 투여될 세포, 예를 들어, 이의 하나 이상의 용량을 함유한다. 용량(unit dose)은 대상체에 투여될 세포의 양 또는 수 또는 투여될 세포의 수의 두배(또는 그 이상)일 수 있다. 이는 대상체에 투여될 세포의 최저 용량 또는 가능한 최저 용량일 수 있다. 일부 관점에서, 제공된 제조물은 다수의 출력 용기 중 하나 이상을 포함한다.

[0723] 일부 구현예에서, 용기(예를 들어, 백 또는 바이알)의 각각은 개별적으로 세포의 용량을 포함한다. 따라서 일부 구현예에서, 각 용기는 동일한 또는 대략 또는 실질적으로 동일한 수의 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 각 용량은 (약) 또는 적어도 (약)  $1 \times 10^6$ ,  $2 \times 10^6$ ,  $5 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $5 \times 10^7$ , 또는  $1 \times 10^8$ 개의 조작된 세포, 총 세포, T 세포, 또는 PBMC를 함유한다. 일부 구현예에서, 각 용량은 (약) 또는 적어도 (약)  $1 \times 10^6$ ,  $2 \times 10^6$ ,  $5 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $5 \times 10^7$ , 또는  $1 \times 10^8$ 개의, CD3+, 예컨대 CD4+ 또는 CD8+, 또는 이의 생존 서브세트인 CAR+ T 세포를 함유한다. 일부 구현예에서, 각 용기(예를 들어, 백 또는 바이알)에서 제형화된 세포 조성물의 부피는 (약) 10mL 내지 (약) 100mL 사이, 예컨대 (약) 또는 적어도 (약) 20mL, 30mL, 40mL, 50mL, 60mL, 70mL, 80mL, 90mL 또는 100mL이다. 일부 구현예에서, 각 용기(예를 들어, 백 또는 바이알)에서 제형화된 세포 조성물의 부피는 (약) 1mL 내지 (약) 10mL, 예컨대 (약) 1mL 내지 (약) 5mL 사이이다. 일부 구현예에서, 각 용기(예를 들어, 백 또는 바이알)에서 제형화된 세포 조성물의 부피는 (약) 4mL 내지 (약) 5mL 사이이다. 일부 구현예에서, 각 용기(예를 들어, 백 또는 바이알)에서 제형화된 세포 조성물의 부피는 (약) 4.4mL이다. 일부 구현예에서, 각 용기(예를 들어, 백 또는 바이알)에서 제형화된 세포 조성물의 부피는 (약) 4.5mL이다. 일부 구현예에서, 각 용기(예를 들어, 백 또는 바이알)에서 제형화된 세포 조성물의 부피는 (약) 4.6mL이다. 일부 구현예에서, 각 용기(예를 들어, 백 또는 바이알)에서 제형화된 세포 조성물의 부피는 (약) 4.7mL이다. 일부 구현예에서, 각 용기(예를 들어, 백 또는 바이알)에서 제형화된 세포 조성물의 부피는 (약) 4.8mL이다. 일부 구현예에서, 각 용기(예를 들어, 백 또는 바이알)에서 제형화된 세포 조성물의 부피는 (약) 4.9mL이다. 일부 구현예에서, 각 용기(예를 들어, 백 또는 바이알)에서 제형화된 세포 조성물의 부피는 (약) 5.0mL이다.

[0724] 일부 구현예에서, 제형화된 세포 조성물은 mL당 (약)  $0.5 \times 10^6$ 개 재조합 수용체-발현(예를 들어, CAR<sup>+</sup>)/CD3+ 세포 또는 상기 생존 세포 초과, mL당 (약)  $1.0 \times 10^6$ 개 재조합 수용체-발현(예를 들어, CAR<sup>+</sup>)/CD3+ 세포 또는



- [0732] 일부 측면에서 완충제가 조성물에 포함된다. 적합한 완충제에는 예를 들어, 구연산, 구연산 나트륨, 인산, 인산 칼륨 및 다양한 다른 산 및 염이 포함된다. 일부 측면에서, 2개 이상의 완충제의 혼합물이 사용된다. 완충제 또는 이의 혼합물은 통상적으로 전체 조성물의 약 0.001중량% 내지 약 4 중량%의 양으로 존재한다. 투여 가능한 약학 조성물의 제조 방법은 공지되어 있다. 예시적인 방법이 예를 들어, 문헌[Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins; 21st ed. (May 1, 2005)]에 보다 상세하게 기술되어 있다.
- [0733] 제형 또는 조성물은 또한 세포 또는 제제로 예방 또는 치료될 특정 징후, 질병 또는 병태에 유용한 하나보다 많은 활성 성분을 함유할 수 있으며, 여기서 각각의 활성이 서로 약영향을 미치지 않는다. 상기 활성 성분은 의도된 목적에 효과적인 양으로 조합하여 적합하게 존재한다. 따라서, 일부 구현예에서, 약학 조성물은 화학 요법제, 예를 들어 아스파라기나아제, 부설판, 카보플라틴, 시스플라틴, 다우노루비신, 독소루비신, 플루오로우라실, 젬시타빈, 히드록시우레아, 메토틱세이트, 파클리탁셀, 리톡시맙, 빈블라스틴, 빈크리스틴 등과 같은 다른 약학적 활성제 또는 약물을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 제제 또는 세포는 염의 형태, 예를 들어, 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 투여된다. 적합한 약학적으로 허용 가능한 산 부가 염은 염산, 브롬화 수소산, 인산, 메타인산, 질산 및 황산과 같은 무기산, 및 타르타르산, 아세트산, 시트르산, 말산, 락트산, 푸마르산, 벤조산, 글리콜산, 글루콘산, 숙신산 및 아릴술폰산, 예를 들어 p-톨루엔술폰산과 같은 유기산으로부터 유래된 것을 포함한다.
- [0734] 일부 구현예에서 약학 조성물은 치료적 유효량 또는 예방적 유효량과 같이 질병 또는 병태를 치료 또는 예방하기에 효과적인 양으로 제제 또는 세포를 함유한다. 일부 구현예에서 치료적 또는 예방적 효능은 치료받은 대상체의 주기적인 평가에 의해 모니터링된다. 병태에 따라 며칠 또는 그 이상에 걸쳐 반복 투여되는 경우, 질병 증상의 원하는 역제가 발생할 때까지 치료가 반복된다. 그러나, 다른 투여량 요법이 유용할 수 있고 결정될 수 있다. 원하는 투여량이 조성물의 단일 볼루스 투여, 조성물의 다중 볼루스 투여 또는 조성물의 지속적인 주입 투여에 의해 전달될 수 있다.
- [0735] 제제 또는 세포는, 임의의 적합한 수단, 예를 들어 볼루스 주입, 주사, 예를 들어 정맥내 또는 피하 주사, 안구내(intraocular) 주사, 안구주위(periorcular) 주사, 망막하(subretinal) 주사, 유리체내(intravitreal) 주사, 증격-경유성(trans-septal) 주사, 공막하(subscleral) 주사, 맥락막내(intrachoroidal) 주사, 전방내(intracameral) 주사, 결막하 주사(subconjunctival injection, subconjunctival injection), 서브 테논(sub-Tenon) 주사, 안구뒤(retrobulbar) 주사, 안구주위(peribulbar) 주사 또는 후부 점막 주사(posterior juxtасcleral) 전달에 의해 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 이는 비경구, 폐내 및 비강내 및 국소 치료가 바람직한 경우 병변내 투여에 의해 투여된다. 비경구 주입은 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내 또는 피하 투여를 포함한다. 일부 구현예에서, 주어진 용량이 세포 또는 제제의 단일 볼루스 투여에 의해 투여된다. 일부 구현예에서, 이는 예를 들어, 3일 이내의 기간에 걸쳐 세포 또는 제제의 다중 볼루스 투여에 의해, 또는 세포 또는 제제의 지속적인 주입 투여에 의해 투여된다.
- [0736] 질병의 예방 또는 치료를 위한, 적절한 투여량은 치료될 질병의 유형, 제제의 유형, 세포 또는 재조합 수용체의 유형, 질병의 중증도 및 진행 경과, 제제 또는 세포가 예방 또는 치료 목적으로 투여되는지, 선행 요법, 대상체의 임상 이력과 제제 또는 세포에 대한 반응, 및 주치의의 재량에 따라 달라질 수 있다. 일부 구현예에서 조성물은 한 번에 또는 일련의 치료에 걸쳐 대상체에 적합하게 투여된다.
- [0737] 세포 또는 제제는 표준 투여 기술, 제형 및/또는 디바이스를 사용하여 투여될 수 있다. 조성물의 저장 및 투여를 위해 주사기 및 바이알과 같은 제형 및 디바이스가 제공된다. 세포에 관하여, 투여는 자가 조직 또는 이종 기원일 수 있다. 예를 들어, 면역 반응성 세포 또는 전구체(progenitor)는 하나의 대상체로부터 획득될 수 있고, 동일한 대상체 또는 상이하고, 양립 가능한 대상체에 투여될 수 있다. 말초 혈액 유래 면역 반응성 세포 또는 이의 자손(예를 들어, 생체 내, 생체 외 시험 또는 시험관 내 유래)은 카테터 투여, 전신 주사, 국소 주사, 정맥내 주사 또는 비경구 투여를 포함하는 국소 주사를 통해 투여될 수 있다. 치료 조성물(예를 들어, 신경 독성의 증상을 치료 또는 개선하는 유전자 변형 면역 반응성 세포 또는 제제를 함유하는 약학 조성물)을 투여할 때, 일반적으로 이는 주사 가능한 단위 투여량 형태(용액, 현탁액, 에멀션)로 제형화될 것이다.
- [0738] 제형에는 경구, 정맥내, 복강내, 피하, 폐, 경피, 근육내, 비강내, 볼, 설하 또는 좌약 투여를 위한 것이 포함된다. 일부 구현예에서, 제제 또는 세포 집단은 비경구적으로 투여된다. 본원에서 사용된 바와 같은 용어 “비경구(parenteral)”는 정맥내, 근육내, 피하, 직장, 질 및 복강내 투여를 포함한다. 일부 구현예에서, 제제 또는 세포 집단은 정맥내, 복강내 또는 피하 주사에 의한 말초 전신 전달을 사용하여 대상체에 투여된다.

- [0739] 일부 구현예에서 조성물은 멸균 액체 제제로서, 예를 들어, 등장성 수용액, 현탁액, 에멀션, 분산액 또는 점성 조성물로 제공되며, 이는 일부 측면에서 선택된 pH로 완충될 수 있다. 액체 제제는 일반적으로 겔, 다른 점성 조성물 및 고체 조성물보다 제조가 보다 용이하다. 또한, 액체 조성물은 특히 주사에 의해 투여하기가 다소 더 편리하다. 반면에, 점성 조성물은 적절한 점도 범위 내에서 제형화되어 특정 조직과의 보다 긴 접촉 기간을 제공할 수 있다. 액체 또는 점성 조성물은 예를 들어, 물, 식염수, 인산 완충 식염수, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 액상 폴리에틸렌 글리콜) 및 이의 적합한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산 배지일 수 있는 운반체를 포함할 수 있다.
- [0740] 멸균 주사용 용액은 적합한 멸균수, 생리 식염수, 포도당, 텍스트로스 등과 같은 부형제, 운반체 또는 희석제와 혼합하는 것과 같이 용매에 제제 또는 세포를 통합함으로써 제조될 수 있다.
- [0741] 생체 내 투여에 사용될 제형은 일반적으로 멸균된다. 멸균은 예를 들어, 멸균 여과 막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성될 수 있다.
- [0742] **VII. 제조품 및 키트**
- [0743] 제조품 수용체를 발현하는 조작된 세포 또는 이의 조성물을 함유하는 제조품 및 키트, 및 선택적으로 사용 지침, 예를 들어, 제공된 방법에 따라 투여하기 위한 지침이 또한 제공된다.
- [0744] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 임의의 조작된 세포의 치료적 유효량을 포함하는 조성물을 포함하는 제조품 및/또는 키트, 및 질병 또는 병태를 치료하기 위해 대상체에 투여하기 위한 지침이 제공된다. 일부 구현예에서, 지침은 본원에 제공되는 방법의 요소 중 일부 또는 전부를 지정할 수 있다. 일부 구현예에서, 지침은 세포 요법을 위한 세포의 투여를 위한 특정 지침, 예를 들어, 투여할 용량, 시기, 대상체의 선택 및/또는 식별 및 투여 조건을 지정한다. 일부 구현예에서, 제조품 및/또는 키트는 하나 이상의 추가 요법제, 예를 들어, 림프구 고갈 요법 및/또는 병용 요법, 예컨대 본원에 기술된 임의의 것을 더 포함하고 선택적으로 추가 요법제를 투여하기 위한 지침을 더 포함한다. 일부 구현예에서, 제조품 및/또는 키트는 림프구 고갈 요법제를 더 포함하고, 선택적으로 림프구 고갈 요법을 투여하기 위한 지침을 더 포함한다. 일부 구현예에서, 지침은 투여용 조성물에 첨부되는 라벨 또는 포장 삽입물로 포함될 수 있다.
- [0745] 일부 구현예에서, 상기 기준은 재발성/불응성 CLL 및/또는 고위험 CLL, 또는 SLL을 가진 대상체를 포함한다. 일부 측면에서, 치료될 집단은 예를 들어 0-1 중 임의의 ECOG(Eastern Cooperative Oncology Group) 수행도를 갖는 대상체를 포함한다. 임의의 구현예 중 일부 구현예에서, 치료될 대상체는 둘 이상의 선행 요법에 실패했다.
- [0746] 일부 구현예에서, 지침은 투여될 세포의 용량을 지정한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 지침에 지정된 용량은 제조품 수용체(예를 들어, CAR)-발현 세포, 예컨대  $2.5 \times 10^7$ ,  $5 \times 10^7$ , 또는  $1 \times 10^8$ 개의 상기 총 세포를 포함한다.
- [0747] 일부 구현예에서, 제조품 또는 키트는 제조품 수용체(예를 들어, CAR)를 발현하는 다수의  $CD4^+$  T 세포를 포함하는 용기, 선택적으로 바이알, 및 제조품 수용체(예를 들어, CAR)를 발현하는 다수의  $CD8^+$  T 세포를 포함하는 용기, 선택적으로 바이알을 포함한다. 일부 구현예에서, 제조품 또는 키트는 제조품 수용체를 발현하는 다수의  $CD4^+$  T 세포를 포함하는 용기, 선택적으로 바이알을 포함하고, 제조품 수용체(예를 들어, CAR)를 발현하는 다수의  $CD8^+$  T 세포를 동일한 용기에 포함한다. 일부 구현예에서, 동결보호제가 세포와 함께 포함된다. 일부 측면에서, 용기는 백(bag)이다. 일부 측면에서, 용기는 바이알(vial)이다.
- [0748] 일부 구현예에서, 바이알 등의 용기는 mL당 (약)  $0.5 \times 10^6$ 개 제조품 수용체-발현(예를 들어,  $CAR^+$ )/ $CD3^+$  세포 또는 상기 생존 세포 초과, mL당 (약)  $1.0 \times 10^6$ 개 제조품 수용체-발현(예를 들어,  $CAR^+$ )/ $CD3^+$  세포 또는 상기 생존 세포 초과, mL당 (약)  $1.5 \times 10^6$ 개 제조품 수용체-발현(예를 들어,  $CAR^+$ )/ $CD3^+$  세포 또는 상기 생존 세포 초과, mL당 (약)  $2.0 \times 10^6$ 개 제조품 수용체-발현(예를 들어,  $CAR^+$ )/ $CD3^+$  세포 또는 상기 생존 세포 초과, mL당 (약)  $2.5 \times 10^6$ 개 제조품 수용체-발현(예를 들어,  $CAR^+$ )/ $CD3^+$  세포 또는 상기 생존 세포 초과, mL당 (약)  $2.6 \times 10^6$ 개 제조품 수용체-발현(예를 들어,  $CAR^+$ )/ $CD3^+$  세포 또는 상기 생존 세포 초과, mL당 (약)  $2.7 \times 10^6$ 개 제조품 수용체-발현(예를 들어,  $CAR^+$ )/ $CD3^+$  세포 또는 상기 생존 세포 초과, mL당 (약)  $2.8 \times 10^6$ 개 제조품 수용체-



발현(예를 들어, CAR<sup>+</sup>)/CD3<sup>+</sup> 세포 또는 상기 생존 세포 초과, mL당 (약)  $2.9 \times 10^6$ 개 제조합 수용체-발현(예를 들어, CAR<sup>+</sup>)/CD3<sup>+</sup> 세포 또는 상기 생존 세포 초과, mL당 (약)  $3.0 \times 10^6$ 개 제조합 수용체-발현(예를 들어, CAR<sup>+</sup>)/CD3<sup>+</sup> 세포 또는 상기 생존 세포 초과, mL당 (약)  $3.5 \times 10^6$ 개 제조합 수용체-발현(예를 들어, CAR<sup>+</sup>)/CD3<sup>+</sup> 세포 또는 상기 생존 세포 초과, mL당 (약)  $4.0 \times 10^6$ 개 제조합 수용체-발현(예를 들어, CAR<sup>+</sup>)/CD3<sup>+</sup> 세포 또는 상기 생존 세포 초과, mL당 (약)  $4.5 \times 10^6$ 개 제조합 수용체-발현(예를 들어, CAR<sup>+</sup>)/CD3<sup>+</sup> 세포 또는 상기 생존 세포 초과 또는 mL당 (약)  $5 \times 10^6$ 개 제조합 수용체-발현(예를 들어, CAR<sup>+</sup>)/CD3<sup>+</sup> 세포 또는 상기 생존 세포를 초과하여 포함한다. 일부 구현예에서, CD3<sup>+</sup> 세포는 CD4<sup>+</sup> T 세포이다. 일부 구현예에서, CD3<sup>+</sup> 세포는 CD8<sup>+</sup> T 세포이다. 일부 구현예에서, CD3<sup>+</sup> 세포는 CD4<sup>+</sup> 및 CD8<sup>+</sup> T 세포이다.

[0749] 일부 구현예에서, 투여를 위해 지정된 다수의 바이알 또는 다수의 세포 또는 세포의 용량은 총체적으로 (약)  $2.5 \times 10^7$  내지  $5 \times 10^7$ 개 총 제조합 수용체-발현 T 세포 또는 총 T 세포, 또는  $5 \times 10^7$  내지  $1 \times 10^8$ 개 총 제조합 수용체-발현 T 세포 또는 총 T 세포를 포함하는 세포의 용량을 포함한다. 일부 구현예에서, T 세포는 CD3<sup>+</sup> 세포이다. 일부 구현예에서, CD3<sup>+</sup> 세포는 CD8<sup>+</sup> T 세포이다. 일부 구현예에서, CD3<sup>+</sup> 세포는 CD4<sup>+</sup> 및 CD8<sup>+</sup> T 세포이다. 일부 구현예에서, 투여를 위해 지정된 다수의 바이알 또는 다수의 세포 또는 세포의 용량은 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T 세포의 하나 이상의 용량 및 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 CD3<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 세포의 하나 이상의 용량을 포함한다. 일부 구현예에서, 각 용량의 세포의 수는 생존 세포이다.

[0750] 일부 측면에서, 제조품은 CD4<sup>+</sup> 및 CD8<sup>+</sup> 세포 또는 CD4<sup>+</sup>수용체<sup>+</sup>(예를 들어, CAR<sup>+</sup>) 세포 및 CD8<sup>+</sup>수용체<sup>+</sup>(예를 들어, CAR<sup>+</sup>) 세포의 하나 이상의 용량을 포함하고, 여기서 용량은 (약)  $1 \times 10^7$  내지 (약)  $2 \times 10^8$ 개 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포, (약)  $5 \times 10^7$  내지 (약)  $1.5 \times 10^8$ 개 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포, (약)  $5 \times 10^7$ 개 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포, 또는 (약)  $1 \times 10^8$ 개 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포, 또는 (약)  $1.5 \times 10^8$ 개 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포를 포함하고, 선택적으로 제조품에 있는 정보는 하나 또는 다수의 용량 및/또는 상기 하나 또는 다수의 용량에 해당하는 부피의 투여를 지정한다. 일부 경우에, 제조품은 CD8<sup>+</sup> 세포의 하나 이상의 용량을 포함하고, 여기서 용량은 (약)  $5 \times 10^6$  내지 (약)  $1 \times 10^8$ 개 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 CD8<sup>+</sup> T 세포를 포함하거나, 용량은 (약)  $1 \times 10^7$  내지 (약)  $0.75 \times 10^8$ 개 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 CD8<sup>+</sup> T 세포를 포함하거나, 용량은 (약)  $2.5 \times 10^7$ 개 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 CD8<sup>+</sup> T 세포를 포함하건, 또는 용량은 (약)  $5 \times 10^7$ 개 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 CD8<sup>+</sup> T 세포를 포함하거나, 또는 용량은  $0.75 \times 10^8$ 개 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 CD8<sup>+</sup> T 세포를 포함하고, 선택적으로 제조품에 있는 정보는 하나 또는 다수의 용량 및/또는 상기 하나 또는 다수의 용량에 해당하는 부피의 투여를 지정한다. 일부 경우에, 제조품은 CD4<sup>+</sup> 세포의 하나 이상의 용량을 포함하고, 여기서 용량은 (약)  $5 \times 10^6$  내지 (약)  $1 \times 10^8$ 개 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 CD4<sup>+</sup> T 세포를 포함하거나, 용량은 (약)  $1 \times 10^7$  내지 (약)  $0.75 \times 10^8$ 개 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 CD4<sup>+</sup> T 세포를 포함하거나, 용량은 (약)  $2.5 \times 10^7$ 개 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 CD4<sup>+</sup> T 세포를 포함하건, 또는 용량은 (약)  $5 \times 10^7$ 개 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 CD4<sup>+</sup> T 세포를 포함하거나, 또는 용량은  $0.75 \times 10^8$ 개 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 CD4<sup>+</sup> T 세포를 포함하고, 선택적으로 제조품에 있는 정보는 하나 또는 다수의 용량 및/또는 상기 하나 또는 다수의 용량에 해당하는 부피의 투여를 지정한다. 일부 구현예에서, 제조품에 있는 세포는 총체적으로 (약)  $1 \times 10^8$ 개 총 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포 또는 총 T 세포 또는 CD3<sup>+</sup> 세포 이내, (약)  $1 \times 10^7$ 개 총 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포 또는 총 T 세포 또는 CD3<sup>+</sup> 세포 이내, (약)  $0.5 \times 10^7$ 개 총 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포 또는 총 T 세포 또는 CD3<sup>+</sup> 세포 이내, (약)  $1 \times 10^6$ 개 총 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포 또는 총 T 세포 또는 CD3<sup>+</sup> 세포 이내, (약)  $0.5 \times 10^6$ 개 총 제조합 수용체(예를 들어, CAR)-발현 T 세포 또는 총 T 세포 또는 CD3<sup>+</sup> 세포 이내를 포함하는 세포의 용량을 포함한다. 일부 구현예에서, 각 용량의 세포의 수는 생존 세포이다.

- [0751] 일부 구현예에서, 투여를 위해 지정된 각 바이알 또는 다수의 바이알 또는 다수의 세포 또는 세포의 용량은, 총체적으로 대상체의 체표면적 또는 체중에 결부되거나 그에 기초하지 않는 균일한 세포 용량 또는 고정된 세포 용량을 포함한다.
- [0752] 일부 구현예에서, 세포의 용량은 단일 용량으로 대상체 또는 환자에 투여될 수 있는, 수 또는 양의 세포, 예컨대 조작된 T 세포이거나 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 용량은 주어진 용량으로 투여를 위한 세포의 수의 분획이다.
- [0753] 일부 구현예에서, 용량의 투여 지침은 적어도 (약)  $2.5 \times 10^7$ 개의  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ , 또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  T 세포, 적어도 (약)  $5 \times 10^7$ 개의  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ , 또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  T 세포, 또는 적어도 (약)  $1 \times 10^8$ 개의  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ , 또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  T 세포를 포함하는 세포의 수의 투여를 지정한다. 일부 구현예에서, 용량의 투여 지침은 (약)  $2.5 \times 10^7$ 개의  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ , 또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  T 세포, (약)  $5 \times 10^7$ 개의  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ , 또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  T 세포, 또는 (약)  $1 \times 10^8$ 개의  $CD3^+/CAR^+$ ,  $CD8^+/CAR^+$ , 또는  $CD4^+/CD8^+/CAR^+$  T 세포를 포함하는 세포의 수의 투여를 지정한다. 일부 구현예에서, 세포의 수는 상기 세포의 생존 세포의 수이다.
- [0754] 일부 구현예에서, 제조품 또는 키트는 재조합 수용체를 발현하는 다수의  $CD4^+$  T 세포, 및 질병 또는 병태를 가진 대상체에 투여 지침, 상기 다수의  $CD4^+$  T 세포의 전부 또는 일부 및 추가로 재조합 수용체를 발현하는  $CD8^+$  T 세포의 투여를 포함한다. 일부 구현예에서, 지침은  $CD8^+$  세포의 투여 전에  $CD4^+$  T 세포의 투여를 지정한다. 일부 경우에, 지침은  $CD4^+$  세포의 투여 전에  $CD8^+$  T 세포의 투여를 지정한다. 일부 구현예에서, 제조품 또는 키트는 재조합 수용체를 발현하는 다수의  $CD8^+$  T 세포, 및 질병 또는 병태를 가진 대상체에 투여 지침, 상기 다수의  $CD8^+$  T 세포의 전부 또는 일부 및 재조합 수용체를 발현하는  $CD4^+$  T 세포를 포함한다. 일부 구현예에서, 지침은 투여량 요법과 세포의 투여 시기를 지정한다.
- [0755] 일부 구현예에서, 용량의 투여 지침은 (약)  $2.5 \times 10^7$ 개의  $CD4^+/CAR^+$  생존 세포 및 (약)  $2.5 \times 10^7$   $CD8^+/CAR^+$  생존 세포의 별도 용량을 포함하는, (약)  $5 \times 10^7$ 개의  $CD3^+/CAR^+$  생존 세포인 세포의 수의 투여를 지정한다. 일부 구현예에서, 용량의 투여 지침은 (약)  $5 \times 10^7$ 개의  $CD4^+/CAR^+$  생존 세포 및 (약)  $5 \times 10^7$   $CD8^+/CAR^+$  생존 세포의 별도 용량을 포함하는, (약)  $1 \times 10^8$ 개의  $CD3^+/CAR^+$  생존 세포인 세포의 수의 투여를 지정한다. 일부 구현예에서, 용량의 투여 지침은 (약)  $0.75 \times 10^8$ 개의  $CD4^+/CAR^+$  생존 세포 및 (약)  $0.75 \times 10^8$   $CD8^+/CAR^+$  생존 세포의 별도 용량을 포함하는, (약)  $1.5 \times 10^8$ 개의  $CD3^+/CAR^+$  생존 세포인 세포의 수의 투여를 지정한다.
- [0756] 일부 측면에서, 지침은  $CD4^+$  T 세포의 전부 또는 일부 및  $CD8^+$  T 세포의 전부 또는 일부를 48시간 간격, 예컨대 36시간 이내 간격, 24시간 이내 간격, 12시간 이내 간격, 예컨대 0 내지 12시간 간격, 0 내지 6시간 간격 또는 0 내지 2시간 간격으로 투여하는 것을 지정한다. 일부 경우에, 지침은  $CD4^+$  T 세포 및  $CD8^+$  T 세포를 2시간 이내, 1시간 이내, 30분 이내, 15분 이내, 10분 이내 또는 5분 이내 간격으로 투여하는 것을 지정한다. 일부 구현예에서, 지침은  $CD4^+$  T 세포 전에  $CD8^+$  T 세포의 투여를 지정한다.
- [0757] 일부 구현예에서, 제조품 및/또는 키트는 하나 이상의 추가 요법제, 예를 들어, 본원에 기술된 바와 같은 림프구 고갈 요법, 및 선택적으로 추가 체제를 투여하기 위한 지침을 더 포함한다.
- [0758] 일부 구현예에서, 제조품 및/또는 키트는 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화하기 위한 하나 이상의 체제 또는 치료, 및/또는 대상체에서 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화하기 위한 하나 이상의 체제 또는 치료의 투여 지침을 더 포함한다. 일부 구현예에서, 체제는 항-IL-6 항체 또는 항-IL-6 수용체 항체이거나 이를 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 체제 또는 치료는 토실리주맙, 실특시맙, 클라라키주맙, 사릴루맙, 울로키주맙(CDP6038), 엘실리모맙, ALD518/BMS-945429, 시루쿠맙(CNTO 136), CPSI-2634, ARGX-109, FE301 및 FM101 중에서 선택된 체제이거나 이를 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 체제 또는 치료는 스테로이드; IL-10, IL-10R, IL-6, IL-6 수용체, IFN  $\gamma$ , IFNGR, IL-2, IL-2R/CD25,

MCP-1, CCR2, CCR4, MIP1 $\beta$ , CCR5, TNF알파, TNFR1, IL-1, 및 IL-1R알파/IL-1베타 중에서 선택된 사이토카인 수용체 또는 사이토카인의 길항제 또는 억제제; 또는 미세아교세포 활성화 또는 기능을 방지, 차단 또는 감소시킬 수 있는 제제 중 하나 이상이거나 이를 포함한다.

[0759] 일부 구현예에서, 미세아교세포 활성화 또는 기능을 방지, 차단 또는 감소시킬 수 있는 제제는 항-염증제, NADPH 산화효소(NOX2)의 억제제, 칼슘 통로 차단제, 나트륨 통로 차단제 중에서 선택되고, GM-CSF를 억제하고, CSF1R을 억제하고, CSF-1에 특이적으로 결합하고, IL-34에 특이적으로 결합하고, 핵인자 카파 B(NF- $\kappa$ B)의 활성화를 억제하고, CB<sub>2</sub> 수용체를 활성화하고/거나 CB<sub>2</sub> 작용제, 포스포디에스테라아제 억제제이고, 마이크로RNA-155(miR-155)를 억제하거나 또는 마이크로RNA-124(miR-124)를 상향 조절한다. 일부 경우에, 제제는 미노사이클린, 날록손, 니모디핀, 릴루졸, MOR103, 레날리도마이드, 카나비노이드(선택적으로 WIN55 또는 212-2), 정맥내 면역글로불린(IVIg), 이부딜라스트(ibudilast), 항-miR-155 LNA(locked nucleic acid), MCS110, PLX-3397, PLX647, PLX108-D1, PLX7486, JNJ-40346527, JNJ28312141, ARRY-382, AC-708, DCC-3014, 5-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)피리미딘-2,4-디아민 (GW2580), AZD6495, Ki20227, BLZ945, 에막투주맵, IMC-CS4, FPA008, LY-3022855, AMG-820 및 TG-3003 중에서 선택된다. 일부 구현예에서, 제제는 집락 자극 인자 1 수용체(CSF1R)의 억제제이다. 예를 들어, 제제는 PLX-3397, PLX647, PLX108-D1, PLX7486, JNJ-40346527, JNJ28312141, ARRY-382, AC-708, DCC-3014, 5-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)피리미딘-2,4-디아민 (GW2580), AZD6495, Ki20227, BLZ945 또는 이의 약학적 염 또는 프로드러그; 에막투주맵, IMC-CS4, FPA008, LY-3022855, AMG-820 및 TG-3003 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 전술한 것의 임의의 조합이다.

[0760] 일부 구현예에서, 제조품 및/또는 키트는 생물학적 샘플, 예를 들어, 투여 후보인 또는 용법을 투여받은 대상체로부터 유래된 생물학적 샘플을 분석하기 위한 하나 이상의 시약, 및 선택적으로 상기 시약의 사용 지침 또는 분석법을 더 포함한다. 일부 구현예에서, 생물학적 샘플은 혈액, 혈장 또는 혈청 샘플이거나 이로부터 획득된다. 일부 구현예에서, 시약은 진단의 목적으로, 대상체를 식별하고/거나 치료 결과 및/또는 독성을 평가하기 위해 세포 요법의 투여 전에 또는 세포 요법의 투여 후에 사용될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 제조품 및/또는 키트는 독성과 관련된 특정 바이오마커, 예를 들어, 사이토카인, 분석물 또는 수용체의 수준을 측정하기 위한 시약, 및 측정 지침을 더 함유한다. 일부 구현예에서, 시약은 바이오마커(예를 들어, 분석물)를 측정하기 위한 *시험관 내* 분석법, 예컨대 면역분석, 앵타머 기반 분석, 조직학적 또는 세포학적 분석, 또는 mRNA 발현 수준 분석을 수행하기 위한 성분을 포함한다. 일부 구현예에서, *시험관 내* 분석은 효소결합면역흡착 분석(ELISA), 면역블로팅, 면역침강법, 방사선면역분석(RIA), 면역 염색법, 유세포 분석법, 표면 플라즈몬 공명(SPR), 화학발광 분석, 측면 유동 면역분석, 억제 분석 및 산염기도 분석 중에서 선택된다. 일부 측면에서, 시약은 바이오마커(예를 들어, 분석물)에 특이적으로 결합하는 결합 시약이다. 일부 경우에, 결합 시약은 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 앵타머 또는 핵산 프로브이다.

[0761] 일부 구현예에서, 제조품 및/또는 키트는 하나 이상의 바이오마커, 분석물 또는 수용체를 검출할 수 있는 하나 이상의 시약, 및 치료를 위한 후보자인 대상체로부터 유래된 생물학적 샘플을 분석하기 위한 상기 시약의 사용 지침을 포함하고, 여기서 하나 이상의 바이오마커, 분석물 또는 수용체는 TNF, IL-16, VEGFC 또는 VEGFR1일 수 있다. 일부 구현예에서, 분석물 또는 수용체의 역치 수준과 비교하여 대상체 내 분석물 또는 수용체의 존재 또는 부재, 수준, 양, 또는 농도를 분석하기 위한 지침이 또한 포함된다. 일부 구현예에서, 지침은 제공된 임의 방법에 따라, 상기 바이오마커, 분석물 또는 수용체, 예를 들어, TNF, IL-16, VEGFC 또는 VEGFR1의 평가 또는 모니터링을 실행하는 방법을 지정한다.

[0762] 일부 구현예에서, 샘플 내 분석물 또는 수용체의 수준, 양 또는 농도가 분석물 또는 수용체의 역치 수준 이상인 경우, 대상체에 세포 요법의 투여 개시 (i) 전에, (ii) 1, 2, 또는 3일 이내에, (iii) 그와 동시에 및/또는 (iv) 이후 첫 열 발생 시, 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료를 대상체에 투여하는 것을 지정하는 지침이 포함된다. 일부 경우에, 지침은, 샘플 내 분석물 또는 수용체의 수준, 양 또는 농도가 분석물 또는 수용체의 역치 수준 이상인 경우, 세포 요법이 대상체에 감소된 용량으로, 또는 독성 또는 중증 독성이 발생할 위험과 관련되지 않는, 또는 과반수 이상의 대상체에서, 및/또는 세포 요법의 투여 이후, 대상체가 가졌거나 가진 것으로 의심되는 질병 또는 병태를 가진 대상체의 과반수 이상에서 독성 또는 중증 독성이 발생할 위험과 관련되지 않는 용량으로 투여하는 것을 지정한다. 일부 경우에, 지침은, 샘플 내 분석물 또는 수용체의 수준, 양 또는 농도가 분석물 또는 수용체의 역치 수준 이상인 경우, 세포 요법이 입원 환경에서 및/또는 하루 이상 병원에 입원하고 투여되고, 선택적으로 그렇지 않은 경우 세포 요법이 통원 기준으로 또는 하루 이상 병원에 입원하지 않고 투여되는 것을 지정한다.

[0763] 일부 구현예에서, 세포 요법을 투여하기 위한 지침은, 샘플 내 분석물 또는 수용체의 수준, 양 또는 농도가 역치 수준 미만인 경우, 세포 요법을 대상체에 투여하는데, 선택적으로 감소되지 않은 용량으로, 선택적으로 통원 기준으로 또는 하루 이상 병원에 입원하지 않고 투여하는 것을 지정한다. 일부 구현예에서, 세포 요법을 투여하기 위한 지침은, 샘플 내 분석물 또는 수용체의 수준, 양 또는 농도가 역치 수준 미만인 경우, 세포 요법을 투여하기 전에 또는 그와 동시에 및/또는 열 이외의 독성의 징후 또는 증상의 발생 전에는, 독성의 발생을 치료, 예방, 지연, 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 치료가 대상체에 투여되지 않는 것을 지정한다. 일부 측면에서, 세포 요법을 투여하기 위한 지침은, 샘플 내 분석물 또는 수용체의 수준, 양 또는 농도가 역치 수준 미만인 경우, 통원 환경에서 및/또는 대상체가 하루밤 또는 하루 이상의 연속일 동안 병원에 입원하지 않고/거나 대상체가 하루 이상 병원에 입원하지 않고, 세포 요법의 투여가 되어야 하거나 대상체에 투여될 수 있음을 지정한다.

[0764] 제조품 및/또는 키트는 세포 요법을 더 포함할 수 있고/거나 세포 요법 치료 전에 및/또는 그와 관련하여 그 사용 지침을 더 포함한다. 일부 구현예에서, 제제를 투여하기 위한 지침이 포함되고 지침은 샘플 내 분석물 또는 수용체의 수준, 양 또는 농도가 역치 수준 이상인 경우, 대상체에 제제를 투여하는 것을 지정한다. 일부 측면에서, 지침은 세포 요법을 대상체에 투여하고, 제제의 투여는 대상체에 세포 요법의 투여 개시 (i) 전에, (ii) 1, 2, 또는 3일 이내에, (iii) 그와 동시에 및/또는 (iv) 이후 첫 열 발생 시, 수행되는 것을 더 지정한다.

[0765] 제조품 및/또는 키트는 용기 및 용기 위에 또는 그와 연관된 라벨(label) 또는 포장 삽입물이 포함될 수 있다. 적합한 용기에는, 예를 들어, 병, 바이알, 주사기, IV 용액백 등이 포함된다. 용기는 유리 또는 플라스틱과 같은 다양한 재료로 형성될 수 있다. 일부 구현예에서 용기는 조성물을 그 자체로 또는 병태를 치료, 예방 및/또는 진단하는 데 효과적인 다른 조성물과 조합하여 담는다. 일부 구현예에서, 용기는 멸균 접근 포트를 갖는다. 예시적인 용기에는 주사용 바늘에 의해 천공될 수 있는 마개가 있는 것 또는 경구 투여 제제를 위한 병 또는 바이알을 포함하여 정맥내 주사용 용액백, 바이알 등이 포함된다. 라벨 또는 포장 삽입물은 조성물이 질병 또는 병태를 치료하는 데 사용되는 것임을 나타낼 수 있다. 제조품은 (a) 내부에 조성물이 함유되어 있고, 조성물이 제조품 수용체를 발현하는 조작된 세포를 포함하는 제1 용기, 및 (b) 내부에 조성물이 함유되어 있고, 조성물이 제조품 수용체를 발현하는 조작된 세포의 아형(subtype)을 포함하는 제1 용기, 및 (b) 내부에 조성물이 함유되어 있고, 조성물이 제조품 수용체를 발현하는 조작된 세포의 다른 아형을 포함하는 제2 용기를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 제조품은 (a) 내부에 제1 조성물이 함유되어 있고, 조성물이 제조품 수용체를 발현하는 조작된 세포의 아형(subtype)을 포함하는 제1 용기, 및 (b) 내부에 조성물이 함유되어 있고, 조성물이 제조품 수용체를 발현하는 조작된 세포의 다른 아형을 포함하는 제2 용기를 포함할 수 있다. 제조품은 조성물이 특정 병태를 치료하는 데 사용할 수 있음을 나타내는 포장 삽입물을 더 포함할 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 제조품은 약학적으로 허용 가능한 완충제를 포함하는 다른 용기 또는 동일한 용기를 추가로 포함할 수 있다. 다른 완충제, 희석제, 필터, 바늘 및/또는 주사기와 같이 다른 물질이 추가로 포함될 수 있다.

[0766] **VIII. 예시적인 구현예**

[0767] 제공된 구현예 중에는 하기가 있다:

[0768] 1. 세포 요법의 투여 후 독성이 발생할 위험성을 알아내는 방법으로서, 상기 방법은:

[0769] 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (small lymphocytic lymphoma, SLL)을 갖는 대상체에서, 림프절 종양 부담, 혈액 종양 부담 및 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율 중에서 선택되는 질병 부담의 하나 이상의 파라미터를 평가하는 단계, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 파라미터는 상기 세포 요법을 투여하기 전에 상기 대상체로부터 평가됨; 및

[0770] 개별적으로, 상기 하나 이상의 파라미터의 값을 각각의 파라미터에 대한 역치 수준과 비교하는 단계, 여기서:

[0771] (1) 하기와 같은 경우 상기 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 대상체를 식별하는 단계: (a) 상기 림프절 종양 부담이 림프절 종양 부담에 대한 역치 수준 이상이고; (b) 상기 혈액 종양 부담이 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준 미만이고; 및/또는 (c) 상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 상기 비율에 대한 역치 수준 미만임; 또는

[0772] (2) 하기와 같은 경우 상기 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 대상체를 식별하는 단계: (a) 상기 림프절 종양 부담이 림프절 종양 부담에 대한 역치 수준 미만이고; (b) 상기 혈액 종양 부담이 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준 이상이고; 및/또는 (c) 상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 상기 비율에 대한 역치 수준을 초과함;를 포함한다.

- [0773] 2. 구현에 1의 방법에서, 상기 대상체가 3급 이상의 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은:
- [0774] (i) 상기 대상체에 선택적으로 감소된 용량으로 상기 세포 요법을 투여하는 단계, 선택적으로 여기서:
- [0775] (a) 상기 방법은 상기 대상체에 상기 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 단계를 더 포함함; 및/또는
- [0776] (b) 상기 대상체에 대한 상기 세포 요법의 투여는 입원 환자 환경(in-patient setting)에서 및/또는 1일 이상 동안 병원에 입원하여 수행되거나 수행되도록 지정됨; 또는
- [0777] (ii) 상기 대상체에 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위한 상기 세포 요법 외의 대체 치료법을 투여하는 단계;를 더 포함한다.
- [0778] 3. 구현에 1의 방법에서, 상기 대상체가 3급 이상의 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은:
- [0779] (i) 상기 대상체에 상기 세포 요법을 투여하는 단계, 선택적으로 여기서:
- [0780] (a) 상기 대상체가 독성의 징후 또는 증상을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때(선택적으로 상기 대상체가 지속 열 또는 해열제로 치료 후 1℃ 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타낼 때 또는 그 후)까지, 상기 대상체는 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여받지 않음; 및/또는
- [0781] (b) 선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1℃ 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 외래환자 기준으로 및/또는 상기 대상체를 병원에 입원시키지 않고 및/또는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 및/또는 병원에 입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이, 상기 세포 요법의 투여 및 임의의 후속 조치가 수행됨;를 더 포함한다.
- [0782] 4. 세포 요법 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법으로서, 상기 방법은:
- [0783] 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (small lymphocytic lymphoma, SLL)을 갖는 대상체에서, 림프절 종양 부담, 혈액 종양 부담 및 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율 중에서 선택되는 질병 부담의 하나 이상의 파라미터를 평가하는 단계, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 파라미터는 상기 세포 요법을 투여하기 전에 상기 대상체로부터 평가됨; 및
- [0784] 개별적으로, 상기 하나 이상의 파라미터의 값을 각각의 파라미터에 대한 역치 수준과 비교하는 단계, 여기서:
- [0785] (1) (a) 상기 림프절 종양 부담이 림프절 종양 부담에 대한 역치 수준 이상이고; (b) 상기 혈액 종양 부담이 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준 미만이고; 및/또는 (c) 상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 상기 비율에 대한 역치 수준 미만인 경우, 상기 대상체를:
- [0786] (i) 감소된 용량으로 상기 세포 요법의 투여;
- [0787] (ii) 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법의 투여;
- [0788] (iii) 입원 환자 환경(in-patient setting)에서 및/또는 1일 이상 동안 병원에 입원하여 수행되거나 수행되도록 지정된 세포 요법의 투여; 및/또는
- [0789] (iv) 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위한 상기 세포 요법 외의 대체 치료법의 투여;를 위해 선택하는 단계; 또는
- [0790] (2) (a) 상기 림프절 종양 부담이 림프절 종양 부담에 대한 역치 수준 미만이고; (b) 상기 혈액 종양 부담이 혈액 종양 부담에 대한 역치 수준 이상이고; 및/또는 (c) 상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 상기 비율에 대한 역치 수준을 초과한 경우, 상기 대상체를:
- [0791] (i) 세포 요법의 투여, 선택적으로 여기서:
- [0792] (a) 상기 대상체가 독성의 징후 또는 증상을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때(선택적으로 상기 대상체가 지속

열 또는 해열제로 치료 후 1℃ 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타낸 때 또는 그 후)까지, 상기 대상체는 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여받지 않음; 및/또는

- [0793] (b) 선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1℃ 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 외래환자 기준으로 및/또는 상기 대상체를 병원에 입원시키지 않고 및/또는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 및/또는 병원에 입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이, 상기 세포 요법의 투여 및 임의의 후속 조치가 수행됨;를 위해 선택하는 단계;를 포함한다.
- [0794] 5. 구현예 4의 방법에서, 상기 대상체에 세포 요법, 상기 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법 및/또는 대체 치료법을 투여하는 단계를 더 포함한다.
- [0795] 6. 구현예 1-5 중 어느 하나의 방법에서, 상기 혈액 중앙 부담을 평가하는 단계는 상기 대상체의 혈액 내의 림프구 농도를 알아내는 단계를 포함한다.
- [0796] 7. 구현예 6의 방법에서, 상기 농도는 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수이다.
- [0797] 8. 구현예 1-7 중 어느 하나의 방법에서, 상기 혈액 중앙 부담에 대한 역치 수준은 (약) 800 림프구/ $\mu\text{L}$  내지 (약) 3000 림프구/ $\mu\text{L}$ 의 값이다.
- [0798] 9. 구현예 8의 방법에서, 상기 혈액 중앙 부담에 대한 역치 수준은 (약) 800 림프구/ $\mu\text{L}$ , 900 림프구/ $\mu\text{L}$ , 1000 림프구/ $\mu\text{L}$ , 1250 림프구/ $\mu\text{L}$ , 1500 림프구/ $\mu\text{L}$ , 1750 림프구/ $\mu\text{L}$ , 2000 림프구/ $\mu\text{L}$ , 2250 림프구/ $\mu\text{L}$ , 2500 림프구/ $\mu\text{L}$ , 2750 림프구/ $\mu\text{L}$  또는 3000 림프구/ $\mu\text{L}$ 의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이다.
- [0799] 10. 구현예 1-9 중 어느 하나의 방법에서, 상기 림프절 부담을 평가하는 단계는 최대 림프절 직경을 알아내는 단계를 포함한다.
- [0800] 11. 구현예 10의 방법에서, 상기 최대 림프절 직경은 센티미터(cm)로 측정된다.
- [0801] 12. 구현예 10 또는 구현예 11의 방법에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 최대 림프절 직경에 대한 역치 수준은 (약) 4cm 내지 (약) 7cm의 값이다.
- [0802] 13. 구현예 10-12 중 어느 하나의 방법에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 최대 림프절 직경에 대한 역치 수준은 (약) 4 cm, 4.25 cm, 4.5 cm, 4.75 cm, 5 cm, 5.25 cm, 5.5 cm, 5.75 cm, 6 cm, 6.25 cm, 6.5 cm, 6.75 cm 또는 7 cm의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이다.
- [0803] 14. 구현예 1-19 중 어느 하나의 방법에서, 상기 림프절 중앙 부담에 대한 혈액 중앙 부담의 비율을 평가하는 단계는 센티미터(cm)로의 상기 최대 림프절 직경에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율을 알아내는 단계를 포함한다.
- [0804] 15. 구현예 14의 방법에서, 상기 림프절 중앙 부담에 대한 혈액 중앙 부담의 비율로서 상기 센티미터(cm)로의 최대 림프절 직경에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 300 내지 (약) 1000의 값이다.
- [0805] 16. 구현예 14 또는 구현예 15의 방법에서, 상기 림프절 중앙 부담에 대한 혈액 중앙 부담의 비율로서 상기 센티미터(cm)로의 최대 림프절 직경에 대한 혈액의 마이크로리터( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 또는 1000의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이다.
- [0806] 17. 구현예 1-9 중 어느 하나의 방법에서, 상기 림프절 부담을 평가하는 단계는 직경의 곱의 합 (SPD)을 알아내는 단계를 포함한다.
- [0807] 18. 구현예 17의 방법에서, 상기 SPD는 제곱 센티미터 ( $\text{cm}^2$ )로 측정된다.
- [0808] 19. 구현예 17 또는 구현예 18의 방법에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약) 10  $\text{cm}^2$  내지 (약) 40  $\text{cm}^2$ 의 값이다.
- [0809] 20. 구현예 17-19 중 어느 하나의 방법에서, 상기 림프절 부담으로서 상기 SPD에 대한 역치 수준은 (약) 10  $\text{cm}^2$ , 12.5  $\text{cm}^2$ , 15  $\text{cm}^2$ , 17.5  $\text{cm}^2$ , 20  $\text{cm}^2$ , 22.5  $\text{cm}^2$ , 25  $\text{cm}^2$ , 27.5  $\text{cm}^2$ , 30  $\text{cm}^2$ , 32.5  $\text{cm}^2$ , 35  $\text{cm}^2$ , 37.5  $\text{cm}^2$  또

는  $40 \text{ cm}^2$ 의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이다.

- [0810] 21. 구현에 1-9 및 17-20 중 어느 하나의 방법에서, 상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율을 평가하는 단계는 상기 제곱 센티미터 ( $\text{cm}^2$ )로의 직경의 곱의 합 (SPD)에 대한 혈액의 마이크로리터 ( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율을 알아내는 단계를 포함한다.
- [0811] 22. 구현에 21의 방법에서, 상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터 ( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 25 내지 (약) 500의 값이다.
- [0812] 23. 구현에 21 또는 구현에 22의 방법에서, 상기 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율로서 상기 SPD에 대한 혈액의 마이크로리터 ( $\mu\text{L}$ ) 당 림프구 수의 비율의 역치 수준은 (약) 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 또는 500의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이다.
- [0813] 24. 세포 요법의 투여 후 독성이 발생할 위험성을 알아내는 방법으로서, 상기 방법은:
- [0814] 종양 괴사 인자 (TNF) 및/또는 인터루킨-16 (IL-16)의 수준, 양 또는 농도에 대해 생물학적 샘플을 분석하는 단계, 상기 생물학적 샘플은 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (SLL)을 갖는 대상체로부터 유래되고, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 생물학적 샘플은 상기 세포 요법의 투여 전 또는 CAR+ T 세포 증폭 피크 전 및/또는 세포 요법의 투여 개시 후 (약) 11일 이내에 대상체로부터 획득됨; 및
- [0815] TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준에 대해 개별적으로 비교하는 단계, 여기서:
- [0816] TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL 내지 (약) 25 pg/mL의 값이고; 및/또는
- [0817] IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL 내지 (약) 1000 pg/mL의 값이며; 그리고
- [0818] (1) TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 상기 대상체를 식별하고; 또는
- [0819] (2) TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 상기 대상체를 식별함;를 포함한다.
- [0820] 25. 세포 요법의 투여 후 독성이 발생할 위험성을 알아내는 방법으로서, 상기 방법은:
- [0821] 종양 괴사 인자 (TNF) 및/또는 인터루킨-16 (IL-16)의 수준, 양 또는 농도에 대한 생물학적 샘플을 평가하는 단계, 상기 생물학적 샘플은 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (SLL)을 갖는 대상체로부터 유래되고, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 생물학적 샘플은 상기 세포 요법을 투여하기 전에 대상체로부터 획득됨; 및
- [0822] TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준에 대해 개별적으로 비교하는 단계, 여기서:
- [0823] TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL 내지 (약) 25 pg/mL의 값이고; 및/또는
- [0824] IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL 내지 (약) 1000 pg/mL의 값이며; 그리고
- [0825] (1) TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 상기 대상체를 식별하고; 또는
- [0826] (2) TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 세포 요법의 투여 후 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 상기 대상체를 식별함;를 포함한다.
- [0827] 26. 구현에 24 또는 구현에 25의 방법에서, 상기 대상체가 3급 이상의 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은:
- [0828] (i) 상기 대상체에 선택적으로 감소된 용량으로 상기 세포 요법을 투여하는 단계, 선택적으로 여기서:
- [0829] (a) 상기 방법은 상기 대상체에 상기 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 단계를 더 포함함; 및/또는

- [0830] (b) 상기 대상체에 대한 상기 세포 요법의 투여는 입원 환자 환경(in-patient setting)에서 및/또는 1일 이상 동안 병원에 입원하여 수행되거나 수행되도록 지정됨; 또는
- [0831] (ii) 상기 대상체에 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위한 상기 세포 요법 외의 대체 치료법을 투여하는 단계;를 더 포함한다.
- [0832] 27. 구현예 24 또는 구현예 25의 방법에서, 상기 대상체가 3급 이상의 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은:
- [0833] (i) 상기 대상체에 상기 세포 요법을 투여하는 단계, 선택적으로 여기서:
- [0834] (a) 상기 대상체가 독성의 징후 또는 증상을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때(선택적으로 상기 대상체가 지속 열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타낸 때 또는 그 후)까지, 상기 대상체는 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여받지 않음; 및/또는
- [0835] (b) 선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 외래환자 기준으로 및/또는 상기 대상체를 병원에 입원시키지 않고 및/또는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 및/또는 병원에 입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이, 상기 세포 요법의 투여 및 임의의 후속 조치가 수행됨;를 더 포함한다.
- [0836] 28. 세포 요법 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법으로서, 상기 방법은:
- [0837] 종양 괴사 인자 (TNF) 및/또는 인터루킨-16 (IL-16)의 수준, 양 또는 농도에 대한 생물학적 샘플을 평가하는 단계, 상기 생물학적 샘플은 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (SLL)을 갖는 대상체로부터 유래되고, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 생물학적 샘플은 상기 세포 요법을 투여하기 전에 대상체로부터 획득됨; 및
- [0838] TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준에 대해 개별적으로 비교하는 단계, 여기서:
- [0839] TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL 내지 (약) 25 pg/mL의 값이고; 및/또는
- [0840] IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL 내지 (약) 1000 pg/mL의 값이며; 그리고
- [0841] (1) TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 상기 대상체를
- [0842] (i) 감소된 용량으로 상기 세포 요법의 투여;
- [0843] (ii) 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법의 투여;
- [0844] (iii) 입원 환자 환경(in-patient setting)에서 및/또는 1일 이상 동안 병원에 입원하여 수행되거나 수행되도록 지정된 세포 요법의 투여; 및/또는
- [0845] (iv) 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위한 상기 세포 요법 외의 대체 치료법의 투여;
- [0846] 를 위해 선택하는 단계; 또는
- [0847] (2) TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 상기 대상체를
- [0848] (i) 세포 요법의 투여, 선택적으로 여기서:
- [0849] (a) 상기 대상체가 독성의 징후 또는 증상을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때(선택적으로 상기 대상체가 지속 열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타낸 때 또는 그 후)까지, 상기 대상체는 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여받지 않음; 및/또는
- [0850] (b) 선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 외래환자 기준으로 및/또는 상기 대상체를 병원에 입원시키지 않고 및/또는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 및/또는 병원에 입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이, 상기 세포 요법의 투여 및 임의의 후속 조치가 수행됨;를 위해 선택하는 단계;를 포함한다.



- [0851] 29. 구현에 28의 방법에서, 상기 대상체에 세포 요법, 상기 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법 및/또는 대체 치료법을 투여하는 단계를 더 포함한다.
- [0852] 30. 세포 요법의 투여 후 독성이 발생할 위험성을 알아내는 방법으로서, 상기 방법은:
- [0853] TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도에 대해 대상체로부터의 생물학적 샘플을 평가하는 단계, 상기 대상체는 CLL 또는 SLL을 치료하기 위해 CAR을 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하는 세포 요법의 투여를 받았고, 상기 생물학적 샘플은 CAR+ T 세포 증폭 피크 전 및/또는 세포 요법의 투여 개시 후 (약) 11일 이내에 대상체로부터 획득됨; 및
- [0854] TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준에 대해 개별적으로 비교하는 단계, 여기서:
- [0855] TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL 내지 (약) 25 pg/mL의 값이고; 및/또는
- [0856] IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL 내지 (약) 1000 pg/mL의 값이며; 그리고
- [0857] (1) TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 상기 대상체를 식별하고; 또는
- [0858] (2) TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 상기 대상체를 식별함;을 포함한다.
- [0859] 31. 구현에 24 또는 구현에 30의 방법에서, 상기 대상체가 3급 이상의 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 경우, 상기 방법은 선택적으로 CAR+ T 세포 증폭 피크 전 및/또는 대상체에 세포 요법의 투여의 (약) 11일 이내에 대상체에 상기 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 단계; 및/또는 후속 조치는 입원 환자 환경(in-patient setting)에서 및/또는 1일 이상 동안 병원에 입원하여 수행됨;를 더 포함한다.
- [0860] 32. 구현에 24 또는 구현에 30의 방법에서, 대상체가 신경 독성이 발생할 위험이 없는 것으로 식별되는 경우, 선택적으로 상기 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내지 않는 한 또는 나타낼 때까지, 외래환자 기준으로 및/또는 상기 대상체를 병원에 입원시키지 않고 및/또는 병원에 하룻밤 숙박하지 않고 및/또는 병원에 입원 또는 하룻밤 숙박이 필요함 없이, 후속 조치가 수행된다.
- [0861] 33. 치료 방법으로서, 상기 방법은 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 식별되는 대상체에 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 단계, 상기 대상체는 CLL 또는 SLL를 치료하기 위한 세포 요법의 투여를 이전에 받았고, 여기서, 상기 제제를 투여할 때 또는 투여 직전에, CAR+ T 세포 증폭 피크 전 및/또는 세포 요법의 투여 개시의 (약) 11일 이내에 대상체로부터 획득된 생물학적 샘플 내 TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각에 대한 역치 수준을 초과하는 경우, 상기 대상체는 신경 독성이 발생할 위험이 있는 것으로 선택 또는 식별되며, 여기서:
- [0862] TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL 내지 (약) 25 pg/mL의 값이고; 및/또는
- [0863] IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL 내지 (약) 1000 pg/mL의 값임,를 포함한다.
- [0864] 34. 제제로의 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법으로서, 상기 방법은:
- [0865] TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도에 대해 대상체로부터의 생물학적 샘플을 평가하는 단계, 상기 대상체는 CLL 또는 SLL을 치료하기 위해 CD19에 결합하는 CAR을 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하는 세포 요법의 투여를 받았고, 상기 생물학적 샘플은 CAR+ T 세포 증폭 피크 전 및/또는 세포 요법의 투여 개시 후 (약) 11일 이내에 대상체로부터 획득됨; 및
- [0866] TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준에 대해 개별적으로 비교하는 단계, 여기서:
- [0867] TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL 내지 (약) 25 pg/mL의 값이고; 및/또는
- [0868] IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL 내지 (약) 1000 pg/mL의 값이며; 그리고
- [0869] TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 상기 대상체를 신경 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수 있는 제제 또는 다른 치료법의 투여를 위해 선택함,를 포함한다.
- [0870] 35. 구현에 34의 방법에서, 대상체에 독성의 발생 또는 발생 위험을 치료, 예방, 지연, 감소 또는 약화시킬 수

있는 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 단계를 더 포함한다.

- [0871] 36. 구현예 35의 방법에서, 상기 제제 또는 다른 치료법을 투여하는 것은 대상체가 지속열 또는 해열제로 치료 후 1°C 이상 감소되지 않았거나 감소되지 않은 열을 나타내는 시점에 수행된다.
- [0872] 37. 구현예 24-36 중 어느 하나의 방법에서, 상기 대상체에 세포 요법을 투여하는 것은 외래환자 기준으로 수행되고, TNF 및/또는 IL-16의 수준, 양 또는 농도가 역치 수준을 초과하는 경우, 방법은 환자를 1일 이상 동안 병원에 입원시키는 것을 포함한다.
- [0873] 38. 구현예 24-37 중 어느 하나의 방법에서, 상기 TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL, 8 pg/mL, 9 pg/mL, 10 pg/mL, 15 pg/mL, 20 pg/mL, 또는 25 pg/mL의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이다.
- [0874] 39. 구현예 24-38 중 어느 하나의 방법에서, 상기 VEGFC에 대한 역치 수준은 (약) 8 pg/mL 내지 (약) 10 pg/mL의 값이다.
- [0875] 40. 구현예 24-39 중 어느 하나의 방법에서, IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL, 500 pg/mL, 600 pg/mL, 700 pg/mL, 800 pg/mL, 900 pg/mL, 또는 1000 pg/mL의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이다.
- [0876] 41. 구현예 24-40 중 어느 하나의 방법에서, 상기 IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 500 pg/mL 내지 (약) 700 pg/mL의 값이다.
- [0877] 42. 구현예 24-41 중 어느 하나의 방법에서, 상기 TNF 및 IL-16 둘 다의 수준, 양 또는 농도가 평가되고; 및
- [0878] TNF에 대한 역치 수준은 (약) 7 pg/mL, 8 pg/mL, 9 pg/mL, 10 pg/mL, 15 pg/mL, 20 pg/mL, 또는 25 pg/mL의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이고,
- [0879] IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 400 pg/mL, 500 pg/mL, 600 pg/mL, 700 pg/mL, 800 pg/mL, 900 pg/mL, 또는 1000 pg/mL의 값 또는 임의의 상기 값 사이의 값이다.
- [0880] 43. 구현예 24-42 중 어느 하나의 방법에서, 상기 TNF 및 IL-16 둘 다의 수준, 양 또는 농도가 평가되고; 및
- [0881] TNF에 대한 역치 수준은 (약) 8 pg/mL 내지 (약) 10 pg/mL의 값이고; 및
- [0882] IL-16에 대한 역치 수준은 (약) 500 pg/mL 내지 (약) 700 pg/mL의 값임,를 포함한다.
- [0883] 44. 구현예 24-43 중 어느 하나의 방법에서, 상기 생물학적 샘플은 혈액, 혈장 또는 혈청 샘플이거나 이로부터 취득된다.
- [0884] 45. 구현예 24-44 중 어느 하나의 방법에서, 상기 평가는:
- [0885] (a) 생물학적 샘플을 TNF 및/또는 IL-16을 검출할 수 있거나 이에 특이적인 하나 이상의 시약과 접촉시키는 단계, 선택적으로 상기 하나 이상의 시약은 TNF 및/또는 IL-16을 특이적으로 인식하는 항체를 포함함; 및
- [0886] (b) 상기 하나 이상의 시약 및 TNF 및/또는 IL-16을 포함하는 복합체의 존재 또는 부재를 검출하는 단계;를 포함한다.
- [0887] 46. 구현예 24-45 중 어느 하나의 방법에서, 상기 평가는 면역분석을 포함한다.
- [0888] 47. 구현예 2-19 및 26-46 중 어느 하나의 방법에서, 상기 제제 또는 다른 치료법은 항-IL-6 항체, 항-IL-6R 항체 또는 스테로이드이거나 이를 포함한다.
- [0889] 48. 구현예 2-19 및 26-47 중 어느 하나의 방법에서, 상기 제제는 토실리주맙, 실투시맙 또는 텍사메타손이거나 이를 포함한다.
- [0890] 49. 구현예 1-48 중 어느 하나의 방법에서, 상기 신경 독성은 중증 신경 독성이다.
- [0891] 50. 구현예 1-49 중 어느 하나의 방법에서, 상기 신경 독성은 3급 이상의 신경 독성이다.
- [0892] 51. 세포 요법에 대한 반응 가능성(likelihood of a response)을 평가하는 방법으로서, 상기 방법은:
- [0893] 생물학적 샘플 내 혈관 내피 성장 인자 C (VEGFC) 및/또는 혈관 내피 성장 인자 수용체 1 (VEGFR1)의 수준, 양 또는 농도를 평가하는 단계, 상기 생물학적 샘플은 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (SLL)을 갖는 대상체로부터 유래되고, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는

조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 생물학적 샘플은 상기 세포 요법을 투여하기 전에 대상체로부터 획득됨; 및

- [0894] 상기 샘플 내 VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도를 역치 수준과 개별적으로 비교하는 단계, 여기서:
- [0895] (1) VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 높은 가능성을 갖는 것으로 상기 대상체를 식별하고; 또는
- [0896] (2) VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 낮은 가능성을 갖는 것으로 상기 대상체를 식별함;를 포함한다.
- [0897] 52. 세포 요법 치료를 위한 대상체를 선택하는 방법으로서, 상기 방법은:
- [0898] 생물학적 샘플 내 혈관 내피 성장 인자 C (VEGFC) 및/또는 혈관 내피 성장 인자 수용체 1 (VEGFR1)의 수준, 양 또는 농도를 평가하는 단계, 상기 생물학적 샘플은 세포 요법 치료를 위한 후보자인 만성 림프모구 백혈병 (chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종 (SLL)을 갖는 대상체로부터 유래되고, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 생물학적 샘플은 상기 세포 요법을 투여하기 전에 대상체로부터 획득됨; 및
- [0899] 상기 샘플 내 VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준과 개별적으로 비교함으로써, 대상체가 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 가능성을 알아내는 결과에 기초하여 치료에 반응할 가능성이 있는 대상체를 선택하는 단계, 여기서:
- [0900] (1) VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 높은 가능성을 갖는 것으로 상기 대상체를 식별하고; 또는
- [0901] (2) VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 낮은 가능성을 갖는 것으로 상기 대상체를 식별함;를 포함한다.
- [0902] 53. 구현에 51 또는 구현에 52의 방법에서, 치료를 위해 선택된 상기 대상체에게 상기 세포 요법을 투여하는 단계를 더 포함한다.
- [0903] 54. 치료 방법으로서, 상기 방법은:
- [0904] (a) 생물학적 샘플 내 혈관 내피 성장 인자 C (VEGFC) 및/또는 혈관 내피 성장 인자 수용체 1 (VEGFR1)의 수준, 양 또는 농도를 각각의 역치 수준과 개별적으로 비교함으로써, 대상체가 세포 요법에 대한 반응을 달성할 가능성을 알아내는 결과에 기초하여 치료에 반응할 가능성이 있는 대상체를 선택하는 단계, 여기서:
- [0905] (1) VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 미만인 경우, 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 높은 가능성을 갖는 것으로 상기 대상체를 식별하고; 또는
- [0906] (2) VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도가 각각의 역치 수준 이상인 경우, 상기 세포 요법에 대한 반응을 달성할 낮은 가능성을 갖는 것으로 상기 대상체를 식별함;
- [0907] 상기 생물학적 샘플은 세포 요법 치료를 위한 후보자인 CLL 또는 SLL을 갖는 대상체로부터 유래되고, 상기 세포 요법은 분화 클러스터 19 (CD19)에 결합하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 발현하는 T 세포를 포함하는 조작된 세포의 용량을 포함하고, 상기 생물학적 샘플은 상기 세포 요법을 투여하기 전에 대상체로부터 획득되고 및/또는 상기 대상체는 CAR을 발현하는 T 세포를 포함하지 않음; 및
- [0908] (b) 치료를 위해 선택된 대상체에게 상기 세포 요법을 투여하는 단계;를 포함한다.
- [0909] 55. 구현에 51-54 중 어느 하나의 방법에서, 상기 역치 수준은, 세포 요법을 받기 전에 대상체의 그룹으로부터 획득된 생물학적 샘플 내 VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균의 25% 이내, 20% 이내, 15% 이내, 10% 이내 또는 5% 이내이고 및/또는 표준 편차 이내이거나, 또는 (약) 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균 이상이고, 상기 그룹의 대상체 각각은 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위해 CAR을 발현하는 조작된 세포의 용량의 투여 후 반응을 달성하였고;
- [0910] 상기 역치 수준은 세포 요법을 받기 전에 대상체의 그룹으로부터 획득된 생물학적 샘플 내 VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도의 중앙값 또는 평균 보다 1.25배 이상, 1.3배 이상, 1.4배 이상 또는 1.5배 이상 높고, 상기 그룹의 대상체 각각은 상기 CLL 또는 SLL를 치료하기 위해 CAR을 발현하는 조작된 세포의 용량의 투

여 후 반응을 달성하였고;

- [0911] 상기 역치 수준은 상기 세포 요법 치료에 대한 후보자가 아닌 정상 또는 건강한 대상체의 그룹으로부터 수득된 생물학적 샘플 내 VEGFC 및/또는 VEGFR1의 수준, 양 또는 농도보다 1.25배 이상, 1.3배 이상, 1.4배 이상 또는 1.5배 이상 높다.
- [0912] 56. 구현예 51-55 중 어느 하나의 방법에서, 상기 VEGFC에 대한 역치 수준은 (약) 60 pg/mL 내지 (약) 70 pg/mL의 값이다.
- [0913] 57. 구현예 51-56 중 어느 하나의 방법에서, 상기 VEGFR1에 대한 역치 수준은 (약) 80 pg/mL 내지 (약) 120 pg/mL의 값이다.
- [0914] 58. 구현예 51-57 중 어느 하나의 방법에서, 상기 VEGFC 및 VEGFR1 둘 다의 수준, 양 또는 농도가 평가되고; 및
- [0915] VEGFC에 대한 역치 수준은 (약) 60 pg/mL 내지 (약) 70 pg/mL의 값이고; 및
- [0916] VEGFR1에 대한 역치 수준은 (약) 80 pg/mL 내지 (약) 120 pg/mL의 값임,를 포함한다.
- [0917] 59. 구현예 51-58 중 어느 하나의 방법에서, 상기 생물학적 샘플은 혈액, 혈장 또는 혈청 샘플이거나 이로부터 수득된다.
- [0918] 60. 구현예 51-59 중 어느 하나의 방법에서, 상기 평가는:
- [0919] (a) 생물학적 샘플을 VEGFC 및/또는 VEGFR1을 검출할 수 있거나 이에 특이적인 하나 이상의 시약과 접촉시키는 단계, 선택적으로 상기 하나 이상의 시약은 VEGFC 및/또는 VEGFR1을 특이적으로 인식하는 항체를 포함함; 및
- [0920] (b) 상기 하나 이상의 시약 및 VEGFC 및/또는 VEGFR1을 포함하는 복합체의 존재 또는 부재를 검출하는 단계;를 포함한다.
- [0921] 61. 구현예 51-60 중 어느 하나의 방법에서, 상기 평가는 면역분석을 포함한다.
- [0922] 62. 구현예 51-61 중 어느 하나의 방법에서, 상기 반응은 객관적 반응(objective response)을 포함한다.
- [0923] 63. 구현예 62의 방법에서, 상기 객관적 반응은 완전 반응(complete response, CR; 일부 경우에 완전 반응으로도 알려짐), 불완전 혈구 수치 회복을 동반한 완전 관해 (CRi), 완전 관해 (complete 반응, CR), 불완전 골수 회복을 동반한 CR (CRi), 결절성 부분 관해 PR (nPR), 부분 관해 (PR)를 포함한다.
- [0924] 64. 구현예 51-63 중 어느 하나의 방법에서, 상기 반응은 상기 세포 요법의 투여 개시 후 (약) 1, 2 또는 3개월 또는 그 이상에 평가되는 반응이다.
- [0925] 65. 구현예 51-64 중 어느 하나의 방법에서, 상기 반응은 상기 세포 요법의 투여 개시 후 (약) 3개월에 평가되는 반응이다.
- [0926] 66. 구현예 1-65 중 어느 하나의 방법에서, 상기 세포 요법의 투여 전에, 상기 대상체에 림프구 고갈 요법을 투여하는 것을 더 포함한다.
- [0927] 67. 구현예 1-66 중 어느 하나의 방법에서, 상기 방법은, 상기 대상체가 림프구 고갈 요법으로 사전 조절됨을 더 포함한다.
- [0928] 68. 구현예 66 또는 구현예 67에 있어서, 상기 림프구 고갈 요법은 플루다라빈 및/또는 사이클로포스파미드의 투여를 포함한다.
- [0929] 69. 구현예 66-68 중 어느 하나의 방법에서, 상기 림프구 고갈 요법은 2 내지 4일 동안, 선택적으로 3일 동안 매일, 약 200-400mg/m<sup>2</sup>, 선택적으로 (약) 300mg/m<sup>2</sup>(수치 포함)의 사이클로포스파미드의 투여, 및/또는 약 20-40mg/m<sup>2</sup>, 선택적으로 30mg/m<sup>2</sup>의 플루다라빈의 투여를 포함한다.
- [0930] 70. 구현예 66-69 중 어느 하나의 방법에서, 상기 림프구 고갈 요법은 3일 동안 매일 (약) 300mg/m<sup>2</sup>의 사이클로포스파미드 및 약 30mg/m<sup>2</sup>의 플루다라빈의 투여를 포함하고, 선택적으로 상기 세포의 용량은 상기 림프구 고갈 요법 후 적어도 (약) 2 내지 7일 후에 또는 상기 림프구 고갈 요법의 개시 후 적어도 (약) 2 내지 7일 후에 투여된다.

- [0931] 71. 구현예 1-70 중 어느 하나의 방법에서, 상기 대상체에게 브루톤 티로신 키나아제 억제제 (Bruton's Tyrosine Kinase inhibitor, BTKi)를 투여하는 것을 더 포함한다.
- [0932] 72. 구현예 71의 방법에서, 상기 BTKi는 이브루티닙이다.
- [0933] 73. 구현예 71 또는 구현예 72의 방법에서, 상기 BTKi 투여는 상기 세포 요법의 투여 개시 전에 개시된다.
- [0934] 74. 구현예 73의 방법에서, 상기 BTKi 투여는 상기 세포 요법의 투여 개시 후까지 계속된다.
- [0935] 75. 구현예 73 또는 구현예 74의 방법에서, 상기 BTKi 투여는 상기 세포 요법의 투여 개시 후 적어도 (약) 90일 동안 계속된다.
- [0936] 76. 구현예 72-75 중 어느 하나의 방법에서, 상기 이브루티닙은 1일 당 (약) 140 mg 또는 (약) 840 mg의 용량까지 투여된다.
- [0937] 77. 구현예 72-76 중 어느 하나의 방법에서, 상기 이브루티닙은 1일 당 (약) 280 mg 또는 (약) 560 mg의 용량까지 투여된다.
- [0938] 78. 구현예 72-77 중 어느 하나의 방법에서, 상기 이브루티닙은 1일 당 (약) 420 mg의 용량까지 투여된다.
- [0939] 79. 구현예 1-78 중 어느 하나의 방법에서, 상기 질병 또는 병태는 재발성 또는 불응성 (r/r) CLL이다.
- [0940] 80. 구현예 1-79 중 어느 하나의 방법에서, 상기 질병 또는 병태는 재발성 또는 불응성 (r/r) SLL이다.
- [0941] 81. 구현예 1-80 중 어느 하나의 방법에서, 상기 조작된 세포의 용량은 CAR을 발현하는 CD4<sup>+</sup> 세포 대 CAR을 발현하는 CD8<sup>+</sup> 세포의 정의된 비율로 포함하고, 선택적으로 상기 비율은 대략 1:3 내지 대략 3:1이다.
- [0942] 82. 구현예 1-81 중 어느 하나의 방법에서, 상기 조작된 세포의 용량은 CAR을 발현하는 CD4<sup>+</sup> 세포 대 CAR을 발현하는 CD8<sup>+</sup> 세포를 (대략) 1:1의 정의된 비율로 포함한다.
- [0943] 83. 구현예 1-82 중 어느 하나의 방법에서, 상기 조작된 세포의 용량은 (약)  $2.5 \times 10^7$ 개 총 CAR-발현 세포 내지 (약)  $1.0 \times 10^8$ 개 총 CAR-발현 세포를 포함한다.
- [0944] 84. 구현예 1-83 중 어느 하나의 방법에서, 상기 조작된 세포의 용량은 (약)  $2.5 \times 10^7$ 개 총 CAR-발현 세포를 포함한다.
- [0945] 85. 구현예 1-83 중 어느 하나의 방법에서, 상기 조작된 세포의 용량은 (약)  $5 \times 10^7$ 개 총 세포 또는 총 CAR-발현 세포를 포함한다.
- [0946] 86. 구현예 1-83 중 어느 하나의 방법에서, 상기 조작된 세포의 용량은 (약)  $1 \times 10^8$ 개 총 세포 또는 총 CAR-발현 세포를 포함한다.
- [0947] 87. 구현예 1-86 중 어느 하나의 방법에서, 상기 세포 요법의 투여는 복수의 개별 조성물을 투여하는 것을 포함하고, 상기 복수의 개별 조성물은 CD4<sup>+</sup> T 세포 및 CD8<sup>+</sup> T 세포 중 하나를 포함하는 제1 조성물 및 CD4<sup>+</sup> T 세포 및 CD8<sup>+</sup> T 세포 중 다른 하나를 포함하는 제2 조성물을 포함한다.
- [0948] 88. 구현예 1-87 중 어느 하나의 방법에서, 상기 제1 조성물은 상기 CD8<sup>+</sup> T 세포를 포함하고, 상기 제2 조성물은 상기 CD4<sup>+</sup> T 세포를 포함한다.
- [0949] 89. 구현예 88의 방법에서, 상기 제1 조성물의 투여 개시는 제2 조성물의 투여 개시 전에 수행되고, 선택적으로 48시간 이하의 간격으로 수행된다.
- [0950] 90. 구현예 81 내지 89 중 어느 하나에 있어서, 상기 CD4<sup>+</sup> T 세포에 의해 포함된 CAR 및/또는 상기 CD8<sup>+</sup> T 세포에 의해 포함된 CAR은 동일한 CAR을 포함하고/거나 상기 CD4<sup>+</sup> T 세포 및/또는 상기 CD8<sup>+</sup> T 세포는 동일한 CAR을 발현하도록 유전자 조작된다.
- [0951] 91. 구현예 1-90 중 어느 하나의 방법에서, 상기 세포 요법의 투여 전에, 상기 대상체는 CAR을 발현하는 세포의

또 다른 용량 또는 림프구 고갈 요법 이외의, 상기 CLL 또는 SLL에 대한 하나 이상의 선행 요법, 선택적으로 적어도 2개의 선행 요법으로 치료를 받았다.

- [0952] 92. 구현예 1-91 중 어느 하나의 방법에서, 상기 세포 요법의 투여 전에, 상기 대상체는 2개 이상의 선행 요법으로의 치료 후 관해된 이후에 재발했거나, 이에 대해 불응성이 되었고, 실패했고 및/또는 이에 불내성이었다.
- [0953] 93. 구현예 91 또는 구현예 92의 방법에서, 상기 하나 이상의 선행 요법은 키나아제 억제제, 선택적으로 브루톤 티로신 키나아제 (BTK)의 억제제, 선택적으로 이브루티닙; 베네토클락스; 플루다라빈 및 리툽시말을 포함하는 병용 요법; 방사선 요법; 및 조혈 줄기세포 이식 (HSCT) 중에서 선택된다.
- [0954] 94. 구현예 91-93 중 어느 하나의 방법에서, 상기 하나 이상의 선행 요법은 브루톤 티로신 키나아제 (BTK)의 억제제 및/또는 베네토클락스를 포함한다.
- [0955] 95. 구현예 91-94 중 어느 하나의 방법에서, 상기 하나 이상의 선행 요법은 이브루티닙 및 베네토클락스를 포함한다.
- [0956] 96. 구현예 91-94 중 어느 하나의 방법에서, 상기 대상체는 브루톤 티로신 키나아제 (BTK)의 억제제 및/또는 베네토클락스를 이용한 치료 후 관해된 이후 재발했고, 이에 불응성이 되었고, 치료에 실패했고 및/또는 이에 대해 불내성이다.
- [0957] 97. 구현예 91-96 중 어느 하나의 방법에서, 상기 대상체는 이브루티닙 및 베네토클락스를 이용한 치료 후 관해된 이후 재발했고, 이에 불응성이 되었고, 치료에 실패했고 및/또는 이에 대해 불내성이다.
- [0958] 98. 구현예 1-97 중 어느 하나의 방법에서, 상기 조작된 세포는 대상체로부터 수득된 1차 T 세포이다.
- [0959] 99. 구현예 1-98 중 어느 하나의 방법에서, 상기 조작된 세포는 상기 대상체에 대해 자가(autoologous)이다.
- [0960] 100. 구현예 1-99 중 어느 하나의 방법에서,
- [0961] 상기 CAR은 CD19에 특이적인 세포의 항원 결합 도메인, 막관통 도메인, 선택적으로 4-1BB인 공자극 분자로부터 유래된 세포질 신호 전달 도메인, 및 선택적으로 CD3제타인 1차 신호 전달 ITAM-함유 분자로부터 유래된 세포질 신호 전달 도메인을 포함하고;
- [0962] 상기 CAR은 CD19에 특이적인 세포의 항원 결합 도메인, 막관통 도메인, 공자극 분자로부터 유래된 세포질 신호 전달 도메인, 및 1차 신호 전달 ITAM-함유 분자로부터 유래된 세포질 신호 전달 도메인을 순서대로 포함한다.
- [0963] 101. 구현예 100의 방법에서, 상기 항원 결합 도메인은 scFv이다.
- [0964] 102. 구현예 101의 방법에서,
- [0965] 상기 scFv는 RASQDISKYLN(서열번호 35)의 CDRL1 서열, SRLHSGV(서열번호 36)의 CDRL2 서열 및/또는 GNTLPYTFG(서열번호 37)의 CDRL3 서열 및/또는 DYGV(서열번호 38)의 CDRH1 서열, VIWGSETTYNSALKS(서열번호 39)의 CDRH2 서열 및/또는 YAMDYWG(서열번호 40)의 CDRH3 서열을 포함하고;
- [0966] 상기 scFv는 FMC63의 가변 중쇄 영역 및 FMC63의 가변 경쇄 영역 및/또는 FMC63의 CDRL1 서열, FMC63의 CDRL2 서열, FMC63의 CDRL3 서열, FMC63의 CDRH1 서열, FMC63의 CDRH2 서열, 및 FMC63의 CDRH3 서열을 포함하거나 전술한 임의의 것과 동일한 에피토프에 결합하거나 전술한 임의의 것과 결합을 위해 경쟁하고;
- [0967] 상기 scFv는 서열번호 41에 제시된 V<sub>H</sub> 및 서열번호 42에 제시된 V<sub>L</sub> 을 포함하고, 선택적으로 상기 V<sub>H</sub> 및 V<sub>L</sub> 은 가요성 링커에 의해 분리되고, 선택적으로 상기 가요성 링커는 서열번호 24에 제시된 서열이거나 이를 포함하고; 및/또는
- [0968] 상기 scFv는 서열번호 43에 제시된 서열이거나 이를 포함한다.
- [0969] 103. 구현예 00-102 중 어느 하나의 방법에서, 상기 공자극 신호 전달 영역은 CD28 또는 4-1BB의 신호 전달 도메인이다.
- [0970] 104. 구현예 100-103 중 어느 하나의 방법에서, 상기 공자극 신호 전달 영역은 4-1BB의 신호 전달 도메인이다.
- [0971] 105. 구현예 100-104 중 어느 하나의 방법에서, 상기 공자극 도메인은 서열번호 12 또는 이와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한다.

- [0972] 106. 구현예 100-105 중 어느 하나의 방법에서, 상기 1차 신호 전달 도메인은 CD3제타 신호 전달 도메인이다.
- [0973] 107. 구현예 100-106 중 어느 하나의 방법에서, 상기 1차 신호 전달 도메인은 서열번호 13 또는 14 또는 15, 또는 이와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한다.
- [0974] 108. 구현예 100-107 중 어느 하나의 방법에서, 상기 CAR은 상기 막관통 도메인과 상기 scFv 사이에 스페이서를 더 포함한다.
- [0975] 109. 구현예 108의 방법에서, 상기 스페이서는 면역글로불린 힌지 또는 이의 변형된 버전, 선택적으로 IgG4 힌지 또는 이의 변형된 버전의 전부 또는 일부를 포함하거나 이로 구성된 폴리펩타이드 스페이서이다.
- [0976] 110. 구현예 108 또는 구현예 109의 방법에서, 상기 스페이서는 약 15개 아미노산 이하이고, CD28 세포외 영역 또는 CD8 세포외 영역을 포함하지 않는다.
- [0977] 111. 구현예 108-110 중 어느 하나의 방법에서, 상기 스페이서는 (약) 12개의 아미노산 길이이다.
- [0978] 112. 구현예 108-111 중 어느 하나의 방법에서,
- [0979] 상기 스페이서는 서열번호 1의 서열, 서열번호 2, 서열번호 30, 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 33, 서열번호 34 또는 이와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 갖는 상기 중 임의의 것의 변이체에 의해 암호화된 서열을 갖거나 이로 구성되고; 및/또는
- [0980] 화학식  $X_1PPX_2P$ 를 포함하거나 이로 구성되되, 여기서  $X_1$ 은 글리신, 시스테인 또는 아르기닌이고  $X_2$ 는 시스테인 또는 트레오닌이다.
- [0981] 113. 구현예 100-112 중 어느 하나의 방법에서, 상기 scFv는 RASQDISKYLN(서열번호 35)의 아미노산 서열, SRLHSGV(서열번호 36)의 아미노산 서열 및/또는 GNTLPYTFG(서열번호 37)의 아미노산 서열 및/또는 DYGVV(서열번호 38) 아미노산 서열, VIWGSETTYNSALKS(서열번호 39)의 아미노산 서열 및/또는 YAMDYWG(서열번호 40)의 아미노산 서열을 포함하고, 또는 상기 scFv는 FMC63의 가변 중쇄 영역 및 FMC63의 가변 경쇄 영역 및/또는 FMC63의 CDRL1 서열, FMC63의 CDRL2 서열, FMC63의 CDRL3 서열, FMC63의 CDRH1 서열, FMC63의 CDRH2 서열, 및 FMC63의 CDRH3 서열을 포함하거나, 전술한 임의의 것과 결합을 위해 경쟁하고, 선택적으로 상기 scFv는  $V_H$ , 선택적으로 서열번호 24를 포함하는 링커, 및  $V_L$ 를 순서대로 포함하고, 및/또는 상기 scFv는 가요성 링커를 포함하고 및/또는 서열번호 43으로 제시된 아미노산 서열을 포함하고; 및/또는
- [0982] 상기 스페이서는 (a) 면역 글로불린 힌지 또는 이의 변형된 버전의 전부 또는 일부를 포함하거나 이로 구성되거나, 약 15개 이하의 아미노산을 포함하고, CD28 세포외 영역 또는 CD8 세포외 영역을 포함하지 않고, (b) 면역 글로불린 힌지, 선택적으로 IgG4 힌지, 또는 이의 변형된 버전의 전부 또는 일부를 포함하거나 이로 구성되고 및/또는 약 15개 이하의 아미노산을 포함하고, CD28 세포외 영역 또는 CD8 세포외 영역을 포함하지 않고, 또는 (c) (약) 12개의 아미노산 길이이고 및/또는 면역글로불린 힌지, 선택적으로 IgG4, 또는 이의 변형된 버전의 전부 또는 일부를 포함하거나 이로 구성되고; 또는 (d) 서열번호 1의 서열, 서열번호 2, 서열번호 30, 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 33, 서열번호 34 또는 이와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 갖는 상기 중 임의의 것의 변이체에 의해 암호화된 서열을 갖거나 이로 구성되고, 또는 (e) 화학식  $X_1PPX_2P$ 를 포함하거나 이로 구성되되, 여기서  $X_1$ 은 글리신, 시스테인 또는 아르기닌이고  $X_2$ 는 시스테인 또는 트레오닌인, 폴리펩타이드 스페이서이고; 및/또는
- [0983] 상기 공자극 도메인은 서열번호 12 또는 이와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함하고; 및/또는상기 1차 신호 전달 도메인은 서열번호 13, 14 또는 15, 또는 이와 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 갖는 이의 변이체를 포함한다.
- [0984] 114. 구현예 100-113 중 어느 하나의 방법에서,
- [0985] 상기 항원 결합 도메인은 FMC63의 가변 중쇄 영역 및 FMC63의 가변 경쇄 영역을 포함하는 scFv를 포함하고; 상기 CAR은 서열번호 1의 서열을 포함하는 폴리펩타이드 스페이서인 스페이서를 더 포함하고; 상기 공자극 도메인은 서열번호 12를 포함하고; 및 상기 1차 신호 전달 도메인은 서열번호 13, 14 또는 15를 포함한다.

- [0986] 115. 구현예 1-114 중 어느 하나의 방법에서, 상기 대상체는 인간 대상체이다.
- [0987] 116. 구현예 51-115 중 어느 하나의 방법에서, 상기 평가는 효소결합면역흡착분석(ELISA), 면역블로팅, 면역침강법, 방사선면역분석(RIA), 면역 염색법, 유세포 분석법, 표면 플라즈몬 공명(SPR), 화학발광 분석, 측면 유동면역분석, 억제 분석 또는 결합력(avidity) 분석을 포함한다.
- [0988] 117. 구현예 51-116 중 어느 하나의 방법에서, 상기 평가는 효소결합면역흡착분석(ELISA), 선택적으로 비드-기반 ELISA를 포함한다.
- [0989] 118. 구현예 1-23 및 65-117 중 어느 하나의 방법에서, 상기 질병 부담의 하나 이상의 파라미터의 값은 상기 대상체에 림프구 고갈 요법의 투여 전의 질병 부담의 하나 이상의 파라미터의 값이다.
- [0990] 119. 구현예 1-23 및 65-118 중 어느 하나의 방법에서, 상기 질병 부담의 하나 이상의 파라미터는 상기 대상체에 림프구 고갈 요법의 투여 전에 평가된다.
- [0991] 120. 구현예 24-117 중 어느 하나의 방법에서, 상기 생물학적 샘플은 상기 대상체에게 상기 림프구 고갈 요법을 투여하기 전에 상기 대상체로부터 획득된다.
- [0992] 121. 세포 요법은 구현예 1-120 중 어느 하나의 방법에 따라, 만성 림프모구 백혈병(chronic lymphoblastic leukemia, CLL) 또는 소형 림프구성 림프종(SLL)을 갖는 대상체를 치료하는 방법에 사용하기 위한 CD19에 결합하는 CAR을 발현하는 T 세포를 포함한다.
- [0993] 122. 제조품은 CD19에 결합하는 CAR을 발현하는 T 세포를 포함하는, 세포 요법을 위한 조성물, 또는 세포 요법을 위한 복수의 조성물 중 하나, 및 상기 세포 요법을 투여하기 위한 지침을 포함하고, 상기 지침은 구현예 1-120 중 어느 하나의 방법에 따라 상기 T 세포 조성물을 투여하는 것을 지정한다.
- [0994] **IX. 정의**
- [0995] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 용어, 표기법 및 다른 기술 및 과학 용어 또는 전문 용어는 청구된 주제가 속하는 기술 분야의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는 것으로 의도된다. 일부 경우에, 일반적으로 이해되는 의미를 갖는 용어는 명확성 및/또는 용이한 참조를 위해 본원에서 정의되며, 본원에 상기 정의를 포함하는 것이 당업계에서 일반적으로 이해되는 것과 실질적인 차이를 나타내는 것으로 반드시 해석되는 것은 아니다.
- [0996] 용어 “폴리펩타이드(polypeptide)” 및 “단백질(protein)”은 아미노산 잔기의 중합체를 지칭하기 위해 상호 교환적으로 사용되며, 최소 길이로 제한되지 않는다. 제공된 수용체 및 다른 폴리펩타이드(예를 들어, 링커 또는 펩타이드)를 포함하는 폴리펩타이드는 천연 및/또는 비천연 아미노산 잔기를 포함하는 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 상기 용어들은 또한 폴리펩타이드의 발현 후 변형, 예를 들어 글리코실화, 시알릴화, 아세틸화, 및 인산화를 포함한다. 일부 관점에서, 폴리펩타이드는 단백질이 원하는 활성을 유지하는 한 천연 또는 자연 서열에 대한 변형을 함유할 수 있다. 상기 변형은 부위-지정 돌연변이 유발을 통한 것과 같이 의도적일 수 있거나, 단백질을 생성하는 숙주의 돌연변이 또는 PCR 증폭으로 인한 오류를 통한 것과 같이 우발적일 수 있다.
- [0997] 본원에 사용된 바와 같이, “대상체(subject)”는 인간 또는 다른 동물과 같은 포유동물이며, 통상적으로 인간이다. 일부 구현예에서, 제제 또는 제제들, 세포, 세포 집단, 또는 조성물이 투여되는 대상체(예를 들어, 환자)는 포유동물이며, 통상적으로 인간 등의 영장류이다. 일부 구현예에서, 영장류는 원숭이 또는 유인원이다. 대상체는 남성(수컷) 또는 여성(암컷)일 수 있으며, 유아, 소아, 청소년, 성인 및 노인 대상체를 포함한 임의의 적합한 연령일 수 있다. 일부 구현예에서, 대상체는 설치류와 같은 비영장류 포유동물이다.
- [0998] 본원에서 사용된 바와 같은 “치료(treatment, treat, treating)”는 질병 또는 병태 또는 장애 또는 이와 관련된 증상, 역효과 또는 결과 또는 표현형의 완전한 또는 부분적인 개선 또는 감소를 지칭한다. 치료의 바람직한 효과는 질병의 발생 또는 재발의 예방, 증상의 완화, 질병의 직접적 또는 간접적인 병리적 결과 중 어느 하나의 감소, 전이 예방, 질병 진행의 속도 감소, 질병 상태의 개선 또는 완화 및 관해(remission) 또는 향상된 예후를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 상기 용어는 질병의 완전한 치료 또는 임의의 증상의 완전한 제거 또는 모든 증상 또는 결과에 대한 효과(들)를 의미하지 않는다.
- [0999] 본원에서 사용된 바와 같은 “질병의 발병 지연(delaying development of a disease)”은 질병(예컨대 암)의 발병을 미룸, 방해, 늦춤, 지연, 안정화, 억제 및/또는 연기하는 것을 의미한다. 상기 지연은 치료 중인 개체 및/또는 질병의 이력에 따라 다양한 시간의 길이일 수 있다. 일부 구현예에서, 충분하거나 유의미한 지연은 개



체에 질병이 발병하지 않는다는 점에서 사실상 예방을 포함할 수 있다. 예를 들면, 전이의 발병과 같이 말기 암이 지연될 수 있다.

- [1000] 본원에서 사용된 바와 같은 “예방(preventing)”은 질병에 걸릴 성향을 가질 수 있으나 아직 질병으로 진단되지 않은 대상체에서 질병의 발생 또는 재발과 관련하여 예방을 제공하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서, 제공된 세포 및 조성물은 질병의 발병을 지연시키거나 질병의 진행을 늦추는 데 사용된다.
- [1001] 본원에서 사용된 바와 같이, 기능 또는 활성을 “억제(suppress)”한다는 것은 다른 조건과 비교하여 또는 대안적으로 관심 조건 또는 파라미터를 제외하고 달리 동일한 조건과 비교할 때 기능 또는 활성을 감소시키는 것이다. 예를 들어, 종양 성장을 억제하는 세포는 세포의 부재 시에 종양의 성장 속도에 비해 종양의 성장 속도를 감소시킨다.
- [1002] 제제, 예를 들어 약학적 제형, 세포 또는 조성물의 “유효량(effective amount)”은 투여의 맥락에서, 치료적 또는 예방적 결과와 같은 원하는 결과를 달성하기 위해 투여량/양에서와 필요한 기간 동안의 효과적인 양을 지칭한다.
- [1003] 제제, 예를 들어 약학적 제형 또는 세포의 “치료적 유효량(therapeutically effective amount)”은 예컨대 질병, 병태 또는 장애의 치료 및/또는 치료의 약동학적 또는 약력학적 효과를 위해 원하는 치료적 결과를 달성하기 위해 필요한 투여량에서와 기간 동안의 효과적인 양을 지칭한다. 치료적 유효량은 대상체의 질병 상태, 연령, 성별 및 체중 및 투여된 세포의 집단과 같은 인자에 따라 달라질 수 있다. 일부 구현예에서, 제공된 방법은 세포 및/또는 조성물을 유효량, 예를 들어 치료적 유효량으로 투여하는 것을 포함한다.
- [1004] “예방적 유효량(prophylactically effective amount)”은 원하는 예방적 결과를 달성하기 위해 필요한 투여량에서와 시간 동안의 효과적인 양을 지칭한다. 반드시는 아니나 통상적으로, 예방적 투여량이 질병 이전 또는 초기 단계의 대상체에서 사용되기 때문에, 예방적 유효량은 치료적 유효량보다 적을 것이다. 더 낮은 종양 부담의 맥락에서, 예방적 유효량은 일부 관점에서 치료적 유효량보다 더 많을 것이다.
- [1005] 본원에 사용된 용어 “약(about)”은 본 기술 분야의 당업자에게 용이하게 공지된 각각의 값에 대한 일반적인 오차 범위를 지칭한다. 본원에서 “약(about)”의 값 또는 파라미터에 대한 언급은 상기 값 또는 파라미터 자체에 관한 구현예를 포함(및 기술)한다.
- [1006] 본원에 사용된 바와 같이, 단수 형태(“a”, “an” 및 “the”)는 문맥상 명백하게 다르게 지시하지 않는 한 복수의 지시 대상을 포함한다. 예를 들어, 단수 형태(“a” 또는 “an”)는 “적어도 하나(at least one)” 또는 “하나 이상(one or more)”을 의미한다.
- [1007] 본 개시 내용 전체에서, 청구된 주제의 다양한 관점이 범위 형식으로 제시된다. 범위 형식의 기재는 단지 편의 및 간결성을 위한 것이며 청구된 주제의 범위에 대한 융통성 없는 제한으로 해석되어서는 안된다는 것을 이해해야 한다. 따라서, 범위의 기재는 모든 가능한 하위 범위 및 상기 범위 내의 개별 수치를 구체적으로 개시한 것으로 간주되어야 한다. 예를 들어, 값의 범위가 제공되는 경우, 상기 범위의 상한 내지 하한 사이 각각의 사이에 오는 값과 상기 언급된 범위에서 임의의 다르게 언급되거나 사이에 오는 값은 청구된 주제 내에 포함되는 것으로 이해된다. 상기 더 작은 범위의 상한 내지 하한은 독립적으로 더 작은 범위에 포함될 수 있고, 또한 언급된 범위에서 임의의 구체적으로 배제된 한계를 조건으로, 청구된 주제 내에 포함된다. 언급된 범위가 한계 중 하나 또는 둘 모두를 포함하는 경우, 상기 포함된 한계 중 하나 또는 둘 모두를 제외한 범위도 청구된 주제에 포함된다. 이는 범위의 폭에 관계없이 적용된다.
- [1008] 본원에 사용된 바와 같이, 조성물(composition)은 세포를 포함하여 둘 이상의 산물, 물질 또는 화합물의 임의의 혼합물을 지칭한다. 이는 용액, 현탁액, 액체, 분말, 페이스트, 수성, 비수성 또는 이들의 임의의 조합물일 수 있다.
- [1009] 본원에 사용되는 바와 같이, 하나 이상의 특정 세포 유형 또는 세포 집단을 지칭할 때 “농축(enriching)”은 예를 들어 조성물에서 세포의 총 수 또는 조성물의 부피와 비교하여, 또는 다른 세포 유형에 대비하여, 예컨대 집단 또는 세포에 의해 발현되는 마커에 기초한 양성 선택에 의해, 또는 고갈될 세포 집단 또는 세포에 존재하지 않는 마커에 기초한 음성 선택에 의해 세포 유형 또는 집단의 수 또는 백분율을 증가시키는 것을 지칭한다. 상기 용어는 조성물로부터 다른 세포, 세포 유형, 또는 집단의 완전한 제거가 필요하지 않으며 농축된 조성물에서 세포가 100% 또는 거의 100%로 존재하도록 농축될 필요는 없다.
- [1010] 본원에 사용된 바와 같이, 세포 또는 세포의 집단이 특정 마커에 대해 “양성(positive)”이라는 진술은 특정

마커, 통상적으로 표면 마커가 세포 상에 또는 세포 내에 검출 가능하게 존재함을 지칭한다. 표면 마커를 언급할 때, 상기 용어는 유세포 분석에 의해, 예를 들어, 이 마커에 특이적으로 결합하는 항체로 염색하고 상기 항체를 검출함으로써 검출된 바와 같은 표면 발현의 존재를 지칭하며, 이 염색은 달리 동일한 조건 하에서 동종형-매칭된 대조군으로 또는 형광 마이너스 1(FMO) 게이팅 대조군으로 같은 절차를 수행하여 검출된 염색보다 실질적으로 상위 수준에서 및/또는 마커에 대해 양성인 것으로 공지된 세포에 대한 것과 실질적으로 유사한 수준에서 및/또는 마커에 대해 음성인 것으로 공지된 세포에 대한 것보다 실질적으로 더 높은 수준에서 유세포 분석에 의해 검출 가능하다.

[1011] 본원에 사용된 바와 같이, 세포 또는 세포의 집단이 특정 마커에 대해 “음성(negative)” 이라는 진술은 특정 마커, 통상적으로 표면 마커가 세포 상에 또는 세포 내에 실질적으로 검출 가능하게 존재하지 않음을 지칭한다. 표면 마커를 언급할 때, 상기 용어는 유세포 분석에 의해, 예를 들어, 이 마커에 특이적으로 결합하는 항체로 염색하고 상기 항체를 검출함으로써 검출된 바와 같은 표면 발현의 부재를 지칭하며, 이 염색은 달리 동일한 조건 하에서 동종형-매칭된 대조군으로 또는 형광 마이너스 1(FMO) 게이팅 대조군으로 같은 절차를 수행하여 검출된 염색보다 실질적으로 상위 수준에서 및/또는 마커에 대해 양성인 것으로 공지된 세포에 대한 것보다 실질적으로 더 낮은 수준에서 및/또는 마커에 대해 음성인 것으로 공지된 세포에 대한 것과 비교하여 실질적으로 유사한 수준에서 유세포 분석에 의해 검출되지 않는다.

[1012] 본원에 사용된 바와 같은 용어 “벡터(vector)” 는 이에 연결된 다른 핵산을 번식시킬 수 있는 핵산 분자를 지칭한다. 상기 용어는 자가-복제 핵산 구조로서의 벡터 및 이것이 도입된 숙주 세포의 계놈 내로 편입된 벡터를 포함한다. 특정 벡터는 자신이 작동 가능하게 연결된 핵산의 발현을 지시할 수 있다. 이러한 벡터를 본원에서 “발현 벡터(expression vector)” 로 지칭한다.

[1013] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 용어, 표기법 및 다른 기술 및 과학 용어 또는 전문 용어는 청구된 주제가 속하는 기술 분야에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는 것으로 의도된다. 일부 경우에, 일반적으로 이해되는 의미를 갖는 용어는 명확성 및/또는 용이한 참조를 위해 본원에서 정의되며, 본원에 상기 정의를 포함하는 것이 일반적으로 이해되는 것과 실질적인 차이를 나타내는 것으로 반드시 해석되는 것은 아니다.

[1014] 본 출원에서 언급된 특허 문헌, 과학 논문 및 데이터베이스를 포함한 모든 출판물은 각각의 개별 출판물이 개별적으로 참조로 통합된 것과 동일한 정도로 모든 목적을 위해 그 전체가 참조로 포함된다. 본원에 제시된 정의가 본원에 참조로 포함된 특허, 출원, 공개된 출원 및 기타 출판물에 제시된 정의와 상반되거나 달리 부합하지 않는 경우, 본원에 제시된 정의가 본원에 참조로 포함된 정의보다 우선한다.

[1015] 본원에 사용된 섹션 제목은 단지 구성을 위한 목적이며 기재된 주제를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.

[1016] **X. 실시예**

[1017] 하기 실시예들은 예시적인 목적으로만 포함되며 본 발명의 범위를 한정하려는 의도는 아니다.

[1018] **실시예 1: 재발성 및 불응성 만성 림프구성 백혈병(CLL) 또는 소형 림프구성 림프종(SLL)을 가진 대상체에 항-CD19 CAR-발현 세포의 투여**

[1019] CD19에 특이적인 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 자가 T 세포를 함유하는 치료용 CAR+ T 세포를 만성 림프구성 백혈병(CLL) 또는 소형 림프구성 림프종(SLL)을 가진 인간 대상체에 투여하였다.

[1020] 대상체는 18세 이상이었고 CLL 또는 SLL 진단을 받았다. CLL 진단은 만성 림프구성 백혈병에 대한 국제 워크숍(International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia, iwCLL) 지침 및 임상 측정 가능 질병(> 30% 림프구에 의한 골수 관여, 말초 혈액 림프구증가증 > 5x10<sup>9</sup>/L, 및/또는 측정 가능 림프절 및/또는 간 비대 또는 비장 비대)에 기초한 치료 적응증이 있었다. SLL 진단은 림프절병 및/또는 비장 비대 및 SLL 진단을 받고 적어도 하나의 병변이 가장 큰 횡방향 직경에서 > 1.5cm로 정의된 측정 가능한 질병으로 진단 시 말초 혈액에 < 5x10<sup>9</sup> CD19+ CD5+ 클론성 B 림프구/L [< 5000/μL]에 기초하였고, 생검으로 증명된 SLL이다.

[1021] 대상체는 안정적인 질병 (SD) 또는 진행성 질병 (PD)에 의해 결정된 바와 같이 브루톤 티로신 키나아제 억제제(BTKi, 예를 들어, 이브루티닙)를 이전에 투여한 후, 최상의 반응으로서, 이전의 반응 후 PD, 또는 불내증(예를 들어, 관리불가능한 독성)으로 인한 중단으로서 치료를 실패하였거나, 또는 전-용량 항응고 또는 병력 또는 부정맥에 대한 요건으로 인해 BTKi를 이용한 치료에 부적격이었다. 보다 구체적으로, 대상체는 (복합 세포유전

학적 이상 (예를 들어, 복합 핵형), del (17p), TP53 돌연변이, 돌연변이되지 않은 IGVH에 의해 결정된 바와 같고 (예를 들어, 적어도) 2종의 선행 요법 (BTKi, 예를 들어, 이브루티닙을 이용한 치료를 포함함)이 의학적으로 금기되지 않는 한) 높은 위험 질병을 가졌거나; 또는 대상체가 표준-위험 질병을 가졌고 (예를 들어, 적어도) 3종의 선행 요법 (BTKi, 예를 들어, 이브루티닙을 이용한 치료를 포함함)이 의학적으로 금기되지 않는 한) 보다 크거나 또는 같았고, 1 이하의 Eastern Cooperative Oncology Group 성능 상태 (ECOG PS)를 가졌다면 적격이었다. 활성의 미치료 CNS 질병, ECOG >1, 또는 리히터 형질전환을 가진 대상체는 배제하였다.

[1022] **A. 치료**

[1023] 적격인 대상체에게 항-CD19 CAR을 발현하는 조작된 세포를 함유하는 치료적 T 세포 조성물을 투여하였다. 투여한 치료용 T 세포 조성물은 치료할 개별 대상체로부터 유래된 백혈구 성분채집술 샘플로부터 CD4+ 및 CD8+의 면역 친화도 기반(예를 들어, 면역 자기성 선택) 농축을 포함한 공정에 의해 생성되었다. 단리된 CD4+ 및 CD8+ T 세포를 개별적으로 활성화하고 항-CD19 CAR을 암호화하는 바이러스 벡터(예를 들어, 렌티바이러스 벡터)로 독립적으로 형질도입 후, 조작된 세포 집단을 저용량으로 개별적으로 증폭 및 냉동 보존하였다. 상기 CAR은 무린 항체로부터 유래된 항-CD19 scFv(FMC63)로부터 유래한 가변 영역, VL-링커-VH), 면역글로불린 유래 스페이서, CD28로부터 유래된 막관통 도메인, 4-1BB로부터 유래된 공자극 영역, 및 CD3-제타 세포내 신호 전달 도메인을 함유하였다. 상기 바이러스 벡터는 또한, T2A 리보솜 스킵 서열에 의해 CAR 서열로부터 분리된, CAR 발현에 대한 대리 마커 기능을 한 절단형 수용체를 암호화하는 서열을 함유하였다.

[1024] 정맥내 투여 전에 냉동 보존된 세포 조성물을 해동하였다. 제형화된 CD4+ CAR+ 세포 집단 및 제형화된 CD8+ CAR+ 집단을 대략 1:1의 표적 비율로 투여함으로써, 치료용 T 세포 용량을 정의된 세포 조성물로 투여하였다.

[1025] CAR-발현 T 세포의 단일 용량(각각 CD4+ CAR-발현 T 세포 및 CD8+ CAR-발현 T 세포의 개별 주입을 통한 각각의 단일 용량)을 다음과 같이:  $5 \times 10^7$  개 총 CAR-발현 T 세포를 함유하는 용량 수준 1(DL-1)의 단일 용량 또는  $1 \times 10^8$  개 총 CAR-발현 T 세포를 함유하는 용량 수준 2(DL-2)의 단일 용량을 대상체에 투여하였다. 필요한 경우, 용량 수준을  $2.5 \times 10^7$  개 CAR+ T 세포로 감소시켰다. 용량 증량은 수정된 독성 확률-구간-2(mTIPI-2) 알고리즘을 따랐다(Guo et al. (2017) Contemp Clin Trials, 2017; 58:23-33). 투여 후 28일 동안 용량 제한 독성(DLT)을 평가하였다.

[1026] CAR+ T 세포 주입 전에, 대상체는 3일 동안 플루다라빈(flu,  $30\text{mg}/\text{m}^2$ ) 및 사이클로포스파미드(Cy,  $300\text{mg}/\text{m}^2$ )로 림프구 고갈 화학 요법을 받았다. 대상체는 림프구 고갈 후 CAR 발현 T 세포를 받았다.

[1027] **B. 반응의 평가**

[1028] 대상체를 CAR+ T 세포의 투여 후 다양한 시점에서 치료에 대한 반응에 대해 모니터링하였다. 최초 효능 평가를 30일차에 수행한 것을 제외하고, iwCLL 기준(2008 기준: Hallek et al. Blood 2008; 111(12):5446-5456; 2018 기준: Hallek et al., Blood 2018 131 (25): 2745-2760)에 의해 반응을 평가하였다. 반응은 iwCLL 지침에 기초하여 완전 관해(CR), 골수 회복이 불완전한 CR(CrI), 결절성 부분 관해(nPR), 부분 반응(PR), 안정한 질병(SD), 또는 진행성 질병(PD)으로 평가하였다. nPR 및 PR은 최소 8주 후에 반복 평가로 확인하였다. 반응 일정에 표시된 대로 탐색적 기반으로 CAR-발현 T 세포로 치료한 후 기준선에서 PET로 질병을 또한 평가하였다.

[1029] 치료 후 30일, 2개월(혈액학적으로만), 3개월, 6개월, 9개월, 12개월, 18개월, 및 24개월(+14일)에 또는 임상적 진행의 증거인 PD, 연구 철회, 또는 대체 요법이 요구될 때까지 반응 평가를 실시하였다. CAR+ T 세포 투여 후 최대 24개월까지 대상체의 반응을 모니터링하였다. 효능 평가는 적절히: 혈액학(CBC with differential), CT(진단-품질), PET, 골수 흡인물(BMA)/골수 생검(BMB)(기준선 및 30일째 평가에서, 그리고 그 이후에는 다른 결과가 CR과 새로 일치하는 경우에만, 말초 혈액 또는 골수에서 CLL의 증거가 없지만 잔류 림프절병 또는 비장 비대에 근거한 PR이 있는 대상체에서), 최소 잔류 질병(MRD; 말초 혈액 또는 골수에 CLL의 증거가 없는, 즉 잔류 림프절병 또는 비장 비대에 기초하여 CR 또는 PR인 대상체에서)의 평가를 포함하였다.

[1030] 최소 잔류 질병(MRD)을  $1 \times 10^{-4}$  감도에서 말초 혈액을 사용하여 6색 유세포 분석에 의해 평가하였고, 유동에 의해 검출 불가능한 경우는, 골수에서  $1 \times 10^{-6}$  감도로 골수(BM) 흡인물의 clonoSEQ® (Adaptive) 심층 염기서열분석에 의한 차세대 염기서열분석(NGS)을 사용하여 평가하였다.

[1031] 본 실시예에 제시된 특정 시점에서의 분석은 상기 기재된 바와 같은 임상 연구에 대한 적격성에 따라  $5 \times 10^7$

총 CAR-발현 T 세포 (n=6)를 함유하는 항-CD19 CAR-발현 세포 (단일 용량의 용량 수준 1 (DL-1)) 또는  $1 \times 10^8$  총 CAR-발현 T 세포 (n=10)를 함유하는 단일 용량의 용량 수준 2 (DL-2))를 투여한 총 23명의 대상체를 기준으로 한다. 두 대상체(9%)는 이브루티닙에 불내성이었다. 치료받은 대상체의 기준선 특성이 표 E1에 표시된다. 한 대상체의 경우 항-CD19 치료용 T 세포 조성물의 제조가 성공하지 못했다. 연구 후속 조치 중앙값은 9개월이었고, 최소 후속 조치는 1개월이었다.

특성	모든 대상체 N=23	DL1 n=9	DL2 n=14
중앙값 나이, 연령 (범위)	66 (49-79)	67 (49-76)	66 (53-79)
남성, n (%)	11 (47.8)	4 (44.4)	7 (50.0)
부피가 큰 질병 >5cm, n (%) <sup>a</sup>	8 (34.8)	3 (33.3)	5 (35.7)
SPD (cm <sup>2</sup> ), 중앙값 (범위)	24.7 (2-197)	30.0 (2-119)	24.7 (5-197)
LDH (U/L), 중앙값 (범위)	243 (119-634)	227 (174-634)	275 (119-527)
가교 요법을 받음, n (%)	17 (73.9)	5 (55.6)	12 (85.7)
기(Stage), n(%)			
Rai Stage III/IV	15 (65.2)	6 (66.7)	9 (64.3)
Binet Stage C	16 (69.6)	7 (77.8)	9 (64.3)
고위험 세포 유전학적 특성, n (%)	19 (82.6)	6 (66.7)	13 (92.9)
Del(17p), n (%)	8 (34.8)	3 (33.3)	5 (35.7)
TP53 돌연변이, n (%)	14 (60.9)	4 (44.4)	10 (71.4)
복합적 핵형, n (%) <sup>b</sup>	11 (47.8)	5 (55.6)	6 (42.9)
환자 특성			
선행 요법 라인, 중앙값(범위)	5 (2-11)	5 (3-8)	5 (2-11)
선행 이브루티닙, n (%)	23 (100)	9 (100)	14 (100)
이브루티닙 재발성/불응성, n (%)	21 (91.3)	9 (100)	12 (85.7)
이브루티닙 진행 및 선행 베네토클락스, <sup>c</sup> n (%)	13 (56.5)	5 (55.6)	8 (57.1)

[1032]

[1033] <sup>a</sup> 부피가 큰 질병은 최소 1개의 병변의 가장 긴 직경 > 5cm로 정의된다.

[1034] <sup>b</sup> 3개 이상의 염색체 이상.

[1035] <sup>c</sup> 12 대상체가 베네토클락스에 진행되었고; 한 대상체가 치료 3개월 후에 가장 좋은 반응이 안정한 질병을 보였다.

[1036] 반응률이 도 1a-1b 및 도 2에 도시된다. 22 대상체가 치료전 평가와 최소한 하나의 기준선 후 평가를 갖는 것으로 정의된 반응에 대해 평가 가능했다. 한 대상체는 반응 평가가 가능하지 않았다. 가장 우수한 전체 반응이 도 1a에 도시된다. 도 1a에 도시된 바와 같이, 평가 가능한 대상체 총 수 중, 4.5%가 진행성 질병을 나타냈고, 13.6%가 안정한 질병을 나타냈고, 36.4%가 부분 반응 또는 결절성 부분 반응을 나타냈고, 45.5%가 완전 반응 또는 혈구 수 회복이 불완전한 완전 반응을 나타냈다. DL1( $5 \times 10^7$ 개 CAR-발현 T 세포)을 투여받은 평가 가능한 9 대상체 중, 22.2%가 안정한 질병을 나타냈고, 11.1%가 부분 반응 또는 결절성 부분 반응을 나타냈고, 66.7%가 완전 반응 또는 혈구 수 회복이 불완전한 완전 반응을 나타냈다. DL2( $1 \times 10^8$ 개 CAR-발현 T 세포)를 투여받은 평가 가능한 13 대상체 중, 7.7%가 진행성 질병을 나타냈고, 7.7%가 안정한 질병을 나타냈고, 53.8%가 부분 반응 또는 결절성 부분 반응을 나타냈고, 30.8%가 완전 반응 또는 혈구 수 회복이 불완전한 완전 반응을 나타냈다. 가장 우수한 전체 반응률(ORR)은 82%(95% 신뢰 구간: 59.7-94.8)였고, CR/CRi 비율은 46%였다(평가할 수 없는 MRD를 가진 한 대상체가 CR을 달성했으나 이후에 진행되었다). 평가 시점에서, 대상체 중 68%(15/22)가 주입 후 30일차에 객관적 반응을 달성하였다. 주입 후 9개월 이상의 후속 조치를 한 반응자의

78%(7/9)가 무진행 상태를 유지하였다.

- [1037] 20 대상체가 기준선에서 검출 가능한 최소 잔류 질병을 가진 것으로 정의되는 최소 잔류 질병에 대해 평가 가능하였다(도 1b). 도 1b에 도시된 바와 같이, 대상체의 75% 말초 혈액과 65% 골수에서 검출 불가능한 최소 잔류 질병(uMRD)이 달성되었다(한 대상체는 혈액/BM에서 uMRD를 달성한 후 검출 가능한 MRD를 가졌다). DL1(5 x 10<sup>7</sup> CAR-발현 T 세포)을 투여받은 8 대상체 중, 75% 말초 혈액 및 골수에서 uMRD가 달성되었다. DL2(1 x 10<sup>8</sup> CAR-발현 T 세포)를 투여받은 12 대상체 중, 75% 말초 혈액 및 58% 골수에서 uMRD가 달성되었다.
- [1038] 무진행 시간에 따른 반응 지속 기간은 시간이 지남에 따라 계속 개선되었다(도 2). 22 대상체 중, 27%(6/22)가 30일 후 반응의 심화를 나타냈는데, 부분 반응(PR)을 나타낸 3 대상체는 이후에 CR을 달성했고, 2 대상체는 안정한 질병(SD)에서 PR로 되었고, 1 대상체는 SD에서 CR로 되었다. 12개월 넘도록 완전 반응을 유지한 세 대상체를 포함하여 6개월에 CR인 여섯 대상체 중 다섯(83%)이 CR을 유지했다.
- [1039] 평가 가능한 20의 대상체 중 12(60%)이 30일에 차세대 염기서열분석에 의해 검출 불가능한 MRD를 가졌다. 대상체의 60%에서 관찰된 초기 uMRD는 12개월 및 이후 평가 시점에 진행되었다.

[1040] **C. 안전성 평가**

- [1041] 이상 반응(AE), 중대한 이상 반응(SAE), 및 실험실 이상(유형, 빈도, 및 중증도)을 수집하였다. 특별 관심 이상 반응(AESI)으로는 주입 반응, 사이토카인 방출 증후군(CRS), 신경 독성, 대식 세포 활성화 증후군(MAS), 및 종양 용해 증후군(TLS)이 포함되었다.
- [1042] CAR-T 세포 요법의 투여 이후 치료 유발 이상 반응(TEAE)의 존재 또는 부재를 평가하였다. 대상체에서 신경 독성(NT; 착란상태, 실어증, 뇌병증, 간대성 근경련 발작, 경련, 무기력, 및/또는 정신 상태 변화의 증상을 포함한 신경계 합병증; 신경학적 사건(NE)이라고도 함)을, 미국 국립 암 연구소(NCI)의 CTCAE(Common Terminology Criteria for Adverse Events) 척도, 버전 4.03(NCI-CTCAE v4.03)에 따라서, 1 내지 5 척도로 등급을 매겨, 평가 및 모니터링하였다. 문헌[Common Terminology for Adverse Events (CTCAE) Version 4, U.S. Department of Health and Human Services, Published: May 28, 2009 (v4.03: June 14, 2010); 및 Guido Cavaletti & Paola Marmiroli Nature Reviews Neurology 6, 657-666 (December 2010)]을 참조한다. 사이토카인 방출 증후군(CRS)을 측정 및 모니터링하였고, 중증도에 기초해 등급을 매겼다. 문헌[Lee et al, Blood. 2014;124(2):188-95]을 참조한다. CAR-발현 T 세포의 주입 후 28일 내에 용량 제한 독성(DLT)을 측정하였다.
- [1043] TEAE가 모든 용량 수준에서 대상체의 ≥ 25%에서 보고되었다(표 E2). 한 평가 시점에, 대상체의 96%에서 3급 또는 4급 빈혈이 관찰되었다. 일부 대상체에서 중대 TEAE가 발생하였다(표 E3). 표 E4는 사이토카인 방출 증후군(CRS) 및 신경학적 사건(NE)을 포함하여 특정 이상 반응의 발생률을 보고한다. 5급 CRS 또는 NE는 발생하지 않았다. 신경학적 사건은 상호 배타적이지 않았다. 세 대상체에서 뇌병증이 보였다. 한 대상체에서 실어증, 착란 상태, 근력 약화, 및 졸림(somnolence)이 각각 보였다. DL2(1 x 10<sup>8</sup> 개 CAR-발현 T 세포)를 받은 두 대상체에서 용량 제한 독성이 발생했다. 한 대상체는 4급 고혈압을 겪은 반면, 한 대상체는 3급 뇌병증, 3급 근육 약화, 및 4급 종양 용해 증후군을 겪었다. DL1(5 x 10<sup>7</sup> CAR-발현 T 세포)을 투여받은 대상체에서 5급 호흡부전의 1 TEAE가 관찰되었다. CRS 및/또는 NE의 관리를 위해, 대상체 중 61%(n=14)가 토실리주맙을 받았고 48%(n=11)가 코르티코스테로이드를 받았다. 이상 반응은 낮은 비율의 3급 CRS(8.7%) 및 3급 또는 4급 NE(21.7%)로 두 용량 수준에서 관리 가능했다. 더 높은 비율의 1-2급 CRS는 이 대상체 그룹에서 항-CD19 CAR+ T 세포 조성물의 유리한 안전성 프로파일과 일치하였다. 림프절 종양 부담은 NE와 상관관계를 보였다(P=0.025).

**표 E2: TEAE 의 존재 또는 부재의 평가**

	모든 등급	등급 ≥ 3	DL1 등급 ≥ 3	DL2 등급 ≥ 3
	(N=23)	(N=23)	(n=9)	(n=14)
임의의 TEAE, n (%)	23 (100.0)	22 (95.7)	8 (88.9)	14 (100)
빈혈	19 (82.6)	18 (78.3)	7 (77.8)	11 (78.6)
사이토카인 방출 증후군	17 (73.9)	2 (8.7)	0	2 (14.3)
혈소판 감소증	17 (73.9)	16 (69.6)	4 (44.4)	12 (85.7)
호중구 감소증	13 (56.5)	13 (56.5)	4 (44.4)	9 (64.3)
백혈구 감소증	11 (47.8)	10 (43.5)	4 (44.4)	6 (42.9)
저칼륨혈증	9 (39.1)	0	0	0
발열	9 (39.1)	0	0	0
구역질	8 (34.8)	0	0	0
설사	7 (30.4)	0	0	0
저인산혈증	7 (30.4)	4 (17.4)	0	4 (28.6)
떨림	7 (30.4)	0	0	0
열성 호중구 감소증	6 (26.1)	5 (21.7)	0	5 (35.7)
저마그네슘혈증	6 (26.1)	0	0	0
림프구 감소증	6 (26.1)	6 (26.1)	2 (22.2)	4 (28.6)

[1044]

**표 E3: >1 대상체에서 보고된 중대한 TEAE**

	모든 대상체	DL1	DL2
	(N=23)	(n=9)	(n=14)
임의 등급의 중대한 TEAE, n (%)	13 (56.5)	4 (44.4)	9 (64.3)
사이토카인 방출 증후군	6 (26.1)	1 (11.1)	5 (35.7)
발열	4 (17.4)	3 (33.3)	1 (7.1)
뇌병증	3 (13.0)	1 (11.1)	2 (14.3)
열성 호중구 감소증	3 (13.0)	0	3 (21.4)
폐렴	3 (13.0)	2 (22.2)	1 (7.1)
급성 신부전	2 (8.7)	2 (22.2)	0
실어증	2 (8.7)	1 (11.1)	1 (7.1)
폐감염	2 (8.7)	1 (11.1)	1 (7.1)
종양 용해 증후군	2 (8.7)	0	2 (14.3)

[1045]

표 E4: 특별 관심 TEAE			
	총계	DL1	DL2
	(N=23)	(n=9)	(n=14)
<b>CRS - 임의 등급, n (%)</b>	17 (73.9)	7 (77.8)	10 (71.4)
첫 발병 시간 중앙값, d (범위)	4 (1-10)	6 (1-9)	3.5 (1-10)
기간 중앙값, d (범위)	5 (2-30)	5 (3-30)	5.5 (2-27)
3 급, n (%)	2 (8.7)	0	2 (14.3)
<b>NE<sup>a</sup> - 임의 등급, n (%)</b>	<b>9 (39.1)</b>	<b>2 (22.2)</b>	<b>7 (50.0)</b>
첫 발병 시간 중앙값, d (범위)	4.0 (2-21)	16 (11-21)	4 (2-11)
기간 중앙값, d (범위)	21.0 (6-169)	8.5 (6-11)	38 (9-169)
등급 ≥ 3, <sup>b</sup> n (%)	5 (21.7)	2 (22.2)	3 (21.4)
<b>임의, n (%)</b>			
CRS 또는 NE <sup>a</sup>	18 (78.3)	7 (77.8)	11 (78.6)
CRS 및 NE <sup>a</sup>	8 (34.8)	2 (22.2)	6 (42.9)
토실리주맙 및/또는 스테로이드 사용	17 (73.9)	5 (55.6)	12 (85.7)
<b>총양 용해 증후군 - 임의 등급, n (%)</b>	<b>4 (17.4)</b>	<b>1 (11.1)</b>	<b>3 (21.4)</b>
등급 ≥ 3, n (%)	4 (17.4)	1 (11.1)	3 (21.4)
심장 이상 반응, n (%)	1 (4.3)	1 (11.1)	0

[1046]

[1047] <sup>a</sup> NE는 치료 관련 반응이다

[1048] <sup>b</sup> NE는 상호 배타적이지 않다

[1049] **D. 약동학 및 약력학**

[1050] 항-CD19 CAR-발현 T 세포의 혈액 약동학은 세포의 투여 후 다양한 시점(예를 들어, 1일, 4일, 8일, 11일, 15일, 22일, 30일, 2개월 및 3개월)에서 말초 혈액에서 CD3+ CAR+ T 세포의 농도를 평가하기 위해 유세포 분석법을 사용하여 알아냈다. CD19+ 발현 세포의 농도 또한 각 시점에서 평가되었다.

[1051] 결과는 도 3에 도시되며, 여기서 항-CD19 CAR+ T 세포는 연구 1일차에 주어졌다. 도 3에서, 상부 오차 막대 (error bar)는 제3 사분위를 나타내고, 하부 오차 막대는 제1 사분위를 나타낸다. 혈액 내 세포의 최대 농도 (C<sub>max</sub>), 최대(피크) 농도(T<sub>max</sub>) 도달 시간, 및 0일 내지 29일의 곡선 하 면적(AUC<sub>0-29</sub>)을 포함하여 PK/PD 파라미터의 요약이 표 E5에 표시된다.

표 E5: 약동학적(PK) 및 약력학적(PD) 프로파일			
중앙값 (Q1, Q3)	총계 (N=23)	DL1 (N=9)	DL2 (N=14)
C <sub>max</sub> (세포/μL)	125 (4.45, 320)	111 (3.25, 313)	130 (35.2, 305)
T <sub>max</sub> (연구 일수)	15 (15, 22)	15 (15, 22)	15 (15, 22)
AUC <sub>1-29</sub> (일수* 세포/μL)	1110 (34, 2120)	1080 (26.2, 1790)	1340 (215, 2230)

[1052]

[1053] Q, 사분위수

[1054] **E. 선행 BTKi 및 베네토클라스 치료에 실패한 대상체에서 반응, 안정성 및 약동학적 특성의 평가**

[1055] 브루톤 티로신 키나아제 억제제(BTKi) 및 베네토클라스 모두를 이용한 선행 치료에 실패한, 총 23 대상체 중, 9 대상체 그룹에서 상이한 분석 시점에 반응, 안전성 및 약동학적 특성을 평가하였다. 표 E6은 상기 기술된 바와 같이 평가한, 23 대상체의 기준선 특성, 및 BTKi 및 베네토클라스에 실패한 대상체의 기준선 특성을 표시한다.

표 E6. 기준선 특성		
	모든 환자 (N=23)	실패한 BTKi 및 베네토클락스 (n=9)
나이, 연령, 중앙값 (범위)	66 (49-79)	68 (59-76)
남성, n (%)	11 (48)	4 (44)
부피가 큰 질병 >5cm, n (%) <sup>a</sup>	8 (35)	4 (44)
BALL 위험 점수 <sup>1</sup> , 중앙값 (범위)	2 (0-3)	2 (0-3)
SPD, cm <sup>2</sup> 중앙값 (범위)	24.7 (2-197)	45.9 (2-197)
LDH, U/L 중앙값 (범위)	243 (119-634)	245 (119-634)
가교 요법을 받음, n (%)	17 (74)	7 (78)
기(Stage), n(%)		
Rai stage III/IV	15 (65)	7 (78)
Binet stage C	16 (70)	7 (78)
고위험 특징(있는 경우), n (%)	19 (83)	8 (89)
Del(17p)	8 (35)	2 (22)
TP53 돌연변이	14 (61)	6 (67)
복합적 핵형 <sup>b</sup>	11 (48)	3 (33)
선형 요법 라인, 중앙값 (범위)	5 (2-11)	6 (5-10)
선형 이브루티닙, n (%)	23 (100)	9 (100)
이브루티닙 불응성/재발성, n (%)	21 (91)	9 (100)
실패한 BTKi 및 베네토클락스, <sup>c</sup> n (%)	9 (39)	9 (100)

[1056]

[1057]

<sup>a</sup>부피가 큰 질병은  $\geq 1$ 의 병변의 가장 큰 직경 >5cm로 정의된다. <sup>b</sup> $\geq 3$ 의 염색체 이상. <sup>c</sup>실패한 베네토클락스는 요법  $\geq 3$ 개월 이후 PD 또는 <PR로 인한 중단으로 정의된다. LDH, 젖산 탈수소효소; SPD, 수직 직경들의 곱의 합.

[1058]

<sup>1</sup>. Soumerai JD et al. Lancet Haematol. 2019;6(7):e366-e374.

[1059]

표 E7은 총 23 대상체 또는 BTKi 및 베네토클락스 모두 실패한 9 대상체의 치료 유발 이상 반응(TEAE)을 표시한다. 조작된 세포의 DL2를 받은 두 대상체에서 용량 제한 독성(DLT)이 관찰되었는데, 한 대상체는 4급 고혈압을 나타냈고, 실패한 BTKi 및 베네토클락스 그룹에 있었던 한 대상체는 3급 뇌병증, 3급 근육 약화, 및 4급 중앙 용해 증후군을 나타냈다.



	모든 환자 (N=23)	실패한 BTKi 및 베네토클락스 (n=9)
임의 등급의 중대한 TEAE, n (%)	13 (56.5)	5 (55.6)
CRS	6 (26)	2 (22)
발열	4 (17)	2 (22)
뇌병증	3 (13)	1 (11)
열성 호중구 감소증	3 (13)	1 (11)
폐렴	3 (13)	0
급성 신부전	2 (9)	0
실어증	2 (9)	1 (11)
폐감염	2 (9)	2 (22)
TLS	2 (9)	1 (11)

[1060]

[1061]

표 E8은 총 23 대상체 또는 BTKi 및 베네토클락스 모두 실패한 9 대상체에서 특별 관심 치료 유발 이상 반응 (TEAE)을 표시한다.

	모든 환자 <sup>a</sup> (N=23)	실패한 BTKi 및 베네토클락스 (n=9)
CRS—임의 등급, n (%)	17 (74)	6 (67)
첫 발병 시간 중앙값, d (범위)	4 (1-10)	1.5 (1-4)
첫 이상 반응 기간 중앙값, d (범위)	12 (2-50)	21 (6-50)
3 급, n (%)	2 (9)	1 (11)
NE <sup>b</sup> - 임의 등급, n (%)	9 (39)	4 (44)
첫 발병 시간 중앙값, d (범위)	6.5 (2-103)	6.5 (2-21)
첫 이상 반응 기간 중앙값, d (범위)	21 (6-312)	23.5 (6-49)
등급 ≥ 3, <sup>c</sup> n (%)	5 (22)	3 (33)
임의의 CRS 또는 NE, <sup>b</sup> n (%)	18 (78)	7 (78)
임의의 CRS 및 NE, <sup>b</sup> n (%)	8 (35)	3 (33)
토실리주맙 및/또는 스테로이드 사용	17 (74)	6 (67)
TLS, n (%)	4 (17)	1 (11)

[1062]

[1063]

<sup>a</sup>용량 수준들 간 TEAE 프로파일에 차이는 없다. <sup>b</sup>NE는 연구자에 의해 정의되는 치료 유발 반응이다. <sup>c</sup>NE는 상호 배타적이지 않으며; 뇌병증 (n=3); 실어증 (n=1); 착란상태 (n=1); 근육 약화 (n=1); 졸림 (n=1).

[1064]

도 4a 및 4b는 가장 우수한 전체 반응(도 4a)과 유세포 분석에 의한 혈액 내 또는 차세대 염기서열분석(NGS)에 의한 골수 내 검출 불가능한 최소 잔류 질병(uMRD)(도 4b)을 도시한다. 연구 후속 조치 중앙값은 11개월이었다. 도시된 바와 같이, CR을 포함한 높은 비율의 지속가능한 반응이, 모든 평가 가능한 대상체의 81.5%와 BTKi 및 베네토클락스에 실패한 대상체의 89%에서 높은 가장 좋은 ORR과 함께 관찰되었다.

[1065]

도 5는 BTKi 및 베네토클락스 모두에 실패한, 치료받은 대상체 및 기타 평가 가능한 대상체의 개별 반응 평가를 도시한다. 결과는 BTKi 및 베네토클락스 모두에 실패한 6 대상체(67%)를 포함하여, 대부분의 대상체가 30일 차에 조기 객관적 반응(68%; n=15/22) 및 uMRD(75%; n=15/20)를 달성했음을 보여주었다. 결과는 전체 대상체의 27%(n=6/22)와 BTKi 및 베네토클락스 모두에 실패한 대상체의 33%(n=3/9)에서 시간이 지남에 따라 반응이 심화되었음을 보여주었다. 결과는 또한 모든 대상체의 87%(n=13/15) 및 BTKi 및 베네토클락스 모두에 실패한 대상체의 83%(n=5/6)를 포함하는 대부분의 대상체에서 투여 후 6개월에 지속가능한 반응이 유지되었음을 보여주었다.

6개월에 CR인 대상체의 83%(n=5/6)가 9개월에 CR을 유지하고, 3 대상체가 12개월 후 CR을 유지하였다. BTKi 및 베네토클락스 모두에 실패한 두 대상체가 12개월 후 반응을 유지했다.

[1066] 항-CD19 CAR+ T 세포 투여 후 시간 경과에 따른 대상체의 CD3+ CAR+ 세포 및 CD19+ 세포의 중앙값 농도가 도 6에 도시된다. 결과는 BTKi 및 베네토클락스 모두에 실패한 대상체의 서브셋이 전체 대상체 집단과 비슷한 PK/PD 프로파일을 가졌음을 보여주었다. 이 분석 시점에서, 모든 대상체 (n=23)에서, 중앙값 (Q1, Q3) CD3+ 세포 C<sub>max</sub> (세포/μL)는 124.81 (3.25, 326.47)이었고, T<sub>max</sub> (연구 일수)는 14 (14, 21)이고, AUC<sub>1-29</sub> (세포/μL)는 1108.35 (26.19, 2329.97)이었다. 대상체는 6개월째에 CD19 발현 세포의 장기간 억제 (대상체의 80% (12/15)는 CAR T 세포를 유지하였고, 87% (13/15)는 6개월째에 CD19 발현 세포의 억제를 나타내었음)와 함께 CD19 발현 세포의 급속한 제거를 나타내었다.

[1067] **F. 결론**

[1068] 결과는 임상 연구에서 재발성/불응성 CLL/SLL을 가진 과도하게 치료받은 대상체(예를 들어, 선행 이브루티닙을 받은 대상체 및 두 선행 베네토클락스 및 이브루티닙에 실패한 대상체를 포함하여)에 대해서, 항-CD19 CAR-발현 T 세포 주입 이후 객관적 반응, 완전 반응 및 uMRD가 빠르게 달성되었고, 6개월 후 지속가능한 반응이 관찰되었음을 입증하였다. 모든 대상체가 선행 이브루티닙에 실패했고 절반 이상이 선행 베네토클락스 치료에도 실패한, 고위험 CLL/SLL을 가진 과도하게 사전 치료된 대상체에 항-CD19 CAR-발현 세포의 투여 결과는 관리 가능한 독성과 우수한 임상 반응을 보였다. 사이토카인 방출 증후군(CRS) 및 신경학적 사건(NE)을 포함하여, 항-CD19 CAR-발현 T 세포 투여와 관련된 이상 반응은 BTKi 및 베네토클락스 둘 다에 실패한 대상체의 서브셋을 포함하는 테스트한 두 용량 수준에서 관리 가능한 것으로 관찰되었다. 3급 CRS(9%) 및 3급 또는 4급 NE(22%)의 비율은 낮은 것으로 관찰되었다.

[1069] 11개월의 후속 조치 중앙값에서, 항-CD19 CAR 발현 세포의 투여 결과 선행 BTKi 및 베네토클락스 모두에 실패한 대상체에서를 포함하여, CR을 포함하여, 높은 비율의 지속가능한 반응을 보였다. 임상 반응은 신속하고 시간의 경과에 따라 향상되었으며, 심화되고 지속적이었다. 예를 들면, 대부분의 최초 반응은 30일차에 달성되었고 평가된 대상체의 27%에서 그리고 선행 BTKi 및 베네토클락스 모두에 실패한 대상체의 33%에서 시간의 경과에 따라 반응이 심화되었다. 지속적인 객관적 반응이 투여 후 6개월 동안 유지되었다(평가된 대상체의 87%, 선행 BTKi 및 베네토클락스 모두에 실패한 대상체의 83%). 6개월에 CR인 대상체의 83%가 9개월에 CR을 유지하였고, 3 대상체가 12개월 후 CR을 유지하였다. 대부분의 대상체는 순환하는 항-CD19 CAR T 세포의 지속성을 동반한, CD19-발현 세포의 신속한 제거 및 장기간 질병 억제를 나타내었다. 선행 BTKi 및 베네토클락스 모두에 실패한 대상체는 전체 대상체 집단과 비슷한 PK/PD를 나타냈다. 결과는 고위험 CLL/SLL을 가진 대상체와 선행 BTKi 요법 및 베네토클락스와 같이 다수의 선행 요법에 실패한 대상체를 포함하여 CLL/SLL을 가진 대상체에 대한 항-CD19 CAR+ 세포의 투여를 뒷받침한다.

[1070] **실시예 2: 혈청 분석, 중앙 부담 및 신경학적 사건(NE)의 평가**

[1071] 상기 실시예 1에 기재된 바와 같이 처리된 대상체에서 항-CD19 CAR-발현 세포의 투여 전 및 후에 혈청 분석물 및 중앙 부담을 평가하였다. 중앙 부담 또는 혈청 분석물 수준 및 신경학적 사건(NE; 신경 독성, NT 또는 NTx로도 불림)의 발생률 및 중증도 사이의 연관성을 실험 후 알아냈다.

[1072] **A. 중앙 부담**

[1073] 실시예 1에 기재된 대상체에 대한 CAR+ T 세포의 림프절 고갈 화학요법 및 투여 전, 림프절에서 (관찰된 최대 림프절 직경 (cm) 또는 직경의 곱의 합 (SPD; cm<sup>2</sup>)으로 측정됨), 및 혈액에서 (림프구 수 (1000/μL)로 측정됨) 중앙 부담을 측정하였다.

[1074] 도 7a에 도시된 바와 같이, 관찰된 최대 림프절 직경(p=0.043)에 의해 측정된, 더 낮은 혈액 중앙 부담 (p=0.018) 및 더 높은 림프절 중앙 부담은 1급 이상의 신경학적 사건과 연관되는 것으로 관찰되었다(Y= Gr 1-5). 도 7b에 도시된 바와 같이, SPD(p=0.025)에 의해 측정된, 더 높은 림프절 중앙 부담은 1급 이상의 신경학적 사건과 관련되는 것으로 관찰되었다(Gr 1-4; 5급 사건은 관찰되지 않음). 도 7c에 도시된 바와 같이, 1급 이상의 신경학적 사건(빈 사각형 및 채워진 다이아몬드)을 갖는 대상체는 일반적으로 낮은 혈액 중앙 부담 및 높은 림프절 중앙 부담을 가졌고, 5명의 대상체 중 5명은 낮은 혈액 중앙 부담을 나타내는 중증(3급 이상; 채워진 다이아몬드) 신경학적 사건을 갖는다(도 7c에서 박스 영역). 도 7d에 도시된 바와 같이, 림프절 중앙 부담에 대한 혈액 중앙 부담의 비율은 1급 이상의 신경학적 사건을 갖는 대상체에서 유의하게 더 낮은 (p=0.005) 것으로 관

찰되었다(임의의 NT, Y= Gr 1-5). 1급 이상의 신경 독성을 갖는 14명의 대상체 중에서, 13명은 림프절을 나타냈다. 결과는 치료 CAR+ T 세포 조성물에 대한 후보자이고/거나 이를 투여받은 대상체에서 신경학적 사건의 위험과 연관된 파라미터로서 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율을 측정하는 것을 뒷받침한다.

[1075] **B. 혈청 분석물**

[1076] 실시예 1에 기재된 대상체에서 종양 괴사 인자 (TNF) 및 인터루킨 16 (IL-16)을 포함하는 분석물의 수준을 평가하였다. CAR+ T 세포의 투여 전, 및 투여의 처음 30일 이내에 여러 시점에서 분석물을 측정하였다.

[1077] 도 8 은 신경학적 사건을 나타내지 않는(Ntx Gr = 0) 또는 1급 이상의 신경학적 사건을 나타내는 대상체(Ntx Gr > 0)의 그룹에서, 치료(PT;- CAR+ T 세포 투여) 전 및 CAR+ T 세포 투여 후 30일 이내에 다양한 시점에서, TNF 및 IL-16의 기하 평균(+/- SEM) 농도를 도시한다. 결과는 TNF 수준 및 IL-16 수준이 치료 전 대상체의 혈액에서 및 1급 이상의 신경학적 사건을 계속 발생시킨 대상체의 군에서 주입 후 초기 시점에서 더 높았음을 나타내었다.

[1078] 도 9a에 나타낸 바와 같이, 초기(예를 들어, 투여 후 2일) IL-16(p=0.0001) 및 TNF(p=0.0028) 수준은 1급 이상의 신경학적 사건과 유의하게 연관되었다.

[1079] 도 9b에 나타낸 바와 같이, 혈액 내 IL-16(p=0.0135) 및 TNF(p=0.0032) 수준은 또한 직경의 곱(SPD; cm<sup>2</sup>)의 합에 의해 측정된 바와 같이, 림프절 종양 부담과 직접적으로 연관되는 것으로 관찰되었다. 임의의 NE 등급(빈 사각형 및 채워진 다이아몬드)을 갖는 모든 대상체(9/9)는 15 초과 SPD 값을 가졌다. 도 9c에 나타낸 바와 같이, 항-CD19 CAR T 세포의 주입 후 2일째에 혈액 내 IL-16(p=0.0209) 및 TNF(p=0.0091) 수준은 또한 관찰된 최대 림프절 직경(cm)에 의해 측정된 바와 같이, 림프절 종양 부담과 직접적으로 연관되는 것으로 관찰되었다. 결과는 IL-16 및 TNF 수준이 림프절 종양 부담과 직접적으로 관련됨을 나타내었다.

[1080] 종합하면, 결과는 더 큰 림프절 종양 부담 및 상승된 수준의 IL-16 또는 TNF가 신경학적 사건과 연관되었다는 것을 보여주었다. 또한, 결과는 더 높은 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 신경학적 사건과 관련이 없는 반면, 더 낮은 림프절 종양 부담에 대한 혈액 종양 부담의 비율이 신경학적 사건과 관련이 있다는 것을 시사한다. 결과는 림프절 종양 부담, 혈액 종양 부담, 전-처리 및 초기 IL-16 수준 및/또는 TNF 수준을 치료 CAR+ T 세포 조성물에 대한 후보자이거나 및/또는 이를 투여받은 대상체에서 신경학적 사건의 위험과 관련된 파라미터로서 측정하는 것의 유용성을 뒷받침한다.

[1081] **실시예 3: 바이오마커 및 반응의 평가**

[1082] 항-CD19-CAR 발현 세포의 투여 직전에 획득된 샘플에서 혈관 내피 성장 인자 C(VEGFC) 및 혈관 내피 성장 인자 수용체 1(VEGFR1)의 수준을 실시예 1에 기재된 대상체로부터 알아내고, VEGFC 및 VEGFR1의 수준과 CAR+ T 세포 투여에 대한 대상체의 반응 사이의 연관성을 실험 후 알아냈다.

[1083] 도 10a-10b에 나타낸 바와 같이, CAR+ T 세포 투여 직전에 획득된 대상체로부터의 샘플 내 혈관 내피 성장 인자 C (VEGFC; 도 10a) 및 혈관 내피 성장 인자 수용체 1 (VEGFR1; 도 10b)의 수준은 3개월째의 반응과 연관된 것으로 관찰되었다. 구체적으로, 치료전, VEGFC 및 VEGFR1 수준은 3개월째의 비-반응자 (M3 NR; 투여 후 3개월 또는 그 전에 SD 또는 PD를 나타낸 대상체)와 비교하여 3개월째의 반응자 (M3 R; 투여 후 3개월에 CR, CRi, PR 또는 nPR을 달성한 대상체)에서 더 낮았다.

[1084] 결과는 치료적 CAR+ T 세포 조성물에 대한 후보자인 대상체에서 반응과 연관된 파라미터로서 VEGFC 및 VEGFR1의 유용성과 일치하였다.

[1085] **실시예 4: 약동학 및 반응**

[1086] 실시예 1에 기재된 대상체 및 동일한 연구로부터의 추가의 대상체에서 투여된 항-CD19 CAR-발현 세포의 약동학을 평가하였다. 투여 후 시간에 따른 혈액 중 CD3 CAR+ T 세포의 농도를 일반적으로 실시예 1.D에 기재된 바와 같이 유동 세포측정법에 의해 평가하였다. 혈액 중 CAR+ T 세포의 수준 및 반응 사이의 연관성을 알아냈다.

[1087] 도 11a 는 3개월째 비반응자(M3 NR, 투여 후 3개월 또는 그 이전에 SD 또는 PD를 나타낸 대상체)와 비교하여 3개월째 반응자(M3 R; 투여 후 3개월에 CR, CRi, PR 또는 nPR을 달성한 대상체)에서, 주입 후 1일부터 3개월까지 평가된 평균 CD3+ CAR+ T 세포 약동학적 프로파일을 도시한다. 도시된 바와 같이, 3개월에서 반응을 달성한 대상체는 3개월에서의 비-반응자와 비교하여 더 높은 CD3+ CAR+ T 세포 농도를 나타내었다.

[1088] 항-CD19 CAR-발현 T 세포를 받은 대상체 군(n = 48)의 CAR+ T 세포의 수준을 이브루티닙과 병용하여 항-CD19

CAR-발현 T 세포를 받은 대상체의 추가 코호트 (n = 16)와 비교하였다. 이브루티닙과의 병용 요법을 위해, 대상체는 스크리닝 시에 이브루티닙을 받고, 이브루티닙을 받기 위해 계속되었고; 또는 이전에 이브루티닙이 중단되었던 대상체의 경우, 이브루티닙은 등록 시에 매일 420 mg의 용량 (또는 이전 용량 감소가 독성을 관리하기 위해 필요한 경우 더 낮은 용량)으로 시작되었다. 이브루티닙의 투여는 CAR+ T 세포의 주입 후 최대 90일 동안, 또는 이브루티닙 병용 치료로부터 이익을 나타내는 대상체의 경우 더 오래 동안 계속되었다. 분석 시점에서, CAR+ T 세포를 이용한 조합 요법으로서 이브루티닙을 받은 15명의 대상체를 평가하였다. **도 11b**는 CAR+ T 세포만 받은 대상체("CAR T 세포 단독") 및 CAR+ T 세포와 이브루티닙의 병용을 받은 대상체("CAR T 세포 및 이브루티닙")에 대해 평가된 평균 CD3 CAR+ T 세포 약동학적 프로파일을 도시한다. 결과는 CAR+ T 세포와 병용하여 이브루티닙을 받은 대상체가 CAR+ T 세포만을 받은 대상체와 비교하여 일반적으로 3개월에 걸쳐 더 높은 CD3+ CAR+ T 세포 농도를 나타냄을 도시하였다.

[1089] **실시예 5: 골수 및 말초 혈액 내 최소 잔류 질병(MRD)의 평가**

[1090] 골수(BM) 최소 잔류 질병(MRD)은 NGS 기반 분석법( $10^{-4}$  민감도)으로 측정하였으며, 말초혈액(PB) MRD는 실시예 1에 기재된 바와 같이 일반적으로 대상체에서 각각 유세포 분석법( $10^{-4}$  민감도)로 측정하였다.

[1091] 항-CD19 CAR+ T 세포의 투여 후 30일 또는 3개월째에, BM 또는 PB의 평가에 의해 알아낸 바와 같이, MRD에 대해 양성 (MRD+) 또는 MRD에 대해 음성 (MRD-)인 대상체의 수는 표 E9에 제시되어 있다. 표 E9 및 도 12는 또한 모든 평가된 대상체, 뿐만 아니라 30일 또는 3개월째에 평가된 대상체에서 BM 및 PB MRD 상태 사이의 전반적인 일치치를 나타낸다. 이들 결과는 BM 또는 PB로부터 알아낸 바와 같이 MRD 상태 사이의 높은 일치치를 나타낸다. 이들 시점 및 대상체에서의 관찰은 시간이 지남에 따라 증가된 일치 정도의 증가와 일치한다.

표 E9. 골수(BM) 및 말초 혈액 (PB) 최소 잔류 질병 (MRD) 상태 사이의 일치도				
	PB 에서 MRD-	PB 에서 MRD+	일치	불일치
<b>30 일</b>				
BM 에서 MRD-	20	4	26 (72%)	10 (28%)
BM 에서 MRD+	6	6		
<b>3 개월</b>				
BM 에서 MRD-	20	1	24 (89%)	3 (11)
BM 에서 MRD+	2	4		
<b>한 대상체 유래 4 개의 불일치 결과를 포함한 모든 쌍 방문(All paired visits)</b>				
BM 에서 MRD-	64	7	77 (83%)	16(17%)
BM 에서 MRD+	9	13		
<b>한 대상체 유래 4 개의 불일치 결과를 제외한 모든 쌍 방문(All paired visits)</b>				
BM 에서 MRD-	64	7	77(86%)	13(14%)
BM 에서 MRD+	9	13		

[1092]

[1093] 본 발명은 본 발명의 다양한 관점을 설명하기 위해, 예를 들어 제공되는 특정 개시된 구현예로 범위를 제한하려는 것이 아니다. 기술된 조성물 및 방법에 대한 다양한 변형은 본 명세서의 기재 및 가르침에서 명백해질 것이다. 상기 변형은 본 개시의 진정한 범위와 정신에서 벗어나지 않고 실시될 수 있으며, 본 개시의 범위에 속하도

록 의도된다.

[1094] 본 발명은 본 발명의 다양한 관점을 설명하기 위해, 예를 들어 제공되는 특정 개시된 구현예로 범위를 제한하려는 것이 아니다. 기술된 조성물 및 방법에 대한 다양한 변형은 본 명세서의 기재 및 가르침에서 명백해질 것이다. 상기 변형은 본 개시의 진정한 범위와 정신에서 벗어나지 않고 실시될 수 있으며, 본 개시의 범위에 속하도록 의도된다.

[1095] 서열

서열 번호	서열	설명
1	ESKYGPPCPPCP	스페이서 (IgG4 힌지) (aa) 호모 사피엔스
2	GAATCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCCTTGCCCT	스페이서 (IgG4 힌지) (nt) 호모 사피엔스
3	ESKYGPPCPPCPGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLGK	힌지-CH3 스페이서 호모 사피엔스
4	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVFQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLGK	힌지-CH2-CH3 스페이서 호모 사피엔스
5	RWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGG EEKKKEKEKEEQEERETKTPECPSTHTQPLGVYLLTPAVQDLWLRDKATFTCFVVGSDLKDAHLTWEVAGKVPTGGVEEGLLERHNSGSQHSRLTLPRSLWNAGTSVTCTLNHPSPPPQRLMALREPAAPVKLSLNLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPPNILLMWLEDQREVNTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVP APPSPQPATYTCVVSHEDSRILLNASRSLEVSIVTDH	IgD-힌지-Fc 호모 사피엔스
6	LEGGGEGRGSLLTCGDVEENPGPR	T2A 인공적인

[1096]

7	MLLVTSLLLCELPHPAFLIPRKVCNGIGIGEFKDSLSINAT NIKHFKNCTSISGDLHILPVAFRGDSFHTPLDPQELDILKT VKEITGFLLIQAWPENRTDLHAFENLEIIRGRTKQHGQFSLA VVSLNITSLGLRSLKEISDGDVIISGNKNCYANTINWKKLFG TSGQKTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDC VSCRNVSRGRECVDKCNLLEGEPREFVENSECIQCHPECLPQ AMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVMGENNT LVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCPNGPKIPSI ATGMVGAALLLLVVALGIGLFM	tEGFR 인공적인
8	FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (수탁 번호 P10747 의 아미노산 153- 179) 호모 사피엔스
9	IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFWV LVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (수탁 번호 P10747 의 아미노산 114- 179) 호모 사피엔스
10	RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYR S	CD28 (P10747 의 아미노산 180- 220) 호모 사피엔스
11	RSKRSRGGHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYR S	CD28(LL 이 GG 로) 호모 사피엔스

[1097]

12	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL	4-1BB (Q07011.1 의 아미노산 214- 255) 호모 사피엔스
13	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRG RDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGER RRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CD3 제타 호모 사피엔스
14	RVKFSRSAEPPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRG RDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGER RRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CD3 제타 호모 사피엔스
15	RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRG RDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGER RRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	CD3 제타 호모 사피엔스
16	RKVCNGIGIGEFKDSL SINATNIKHFNCT SISGLHILPVAFR GDSFTHTPPLDPQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAF ENLEIIRGRTKQHGFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVVIS GNKNLCYANTINWKKLFGTSGQKTKIISNRGENSCKATGQV CHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCNLLEGEP REFVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDG PHCVKTCPAGVMGENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYG CTGPGLEGCPINGPKIPSIATGMV GALLLLLVVALGIGLFM	tEGFR 인공적인
17	EGRGSLLTCGDVEENPGP	T2A 인공적인
18	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A
19	ATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A
20	QCTNYALLKLAGDVESNPGP	E2A
21	VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP	F2A
22	PGGG-(SGGGG) <sub>5</sub> -P- 여기서 P 는 프롤린, G 는 글리신 및 S 는 세린	링커
23	GSADDAKKDAAKKDGKS	링커
24	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	링커

[1098]

25	gacatccagatgaccagaccacctccagcctgagcggccagcctggcgaccgggtgacca tcagctgccgggccagccaggacatcagcaagtacctaactggtatcagcagaagcccac ggcaccgtcaagctgctgatctaccacaccagccggctgcacagcggcgtgccagccggtt tagcggcagcggctccggcaccgactacagcctgacctctccaacctggaacaggaagata tcgccacctactttggcagcagggcaacacactgcctacaccttggcggcgaacaagct ggaatcaccggcagcacctccggcagcggcaagcctggcagcggcgaggcagcacca agggcgaggtgaagctgaggaagcggccctggcctggtggccccagccagagcctga gcgtgacctgcaccgtgagcggcgtgagcctgccgactacggcgtgagctggatccggca gccccaggaaggcctggaatggctggcgtgatctggcagcggagaccactactac aacagcggcctgaagagcggcgtgacctatcaaggacaacagcaagagccaggttctct gaagatgaacagcctgcagaccgacgacaccgccatctactactgcgccaagcactactacta cggggcagcctacgccatggactactggggcagggcaccagcgtgacctgagcagc	scFv 를 암호화하는 서열
26	X <sub>1</sub> PPX <sub>2</sub> P X <sub>1</sub> 은 글리신, 시스테인 또는 아르기닌이다 X <sub>2</sub> 는 시스테인 또는 트레오닌이다	힌지
27	Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro	힌지
28	Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro	힌지
29	ELKTPLGDIHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCP RCPEPKSCDTPPPCPRCP	힌지
30	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro	힌지
31	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	힌지
32	Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	힌지
33	Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	힌지
34	Glu Val Val Val Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	힌지
35	RASQDISKYLN	CDR L1
36	SRLHSGV	CDR L2
37	GNTLPYTFG	CDR L3
38	DYGVV	CDR H1
39	VIWGSETTYNSALKS	CDR H2
40	YAMDYWG	CDR H3
41	EVKLQESGPGLVAPSQLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPR KGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMN SLQTDITAIYYCAKHYYGGSYAMDYWGQTSVTVSS	VH
42	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLWNWYQQKPD GTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSDYSLTISNLEQEDIA TYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEIT	VL

[1099]

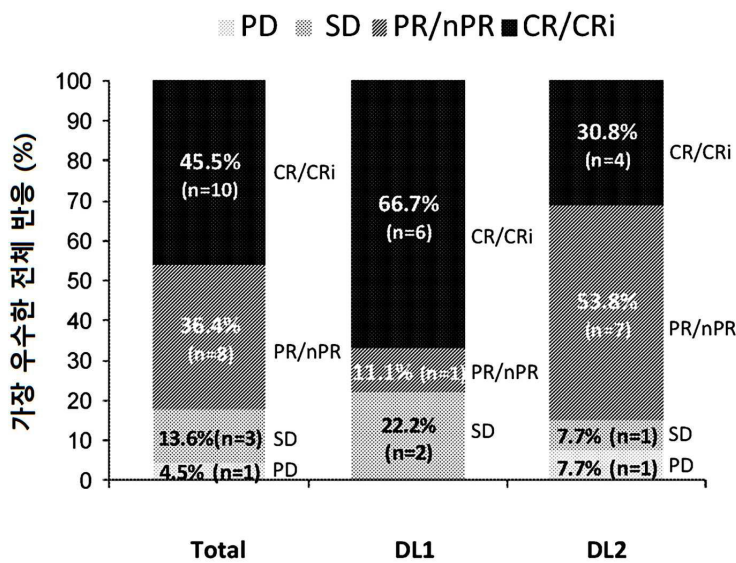


43	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPD GTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSDYSLTISNLEQEDIA TYFCQQGNLTPYTFGGGKLEITGSTSGSGKPGSGEGSTKGE VKLQESGGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPR KGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMN SLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQTSVTVSS	scFv
44	KASQNVGTNVA	CDR L1
45	SATYRNS	CDR L2
46	QQYNRYPYT	CDR L3
47	SYWMN	CDR H1
48	QIYPGDGDTNYNGKFKG	CDR H2
49	KTISSVDFYFDY	CDR H3
50	EVKLQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQR PGQGLEWIGQIYPGDGDTNYNGKFKGQATLTADKSSSTAY MQLSGLTSEDSAVYFCARKTISSVDFYFDYWGQTTVTVS S	VH
51	DIELTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKQ GQSPKPLIYSATYRNSGVDRFTGSGSDFTLTITNVQSKD LADYFCQQYNRYPYTSGGGKLEIKR	VL
52	GGGGSGGGSGGGGS	링커
53	EVKLQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQR PGQGLEWIGQIYPGDGDTNYNGKFKGQATLTADKSSSTAY MQLSGLTSEDSAVYFCARKTISSVDFYFDYWGQTTVTVS SGGGSGGGSGGGGSDIELTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKA SQNVGTNVAWYQQKPGQSPKPLIYSATYRNSGVDRFTGS GSGDFTLTITNVQSKDLADYFCQQYNRYPYTSGGGKLEI KR	scFv
54	HYYYGGSYAMDY	CDR H3
55	HTSRLHS	CDR L2
56	QQGNLTPYT	CDR L3
57	ACACGGCCTCGTGATTACTGT	IGH 프라이머
58	ACCTGAGGAGACGGTGACC	IGH 프라이머

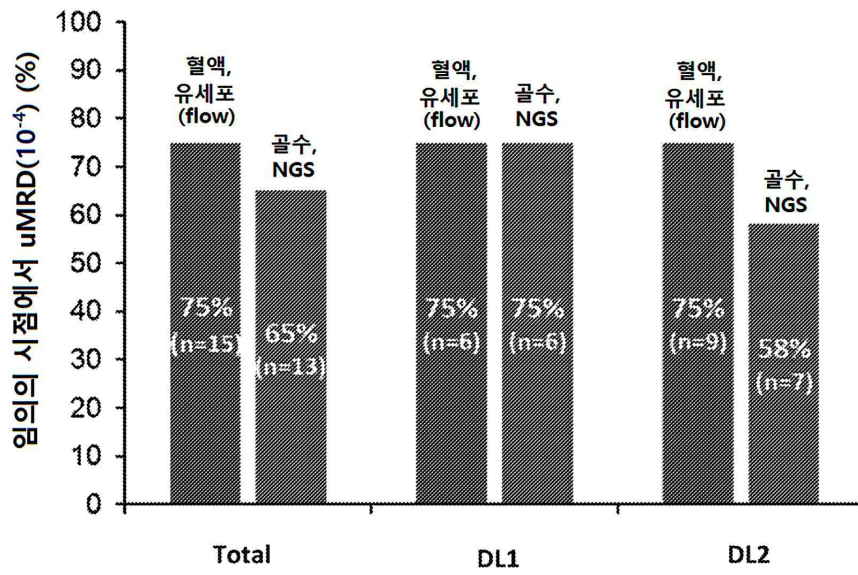
[1100]

도면

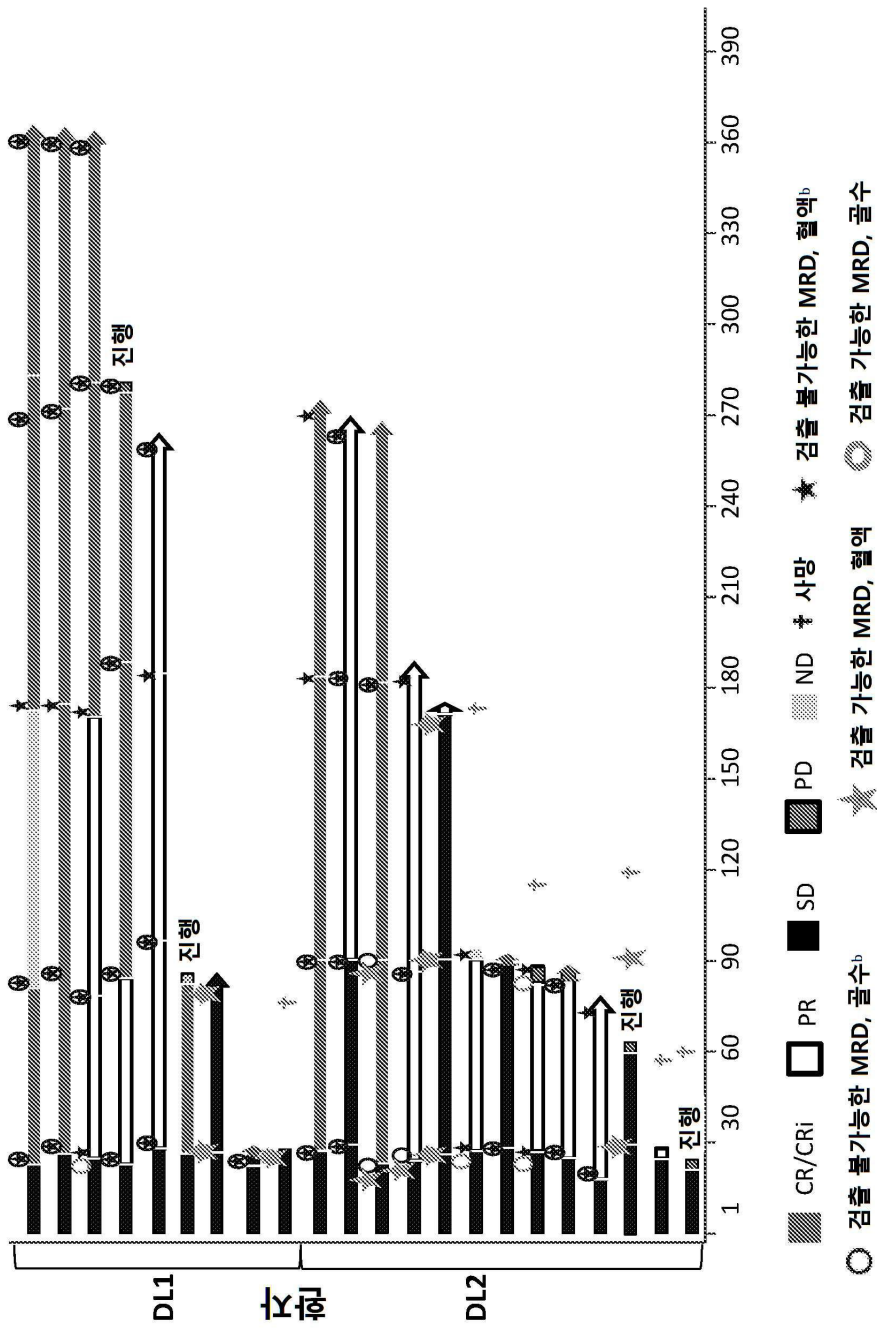
도면 1a



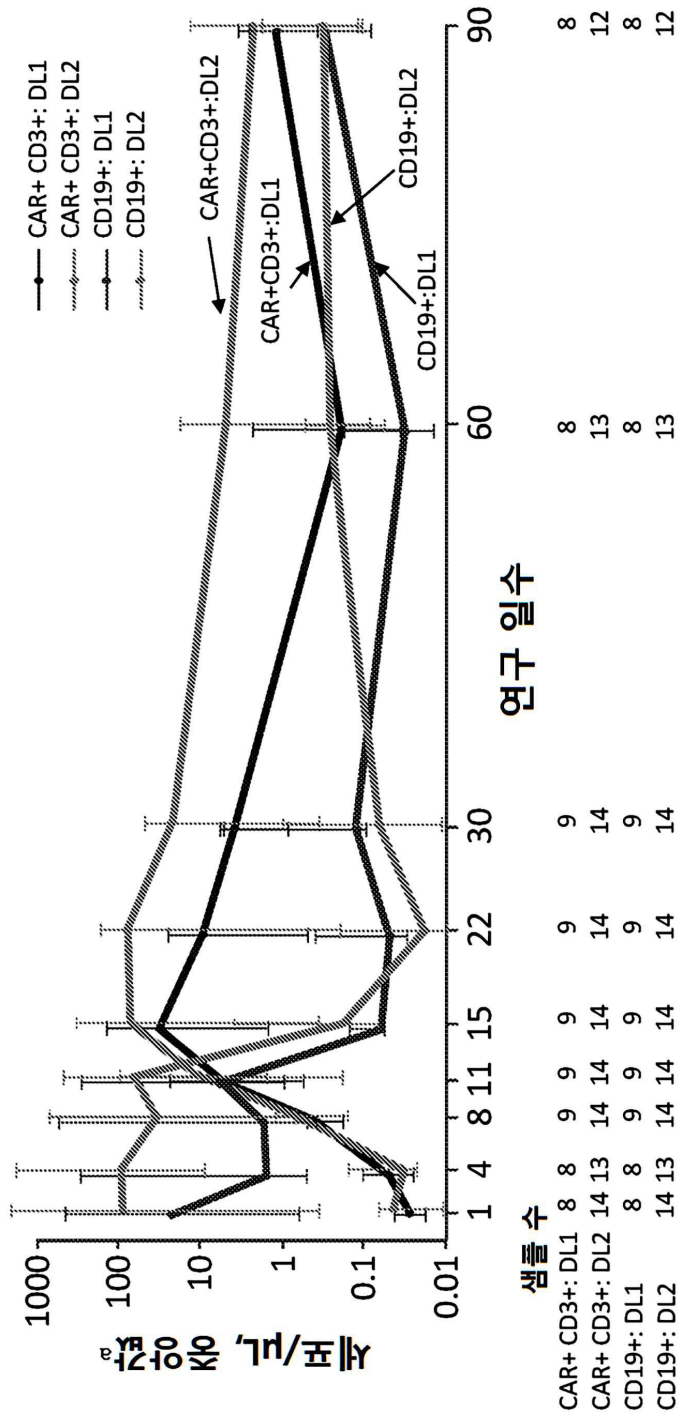
도면1b



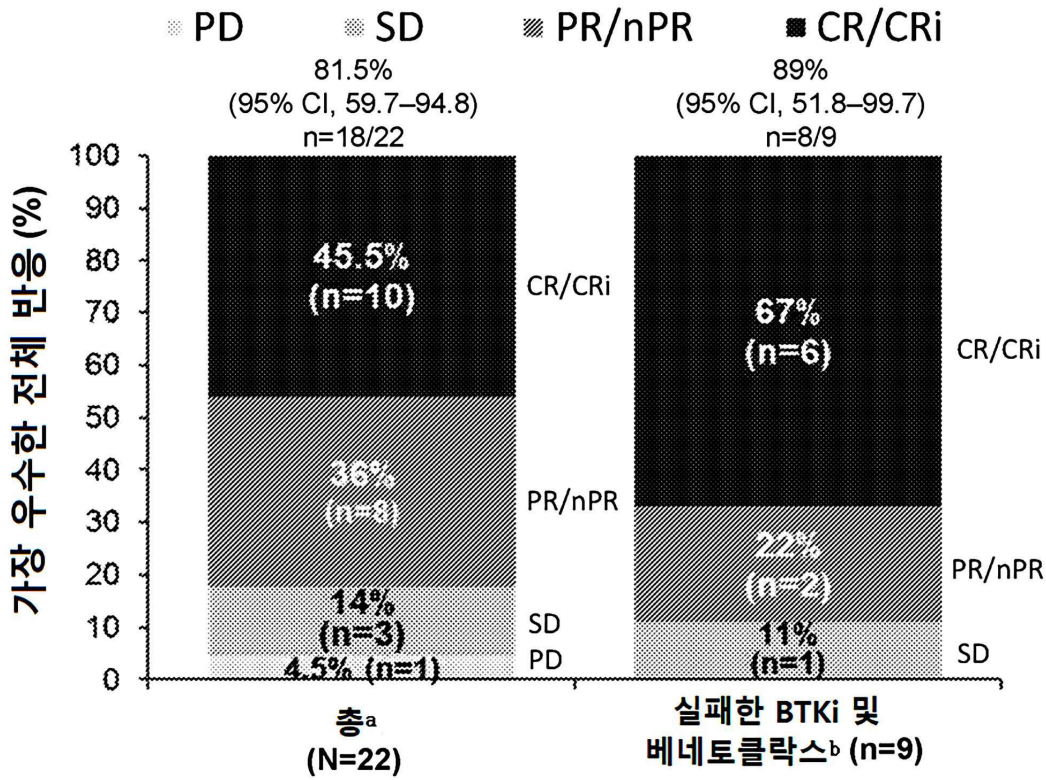
도면2



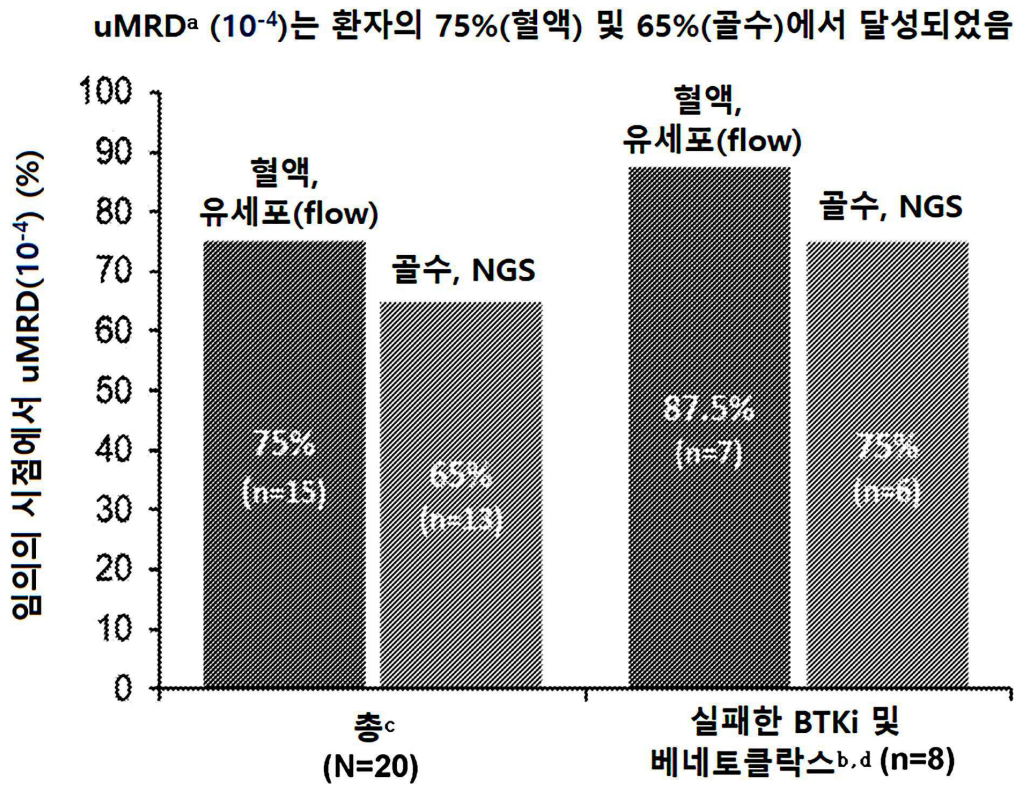
도면3



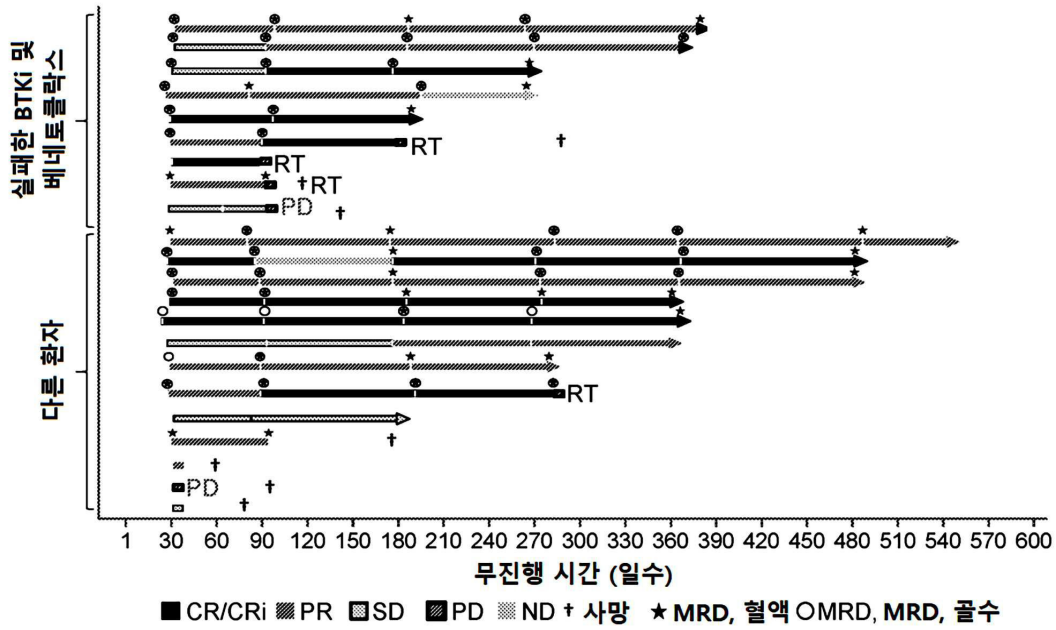
도면4a



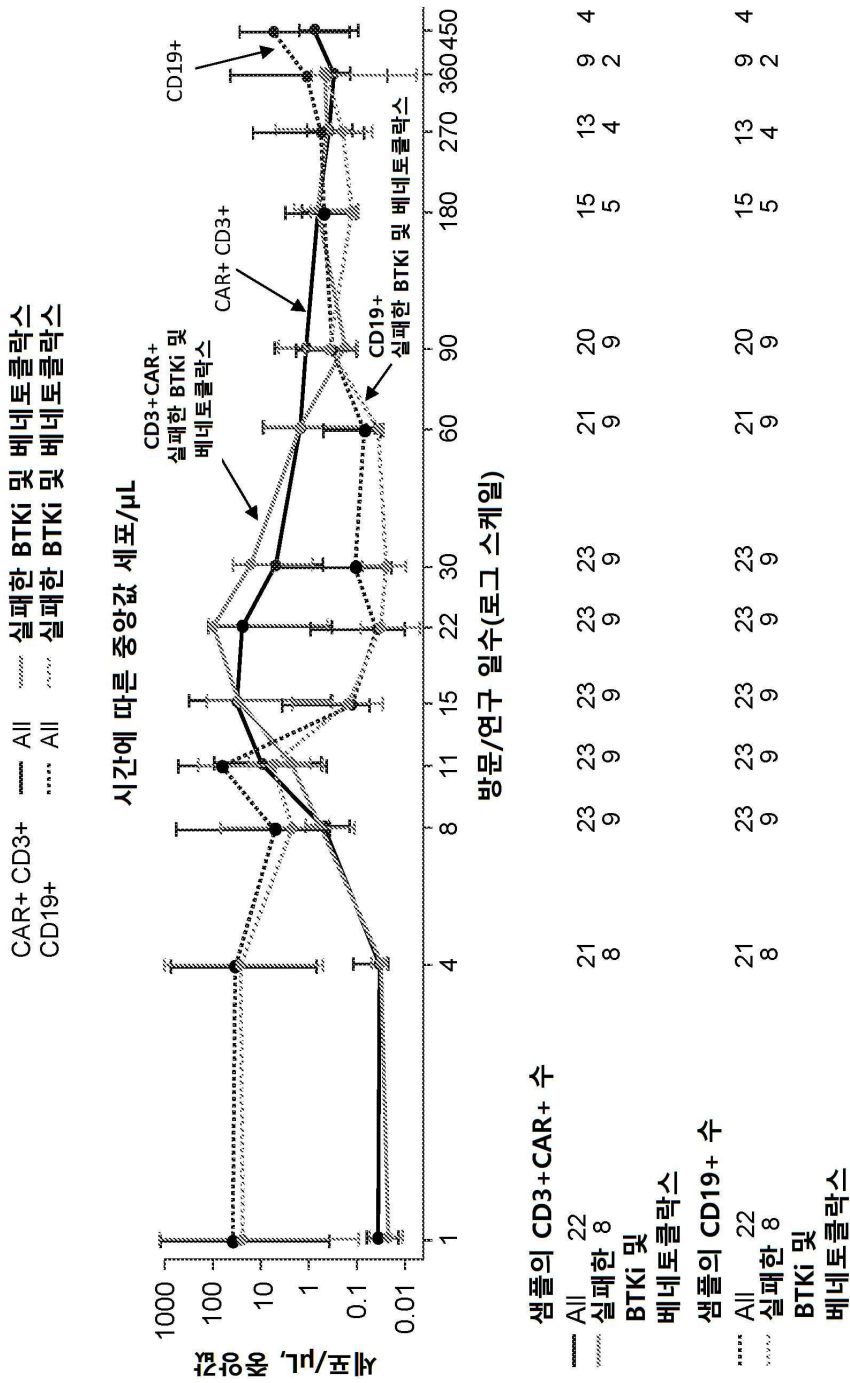
도면4b



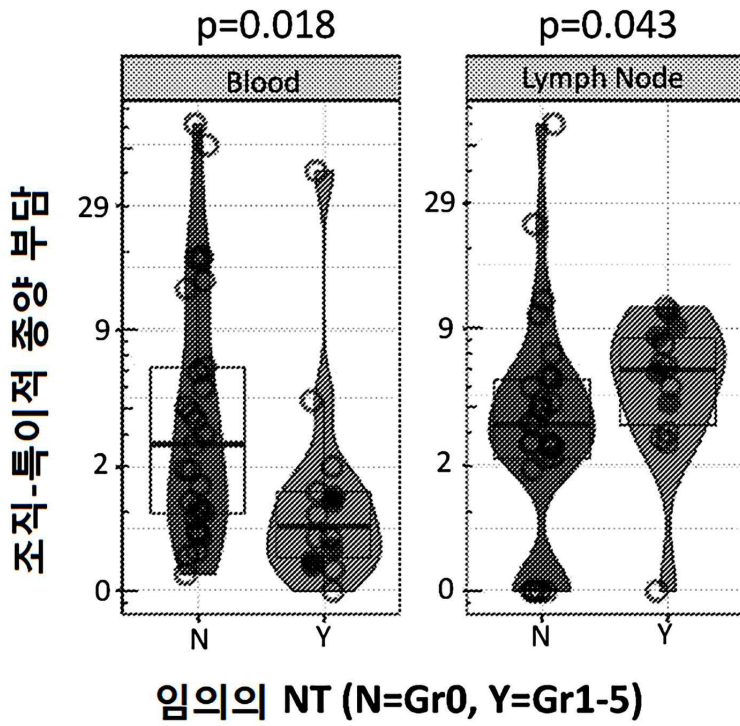
도면5



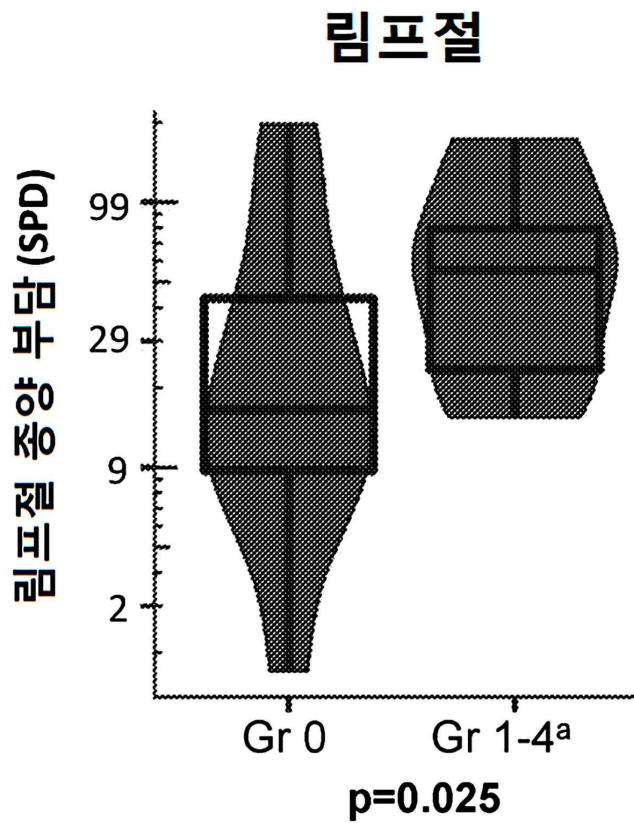
도면6



도면7a

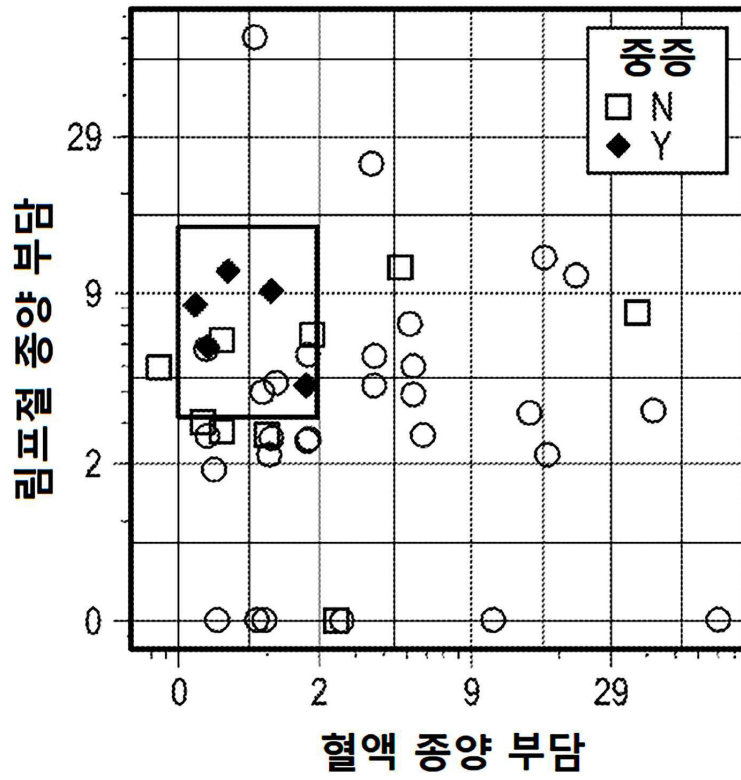


도면7b

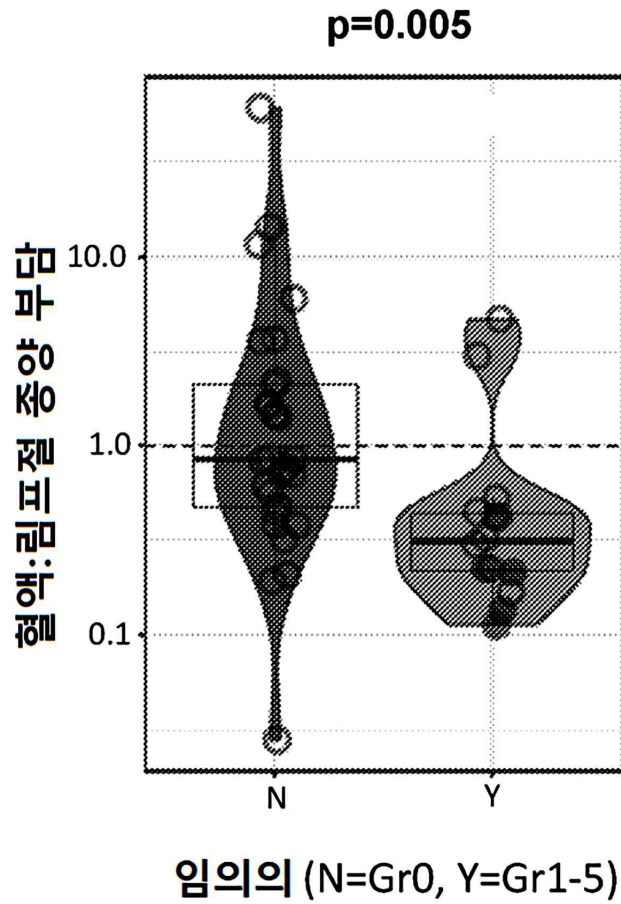




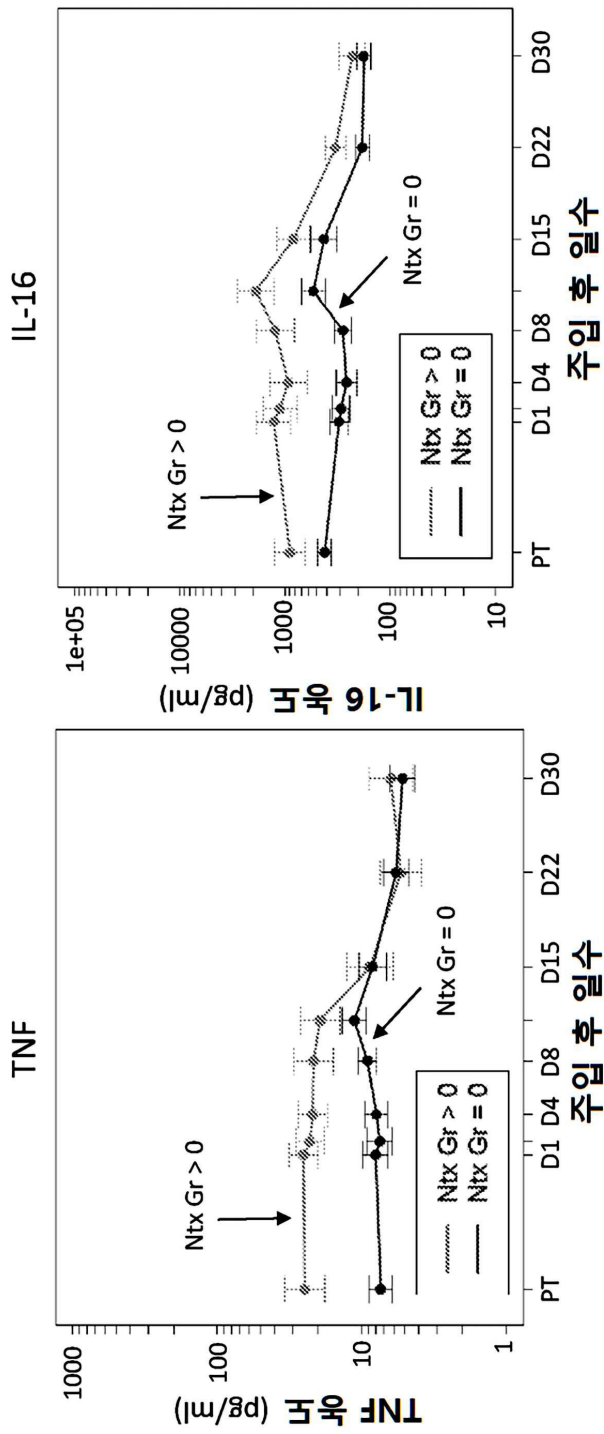
도면7c



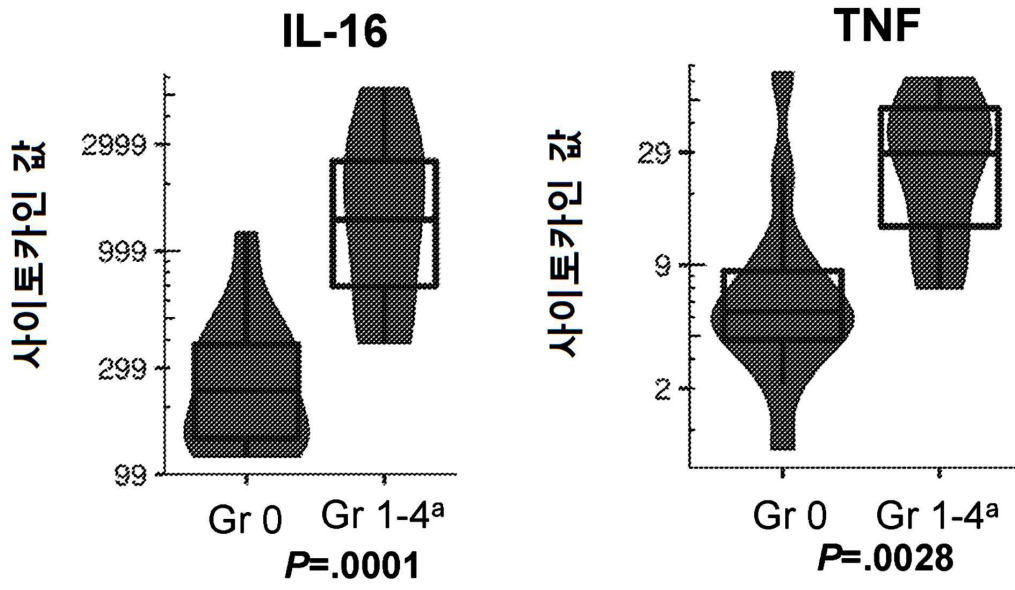
도면7d



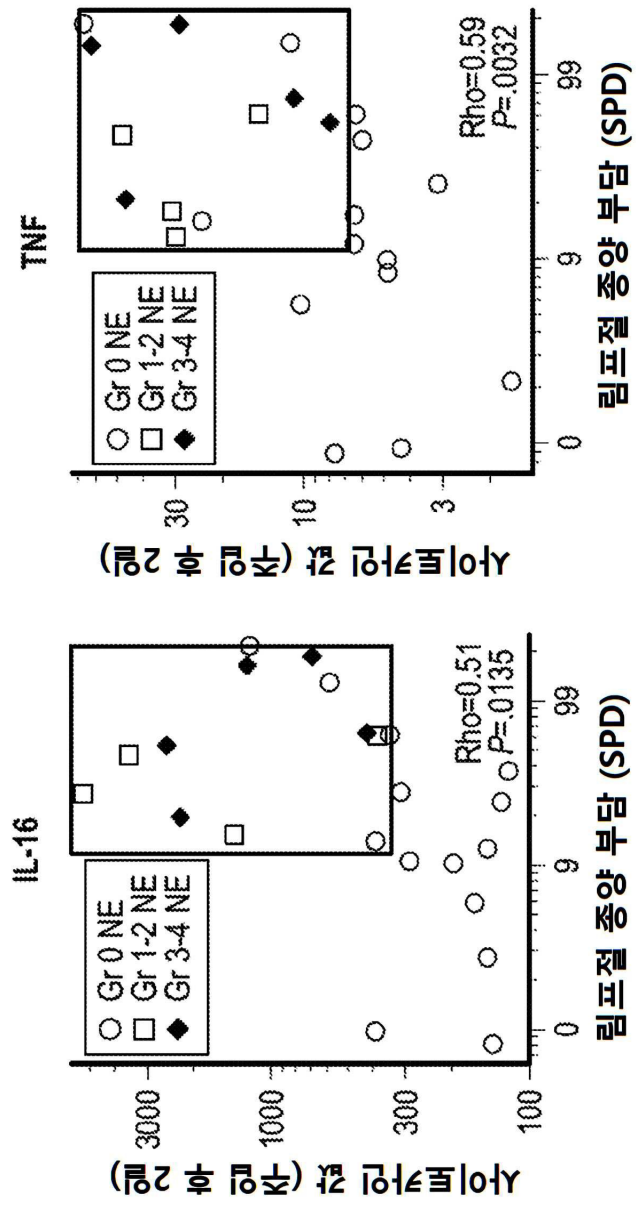
도면8



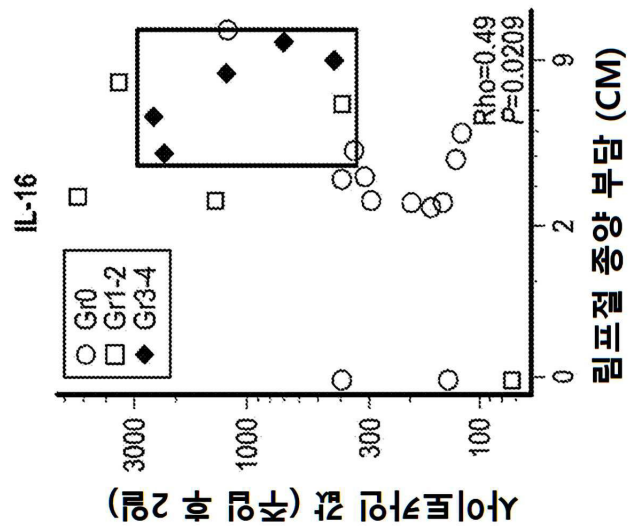
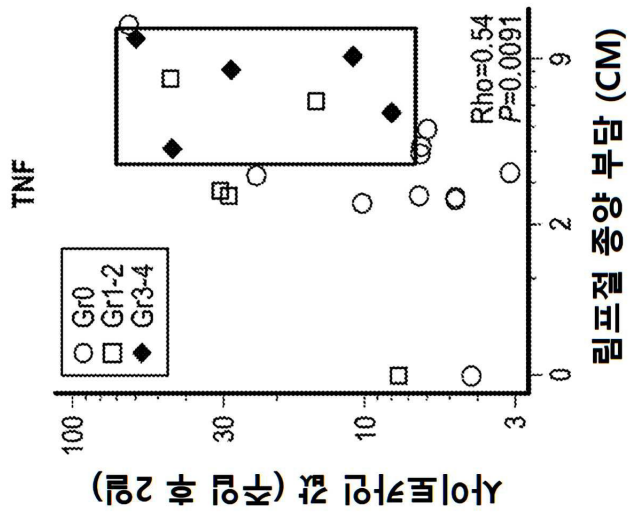
도면9a



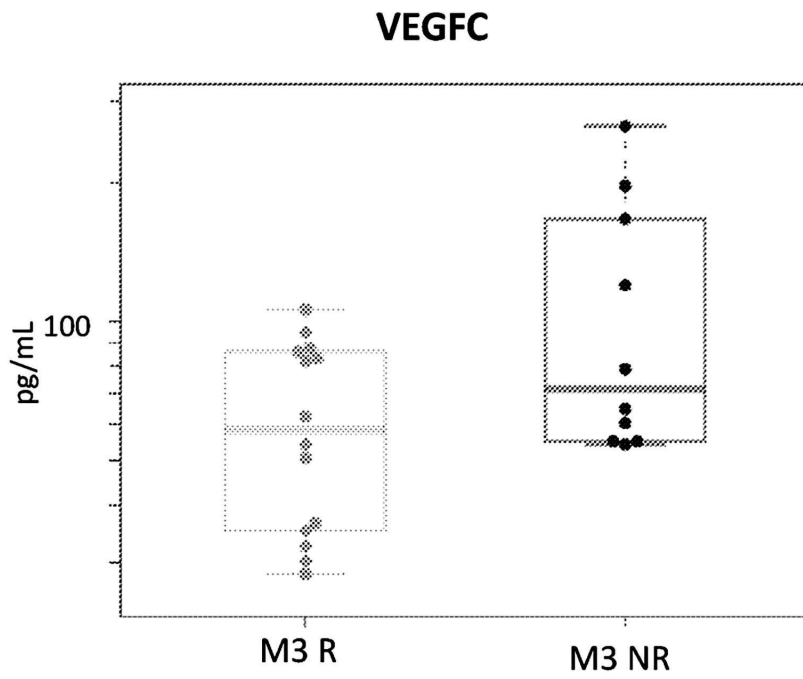
도면9b



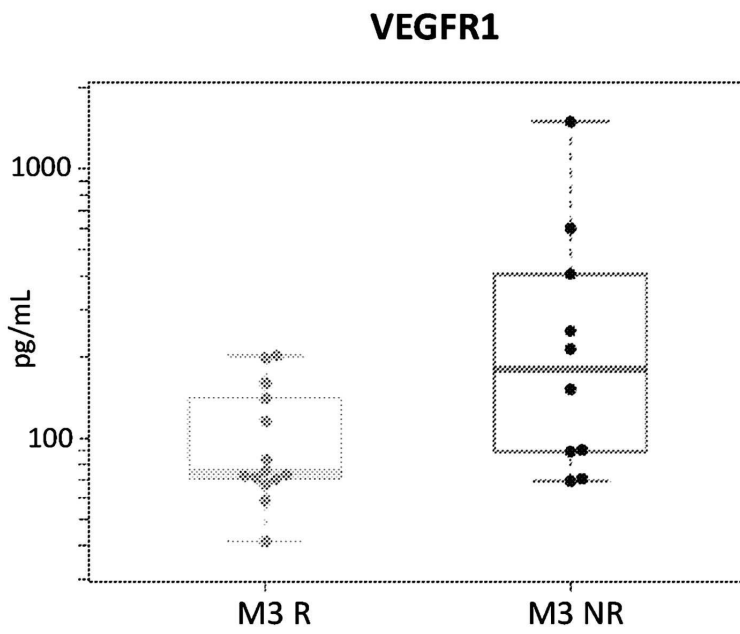
도면9c



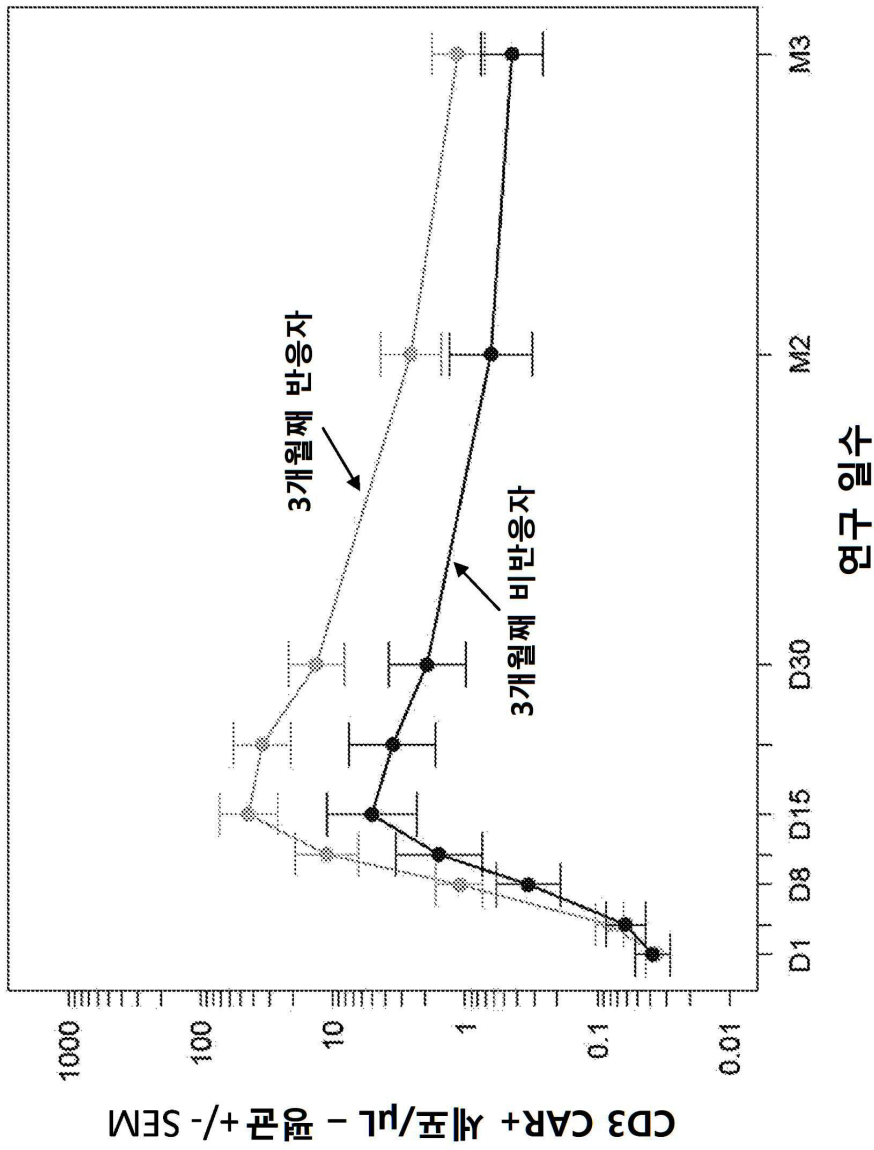
도면10a



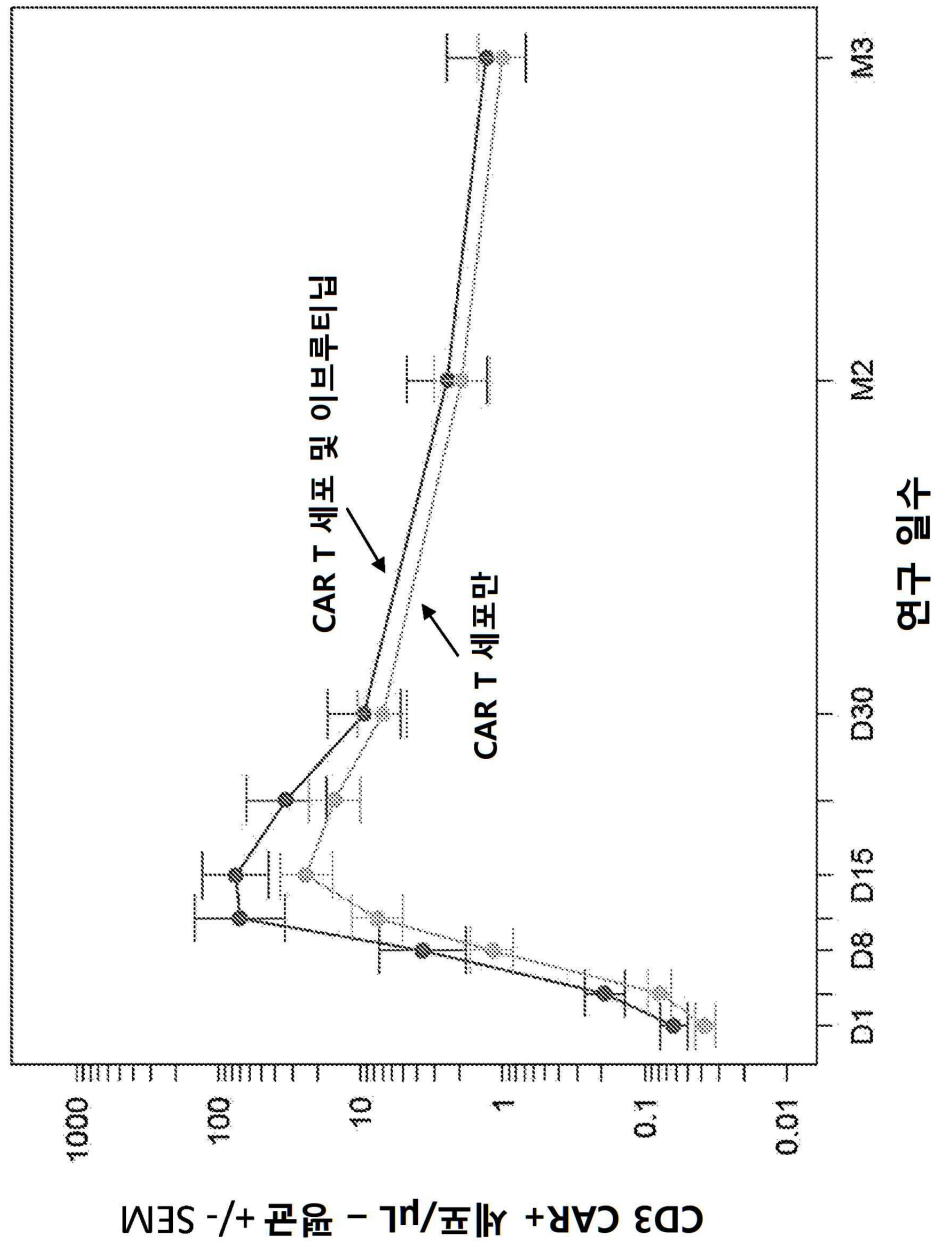
도면10b



도면11a



도면11b







<211> 36

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<220><223> spacer (IgG4hinge)

<400> 2

gaatctaagt acggaccgcc ctgccccct tgcct

36

<210> 3

<211> 119

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Hinge-CH3 spacer

<400> 3

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

1                    5                    10                    15

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

                  20                    25                    30

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

                  35                    40                    45

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

                  50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

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

                  85                    90                    95

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

                  100                    105                    110

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

                  115

<210> 4

<211> 229

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Hinge-CH2-CH3 spacer

<400> 4

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe  
 1 5 10 15

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr  
 20 25 30

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val  
 35 40 45

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val  
 50 55 60

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser  
 65 70 75 80

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu  
 85 90 95

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser  
 100 105 110

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro  
 115 120 125

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln  
 130 135 140

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala  
 145 150 155 160

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr  
 165 170 175

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu  
 180 185 190

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser  
 195 200 205

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser  
 210 215 220

Leu Ser Leu Gly Lys  
 225

<210> 5

<211> 282

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IgD-hinge-Fc

<400> 5

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

1                    5                    10                    15

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

                  20                    25                    30

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

                  35                    40                    45

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

50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

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

                  85                    90                    95

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

100                    105                    110

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

115                    120                    125

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

130                    135                    140

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

145                    150                    155                    160

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

165                    170                    175

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

180                    185                    190

Trp Leu Leu Cys Glu Val Ser Gly Phe Ser Pro Pro Asn Ile Leu Leu

195                    200                    205

Met Trp Leu Glu Asp Gln Arg Glu Val Asn Thr Ser Gly Phe Ala Pro  
 210 215 220

Ala Arg Pro Pro Pro Gln Pro Gly Ser Thr Thr Phe Trp Ala Trp Ser  
 225 230 235 240

Val Leu Arg Val Pro Ala Pro Pro Ser Pro Gln Pro Ala Thr Tyr Thr  
 245 250 255

Cys Val Val Ser His Glu Asp Ser Arg Thr Leu Leu Asn Ala Ser Arg  
 260 265 270

Ser Leu Glu Val Ser Tyr Val Thr Asp His  
 275 280

<210> 6

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> T2A

<400> 6

Leu Glu Gly Gly Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp  
 1 5 10 15

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Arg  
 20

<210> 7

<211> 357

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> tEGFR

<400> 7

Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro  
 1 5 10 15

Ala Phe Leu Leu Ile Pro Arg Lys Val Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly  
 20 25 30

Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn Ala Thr Asn Ile Lys His Phe  
 35 40 45

Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp Leu His Ile Leu Pro Val Ala  
 50 55 60  
 Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu  
 65 70 75 80  
 Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile  
 85 90 95  
 Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp Leu His Ala Phe Glu Asn Leu  
 100 105 110  
  
 Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln His Gly Gln Phe Ser Leu Ala  
 115 120 125  
 Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu  
 130 135 140  
 Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr  
 145 150 155 160  
 Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys  
 165 170 175  
  
 Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly  
 180 185 190  
 Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu  
 195 200 205  
 Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys  
 210 215 220  
 Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu  
 225 230 235 240  
  
 Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met  
 245 250 255  
 Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala  
 260 265 270  
 His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val  
 275 280 285  
 Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His







Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met  
 1                    5                    10                    15  
 Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe  
                   20                    25                    30

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu  
                   35                    40

<210> 13

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD3 zeta

<400> 13

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly  
 1                    5                    10                    15  
 Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr  
                   20                    25                    30  
 Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys  
                   35                    40                    45

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys  
                   50                    55                    60

Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg  
 65                    70                    75                    80

Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala  
                   85                    90                    95

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg  
                   100                    105                    110

<210> 14

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD3 zeta

<400> 14

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Glu Pro Pro Ala Tyr Gln Gln Gly  
 1                    5                    10                    15  
 Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr  
                   20                    25                    30  
 Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys  
                   35                    40                    45  
 Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys  
                   50                    55                    60  
 Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg  
 65                    70                    75                    80  
 Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala  
                   85                    90                    95  
 Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg  
                   100                    105                    110

<210> 15

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD3 zeta

<400> 15

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly  
 1                    5                    10                    15  
 Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr  
                   20                    25                    30  
 Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys  
                   35                    40                    45  
 Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys  
                   50                    55                    60  
                   65                    70                    75                    80  
 Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala  
                   85                    90                    95

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg  
                   100                  105                  110  
 <210> 16  
 <211> 335  
 <212> PRT  
 <213> artificial sequence  
 <220><223> tEGFR  
 <400> 16  
 Arg Lys Val Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu  
  
 1                  5                  10                  15  
 Ser Ile Asn Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile  
                   20                  25                  30  
 Ser Gly Asp Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe  
                   35                  40                  45  
 Thr His Thr Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr  
                   50                  55                  60  
 Val Lys Glu Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn  
  
 65                  70                  75                  80  
 Arg Thr Asp Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg  
                   85                  90                  95  
 Thr Lys Gln His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile  
                   100                  105                  110  
 Thr Ser Leu Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val  
                   115                  120                  125  
 Ile Ile Ser Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp  
  
                   130                  135                  140  
 Lys Lys Leu Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn  
 145                  150                  155                  160  
 Arg Gly Glu Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala Leu  
                   165                  170                  175  
 Cys Ser Pro Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser  
                   180                  185                  190

Cys Arg Asn Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu

195 200 205

Leu Glu Gly Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln

210 215 220

Cys His Pro Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly

225 230 235 240

Arg Gly Pro Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro

245 250 255

His Cys Val Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr

260 265 270

Leu Val Trp Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His

275 280 285

Pro Asn Cys Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly Cys Pro

290 295 300

Thr Asn Gly Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala Thr Gly Met Val Gly Ala

305 310 315 320

Leu Leu Leu Leu Val Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe Met

325 330 335

<210> 17

<211> 18

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> T2A

<400> 17

Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro

1 5 10 15

Gly Pro

<210> 18

<211> 22

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> P2A

<400> 18

Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val

1                    5                    10                    15

Glu Glu Asn Pro Gly Pro

20

<210> 19

<211> 19

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> P2A

<400> 19

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn

1                    5                    10                    15

Pro Gly Pro

<210> 20

<211> 20

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> E2A

<400> 20

Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser

1                    5                    10                    15

Asn Pro Gly Pro

20

<210> 21

<211> 22

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> F2A

<400> 21

Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val

1                    5                    10                    15

Glu Ser Asn Pro Gly Pro

20

<210> 22

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> linker

<220><221> REPEAT

<222> (5)..(9)

<223> SGGGG is repeated 5 times

<400> 22

Pro Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Pro

1                    5                    10

<210> 23

<211> 17

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Linker

<400> 23

Gly Ser Ala Asp Asp Ala Lys Lys Asp Ala Ala Lys Lys Asp Gly Lys

1                    5                    10                    15

Ser

<210> 24

<211> 18

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Linker

<400> 24

Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr

1                    5                    10                    15

Lys Gly

<210> 25  
 <211> 735  
 <212> DNA  
 <213> artificial sequence  
 <220><223> Sequence encoding scFv  
 <400> 25  
 gacatccaga tgaccagac cacctccage ctgagcgcca gcctgggcga cgggtgacc 60  
 atcagctgcc gggccagcca ggacatcage aagtacctga actggtatca gcagaagccc 120  
 gacggcaccg tcaagctgct gatctaccac accagccggc tgcacagcgg cgtgccagc 180  
 cggtttagcg gcagcggctc cggcaccgac tacagcctga ccatctcaa cctggaacag 240  
 gaagatatcg ccacctactt ttgccagcag ggcaacacac tgcctacac ctttggcggc 300  
  
 ggaacaaagc tggaaatcac cggcagcacc tccggcagcg gcaagcctgg cagcggcgag 360  
 ggcagcacca agggcgaggt gaagctgcag gaaagcggcc ctggcctggt ggccccagc 420  
 cagagcctga gcgtgacctg caccgtgagc ggctgagcc tgcccgacta cggcgtgagc 480  
 tggatccggc agccccccag gaagggcctg gaatggctgg gcgtgatctg gggcagcgag 540  
 accacctact acaacagcgc cctgaagagc cggctgacca tcatcaagga caacagcaag 600  
 agccaggtgt tctgaagat gaacagcctg cagaccgacg acaccgcat ctactactgc 660  
 gccaaagcact actactacgg cggcagctac gccatggact actggggcca gggcaccagc 720  
  
 gtgaccgtga gcagc 735  
 <210> 26  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> artificial sequence  
 <220><223> Hinge  
 <220><221> VARIANT  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa is glycine, cysteine or arginine  
 <220><221> VARIANT  
 <222> (4)..(4)  
 <223> Xaa is cysteine or threonine  
 <400> 26  
 Xaa Pro Pro Xaa Pro

1                    5  
 <210> 27  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> artificial sequence  
 <220><223> Hinge  
 <400> 27  
 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

1                    5                    10                    15  
 <210> 28  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> artificial sequence  
 <220><223> Hinge  
 <400> 28  
 Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro

1                    5                    10  
 <210> 29  
 <211> 61  
 <212> PRT  
 <213> artificial sequence  
 <220><223> Hinge  
 <400> 29  
 Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr His Thr Cys Pro Arg Cys Pro

1                    5                    10                    15  
 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu

                  20                    25                    30  
 Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro  
                   35                    40                    45  
 Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro

                  50                    55                    60  
 <210> 30  
 <211> 12



<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Hinge

<400> 30

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

1                    5                    10

<210>

31

<211> 12

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Hinge

<400> 31

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

1                    5                    10

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Hinge

<400> 32

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro

1                    5

<210> 33

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Hinge

<400> 33

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro

1                    5                    10

<210> 34

<211> 14

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> Hinge

<400> 34

Glu Val Val Val Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro

1                    5                    10

<210> 35

<211> 11

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR L1

<400> 35

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn

1                    5                    10

<210> 36

<211> 7

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR L2

<400> 36

Ser Arg Leu His Ser Gly Val

1                    5

<210> 37

<211> 9

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR L3

<400> 37

Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly

1                    5

<210> 38

<211> 5

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR H1

<400> 38

Asp Tyr Gly Val Ser

1                    5

<210> 39

<211> 16

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR H2

<400> 39

Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser

1                    5                    10                    15

<210> 40

<211> 7

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR H3

<400> 40

Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly

1                    5

<210> 41

<211> 120

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> VH

<400> 41

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

1                    5                    10                    15

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

20                    25                    30

Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35                    40                    45

Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys

50                    55                    60



<220><223> scFv

<400> 43

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly

1                    5                    10                    15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr

                  20                    25                    30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile

                  35                    40                    45

Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

                  50                    55                    60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln

65                    70                    75                    80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr

                  85                    90                    95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Ser Thr Ser Gly

                  100                    105                    110

Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr Lys Gly Glu Val Lys

                  115                    120                    125

Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser

                  130                    135                    140

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

145                    150                    155                    160

Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile

                  165                    170                    175

Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu

                  180                    185                    190

Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn

                  195                    200                    205

Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr

                  210                    215                    220

Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser



1                    5  
 <210> 48  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> artificial sequence  
 <220><223> CDR H2  
 <400> 48  
 Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe Lys  
 1                    5                    10                    15

Gly

<210> 49  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> artificial sequence  
 <220><223> CDR H3  
 <400> 49  
 Lys Thr Ile Ser Ser Val Val Asp Phe Tyr Phe Asp Tyr  
 1                    5                    10

<210> 50  
 <211> 122  
 <212> PRT  
 <213> artificial sequence  
 <220><223> VH  
 <400> 50  
 Glu Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ser  
 1                    5                    10                    15  
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr

                  20                    25                    30  
 Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
                   35                    40                    45  
 Gly Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe  
 50                    55                    60





<220><223> Linker

<400> 52

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 53

<211> 245

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> scFv

<400> 53

Glu Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Gln Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Gly Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Lys Thr Ile Ser Ser Val Val Asp Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser

130 135 140

Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Val Thr Cys

145 150 155 160

Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys

165 170 175

Pro Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Ser Ala Thr Tyr Arg Asn  
 180 185 190

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe  
 195 200 205

Thr Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser Lys Asp Leu Ala Asp Tyr Phe  
 210 215 220

Cys Gln Gln Tyr Asn Arg Tyr Pro Tyr Thr Ser Gly Gly Gly Thr Lys  
 225 230 235 240

Leu Glu Ile Lys Arg  
 245

<210> 54

<211> 12

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<223> CDR H3

<400> 54

His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr  
 1 5 10

<210> 55

<211> 7

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR L2

<400> 55

His Thr Ser Arg Leu His Ser  
 1 5

<210> 56

<211> 9

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> CDR L3

<400> 56

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr

1                    5

<210> 57

<211> 22

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220><223> IGH primer

<400> 57

acacggcctc gtgtattact gt                    22

<210> 58

<211> 19

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220><223> IGH Primer

<400> 58

acctgaggag acggtgacc                    19