



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0099504
(43) 공개일자 2024년06월28일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 35/28 (2015.01) A61P 9/04 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 35/28 (2013.01)
A61P 9/04 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7019898(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2015년12월22일
심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2017-7018961
원출원일자(국제) 2015년12월22일
심사청구일자 2020년12월11일
- (85) 번역문제출일자 2024년06월14일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2015/081042
- (87) 국제공개번호 WO 2016/102597
국제공개일자 2016년06월30일
- (30) 우선권주장
AU2014905243 2014년12월23일
오스트레일리아(AU)

- (71) 출원인
메조블라스트 인터내셔널 에스에이알엘
스위스 메이린 1217 루트 드 프리-보아 20
- (72) 발명자
이메스쿠, 실비우
호주, 빅토리아 브리아이씨 3000, 멜버른, 55 콜
린스가, 레벨 38
폴든, 리
미국, 뉴욕 10017, 뉴욕, 플로어 3, 505 5번 애비
뉴
- (74) 대리인
이처영, 강제환

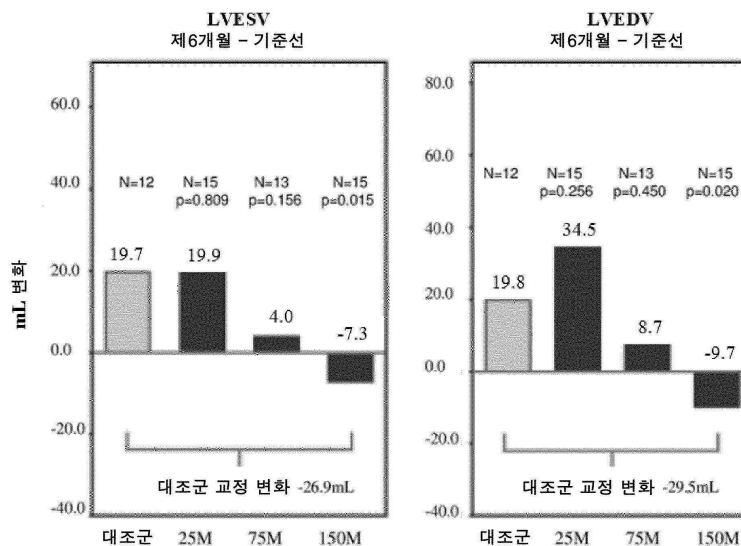
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 심부전의 치료 방법

(57) 요약

본 개시내용은 상승된 좌심실 수축기말 용적지수 (LVESV)를 가진 대상체에서 심부전의 치료 또는 예방 방법에 관한 것이다. 특히, 본 개시내용은 70 mL 초과 (>70mL)의 LVESV를 가진 대상체에서 심부전의 치료 또는 예방 방법에 관한 것이다.

대표도



명세서

청구범위

청구항 1

STRO-1⁺ 중간엽계 전구 세포(MPCs)의 집단을 포함하는 진행성 만성 심부전의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로,

상기 진행성 만성 심부전은 100mL 초과인 상승된 좌심실 수축기말 용적지수(LVESV)를 특징으로 하는 만성 심부전을 앓는 대상체의 좌심실 수축기 기능부전에 기인하고, 추가로 상기 세포의 집단은 적어도 1.2×10^8 내지 8×10^{10} 개의 세포를 포함하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 상승된 LVESV는 급성 심근경색에 기인하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 상승된 LVESV가 만성 울혈성 심부전에 기인하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 대상체는 110 mL 초과인 LVESV를 갖는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 세포는 상기 대상체에 카테터-기반 시스템에 의해 투여되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 세포는 상기 대상체에 경심내막 주사, 관동맥내 주입, 정맥내 주입 또는 경심외막 주사에 의해 투여되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 대상체가 35% 이하의 좌심실 박출률 (LVEF)을 갖는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 심부전이 고혈압, 허혈성 심근증 또는 비-허혈성 심근증, 심근염, 비만, 또는 당뇨병에 기인하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 대상체는 좌심실의 5% 내지 30%의 경색 크기를 갖는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 중간엽계 전구 세포의 집단은 STRO-1^{브라이트(bright)} 세포인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 11

제1항에 있어서, 1.5×10^8 개의 세포를 포함하는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 12

제1항에 있어서, 상기 중간엽계 전구 세포의 집단은 약제학적으로 허용되는 담체 및 부형제 중 어느 하나 이상과 제형화 되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 13

제1항에 있어서, 상기 중간엽계 전구 세포의 집단은 배양 확장된(expanded in culture) 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 14

제1항에 있어서, 상기 중간엽계 전구 세포는 자가조직(autologous) 또는 동종이계(allogeneic) 유래인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 15

제1항에 있어서, 상기 대상체는 뉴욕 심장 협회 (NYHA) 클래스 II, III 또는 IV로 분류되는 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련된 출원에 대한 참고

[0002] 본 출원은 2015년 12월 23일 출원된 호주 특허 출원 번호 2014905243의 우선권을 주장하고, 이들의 전체 내용은 참고로 편입된다.

[0003] 개시내용의 분야

[0004] 본 개시내용은 상승된 좌심실 수축기말 용적지수 (LVESV)를 가진 대상체에서 심부전의 치료 또는 예방 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 심근경색 (MI)으로 인한 심부전은 개발 도상국에서의 사망률 및 이환율의 주요 원인 중 하나이다. 이러한 사건 이후 생존하여 퇴원한 65세 초과환자에 있어서 350,509의 급성 MI 입원과 관련된 데이터를 평가한 미국 메디케어 기록의 최근 업데이트가 발행되었다 (Schuster et al. (2004) *Physiol Heart Circa Physiol.*,

287(2):525-32). 지표 사건 이후 최초 일년 이내에서, MI 환자의 25.9%가 사망하고, 50.5%가 재입원하였다. MI 이후 일개월 이내에, 사망의 가능성이 일반 메디케어-연령 부류에 비해 21배 높아졌고, 입원의 가능성은 12배 높아졌다.

[0006] MI 이후 더 큰 경색을 갖는 환자 및 더 심한 경색후 LV 부전은 중기-내지-장기 심장병 및 사망을 겪을 상당히 증가된 위험에 있다. 상세하게는, 전벽 경색증 (anterior wall infarct), 및 경색후 기간에서의 보다 심한 LV 부전은 중기-내지-장기 심장병 및 사망을 겪을 상당히 증가된 위험에 놓여 있다 (Eitel et al. (2010) J Am Coll Cardiol., 55:2470-9).

[0007] 당해 기술에서 심부전의 예방 및 치료용 신규한 및 유효한 방법, 특히 기관의 이용가능성이 희귀한 심장 이식에 대한 필요성을 회피하는 치료 방법이 강력하게 필요하다. 특정 시스템에서 그렇게 되면 일반적인 마취 및 개심 수술과 관련된 포텐셜 합병증 및 위험의 나타남 없이 심장 조직 손상이 취소되거나 또는 심장 조직 결함이 회복된다.

발명의 내용

[0008] 개시내용의 요약

[0009] 중간엽계 전구체 세포로 수행된 전임상 심장 연구는 최적의 결과가 심근 손상의 최대 양의 설정에서 생성되는 것을 예상외로 입증하였다. 이는 중간엽계 전구체 세포가 그의 "적재물", 즉 주변분비 인자를 방출시키기 위해 손상된 심근으로부터 신호가 기저 생화학적/생리적 착란 사이 조직 수준 및 중간엽계 전구체 세포에서 "혼선"에 필요하다는 가능성을 제기한다. 상기 관찰은 세포가 건강한 심근 조직에 주사된 경우 유의미한 중간엽계 전구체 세포-매개된 효과가 없다는 것을 입증하는 연구에 의해 뒷받침되었다.

[0010] 본 개시내용은 유의미한 좌심실 수축성 비정상 (즉 수축 기능부전)때문에 진단된 만성 심부전을 가진 환자에서 중간엽 전구체 세포 (MPC)의 심근 투여가 MPC의 효능 신호를 향상시킨다는 관찰에 기반된다. 특히, 본 개시내용은 중간 정도로 중증 좌심실 수축성 손상을 가진 대상체가 MPC의 경심내막 전달에 양호하게 반응한다는 것 및 좌심실 수축 기능부전 때문에 만성 심부전을 가진 환자에서 기준선 좌심실 수축성 비정상의 규모가 더 클수록, MPC-관련 심장보호 효과가 더 유익하다는 것의 발견에 기반된다.

[0011] 더 상세하게는, 발명자들은 심부전 대상체에서 기준선 좌심실 수축종말기 용적 (LVESV) 컷-오프의 사용이 주요 유해 심장 사건 (MACE)에 대하여 고위험으로 진단된 심부전을 가진 대상체 부류를 식별하고 MPC의 투여에 최적으로 반응하는 대상체 부류를 식별한다는 것을 발견하였다.

[0012] 본 개시내용은, 한 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자를, 70 mL 초과와 상승된 좌심실 수축기말 용적지수 (LVESV)를 가진 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 심부전의 치료 또는 예방 방법을 제공한다.

[0013] 하나의 예에서, 상승된 LVESV는 급성 심근경색에 기인한다. 또 다른 예에서, 상승된 LVESV는 만성 울혈성 심부전에 기인한다.

[0014] 또 다른 예에서, 방법은 하기의 단계를 포함한다:

[0015] i) 70 mL 초과와 상승된 LVESV를 가진 대상체의 선택 단계, 및

[0016] ii) 한 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자를 대상체에 투여하는 단계.

[0017] 또 다른 예에서, 방법은 하기의 단계를 포함한다:

[0018] i) 심부전을 가진 대상체(들)의 진단 단계;

[0019] ii) 한 부류의, 70 mL 초과와 상승된 LVESV를 갖는 진단된 대상체에 대한 선택 단계; 및

[0020] iii) 한 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자를 대상체(들)에 투여하는 단계.

[0021] 하나의 예에서, LVESV는 80 mL 초과, 90 mL 초과, 100 mL 초과, 100 mL 초과, 110 mL 초과, 120 mL 초과, 또는 130 mL 초과이다. 또 다른 예에서, LVESV는 80 mL/m^2 초과, 90 mL/m^2 초과, 100 mL/m^2 초과, 110 mL/m^2 초과,

120 mL/m², 초과 또는 130 mL/m² 초과이다.

- [0022] 하나의 예에서, 세포, 이의 자손 또는 가용성 인자는 카테터-기반 시스템에 의해 대상체에 투여된다. 추가 예에서, 세포, 및/또는 이의 자손 및/또는 가용성 인자는 대상체의 정맥계에 삽입된 카테터를 이용하여 조직 손상의 부위에서 또는 근처에서 대상체의 심근에 투여된다. 또 다른 예에서, 세포, 및/또는 이의 자손 및/또는 가용성 인자는 전신으로 투여될 수 있다. 세포, 및/또는 이의 자손 및/또는 가용성 인자의 전달은 치료가 필요한 심근의 영역의 식별 이후 수행될 수 있다.
- [0023] 추가 예에서, 세포, 및/또는 이의 자손 및/또는 가용성 인자는 경심내막 주사, 관동맥내 주입 또는 경심외막 주사에 의해 대상체에 투여된다.
- [0024] 추가 예에서, 대상체는 약 35% 이하의 좌심실 박출률 (LVEF)을 갖는 것을 특징으로 한다. 또 다른 예에서, 대상체는 약 35% 미만, 약 30% 미만, 약 25% 미만, 또는 약 20% 미만의 LVEF를 갖는다.
- [0025] 하나의 예에서, 심부전은 고혈압, 심근증 (허혈성 또는 비-허혈성), 심근염, 비만, 또는 당뇨병에 기인한다. 추가 예에서, 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자는 심부전의 진단 이후 대상체에 투여된다.
- [0026] 하나의 예에서 대상체는 급성 심근증을 갖는다. 추가 예에서, 대상체는 허혈성 심근증을 갖는다. 추가 예에서, 대상체는 비-허혈성 심근증을 갖는다. 추가 예에서, 대상체는 증식된 또는 울혈성 심근증을 갖는다. 추가 예에서, 대상체는 제한적 심근증을 갖는다.
- [0027] 또 다른 예에서, 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자는 급성 심근경색 이후 대상체에 투여된다. 추가 예에서, 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자는 심부전의 진단 이후 약 1 내지 7 일 사이 대상체에 투여된다. 추가 예에서, 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자는 심근경색 이후 약 1 내지 7 일 사이 대상체에 투여된다. 추가 예에서, 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자는 심부전의 진단 이후, 또는 심근경색 이후 약 3 내지 5 일 사이 대상체에 투여된다.
- [0028] 또 다른 예에서, 대상체는 약 5% 내지 30%, 또는 약 10% 내지 20%의 좌심실 경색 크기를 갖는다.
- [0029] 심부전의 진단 방법은 당업자에 익숙할 것이다. 예는 하기를 포함한다: 대상체의 물리적 시험, 심전도, 가슴 x-선, 혈액 시험에 의한 BNP 및/또는 트로포닌 수준의 결정, 심장초음파검사, 도플러 초음파, 홀스터 모니터, 핵심장 스캔, 심장 카테터화, 스트레스 시험 또는 심장 자기 공명 영상 (심장 MRI).
- [0030] 본 개시내용에 있어서 70 mL 초과와 상승된 LVESV를 가진 대상체의 선택 방법은 당업자에 익숙할 것이다. 예를 들어, 대상체의 LVESV는, 비제한적으로 2-차원 심장초음파검사, 자기 공명 단층촬영, 심장 전산화단층촬영법 (CT) 또는 2방향 좌심실 시네조영술을 포함한, 당해 기술에서 공지된 디바이스에 의해 측정될 수 있다. 추가로, 당업자는 상기 용어가 당해 기술에서 그리고 본원에서 다른 곳에 기재된 바와 같이 이해되는 경우 용어 "상승된 LVESV"의 경계 및 한계에 익숙할 것이다.
- [0031] 본 개시내용에 있어서 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손의 투여는 심부전 및/또는 그의 증상에 대하여 약물 또는 다른 치료를 받는 대상체에 수행될 수 있다. 대안적으로, 심부전에 대하여 임의의 다른 약물 또는 치료를 받지 않는 대상체에 수행될 수 있다. 일부 예에서, 본 개시내용에 있어서 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손의 투여는 관상동맥 우회 이식술 (CABG) 또는 좌심실 보조 디바이스 (LVAD) 이식을 이전에 경험한 대상체에 수행된다. 대상체에 의해 경험된 CABG 또는 LVAD 이식 절차는 본 개시내용에 있어서 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손의 동시 투여에 의해 동반될 수 있거나 또는 그렇지 않을 수 있다. 일부 예에서, 본 개시내용에 있어서 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손의 투여는 CABG 또는 LVAD 이식을 경험하는 개인에 수행된다. 다른 예에서, 본 개시내용에 있어서 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손의 투여는 손상된/불량성 심장 조직의 치료를 위하여 임의의 요법을 받지 않았고/않았거나 받지 않을 대상체에 수행된다.
- [0032] 본 개시내용은 또한 한 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자를 심장에 투여하는 것을 포함하는, 70 mL 초과와 상승된 LVESV를 갖는 심장에서 심부전의 치료 또는 예방 방법을 제공한다.
- [0033] 하나의 예에서, LVESV는 80 mL 초과, 90 mL 초과, 100 mL 초과, 100 mL 초과, 110 mL 초과 또는 120 mL 초과이

다. 또 다른 예에서, LVESV는 80 mL/m² 초과, 90 mL/m² 초과, 100 mL/m² 초과, 110 mL/m² 초과, 120 mL/m², 초과이다.

[0034] 또 다른 예에서, 본 개시내용은, 한 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자를 심장에 투여하는 것을 포함하는, 70 mL 초과, 80 mL 초과, 90 mL 초과, 100 mL 초과, 110 mL 초과 또는 120 mL 초과인 LVESV를 갖는 심장에서 상승된 좌심실 수축기말 용적지수 (LVESV)의 감소 방법을 제공한다.

[0035] 하나의 예에서, LVESV는 80 mL 초과, 90 mL 초과, 100 mL 초과, 100 mL 초과, 110 mL 초과 또는 120 mL 초과이다. 또 다른 예에서, LVESV는 80 mL/m² 초과, 90 mL/m² 초과, 100 mL/m² 초과, 110 mL/m² 초과, 120 mL/m², 초과이다.

[0036] 또 다른 예에서, LVESV의 감소는 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자가 투여되지 않은 동일한 심장과 비교하여 적어도 20%, 적어도 15%, 적어도 10%, 적어도 5%, 또는 적어도 2%이다.

[0037] 또 다른 예에서, LVESV는 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자의 투여 이후 약 6 개월, 약 12 개월, 약 24 개월, 또는 약 36 개월에서 측정된다.

[0038] 하나의 예에서, 세포, 및/또는 이의 자손 및/또는 가용성 인자는 카테터-기반 시스템에 의해 심장에 투여된다. 추가 예에서, 세포, 및/또는 이의 자손 및/또는 가용성 인자는 조직 손상의 부위에서 또는 근처에서 심근에 투여된다. 세포, 및/또는 이의 자손 및/또는 가용성 인자의 전달은 치료가 필요한 심근의 영역의 식별 이후 수행될 수 있다.

[0039] 추가 예에서, 세포, 및/또는 이의 자손 및/또는 가용성 인자는 경심내막 주사, 관동맥내 주입 또는 경심외막 주사에 의해 심장에 투여된다.

[0040] 추가 예에서, 심장은 추가로 약 55% 미만의 좌심실 박출물 (LVEF)을 갖는 것을 특징으로 한다. 추가 예에서, 심장은 추가로 약 35% 이하의 좌심실 박출물 (LVEF)을 갖는 것을 특징으로 한다. 또 다른 예에서, 심장은 약 35% 미만, 약 30% 미만, 약 25% 미만, 또는 약 20% 미만의 LVEF를 갖는다.

[0041] 하나의 예에서, 상승된 LVESV는 급성 심근경색에 기인한다. 추가 예에서, 상승된 LVESV는 만성 울혈성 심부전에 기인한다.

[0042] 추가 예에서, 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자는 심부전의 진단 이후 심장에 투여된다. 또 다른 예에서, 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자는 급성 심근경색 이후 심장에 투여된다. 추가 예에서, 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자는 심부전의 진단 이후 약 1 내지 7 일 사이 심장에 투여된다. 추가 예에서, 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자는 급성 심근경색 이후 약 1 내지 7 일 사이 심장에 투여된다. 추가 예에서, 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자는 심부전 또는 심근경색의 진단 이후 약 3 내지 5 일 사이 심장에 투여된다.

[0043] 또 다른 예에서, 심장은 좌심실의 약 10% 내지 35%, 또는 약 11 - 34%, 약 12 - 33%, 약 13 - 32%, 약 14 - 31%, 약 15 - 30%, 약 16 - 29%, 또는 약 17 - 28%의 좌심실 경색 크기를 갖는다.

[0044] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 방법은 또한 한 부류의 STRO-1⁺ 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자에 대해 농축된 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포를 심장 또는 대상체에 투여하는 단계를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 본 개시내용의 방법은 한 부류의 STRO-1^{브라이트} 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자에 대해 농축된 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포를 심장 또는 대상체에 투여하는 단계를 포함한다.

[0045] 또 다른 예에서, 상기 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포는 조직 비특이적 알칼리 포스파타아제 (TNAP)를 발현하고 및/또는 상기 자손 세포 및/또는 가용성 인자는 TNAP를 발현하는 중간엽계 세포로부터 유도된다. 또 다른 예에서, 상기 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포는 적어도 0.1 μg/10⁶ 세포의 양으로 안지오펀이에틴-1 (Ang1)을 발현하고 및/또는 상기 자손 세포 및/또는 가용성 인자는 적어도 0.1 μg/10⁶ 세포의 양으로 Ang1을 발현하는 중간엽계 전구 세포로부터 유도된다. 또 다른 예에서, 한 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포는 적

어도 $0.5 \mu\text{g}/10^6$ 세포의 양으로 Ang1을 발현한다. 또 다른 예에서, 한 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포는 적어도 $1 \mu\text{g}/10^6$ 세포의 양으로 Ang1을 발현한다. 또 다른 예에서, 상기 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포는 약 $0.05 \mu\text{g}/10^6$ 세포 미만의 양으로 혈관 내피세포 성장 인자 (VEGF)를 발현하고 및/또는 자손 세포 및/또는 가용성 인자는 약 $0.05 \mu\text{g}/10^6$ 세포 및/또는 자손 세포 미만의 양으로 VEGF를 발현하는 중간엽계 전구 세포로부터 유도된다. 또 다른 예에서, 상기 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포는 약 $0.03 \mu\text{g}/10^6$ 세포 미만의 양으로 VEGF를 발현한다. 또 다른 예에서, 상기 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포는 적어도 약 2:1의 비로 Ang1:VEGF를 발현하고 및/또는 자손 세포 및/또는 가용성 인자는 적어도 약 2:1 비로 Ang1:VEGF를 발현하는 중간엽계 줄기 또는 전구 세포로부터 유도된다. 또 다른 예에서, 한 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포는 적어도 약 10:1의 비로 Ang1:VEGF를 발현한다. 또 다른 예에서, 한 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포는 적어도 약 20:1의 비로 Ang1:VEGF를 발현한다. 또 다른 예에서, 한 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포는 적어도 약 30:1의 비로 Ang1:VEGF를 발현한다.

- [0046] 일 예에서, 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손은 치료적 유효량으로 심장 또는 대상체에 투여된다.
- [0047] 일 예에서, 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손은 다중 용량에 걸쳐 심장 또는 대상체에 투여된다. 추가 예에서, 본 개시내용의 방법은 1×10^6 내지 8×10^8 세포를 투여하는 것을 포함한다. 또 다른 예에서, 본 개시내용의 방법은 약 1.5×10^8 세포를 투여하는 것을 포함한다.
- [0048] 일 예에서, 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 세포 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자는 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 세포 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자 및 이와 함께 약제학적으로 허용가능한 담체 및/또는 부형제를 포함하는 조성물의 형태로 투여된다. 추가 예에서, 한 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손이 투여에 앞서 및/또는 상기 가용성 인자 수득에 앞서 배양액에서 증식되는, 방법.
- [0049] 본 개시내용은 또한 70 mL 초과와 상승된 LVESV를 갖는 대상체에서 심부전 치료를 위하여 본원에서 기재된 조성물 또는 한 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자의 용도를 제공한다.
- [0050] 본 개시내용은 또한 70 mL 초과와 상승된 LVESV를 갖는 심장의 치료를 위하여 본원에서 기재된 조성물 또는 한 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자의 용도를 제공한다.
- [0051] 본원에서 기재된 임의의 용도에 따른 하나의 예에서, 상승된 LVESV는 급성 심근경색에 기인한다. 본원에서 기재된 임의의 용도에 따른 또 다른 예에서, 상승된 LVESV는 만성 울혈성 심부전에 기인한다.
- [0052] 본 개시내용은 또한 70 mL 초과와 상승된 좌심실 수축기말 용적지수 (LVESV)를 갖는 대상체에서 심부전 치료용 약제의 제조에서 한 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자를 제공한다.
- [0053] 본 개시내용은 또한 70 mL 초과와 상승된 좌심실 수축기말 용적지수 (LVESV)를 갖는 심장 치료용 약제의 제조에서 한 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자를 제공한다.
- [0054] 본 개시내용은 또한 70 mL 초과와 상승된 LVESV를 갖는 대상체에서 심부전 치료에서 사용을 위하여 본원에서 기재된 조성물 또는 한 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자를 제공한다.
- [0055] 본 개시내용은 또한 70 mL 초과와 상승된 좌심실 수축기말 용적지수 (LVESV)를 갖는 심장 치료에서 사용을 위하여 본원에서 기재된 조성물, 또는 한 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자를 제공한다.
- [0056] 또 다른 예에서, 본 개시내용은 70 mL 초과와 상승된 LVESV를 갖는 심장에서 좌심실 수축기말 용적지수 (LVESV) 감소를 위하여 본원에서 기재된 조성물 또는 한 부류의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또

는 이로부터 유도된 가용성 인자의 용도를 제공한다.

- [0057] 또 다른 예에서, 본 개시내용은 70 mL 초과와 상승된 LVESV를 갖는 심장에서 좌심실 수축기말 용적지수 (LVESV) 감소에서 사용을 위하여 본원에서 기재된 조성물 또는 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자의 부류를 제공한다.
- [0058] 본원에서 기재된 임의의 부류 또는 용도에 따른 하나의 예에서, LVESV는 80 mL 초과, 90 mL 초과, 100 mL 초과, 110 mL 초과 또는 120 mL 초과이다. 또 다른 예에서, LVESV는 80 mL/m² 초과, 90 mL/m² 초과, 100 mL/m² 초과, 110 mL/m² 초과, 120 mL/m² 초과이다.
- [0059] 본원에서 기재된 임의의 방법 또는 용도에 따른 추가 예에서, 중간엽계 전구체 세포 및/또는 이의 자손의 부류는 단리 또는 정제된다.
- [0060] 추가 예에서, 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손의 부류는 공여체 대상체로부터 유도된다. 공여체 대상체는 세포, 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자가 투여되는 동일한 대상체일 수 있고 이 경우에 세포는 자가조직이다. 또 다른 예에서, 공여체 대상체는 세포, 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자가 투여되는 상이한 대상체이고 이 경우에 세포는 동종이체이다.
- [0061] 추가 예에서, 대상체는 약 55% 미만의 좌심실 박출률 (LVEF)을 갖는다. 본원에서 기재된 임의의 용도에 따른 또 다른 예에서, 대상체는 약 35% 이하의 LVEF를 갖는다. 또 다른 예에서, 대상체는 약 35% 미만, 약 30% 미만, 약 25% 미만, 또는 약 20% 미만의 LVEF를 갖는다.
- [0062] 본원에서 기재된 임의의 용도에 따른 또 다른 예에서, 심장은 약 5% 내지 30%, 또는 약 10% 내지 20%의 좌심실 경색 크기를 갖는다. 본원에서 기재된 임의의 용도에 따른 또 다른 예에서, 대상체는 약 5% 내지 30%, 또는 약 10% 내지 20%의 좌심실 경색 크기를 갖는다.
- [0063] 또 다른 예에서, 본 개시내용은 70 mL 초과와 상승된 LVESV를 갖는 심장에서 좌심실 수축기말 용적지수 (LVESV) 감소용 약제의 제조에서 중간엽 줄기 또는 계통 전구체 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자의 부류를 제공한다.
- [0064] 본 개시내용은 또한 세포, 및/또는 이의 자손 및/또는 가용성 인자의 투여용 전달 디바이스 및 본원에서 기재된 조성물 또는 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자의 부류를 포함하는 키트를 제공한다. 하나의 예에서, 전달 디바이스는 카테터이다.
- [0065] 또 다른 예에서, 본 개시내용에 있어서 대상체는 포유동물이다. 추가 예에서, 대상체는, 청소년 인간 또는 소아 인간을 포함한, 인간이다. 특정 예에서 대상체는 18 세 초과 또는 동등이다.
- [0066] 추가 예에서, 대상체는 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자의 부류의 12 개월 선행 투여에서 심부전 사건을 가졌다.
- [0067] 추가 예에서, 대상체는 뉴욕 심장 협회 (NYHA) 클래스 II, III 또는 IV로서 분류된다. 클래스 II는 대상체가 중간 정도의 신체 활동 동안 피로 및 숨가쁨을 경험하는 가벼운 것으로 정의된다. 클래스 III는 환자가 심지어 가벼운 신체 활동 동안 숨가쁨을 경험하는 중간 정도로서 정의된다. 클래스 IV 또는 말기는 환자가 심지어 휴식중에 기진맥진되는 중증으로서 정의된다.
- [0068] 추가 예에서, 대상체는 감소된 기준선 6분 보행 시험 (6MWT)을 갖고, 6분 기간 동안 대상체에 의해 횡단된 거리가 비 심부전 대상체에 비하여 감소되는 것을 의미한다.
- [0069] 또 다른 예에서, 대상체는 150 mL 초과와 좌심실 확장기말 용적 (LVEDS)을 갖는다. 또 다른 예에서, 대상체는 170 mL 초과와 LVESV를 갖는다.
- [0070] 또 다른 예에서, 대상체는 종래의 심부전 약물이 또한 수반하여 투여된다. 추가 예에서, 심부전 약물은, 비제한적으로 하나 이상의 하기를 포함한다: 베타 차단제, ACE 저해제 또는 안지오텐신 수용체 차단제.
- [0071] 또 다른 예에서, 대상체는 높은 주요 유해 심장 사건 (MACE) 비율을 갖는다. 추가 예에서, 대상체는 36 개월 동안 > 50% 심부전-MACE (HF-MACE) 비율을 갖는다. 또 다른 예에서, 대상체는 36 개월 동안 >60% HF-MACE 비율, 또는 >65% HF-MACE 비율, 또는 >70% HF-MACE 비율을 갖는다.

도면의 간단한 설명

[0072]

도 1은 좌심실 (LV) 용적에 기반된 심장 리모델링에서 MPC의 용량 의존적 효과를 보여준다.

도 2는 150 백만 MPC를 이용한 카플란-마이어 곡선 36 개월 후 치료에 의한 HF-MAC를 보여준다.

도 3a는 100 mL 이하 혹은 100 mL 초과 LVESV에 따라 줄무늬된 위약 (대조군) 및 중간엽 전구체 세포 (MPC) 투여된 대상체 (150 백만 세포)에서 기준선 좌심실 수축기말 용적지수 (LVESV) 값을 보여준다.

도 3b는 100 mL 이하 혹은 100 mL 초과 LVESV에 따라 줄무늬된 위약 (대조군) 및 MPC 투여된 대상체 (150 백만 세포)에서 6 개월에 LVEDV 값에서의 변화를 보여준다.

도 4a는 100 mL 이하 혹은 100 mL 초과 LVESV에 따라 줄무늬된 위약 (대조군) 및 MPC 투여된 대상체 (150 백만 세포)에서 기준선 좌심실 확장기말 용적 (LVEDV) 값을 보여준다.

도 4b는 100 mL 이하 혹은 100 mL 초과 LVESV에 따라 줄무늬된 위약 (대조군) 및 MPC 투여된 대상체 (150 백만 세포)에서 6 개월에 LVEDV 값에서의 변화를 보여준다.

도 5a는 100 mL 이하 혹은 100 mL 초과 LVESV에 따라 줄무늬된 위약 (대조군) 및 MPC 투여된 대상체 (150 백만 세포)에서 기준선 좌심실 박출률 (LVEF) 값을 보여준다.

도 5b는 100 mL 이하 혹은 100 mL 초과 LVESV에 따라 줄무늬된 위약 (대조군) 및 MPC 투여된 대상체 (150 백만 세포)에서 6 개월에 LVEF 값에서의 변화를 보여준다.

도 6은 70 mL 초과 LVESV에 따라 선형화된 플라시보 (대조군) 및 MPC 투여된 대상체 (1억5천만개 세포)에서의 6개월 시점에서의 LVESV 값에서의 변화를 나타낸다.

도 7은 80 mL 초과 LVESV에 따라 선형화된 플라시보 (대조군) 및 MPC 투여된 대상체 (1억5천만개 세포)에서의 6개월 시점에서의 LVESV 값에서의 변화를 나타낸다.

도 8은 90 mL 초과 LVESV에 따라 선형화된 플라시보 (대조군) 및 MPC 투여된 대상체 (1억5천만개 세포)에서의 6개월 시점에서의 LVESV 값에서의 변화를 나타낸다.

도 9은 100 mL 초과 LVESV에 따라 선형화된 플라시보 (대조군) 및 MPC 투여된 대상체 (1억5천만개 세포)에서의 6개월 시점에서의 LVESV 값에서의 변화를 나타낸다.

도 10은 110 mL 초과 LVESV에 따라 선형화된 플라시보 (대조군) 및 MPC 투여된 대상체 (1억5천만개 세포)에서의 6개월 시점에서의 LVESV 값에서의 변화를 나타낸다.

도 11은 120 mL 초과 LVESV에 따라 선형화된 플라시보 (대조군) 및 MPC 투여된 대상체 (1억5천만개 세포)에서의 6개월 시점에서의 LVESV 값에서의 변화를 나타낸다.

도 12는 LVESV >100ml의 환자에서의 치료-후 제36개월에서의 MF-MACE 카플란-마이어 곡선을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0073]

본 명세서 전반에서, 구체적으로 달리 언급하거나 또는 문맥이 달리 요구하지 않는 한, 단일의 단계, 물질의 조성물, 단계의 그룹 또는 물질의 조성물의 그룹은 단순 및 복수 (즉, 하나 이상)의 단계, 물질의 조성물, 단계의 그룹 또는 물질의 조성물의 그룹을 포괄하는 것으로 취해질 것이다.

[0074]

당해기술의 숙련가는 본원에 기술된 개시내용에 본원에 구체적으로 기술된 것 이외의 변형 및 수정이 이행될 수 있음을 이해할 것이다. 본 개시내용이 모든 이러한 변형 및 변형을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본 개시내용은 또한 본 명세서에서 언급되거나 명시된 모든 단계, 특징, 조성물 및 화합물을 개별적으로 또는 종합적으로, 상기 단계들 또는 특징들의 모든 조합 또는 둘 또는 그 이상을 포함한다.

[0075]

본 개시내용은 본원에 기재된 특정 구현예에 의해 범위가 제한되는 것은 아니고, 이는 단지 예시의 목적을 위한 것으로 의도된다. 기능적으로 등가의 생성물, 조성물 및 방법은 분명하게도 본원에 기재된 바와 같이 본 개시내용의 범위 내에 있는 것이다.

[0076]

본원에 개시된 임의의 예는 달리 구체적으로 언급하지 않는 한 임의의 다른 예에 대해 약간 수정하여 적용되는 것으로 취해질 것이다.

[0077]

달리 구체적으로 정의하지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 기술 및 과학 용어는 본 기술 분야 (예를 들면, 세포 배양, 분자 유전학, 줄기 세포 분화, 면역, 면역조직화학, 단백질 화학, 및 생화학)에서의 당업자에 의해 일

반적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 가지는 것으로 취해질 것이다.

- [0078] 달리 표지되지 않으면, 본 개시내용에서 이용되는 외과 기술은 본 기술분야의 당업자에게 알려진 표준 절차이다.
- [0079] 중간엽계 줄기 또는 전구 세포의 부류를 농축하고 수득하는 방법이 본 분야에 공지된다. 예를 들어, 중간엽계 줄기 또는 전구 세포의 농축된 부류는, 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 상에서 발현된 세포 표면 마커의 용도를 기반으로 한 세포축정 및 세포 분류의 사용에 의하여 수득될 수 있다.
- [0080] 본원에 인용되거나 참조된 모든 문서, 및 본원에서 인용되거나 참조된 모든 문서 및 인용 문서, 이와 함께 본원에 언급되거나 본원에 참조로 편입된 임의의 문서에서 임의의 제품을 위한 임의의 제조사의 설명서, 기술내용, 제품 사양, 및 제품 용지(sheets)가 본원에 그 전체가 참조로 편입된다.
- [0081] 선택된 정의
- [0082] 용어 "및/또는", 예를 들면, "X 및/또는 Y"는 "X 및 Y" 또는 "X 또는 Y"를 의미하는 것으로 이해될 것이고, 두 의미 또는 이 중 하나의 의미에 대한 분명한 근거를 제공하는 것으로 취해질 것이다.
- [0083] 본원에 사용되는 바와 같이, 용어 약은 달리 언급되지 않는 한, 표시된 값의 +/- 10%, 더 바람직하게는 +/- 5%와 관련된다.
- [0084] 본 명세서 전반에서, 단어 "포함하다(comprise)", 또는 변형어 예컨대 "포함하다" 또는 "포함함"은 언급된 성분, 정수 또는 단계, 또는 성분의 그룹, 정수들 또는 단계들의 배제가 아닌 임의의 성분, 정수 또는 단계, 또는 성분의 그룹, 정수들 또는 단계들의 개입을 의미하는 것으로 이해될 것이다.
- [0085] 본원에서 사용된 바와 같이, 단수 형태는 문맥이 달리 지시하지 않는 한 단수 및 복수의 참조를 포함한다.
- [0086] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "심부전"은 용어 "울혈성 심부전 (CHF)"과 상호교환적으로 사용될 수 있고 심장이, 예를 들어, 심장 근육 기능이상, "심근증"으로서 지칭된, 심장 근육의 약화 및 다른 심장 근육 관련된 이유 때문에 신체의 다른 기관에 충분한 혈액을 펌핑할 수 없는 상태를 지칭한다. 울혈성 심부전은, 다른 효과 중에서, 좌심실 (LV) 챔버 확장, LV 수축성 감소 및 순환 카테콜아민의 상승된 수준을 특징으로 한다. 또 다른 예에서, 심부전은 허혈성 및 다른 재관류, 및 다른 비-허혈성 인자 때문에 발생한다. 심부전은, 비제한적으로 하기 증상 또는 징후 개별적으로 또는 집합적으로 포함한다: 심장 재관류 상해, 보상된 비대, 인간 말기 심부전, 고혈압 심근증, 좌심실 고혈압, 좌심실 또는 우심실 확장, 좌심실 또는 우심실 부전, 부적응성 비대, 심근 구조적 혼란 (세포자멸사 및 심근세포의 손실) 및 심근 기능부전 (수축 및/또는 완화에서의 손실) 및 압력 과부하된 심장.
- [0087] "단리된" 또는 "정제된"은 그의 천연 환경의 적어도 일부 성분으로부터 분리되는 세포를 의미한다. 상기 용어는 그의 천연 환경으로부터 세포의 총 물리적 분리 (예를 들면 공여체의 제거)를 포함한다. 용어 "단리된"은, 예를 들어, 해리에 의해 직접적인 이웃 세포와 세포의 관계의 변경을 포함한다. 용어 "단리된"은 조직 절편에 있는 세포를 지칭하지 않는다. 세포의 부류를 지칭하기 위해 사용된 경우, 용어 "단리된"은 본 개시내용의 단리된 세포의 증식에서 비롯되는 세포의 부류를 포함한다.
- [0088] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "좌심실 고혈압 (LVH)"은 심장 근육이 확장됨에 의해 순환에서 증가된 저항성에 반응하는 조건이다. 그러나, 시간과 함께, 비대해진 심장 근육의 섬유는 증점 및 단축되고 결과적으로 덜 이완시킬 수 있다. 고혈압은 심근을 더욱 열심히 작동하게 한다. 수득한 비대는 심장의 근육 섬유의 증점 또는 단축의 생성물이다. 이들 조건 하에서, 심장이 이완되는 것 그리고 수축 및 이완의 정상 사이클을 경험하는 것을 더욱 어렵게 한다. 심근에서의 변화는 증가된 강성도를 초래하는 콜라겐에서 나타난다. 상기 공정의 결과는 정상 순환의 출력 요구를 덜 충족시킬 수 있는 심장이다.
- [0089] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "좌심실 확장"은, 심실로부터 분출되는 혈액의 용적을 증가시킬 수 있어서, 일시적으로 심장 출력을 개선하는, 좌심실 확장을 지칭한다. 심실 공동의 상기 크기 증가는 그러나 또한 (박출물로 불리는) 영향받은 혈액의 좌심실 용적의 백분율의 감소를 초래하고 유의미한 생리적 연루를 갖는다. 좌심실 확장은 심근경색 이후 심실 기능부전 및 울혈성 심부전의 징후 및 잘-인식된 전조이다. 유사하게, 우심실 확장은 우심실 확장 및 관련된 징후 또는 장애를 지칭한다.
- [0090] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "좌심실 부전"은 심장의 좌측이 효과적으로 혈액을 펌핑하지 못하는 장애를 지칭한다. 이는 폐 속으로 혈액의 역류, 압력 및/또는 울혈을 초래한다. 좌심실 부전을 나타내는 징후는 횡방향

으로 변위된 심첨 박동을 포함한다. 분마 리듬은 증가된 혈액 흐름 또는 증가된 심장내 압력의 마커로서 들릴 수 있다.

- [0091] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "심근증"은 심장 근육 (심근)이 염증성이되고 확장되는 조건을 지칭한다. 심장 근육이 신장되고 박형화되는 증식된 심근증, 심장 근육 세포가 확대하고 심장의 벽을 증점화시키는 비대성 심근증, 및 심장이 비정상 조직 예를 들면 반흔 조직 때문에 경직 및 강직해지는 제한적 심근증을 포함하는, 몇 개의 상이한 유형의 심근증은 당해 기술에 공지되어 있다.
- [0092] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "심근경색"은 또한 심장 공격을 지칭하는 것으로서 이해된다. 혈액이 심장의 일부에 적절하게 흐름을 멈추고 충분한 산소를 받지 못하기 때문에 심장 근육이 부상당하는 경우 심장 공격은 발생한다. 이는 심장에 혈액을 공급하는 관상동맥 동맥 중 하나가 봉쇄를 생기게 하는 경우 발생할 수 있다.
- [0093] 용어 "좌심실 수축기말 용적지수" (LVESV)는 본원에서 사용된 바와 같이 수축, 또는 심장수축의 마지막, 및 파일링 또는 심장이완의 시작에서 좌심실내 혈액의 용적을 지칭한다. 심장 사이클에서 임의의 지점에 심실내 혈액의 최저 용적을 지칭한다. 남성에 대하여 정상 값은 전형적으로 22-58 mL 및 여성에 대하여 19-49 mL 범위이다. 설명의 방식으로, 본원에서 참조된 LVESV 값은 기준선 LVESV 값, 즉 대상체에 중간엽계 전구 또는 줄기 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자의 투여에 앞서 결정되는 LVESV 값이다.
- [0094] 용어 "상승된 LVESV"는 당업자에 의해 이해될 것이다. 전형적으로, 남성 또는 여성에 대하여 정상 LVESV 범위 초과인 값을 의미하는 것으로 이해된다. 하나의 예에서, 상승된 LVESV는 70 mL 초과 값을 의미하는 것으로 이해될 것이다. 또 다른 예에서, 100ml 초과인 LVESV 값을 의미하는 것으로 이해된다.
- [0095] 용어 "좌심실 수축기말 용적지수 지수" (LVESVI)는 본원에서 사용된 바와 같이 색인이 만들어진 좌심실 수축기말 용적지수를 지칭한다. 값은 전형적으로 mL/m²로서 표현된다. 용어 LVESV 및 LVESVI는 본원에서 상호교환적으로 사용될 수 있다.
- [0096] 용어 "좌심실 박출률" (LVEF)은 본원에서 사용된 바와 같이 얼마나 양호하게 심장이 각 수축으로 펌핑하는지를 지칭한다. 박출률 (EF)은 백분율 즉 수축하는 매번 심장을 떠나가는 혈액의 백분율로서 전형적으로 표현된다. 정상 LVEF는 55-70% 범위이다. 65%의 LVEF는 예를 들어 좌심실에서 혈액의 총량의 65%가 각 심장박동으로 계속 펌핑되는 것을 의미한다. 좌심실이 심장의 주요 펌핑 챔버이기 때문에, EF는 좌심실 (LV)에서만 보통 측정된다. 55% 이상의 LVEF는 정상으로 간주된다. 50% 이하의 LVEF는 축소로 간주된다. 전문가는 50 내지 55% 사이에서 EF에 대하여 그의 의견이 다양하고 일부는 이것을 경계선 범위인 것으로 간주한다.
- [0097] 용어 "좌심실 확장기말 용적" (LVEDV) 본원에서 사용된 바와 같이 수축, 또는 심장수축의 마지막, 및 파일링 또는 심장이완의 시작에서 우심실내 혈액의 용적을 지칭한다. 심장 사이클에서 임의의 지점에 심실내 혈액의 최저 용적을 지칭한다. 전형적으로, LVEDV는 정상이고, 건강한 대상체는 약 120 mL이다. 설명의 방식으로, 본원에서 참조된 LVEDV 값은 기준선 LVEDV 값, 즉 대상체에 중간엽계 전구체 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자의 투여에 앞서 결정되는 LVEDV 값이다.
- [0098] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "치료하는", "치료한다" 또는 "치료"는 이로써 심부전의 적어도 하나의 증상을 감소 또는 제거하기 위해 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자의 부류의 투여를 포함한다. 하나의 특정 구현예에서, 치료는 LVESV 값을 기준선 값 (즉 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자의 투여 이전)과 비교하여 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 또는 적어도 50% 만큼 감소한다.
- [0099] 용어 "예방한다" 또는 "예방하는"은 본원에서 사용된 바와 같이 이로써 심부전의 적어도 하나의 증상의 발달을 중단 또는 방해하기 위해 중간엽계 줄기 또는 전구 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자의 부류의 투여를 포함한다.
- [0100] 용어 "대상체"는 본원에서 사용된 바와 같이 비제한적으로 쥐과, 랫트, 유인원, 인간, 가정용 및 농장 동물을 포함한 포유동물을 지칭한다.
- [0101] 중간엽계 전구체 세포
- [0102] 본원에 사용되는 바와 같이, 용어 "중간엽계 전구 또는 줄기 세포"는 중간엽 유래, 예를 들면, 골아 세포, 연골 세포, 지방 세포, 기질 세포, 섬유아세포 및 건(tendon), 또는 비-중배엽 유래, 예를 들면, 간세포, 신경 세포

및 상피 세포의 다수의 세포 유형으로 분화되는 능력 및 다분화성을 유지하면서도 자기 재생하는 능력을 갖는 미분화된 다분화능 세포를 지칭한다. 모호함을 피하기 위해, "중간엽계 전구 세포"는 중간엽 세포 예컨대 뼈, 연골, 근육 및 지방 세포, 및 섬유성 결합 조직으로 분화될 수 있는 세포를 지칭한다.

- [0103] 용어 "중간엽계 전구 또는 줄기 세포"는 모세포 및 이의 미분화된 자손 모두를 포함한다. 또한, 상기 용어는 중간엽 전구 세포, 다분화능 기질 세포, 중간엽 줄기 세포 (MSC), 혈관주위 중간엽 전구 세포, 및 이의 미분화된 자손을 포함한다.
- [0104] 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 자가, 이종, 동종 또는 동종유전자형일 수 있다. 자가 세포는 이것이 재이식될 것인 동일한 사람으로부터 분리된다. 동종 세포는 동일한 종의 공여체로부터 분리된다. 이종 세포는 다른 종의 공여체로부터 분리된다. 동계 또는 동종유전자형 세포는 유전자적으로 동일한 유기체, 예컨대 쌍둥이, 클론, 또는 고도의 동종번식 연구 동물 모델로부터 분리된다.
- [0105] 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 주로 골수에 체류하나, 또한 예를 들면, 제대혈 및 탯줄, 성인의 말초혈액, 지방 조직, 소주골 및 치수를 포함하는 다양한 숙주 조직에서 존재하는 것으로 나타났다.
- [0106] 일 예에서, 중간엽계 전구 세포는 STRO-1+ 중간엽 전구 세포 (MPC)이다. 본원에 사용되는 바와 같이, 어구 "STRO-1+ 다분화능 세포"는 다분화능 세포 콜로니를 형성할 수 있는 STRO-1+ 및/또는 TNAP+ 전구 세포를 의미하는 것으로 취해질 것이다.
- [0107] STRO-1+ 다분화능 세포는 골수, 혈액, 치수 세포, 지방 조직, 피부, 지라, 이자, 뇌, 신장, 간, 심장, 망막, 뇌, 모공, 창자, 폐, 림프절, 가슴샘, 뼈, 인대, 건, 골격근, 진피, 및 골막에서 발견되는 세포이고; 생식 세포 계열 예컨대 증배엽 및/또는 내배엽 및/또는 외배엽으로 분화될 수 있다. 따라서, STRO-1+ 다분화능 세포는 비제한적으로 지방조직, 골성, 연골질, 탄성, 근육질, 및 섬유성 연결 조직을 포함하는 다수의 세포 유형으로 분화될 수 있다. 이러한 세포가 유입되는 특정 계통-구속 및 분화 경로는 기계적 영향 및/또는 내인성 생활성 인자, 예컨대 성장 인자, 사이토카인, 및/또는 숙주 조직에 의해 확립된 국소적 미세환경으로부터의 다양한 영향에 좌우된다.
- [0108] 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 숙주 조직으로부터 분리되고, STRO-1⁺ 세포의 선별에 의해 농축된다. 예를 들면, 대상체로부터의 골수 흡인액은 STRO-1 또는 TNAP에 대한 항체로 처리되어 중간엽계 전구 또는 줄기 세포의 선별을 가능하게 한다. 일 구현예에서, 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 문헌[(Simmons & Torok-Storb, 1991)]에 기재된 STRO-1 항체를 사용하여 농축될 수 있다.
- [0109] 용어 "농축된", "농축" 또는 이의 변형어는 본원에서 하나의 특정 세포의 비율 또는 다수의 특정 세포 유형의 비율이 미처리된 부류의 세포 (예를 들면, 이의 본연의 환경에서의 세포)와 비교하는 경우 증가되는 한 부류의 세포를 기술하기 위해 사용된다. 일 예에서, STRO-1+ 세포가 농축된 부류는 적어도 약 0.1% 또는 0.5% 또는 1% 또는 2% 또는 5% 또는 10% 또는 15% 또는 20% 또는 25% 또는 30% 또는 50% 또는 75%의 STRO-1+ 세포를 포함한다. 이와 관련하여, 용어 "STRO-1+ 세포가 농축된 세포의 부류"는 용어 "X%의 STRO-1+ 세포를 포함하는 세포의 부류"에 대한 명확한 근거를 제공하기 위해 취해질 것이고, 여기서 X%는 본원에 인용된 백분율이다. 일부의 예에서, STRO-1+ 세포는 클론원성 콜로니, 예를 들면 CFU-F (섬유아세포)를 형성할 수 있거나 또는 이의 하위세트 (예를 들면, 50% 또는 60% 또는 70% 또는 70% 또는 90% 또는 95%)는 이의 활성을 가질 수 있다.
- [0110] 일 예에서, 한 부류의 세포는 선택가능한 형태로의 STRO-1+ 세포를 포함하는 세포 제제로부터 농축된다. 이와 관련하여, 용어 "선택가능한 형태"는 세포가 STRO-1+ 세포의 선별을 가능하게 하는 마커 (예를 들면, 세포 표면 마커)를 발현하는 것을 의미하는 것으로 이해될 것이다. 마커는 STRO-1일 수 있으나 아닐 수 있다. 예를 들면, 본원에 기술 및/또는 예시된 바와 같이, STRO-2 및/또는 STRO-3 (TNAP) 및/또는 STRO-4 및/또는 VCAM-1 및/또는 CD146 및/또는 3G5를 발현하는 세포 (예를 들면, 중간엽 전구 세포)는 또한 STRO-1를 발현하고 (그리고 STRO-1브라이트일 수 있다). 따라서, 세포가 STRO-1+인 것인 지표는 세포가 단독으로 STRO-1 발현에 의해 선별되는 것을 의미하는 것은 아니다. 일 예에서, 세포는 적어도 STRO-3 발현에 기초하여 선별되고, 예를 들면, 이들은 STRO-3+ (TNAP+)이다.
- [0111] 세포 또는 이의 부류의 선별에 대한 참조는 특정 조직 공급원으로부터의 선별을 본질적으로 요구하지 않는다. 본원에 기재된 바와 같이, STRO-1+ 세포는 매우 다양한 공급원으로부터 선별되거나 또는 분리되거나 또는 농축될 수 있다. 즉, 일부 예에서, 이러한 용어는 STRO-1+ 세포 (예를 들면, 중간엽 전구 세포)를 포함하는 임의의 조직 또는 관다발 조직 또는 주피세포 (예를 들면, STRO-1+ 주피세포)를 포함하는 조직 또는 본원에 인용된 조

직 중 임의의 하나 이상으로부터 선별하기 위한 근거를 제공한다.

- [0112] 일 예에서, 본 개시내용에 사용되는 세포는 TNAP+, VCAM-1+, THY-1+, STRO-2+, STRO-4+ (HSP-90 β), CD45+, CD146+, 3G5+ 또는 이의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 개별적으로 또는 총괄적으로 선별되는 하나 이상의 마커를 발현한다.
- [0113] "개별적으로"는 본 개시내용은 인용된 마커 또는 별개의 마커의 그룹을 포괄하고, 개별적 마커 또는 마커의 그룹이 본원에 별개로 열거되지 않을 수 있지만, 수반되는 청구항은 이러한 마커 또는 서로 별개로 그리고 구분하여 마커의 그룹을 한정할 수 있는 것을 의미한다.
- [0114] "총괄적으로"는 본 개시내용이 임의의 수 또는 조합의 인용된 마커 또는 마커의 그룹을 포괄하고, 이러한 수 또는 조합의 마커 또는 마커의 그룹은 본원에 구체적으로 열거되지 않지만, 수반되는 청구항은 임의의 다른 조합의 마커 또는 마커의 그룹과 별개로 그리고 구분하여 이러한 조합 또는 하위-조합을 한정할 수 있는 것을 의미한다.
- [0115] 일 예에서, STRO-1+ 세포는 STRO-1^{브라이트} (동의어 STRO-1^{bri})이다. 다른 예에서, STRO-1^{bri} 세포는 STRO-1^{dim} 또는 STRO-1^{중간} 세포에 대해 우선적으로 농축된다.
- [0116] 또 다른 예에서, STRO-1^{bri} 세포는 추가적으로 TNAP+, VCAM-1+, THY-1+, STRO-2+, STRO-4+ (HSP-90 β) 및/또는 CD146+ 중 하나 이상이다. 예를 들면, 세포는 상기 마커 중 하나 이상에 대해 선별되고 및/또는 상기 마커 중 하나 이상을 발현하도록 보여진다. 이와 관련하여, 마커를 발현하는 것으로 보여지는 세포는 구체적으로 시험될 필요는 없고, 오히려 앞서 농축되거나 또는 분리된 세포가 시험되고, 이후 사용될 수 있고, 분리되거나 또는 농축된 세포는 또한 합리적으로 동일한 마커를 발현하는 것으로 가정될 수 있다.
- [0117] 일 예에서, 중간엽 전구 세포 (MPC)는 혈관주위 마커 3G5의 존재를 특징으로 하는 WO 2004/85630에 정의된 바와 같은 혈관주위 중간엽 전구 세포이다. 예를 들어, MPC는 말초혈관 세포의 마커를 발현시키고, 예를 들면, 세포는 STRO-1+ 또는 STRO-1^{bri} 및/또는 3G5+이다. 하나의 예에서, 세포는 존재하거나 또는 이전에 존재하였거나 혈관성 조직 또는 기관 또는 이의 일부로부터 단리된 세포의 자손이다.
- [0118] 주어진 마커에 대해 "양성"인 것과 관련이 있는 세포는 마커가 세포 표면에 존재하는 정도에 따라 저 (lo 또는 dim) 또는 고 (브라이트, bri) 수준의 이러한 마커를 발현할 수 있고, 여기서 상기 용어는 세포의 분류 과정에서 사용되는 형광 또는 다른 마커의 강도를 지칭한다. lo (또는 dim 또는 dull) 및 bri의 차이는 분류되는 특정 세포 부류에 대해 사용되는 마커의 맥락에서 이해될 것이다. 주어진 마커에 대해 "음성"인 것과 관련이 있는 세포는 이러한 세포가 본질적으로 완전하게 부재인 것은 아니다. 이러한 용어는 마커가 이러한 세포에 의해 상대적으로 매우 낮은 수준에서 발현되고, 이는 감지가능하게 표지되는 경우 매우 낮은 신호를 발생하거나 또는 배경 수준, 예를 들면, 아이소타입 대조군 항체를 사용하여 검출되는 수준 이상에서 검출될 수 없는 것을 의미한다.
- [0119] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "브라이트" 또는 "bri"는 검출가능하게 표지되는 경우 상대적으로 높은 신호를 발생하는 세포 표면 상의 마커를 지칭한다. 이론에 제한됨을 의도하지 않고, "브라이트" 세포는 샘플에서의 다른 세포보다 더 많은 표적 마커 단백질 (예를 들면 STRO-1에 의해 인식되는 항원)을 발현하는 것이 제안된다. 예로서, STRO-1^{bri} 세포는 비-브라이트 세포 (STRO-1dull/dim)보다 형광 활성화 세포 분류 (FACS) 분석에 의해 결정되는 바와 같은 FITC-콘주게이트된 STRO-1 항체로 표지되는 경우 더 큰 형광 신호를 생성한다. 일 예에서, "브라이트" 세포는 출발 샘플에 함유된 가장 밝게 표지된 골수 단핵 세포의 적어도 약 0.1%를 구성한다. 다른 예에서, "브라이트" 세포는 출발 샘플에 함유된 가장 밝게 표지된 골수 단핵 세포의 적어도 약 0.5%, 적어도 약 1%, 적어도 약 1.5%, 또는 적어도 약 2%를 구성한다. 일 예에서, STRO-1^{브라이트} 세포는 "배경", 즉 STRO-1^{dim} 인 세포에 비해 STRO-1 표면 발현의 2 log 크기 더 높은 발현을 가진다. 그에 비해, STRO-1^{dim} 및/또는 STRO-1^{중간} 세포는 통상적으로 "배경"보다 약 1 log 이하로 적은 STRO-1 표면 발현의 2 log 크기 미만으로 더 높은 발현을 가진다.
- [0120] 본원에서 사용되는 용어 "TNAP"는 조직 비특이적 알칼리 포스파타아제의 모든 이소폼을 포괄하는 것으로 의도된다. 예를 들면, 상기 용어는 간 이소폼 (LAP), 골 이소폼 (BAP) 및 신장 이소폼 (KAP)을 포괄한다. 일 예에서, TNAP는 BAP이다. 일 예에서, 본원에 사용되는 TNAP는 수탁 접수 번호 PTA-7282 하에 부다페스트 조약의 범위 하에 2005년 12월 19일에 ATCC에 수탁된 혼성 세포주에 의해 생성된 STRO-3 항체를 결합할 수 있는 분자를 지칭한

다.

- [0121] 또한, 일 예에서, STRO-1+ 세포는 클론원성 CFU-F를 발생시킬 수 있다.
- [0122] 일 예에서, 상당한 비율의 STRO-1+ 세포는 적어도 2개의 상이한 생식 계열로의 분화를 가능하게 한다. STRO-1+ 세포로 정해질 수 있는 계통의 비제한적인 예는 골 전구 세포; 담관 상피 세포 및 간세포에 대해 다분화능인 간 세포 전구세포; 희소돌기아교세포 및 성상교세포로 발달되는 교세포 전구체를 발생시킬 수 있는 신경 분화 세포; 뉴런으로 발달되는 뉴런 전구체; 심근 및 심장 근육 세포, 글루코오스-반응성 인슐린 분비 췌장 베타 세포주에 대한 전구체를 포함한다. 다른 계통은 비제한적으로 상아모세포, 덴틴-생산 세포 및 연골세포, 및 하기의 전구체 세포: 망막 색소 상피 세포, 섬유아세포, 피부 세포 예컨대 케라틴생성세포, 수지상 세포, 모낭세포, 신관 상피 세포, 평활 및 골격 근육 세포, 고환 조상세포, 혈관 내피 세포, 건, 인대, 연골, 지방세포, 섬유아 세포, 골수 기질, 심장근, 평활근, 골격근, 혈관주위세포, 혈관, 상피성, 신경교, 뉴런, 별아교세포 및 희소돌기교세포 세포를 포함한다.
- [0123] 본 개시내용의 예에서, 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 중간엽 줄기 세포(MSC)이다. MSC는 균질한 조성물일 수 있거나 또는 MSC에 농축된 혼합 세포 부류일 수 있다. 균질한 MSC 조성물은 부착성 골수 또는 골막 세포를 배양 하여 수득될 수 있고, MSC는 독특한 단클론 항체로 식별되는 특정 세포 표면 마커에 의해 식별될 수 있다. MSC에 농축된 세포 부류를 얻기 위한 방법은 예를 들면 미국특허 제5,486,359에 기재되어 있다. MSC에 대한 대안적인 공급원은 비제한적으로 혈액, 피부, 제대혈, 근육, 지방, 골, 및 연골막을 포함한다.
- [0124] 다른 예에서, 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 CD29+, CD54+, CD73+, CD90+, CD102+, CD105+, CD106+, CD166+, MHC1+ MSC (예를 들면 레메스텔셀-L)이다.
- [0125] 분리되거나 또는 농축된 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 배양에 의해 시험관내 증식될 수 있다. 분리되거나 또는 농축된 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 동결보존되고, 해동되고, 이후 배양에 의해 시험관내 증식될 수 있다.
- [0126] 일 예에서, 분리되거나 또는 농축된 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 배양 배지 (혈청 무함유 또는 혈청-보충됨), 예를 들면 5% 소테아 혈청 (FBS) 및 글루타민이 보충된 알파 최소 필수 영양 배지 (α MEM)에서의 50,000 생존가능한 세포/cm²로 시딩되고, 37°C, 20% O₂에서 밤새 배양 용기에 부착될 수 있게 한다. 배양 배지는 이후 대체되고 및/또는 요구되는 바와 같이 변경되고, 세포는 37°C, 5% O₂에서 추가로 68 내지 72시간 동안 배양되었다.
- [0127] 본 기술분야의 당업자에 의해 이해될 수 있는 바와 같이, 배양된 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 생체내에서 세포와 표현형이 상이하다. 예를 들면, 일 구현예에서, 이는 하기 마커 CD44, NG2, DC146 및 CD140b 중 하나 이상을 발현한다. 배양된 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 또한 생체내에서 세포와 생물학적으로 상이하고, 대개 생체내에서 비-순환 (휴지기) 세포와 비교하여 더 높은 증식 속도를 가진다.
- [0128] 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 또한 대상체에 투여되기 이전에 동결보존될 수 있다.
- [0129] 세포의 변형
- [0130] 일 예에서, 본 개시내용의 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 유전적으로 변형되거나 유전적으로 비변형될 수 있고, Ang1을 적어도 0.1 $\mu\text{g}/10^6$ 세포의 양으로 발현시킨다. 그러나, 다양한 예에서, 본 개시내용의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포가 Ang1을 적어도 0.2 $\mu\text{g}/10^6$ 세포, 0.3 $\mu\text{g}/10^6$ 세포, 0.4 $\mu\text{g}/10^6$ 세포, 0.5 $\mu\text{g}/10^6$ 세포, 0.6 $\mu\text{g}/10^6$ 세포, 0.7 $\mu\text{g}/10^6$ 세포, 0.8 $\mu\text{g}/10^6$ 세포, 0.9 $\mu\text{g}/10^6$ 세포, 1 $\mu\text{g}/10^6$ 세포, 1.1 $\mu\text{g}/10^6$ 세포, 1.2 $\mu\text{g}/10^6$ 세포, 1.3 $\mu\text{g}/10^6$ 세포, 1.4 $\mu\text{g}/10^6$ 세포, 1.5 $\mu\text{g}/10^6$ 세포의 양으로 발현시킬 수 있음이 예상된다.
- [0131] 일 예에서, 본 개시내용의 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 유전적으로 비변형되고 Ang1을 적어도 0.1 $\mu\text{g}/10^6$ 세포의 양으로 발현시킨다. 그러나, 상기 예의 다양한 구현예에서, 중간엽계 전구 또는 줄기 세포가 Ang1을 적어도 0.2 $\mu\text{g}/10^6$ 세포, 0.3 $\mu\text{g}/10^6$ 세포, 0.4 $\mu\text{g}/10^6$ 세포, 0.5 $\mu\text{g}/10^6$ 세포, 0.6 $\mu\text{g}/10^6$ 세포, 0.7 $\mu\text{g}/10^6$ 세포, 0.8 $\mu\text{g}/10^6$ 세포, 0.9 $\mu\text{g}/10^6$ 세포, 1 $\mu\text{g}/10^6$ 세포, 1.1 $\mu\text{g}/10^6$ 세포, 1.2 $\mu\text{g}/10^6$ 세포, 1.3

$\mu\text{g}/10^6$ 세포, $1.4 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $1.5 \mu\text{g}/10^6$ 세포의 양으로 발현시킬 수 있음이 예상된다.

[0132] 또 다른 양태에서, 본 개시내용의 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 약 $0.05 \mu\text{g}/10^6$ 세포 미만의 양으로 VEGF를 발현한다. 그러나, 다양한 구현예에서, 본 개시내용의 중간엽계 줄기 또는 전구 세포가 VEGF를 약 $0.05 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.04 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.03 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.02 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.01 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.009 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.008 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.007 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.006 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.005 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.004 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.003 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.002 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.001 \mu\text{g}/10^6$ 세포의 미만의 양으로 발현시킬 수 있음이 예상된다.

[0133] 일 예에서, 본 개시내용의 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 유전적으로 비변형되고 VEGF를 적어도 약 $0.05 \mu\text{g}/10^6$ 세포 미만의 양으로 발현시킨다. 그러나, 이러한 예시의 다양한 구현예에서, 본 개시내용의 중간엽계 전구 또는 줄기 세포가 VEGF를 약 $0.05 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.04 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.03 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.02 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.01 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.009 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.008 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.007 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.006 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.005 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.004 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.003 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.002 \mu\text{g}/10^6$ 세포, $0.001 \mu\text{g}/10^6$ 세포의 미만의 양으로 발현시킬 수 있음이 예상된다.

[0134] 중간엽계 전구 또는 줄기 세포의 조성물 또는 배양물에서 발현되는 세포성 Ang1 및/또는 VEGF의 양은 본 기술분야의 당업자에게 공지된 방법에 의해 측정될 수 있다. 이러한 방법은 비제한적으로 정량적 검정, 예컨대 정량적 ELISA 검정, 예를 들어 또는, 형광-결합 면역흡착 검정 (FLISA), 웨스턴 블롯, 경쟁 검정, 방사면역 측정법, 측방유동 면역검정, 플로우-쓰로우 면역검정, 전기적 화학발광 검정, 비탁-기반 검정(nephelometric-based assay), 혼탁도-기반 검정, 중간엽계 전구 세포 또는 줄기 세포를 배양하기 위해 사용되는 배양 배지에서의 Ang-1 또는 VEGF의 검출을 위한 형광 활성화 세포 분류 (FACS)-기반 검정, 및 표면 플라즈마 공명 (SPR 또는 Biacore)를 포함한다.

[0135] 그러나, 본 개시내용의 범위가 본 개시내용의 중간엽계 전구 또는 줄기 세포에서 발현된 Ang1 또는 VEGF의 양 또는 수준의 임의의 특정한 결정 방법에 제한되지 않는 것이 이해되어야 한다.

[0136] 일 예에서, 중간엽계 전구 또는 줄기 세포의 조성물에 의하여 발현되는 Ang1 또는 VEGF의 수준은 ELISA 검정에 의해 측정된다. 그러한 검정에서, 중간엽계 전구 또는 줄기 세포의 배양으로부터의 세포 용해물은 ELISA 플레이트의 웰에 부가된다. 웰은 Ang1 또는 VEGF에 대한 1차 항체, 단클론성 또는 다클론성 항체(들)로 코팅될 수 있다. 웰은 이후 세척되고, 이후 1차 항체에 대한 2차 항체, 단클론성 또는 다클론성 항체(들)과 접촉된다. 2차 항체는 적절한 효소, 예컨대, 예를 들면 겨자무과산화효소에 콘주게이트된다. 웰은 이후 항온처리될 수 있고, 그리고 이후 항온처리 시간 후 세정될 수 있다. 웰은 이후 2차 항체, 예컨대 하나 이상의 발색체에 콘주게이트된 효소에 대한 적절한 기질과 접촉된다. 이용할 수 있는 발색체는 비제한적으로 과산화수소 및 테트라메틸벤지딘을 포함한다. 기질(들)이 부가된 이후, 웰은 적절한 기간 동안 배양된다. 배양의 완료 이후, "중지" 용액은 효소의 기질(들)과의 반응을 중지시키기 위해 웰에 부가된다. 샘플의 광학 밀도 (OD)가 측정된다. 샘플의 광학 밀도는 시험되는 중간엽계 전구 또는 줄기 세포의 배양에 의해 발현되는 Ang1 또는 VEGF의 양을 결정하기 위해 공지된 양의 Ang1 또는 VEGF를 함유하는 샘플의 광학 밀도와 상관된다.

[0137] 또 다른 측면에서, 본 개시내용의 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 Ang1:VEGF를 적어도 약 2:1의 비로 발현시킨다. 그러나, 다양한 구현예에서 본 개시내용의 중간엽계 전구 또는 줄기 세포가 Ang1:VEGF를 적어도 약 10:1, 15:1, 20:1, 21:1, 22:1, 23:1, 24:1, 25:1, 26:1, 27:1, 28:1, 29:1, 30:1, 31:1, 32:1의 비로 발현시킬 수 있는 것이 예상된다.

[0138] 일 예에서, 본 개시내용의 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 유전적으로 비변형되고, 그리고 Ang1:VEGF를 적어도 약 2:1의 비로 발현시킨다. 그러나, 다양한 구현예에서 본 개시내용의 중간엽계 전구 또는 줄기 세포가 Ang1:VEGF를 적어도 약 10:1, 15:1, 20:1, 21:1, 22:1, 23:1, 24:1, 25:1, 26:1, 27:1, 28:1, 29:1, 30:1, 31:1, 32:1의 비로 발현시킬 수 있는 것이 예상된다.

[0139] Ang1:VEGF 발현 비의 측정 방법은 당해 분야의 숙련자에게 명백해질 것이다. Ang 1 및 VEGF 발현의 비의 측정 방법의 하나의 예에서, Ang1 및 VEGF 발현 수준은 상기에서 논의된 바와 같이 정량적 ELISA를 통해 정량화된다. 그와 같은 예에서, Ang1 및 VEGF의 수준 정량화 이후, Ang1 및 VEGF의 정량화된 수준에 기반된 비는 하기로 표시될 수 있다: (Ang1의 수준 / VEGF의 수준) = Ang1:VEGF 비.

- [0140] 본 개시내용의 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 투여시 세포의 용해가 저해되는 그와 같은 방식으로 변경될 수 있다. 항원의 변경은 면역학적 비-반응성 또는 내성을 유도할 수 있어서, 이로써 정상 면역 반응에서 외래 세포의 거부를 궁극적으로 책임지는 면역 반응 (예를 들면, 세포독성 T 세포 생성, 항체 생산 등)의 효과기 상의 유도를 예방한다. 상기 목표를 달성하기 위해 변경될 수 있는 항원은, 예를 들어, MHC 클래스 I 항원, MHC 클래스 II 항원, LFA-3 및 ICAM-1을 포함한다.
- [0141] 또 다른 예에서, 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 이식을 받는 대상체에 공급되도록 유전자 생성물을 발현시키기 위해 유전적으로 변형될 수 있다. 유전적으로 변형된 중간엽계 전구체 세포를 통해 대상체에 전달될 수 있는 유전자 생성물의 예는 미래의 심장 장애를 예방할 수 있는 유전자 생성물, 예컨대 혈관이 심장 근육을 침범하도록 조장하는 성장 인자 (예를 들면 혈관 내피 성장 인자 (VEGF), 섬유아세포 성장 인자 (FGF), 형질전환 성장 인자 베타 (TGF-β) 및 안지오텐신)을 포함한다.
- [0142] 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 또한 줄무늬된 골격 근육 세포의 분화 및/또는 유지를 위하여 중요한 단백질을 발현시키도록 유전적으로 변형될 수 있다. 예시적인 단백질은 하기를 포함한다: 성장 인자 (TGF-β, 인슐린-유사 성장 인자 1 (IGF-1), FGF), 근원성 인자 (예를 들면 미오D, 미오게닌, 근원성 인자 5 (Myf5), 근원성 조절 인자 (MRF)), 전사 인자 (예를 들면 GATA-4), 사이토카인 (예를 들면 카디오토프린-1), 뉴레굴린 계열의 구성원 (예를 들면 뉴레굴린 1, 2 및 3) 및 홈박스 유전자 (예를 들면 Csx, 틴만 (tinman) 및 NKx 계열).
- [0143] 심부전
- [0144] 심부전은 심장이 신체의 요건을 충족시키도록 혈류를 유지하게 위해 충분하게 펌핑할 수 없는 경우 발생된다. 심부전의 하나의 원인은 수축 부전 (MI)이다. MI는 혈액이 심장의 일부로 적절하게 이동하는 것이 중지되는 경우 발생된다. 혈액 공급의 결핍은 경색 또는 경색증으로서 지칭되는 심근 괴사의 국소적 부분을 야기한다. 경색된 심장은 신체의 요건을 충족시키기 위해 혈류를 유지하기 위해 충분히 펌핑될 수 없고, 이는 심부전을 야기한다. MI 이후, 일련의 보상 기전이 개시되고, 이는 심박출량에서의 저하를 완충하는 역할을 하고, 생체 기간을 관류시키기 위한 충분한 혈압을 유지하는 것을 보조한다. 결과적으로, 심부전을 갖는 환자는 늘어난 기간 동안 진행되지 않을 수 있다. 그러나, 보상 기전을 결국 손상된 심장을 보상하지 못하여, "진행성 심부전"으로 명명되는 심박출량에서의 진행성 감소를 야기한다.
- [0145] MI의 진단은 심전도 결과 및 심장 마커와 현재의 병의 이력 및 물리적 시험의 통합에 의해 창출된다. 심장 혈관의 협소화 또는 폐색의 시각화를 허용하는 관상동맥 혈관조영은 수행될 수 있다. 2000년에 개정된 바와 같이 WHO 기준 (Alpert JS, Thygesen K, Antman E, Bassand JP. (2000). "Myocardial infarction redefined--a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction". J Am Coll Cardiol 36 (3): 959-69)에 있어서, 전형적인 증상에 의해 동반된 심장 트로포닌 상승, 병리적 Q 웨이브, ST 상승 또는 우울증 또는 관상동맥 중재술은 MI의 진단이다.
- [0146] 70 년이 넘는 동안, 12-납 심전도 (ECG)는 MIs의 존재 및 위치 결정에 표준으로 남아있었다. 보편적으로 이용가능하고, 비침습적이며, 값싸고 쉽게 반복적이다. 컴퓨터 시뮬레이션으로부터 설계된 정량적 셀베스터 (Selvester) QRS 평점 시스템 (Selvester RH et al. (1985) Arch Intern Med 145(10):1877-1881)은 MI 크기를 평가하기 위해 ECG상에서 정보를 이용한다. 셀베스터 평점 시스템은 표준 12-납 ECG에서 Q- 및 R-파 지속시간 및 R/Q 및 R/S 진폭 비의 관찰에 기반된 50 기준 31 점 QRS 평점 시스템이다. 비제한적으로, QRS 평점을 포함한, 경색 크기 결정 방법은 당업자에 익숙하다.
- [0147] 심장 마커는 또한 MI의 발병률을 결정하기 위해 측정될 수 있다. 상기 마커는 하기를 포함한다: 트로포닌 T 및 I, 크레아티닌 키나제, 미오글로빈 수준, 나트륨이노 펩타이드 (예를 들면 B-유형 나트륨이노 펩타이드), C-반응성 단백질 (CRP), 적혈구 침강 비율 (ESR), 하트형 지방산 결합 단백질 및 코렙틴, 중간-영역 프로-심방나트륨 이노 펩타이드, ST2, C-말단 프로-엔도텔린 1, 및 중간-영역 프로-아드레노메둘린.
- [0148] 트로포닌은 비가역적 심근 손상이 발생하는 경우 근세포로부터 방출된 단백질이다. 심장 조직에 매우 특이적이고 허혈을 반영하는 ECG 변화 또는 허혈성 통증의 이력을 가진 심근경색을 정확하게 진단한다. 심장 트로포닌 수준은 경색 크기에 의존하고, 따라서 경색 이후 예측용 지표를 제공한다.
- [0149] 본 개시내용의 방법은 진행성 심부전의 심박출량 특성에서의 진행성 감소의 치료에 관한 것이다.
- [0150] 따라서, 본 개시내용의 맥락에서의 "치료하다" 및 "치료"는 치료적 처치 및 보호적 또는 예방적 측정 둘 다를

지칭한다.

- [0151] 일 예에서, 치료는 심장 관련 사망 또는 소생된 심장 돌연사, 또는 비치명적 대상 심부전(non-fatal decompensated heart failure event)로서 정의되는 심부전-관련 주요 유해 심혈관계 사건(HF-MACE)의 가능성 또는 위험을 감소시킨다. 일 예에서, HF-MACE의 가능성 또는 위험은 적어도 6개월, 적어도 12개월, 적어도 24개월, 적어도 36개월에 걸쳐 감소된다.
- [0152] 본 개시내용의 맥락에서 용어 만성 심부전, 울혈성 심부전, 울혈성 심장 부전이 "진행성 심부전"으로 상호교환적으로 사용될 수 있음이 예상된다.
- [0153] 심근경색 유도된 심부전
- [0154] 환자 예후 및 심장 기능이 경색된 좌심실(LV)의 양에 관련되는 것이 일반적으로 공지된다.
- [0155] 용어 "심근경색 유도된 심부전"은 심근경색(MI)이 심부전의 원인인 대상체의 서브셋을 지칭한다. 본 개시내용의 방법이 MI 대상체의 특이적 부류에서 진행성 심부전을 치료하기 위해 사용될 수 있음이 예상된다.
- [0156] 특히, MI 대상체의 부류는 70 mL 초과, LVESV를 갖는 것이다. 다른 예에서, LVESV는 80 mL 초과, 90 mL 초과, 100 mL 초과, 110 mL 초과, 또는 120 mL 초과이다. 하나의 예에서, 대상체는 근위 좌전하행(LAD) 동맥 병변을 갖는다. 본 개시내용의 맥락에서, 용어 "동맥 병변"은 심장의 LAD를 폐색하는 폐색성 병변 또는 예를 들면 혈관 성형술로도 알려진 관상 동맥 중재술(PCI)을 통해 치료되는 LAD를 이미 폐색하는 동맥 병변을 포괄한다.
- [0157] MI는 지속성 좌심실 부전을 야기할 수 있다. 좌심실 부전은 심근 수축성에서의 감소를 특징으로 한다. 좌심실 박출률(LVEF)의 감소는 심근 수축성이 좌심실 내 감소되는 경우 일어난다. 따라서, LVEF는 좌심실 부전을 결정하는 하나의 방식을 제공한다. LVEF는 당해 기술에서 공지된 수많은 방법 예컨대, 비제한적으로, 2-차원 심장초음파검사(ECG), 자기 공명 단층촬영, 심장 전산화단층촬영법(CT), 방사선핵종 혈관조영술, 게이팅된 심근 관류 단일-광자 발광 전산화단층촬영법(SPECT), 게이팅된 심근 관류 양전자 발광 단층촬영(PET) 또는 2방향 좌심실 시네조영술에 의해 측정될 수 있다.
- [0158] LVEF는 하기 방정식 $LVEF = \frac{\text{뇌졸중 용적 (EDV-ESV)}}{\text{EDV}}$ 을 사용하여 측정될 수 있다. 5-10%의 LVEF 변화는 LVEF의 실제 하락(genuine fall)을 나타낸다.
- [0159] 일 예에서, 약 55% 미만의 LVEF를 갖는 대상체는 좌심실 부전을 가진다. 다른 예에서, 약 54%, 53%, 52%, 51%, 50%, 49%, 48%, 47%, 46% 미만의 LVEF를 갖는 대상체는 좌심실 부전을 갖는다. 다른 예에서, 약 45% 미만의 LVEF를 갖는 대상체는 좌심실 부전을 가진다. 다른 예에서, 약 44%, 43%, 42%, 41% 미만의 LVEF를 갖는 대상체는 좌심실 부전을 갖는다. 다른 예에서, 약 40% 미만의 LVEF를 갖는 대상체는 좌심실 부전을 가진다. 다른 예에서, 약 39%, 38%, 37%, 36%, 35%, 34%, 33%, 32%, 31%, 30% 미만의 LVEF를 갖는 대상체는 좌심실 부전을 갖는다.
- [0160] 본 개시내용의 맥락에서, 용어 "지속성 좌심실 부전"은 일정 기간 또는 일련의 측정에 걸쳐 지속되는 좌심실 부전을 정의하기 위해 사용된다. 예를 들면, "지속성 좌심실 부전"은 MI 이후 약 1 내지 약 14일 또는 그 이상 지속되는 좌심실 부전을 포함할 수 있다. 예를 들면, "지속성 좌심실 부전"은 MI 이후 약 1 내지 약 10, 약 1 내지 약 9, 약 2 내지 약 8, 약 2 내지 약 7일 동안 지속되는 좌심실 부전을 포함할 수 있다. 다른 예에서, "지속성 좌심실 부전"은 약 1 내지 10회 측정 또는 그 이상에 걸쳐 지속되는 좌심실 부전을 포함할 수 있다.
- [0161] MI 이후 심근 괴사의 크기 또는 양은 임상적으로 경색 크기로 지칭된다. 본 개시내용의 방법은 큰 경색 크기를 갖는 MI 대상체의 치료에 관한 것으로 구상된다. 예를 들면, 본 개시내용의 방법을 사용하여 치료되는 대상체는 좌심실의 약 10 - 35%보다 큰 경색 크기를 갖는다. 다른 예에서, 대상체는 좌심실의 약 11 - 34%, 약 12 - 33%, 약 13 - 32%, 약 14 - 31%, 약 15 - 30%, 약 16 - 29%, 약 17 - 28%보다 큰 경색 크기를 가질 수 있다. 다른 예에서, 대상체는 좌심실의 약 18.5%보다 큰 경색 크기를 가질 수 있다. 다른 예에서, 대상체는 좌심실의 약 19 - 27%, 약 20 - 26%, 약 21 - 25%, 약 22 - 24%, 약 23%보다 큰 경색 크기를 가진다.
- [0162] 경색 크기는 본 기술분야에 공지된 다수의 방법을 통해 측정될 수 있다. 이러한 방법의 예는 혈청 마커 예컨대 크레아틴 키나아제(CK), CK-MB, 트로포닌 I, 및 뇌 나트륨이뇨 펩타이드 트로포닌의 사용을 포함한다.
- [0163] 일 예에서, 본 개시내용의 방법으로 치료되는 대상체는 적어도 약 2x 정상치 상한(ULM)의 트로포닌 수준을 가진다.
- [0164] 다른 예에서, 대상체는 적어도 약 3x, 약 4x, 약 5x, 약 6x ULM의 트로포닌 수준을 가진다.

- [0165] 일 예에서, 본 개시내용의 방법으로 치료되는 대상체는 적어도 약 2x 정상치 상한 (ULM)의 크레아틴 키나아제-MB 수준을 가진다.
- [0166] 다른 예에서, 대상체는 적어도 약 3x, 약 4x, 약 5x, 약 6x ULM의 크레아틴 키나아제-MB 수준을 가진다.
- [0167] 경색 크기를 측정하는 다른 예는 세스타미비 단일 광자 방출 계산 단층 촬영 (SPECT) 심근 관류 영상화, 자기 공명 영상화를 포함한다. 일 예에서, 경색 크기는 카디오(cardio) 자성 공명 이미지화 (cMRI)를 사용하여 측정된다. 다수의 cMRI 기술은 경색 크기의 진단을 위해 사용될 수 있다. 가장 정확하고 가장 유효한 것 중 하나는 지연 조영증강 심장 자기 공명 영상 (DE-CMR) 기술이다. 일 예에서, cMRI는 지연-개선 카디오(cardio) 자성 공명 이미지화 (DE-CMR)를 사용하여 측정된다.
- [0168] DE-CMR에 대한 적절한 세팅이 사용되는 경우, 정상 심근은 검은색 또는 아무 것도 없는 것으로 나타나며, 반면 비생존가능한 영역은 밝고 과조영증강된 것으로 나타난다. 따라서, 일 예에서, 경색 크기는 과조영증강된 영역의 휘도의 시각적 평가에 의해 측정될 수 있다. 경색 크기를 측정하는 기타 예시는 본 분야에 공지되어 있다 (참고: Sayegh et al (2007), Circulation, 115, 236-244; Kim et al. (2000), N Engl J Med, 343, 1445-1453). 간략하게는, 과조영증강은 각 세그먼트에 대해 5-포인트 크기를 사용하여 17-세그먼트 모델에 대해 평점화된다 (0 = 과조영증강 없음, 1 = 1% 내지 25%, 2 = 26% 내지 50%, 3 = 51% 내지 75%, 4 = 76% 내지 100%). 과조영증강된 심근 내에 전체적으로 포함된 어두운 영역은 미세혈관 손상 (재유동 없음)의 영역으로 해석되고, 경색의 일부로서 포함된다. LV 심근 백분율로서의 경색 크기는 과조영증강 범위 중간점 (즉, 1 = 13%, 2 = 38%, 3 = 63%, 4 = 88%)에 의해 가중되는 위치 평점을 합산하고, 이들 각각은 17로 나누어 계산된다. 또 다른 예에서, 경색 크기는 단-축 이미지의 스택 상의 과조영증강된 영역의 평판측량에 의하여 정량화될 수 있다.
- [0169] 일 예에서, 경색 크기는 MI 이후 약 1 내지 40일차에 측정된다.
- [0170] 다른 예에서, 경색 크기는 MI 이후 약 1 내지 40일차, 약 2 내지 35일차, 약 3 내지 30일차, 약 4 내지 25일차, 약 5 내지 20일차, 약 6 내지 15일차에 측정된다.
- [0171] 일 예에서, 경색 크기는 MI 이후 약 제30일에 측정된다.
- [0172] 본 개시내용의 맥락에서, "경색 크기"는 좌심실 경색 크기를 지칭한다. 다시 말하면, 좌심실 경색 크기는 경색되는 좌심실의 양을 지칭한다.
- [0173] 본 개시내용의 방법은 심부전의 다양한 단계 또는 분류를 갖는 심근경색 대상체에서의 진행성 심부전을 치료하기 위해 사용될 수 있다는 것이 구상된다.
- [0174] 일 예에서, 심부전 단계화는 미국 심장병 학회 (ACC) 및 미국 심장 협회 (AHA) 단계화 기준에 기초한다. 추가로 특정한 예에서, 대상체는 ACC 또는 AHA 기준에 따라 A, B, C 또는 D 기 심부전을 갖는다. 더욱 추가 예에서, 대상체는 B 또는 C 기 심부전을 갖는다.
- [0175] 또 다른 예에서, 심부전 분류는 뉴욕 심장 협회 (NYHA) 분류 스케일에 기반된다. 추가로 특정한 예에서, 대상체는 클래스 I, II, III 또는 IV 심부전을 갖는다. 더욱 추가 예에서, 대상체는 II 또는 III 기 심부전을 갖는다.
- [0176] 카테터-기반 전달 시스템
- [0177] 심장 조직 손상의 영역 근처의 부위에 또는 대상체의 심근 속에 중간엽계 전구 또는 줄기 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자, 또는 동일한 것을 포함한 조성물의 주사를 허용하는 임의의 카테터-기반 전달 시스템은 본 개시내용의 방법의 실시에서 사용될 수 있다. 특정 예에서, 카테터는 (예를 들면, 대퇴골 동맥 또는 또 다른 혈관 속으로) 경피로 도입되고 카테터의 말단으로부터 압출되는 바늘을 통해 중간엽계 전구 또는 줄기 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자, 또는 동일한 것을 포함한 조성물을 전달하기 위해 사용되는 대상체의 심근에 혈관 시스템을 통해 수송된다. 다른 예에서, 카테터는 최소 외과용 절개 (예를 들면, 늑골 사이 절개를 포함하는, 제한된 개흉술)를 통해 심장에 도달한다.
- [0178] 몇 개의 카테터는 심장 내부의 손상된 영역, 예를 들어, 경색 영역에 체제를 정확하게 전달하기 위해 설계되었다 (참고, 예를 들어, 미국 특허 번호 6,102,926; 6,120,520; 6,251,104; 6,309,370; 6,432,119, 및 6,485,481, 이들 각각은 본원에서 참고로 그 전체가 편입된다). 카테터는 다루기 쉬운 내강을 갖는 조종가능한 또는 안내가능한 카테터가 전달됨으로써 (참고, 예를 들어, 미국 특허 번호 5,030,204) 또는 고정된 입체배치 안내 카테터의 도움으로 (참고, 예를 들어, 미국 특허 번호 5,104,393) 나타낸 위치에 유도될 수 있다. 대안적으로, 카테터는 편향가능한 탐침 (참고, 예를 들어 WO 93/04724), 또는 편향가능한 안내 와이어 (참고, 예를

들어, 미국 특허 번호 5,060,660)의 도움으로 심장 내부에서 원하는 위치에 증진될 수 있다.

- [0179] 카테터는, (상기에서 기재된 바와 같이) 손상된/불량성 구역(들)의 위치 및 정도를 결정하는, 심장 맵핑 시스템에 커플링될 수 있다. 일단 치료가 필요한 영역이 식별되면, 조정가능한 안내는 주사의 부위에 바늘을 떠나 빠져나갈 수 있다. 일부 또는 전부 중간엽계 전구 또는 줄기 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자는 카테터의 내강에 보내지고 심근 속으로 주사된다. 카테터는 모든 주사가 수행된 경우 대상체로부터 집어 넣어진다.
- [0180] 바늘 요소는 정맥계 및/또는 심근에 손상을 피하기 위해 대상체의 심장에 카테터 안내시에 덮개 내부에 통상적으로 집어 넣어질 수 있다. 주사시에, 바늘은 카테터의 끝으로부터 압출된다. 주사 동안, 바늘은 성인 심장 근육 벽으로 10 mm 미만, 7.5 mm 미만 또는 5 mm 미만 돌출한다. 주사의 부위에 의존하여, 최대 길이는 변경될 수 있다. 영아 및 소아에 대하여, 돌출 깊이는, 실제 또는 추정된 벽 두께에 의해 결정된 바와 같이, 덜 상응한다. 세포의 이식에서 사용된 바늘 게이지는, 예를 들어, 25 내지 30일 수 있다.
- [0181] 하나의 예에서, 중간엽계 전구 또는 줄기 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자를 심근에 전달하기 위해 사용된 카테터는 바늘 삽입의 침투 깊이 및 위치의 맵핑용 피드백 센서를 포함하도록 구성된다. 피드백 센서의 사용은 주사 위치의 정확한 표적화의 이점을 제공한다. 세포 조성물 전달용 표적 위치는 다양할 수 있다. 예를 들어, 최적의 치료는 2개의 주사가 동일한 부위를 관통하지 않는 손상된/불량성 영역 내부에서 다중 작은 주사를 필요로 할 수 있다. 대안적으로, 표적 위치는 연속적인 세포 투여 절차의 동일성을 유지할 수 있다.
- [0182] 본 개시내용에서 사용될 수 있는 적합한 카테터는 NOGA™ Injection Catheter system (Biosense Webster, Inc.)이다. 상기 카테터는 제제를 심근에 주사하기 위해 설계된 주사 바늘 및 편향가능한 끝을 갖는 다중-전극, 경피 카테터이다. 주사 카테터의 끝은 바이오센스 위치 센서 및 유체 전달용 집어넣을 수 있는, 중공 27-게이지 바늘로 구비된다. 주사 부위는 심상 맵상에 실시간으로 나타내어, 주사의 정확한 분포를 허용한다. 국부 전기 신호는 카테터-끝 트라우마를 최소화하기 위해 수득된다.
- [0183] 개시내용의 조성물
- [0184] 본 개시내용의 하나의 예에서 중간엽계 전구 또는 줄기 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자는 조성물의 형태로 투여된다. 하나의 예에서, 그와 같은 조성물은 약제학적으로 허용가능한 담체 및/또는 부형제를 포함한다.
- [0185] 용어 "담체" 및 "부형제"는 저장, 투여, 및/또는 활성 화합물의 생물학적 활성을 촉진하기 위해 본 기술분야에서 종래에 사용되는 물질의 조성물을 지칭한다 (예를 들면, 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th Ed., Mac Publishing Company (1980)]을 참조한다). 담체는 또한 활성 화합물의 원하지 않는 임의의 부작용을 감소시킬 수 있다. 적합한 담체는 예를 들면 안정성이고, 예를 들면, 담체에서의 다른 성분과 반응할 수 없다. 일 예에서, 담체는 치료에 이용되는 용량 및 농도에서 수형제에서의 상당한 국소적 또는 전신적 부작용을 일으키지 않는다.
- [0186] 본 개시내용에 대한 적합한 담체는 종래에 사용되는 것을 포함하고, 예를 들면 물, 염수, 수성 텍스트로오스, 락토오스, 링거액, 완충 용액, 히알루론산 및 글리콜이 특히 (등장성인 경우) 용액에 대한 예시적인 액체 담체가다. 적합한 약학적 담체 및 부형제는 전분, 셀룰로오스, 글루코오스, 락토오스, 수크로오스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 백악, 실리카 겔, 마그네슘 스테아레이트, 나트륨 스테아레이트, 글리세롤 모노스테아레이트, 염화나트륨, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 물, 에탄올 등을 포함한다.
- [0187] 다른 예에서, 담체는 배지 조성물이고, 예를 들면, 여기서 세포가 성장되고 현탁된다. 예를 들어, 이러한 배지 조성물은 이것이 투여되는 대상체에서 임의의 부작용을 유도하지 않는다.
- [0188] 예시적인 담체 및 부형제는 세포의 생존력 및/또는 대사 증후군 및/또는 비만을 감소시키거나, 예방하거나 또는 지연시키는 세포의 능력에 부정적인 영향을 주지 않는다.
- [0189] 일 예에서, 담체 또는 부형제는 세포 및/또는 가용성 인자를 적절한 pH로 유지하는 완충 활성을 제공하여 이에 의해 생물학적 활성을 일으키고, 예를 들면, 담체 또는 부형제는 인산 완충 염수 (PBS)이다. PBS는 매력적인 담체 또는 부형제이고, 이것이 세포 및 인자들과 최소로 상호작용하여 세포 및 인자의 급속 방출을 가능하게 하며, 이러한 경우, 본 개시내용의 조성물은 예를 들면 주사에 의한 혈류 또는 조직 또는 조직을 둘러싸거나 인접한 영역으로의 직접 적용을 위해 액체로서 제조될 수 있다.

- [0190] 중간엽계 전구 또는 줄기 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자는 또한 수령체-상용성이고 수령체에 유해하지 않는 생성물로 분해되는 스캐폴드 내에 통합되거나 또는 내포될 수 있다. 이러한 스캐폴드는 수령 대상체로 이식되는 세포에 대해 지지 및 보호를 제공한다. 천연 및/또는 합성 생분해성 스캐폴드가 이러한 스캐폴드의 예이다.
- [0191] 다양한 상이한 스캐폴드는 본 개시내용의 실시에서 성공적으로 사용될 수 있다. 예시적인 스캐폴드는, 비제한적으로 생물학적, 분해성 스캐폴드를 포함한다. 천연 생분해성 스캐폴드는 콜라겐, 피브로넥틴 및 라미닌 스캐폴드를 포함한다. 세포 이식 스캐폴드에 대한 적합한 합성 물질은 증식적인 세포 성장 및 세포 기능을 지지할 수 있어야 한다. 이러한 스캐폴드는 또한 재흡수될 수 있다. 적합한 스캐폴드는 폴리글리콜산 스캐폴드 (예를 들면, 문헌 [Vacanti, et al. J. Ped. Surg. 23:3-9 1988; Cima, et al. Biotechnol. Bioeng. 38:145 1991; Vacanti, et al. Plast. Reconstr. Surg. 88:753-9 1991]에 기재된 것); 또는 합성 폴리머 예컨대 폴리산 무수물, 폴리오르토에스테르, 및 폴리락트산을 포함한다.
- [0192] 또 다른 예에서, 중간엽계 전구 또는 줄기 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자는 겔 스캐폴드(예컨대 Upjohn Company로부터의 겔폼(Gelfoam))으로 투여될 수 있다.
- [0193] 본원에 기재된 조성물은 단독으로 또는 다른 세포와의 혼합물로서 투여될 수 있다. 상이한 유형의 세포는 투여 이전에 즉각적으로 또는 그 직전에 조성물과 혼합될 수 있거나, 또는 이들은 투여 이전의 일정 기간 동안 함께 공동-배양될 수 있다.
- [0194] 일 예에서, 조성물은 유효량 또는 치료적 또는 예방적 유효량의 중간엽계 전구 또는 줄기 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자의 부류를 포함한다. 예를 들어, 조성물은 약 1×10^5 줄기 세포 내지 약 1×10^9 줄기 세포 또는 약 1.25×10^3 줄기 세포 내지 약 1.25×10^7 줄기 세포/kg (80 kg 대상체)를 포함한다. 투여되는 세포의 정확한 양은 대상체 나이, 체중, 및 성별, 및 치료되는 장애의 범위 및 중증도를 포함하는 다양한 인자에 좌우된다.
- [0195] 예시적인 투여량은 하기를 포함한다: 적어도 약 1.2×10^8 내지 약 8×10^{10} 세포, 예컨대 약 1.3×10^8 내지 약 8×10^9 세포, 예를 들어, 약 1.4×10^8 내지 약 8×10^8 세포, 예를 들어, 약 1.5×10^8 내지 약 7.2×10^8 세포, 약 1.6×10^8 내지 약 6.4×10^8 세포, 예컨대 약 1.7×10^8 내지 약 5.6×10^8 세포, 예를 들어, 약 1.8×10^8 내지 약 4.8×10^8 세포, 예를 들어, 약 1.9×10^8 내지 약 4×10^8 세포, 약 2.0×10^8 내지 약 3.2×10^8 세포, 약 2.1×10^8 내지 약 2.4×10^8 세포. 예를 들면, 용량은 적어도 약 2.0×10^8 세포를 포함할 수 있다. 예를 들면, 용량은 적어도 약 1.5×10^8 세포를 포함할 수 있다.
- [0196] 다시 표현하면, 예시적인 용량은 적어도 약 1.5×10^6 세포/kg를 포함한다. 예를 들어, 용량은 하기를 포함할 수 있다: 약 1.5×10^6 내지 약 1×10^9 세포/kg, 예컨대 약 1.6×10^6 내지 약 1×10^8 세포/kg, 예를 들어, 약 1.8×10^6 내지 약 1×10^7 세포/kg, 예를 들어, 약 1.9×10^6 내지 약 9×10^6 세포/kg, 약 2.0×10^6 내지 약 8×10^6 세포/kg, 예컨대 약 2.1×10^6 내지 약 7×10^6 세포/kg, 예를 들어, 약 2.3×10^6 내지 약 6×10^6 세포/kg, 예를 들어, 약 2.4×10^6 내지 약 5×10^6 세포/kg, 예를 들어, 약 2.5×10^6 내지 약 4×10^6 세포/kg, 예를 들어, 약 2.6×10^6 내지 약 3×10^6 세포/kg. 예를 들면, 용량은 적어도 약 2.5×10^6 세포/kg을 포함할 수 있다.
- [0197] 일 예에서, 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 조성물의 세포 부류의 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 99%를 포함한다.
- [0198] 본 개시내용의 조성물은 동결보존될 수 있다. 중간엽계 전구 또는 줄기 세포의 동결보존은 본 기술분야에 알려진 저속 냉각 방법 또는 '급속' 냉동 프로토콜을 사용하여 실시될 수 있다. 바람직하게는, 동결보존의 방법은 유사한 표현형, 세포 표면 마커 및 비냉동된 세포와 비교하여 동결보존된 세포의 성장 속도를 유지한다.
- [0199] 동결보존된 조성물은 동결보존 용액을 포함할 수 있다. 동결보존 용액의 pH는 통상적으로 6.5 내지 8, 바람직하

게는 7.4이다.

- [0200] 동결보존 용액은 멸균, 비-발열성 등장 용액 예컨대, 예를 들면, PlasmaLyte A™을 포함할 수 있다. 100 mL의 PlasmaLyte A™ 은 하기를 함유한다: 526 mg의 염화나트륨, USP (NaCl); 502 mg의 나트륨 글루코네이트 (C₆H₁₁NaO₇); 368 mg의 아세트산나트륨 3수화물, USP (C₂H₃NaO₂ · 3H₂O); 37 mg의 칼륨 클로라이드, USP (KCl); 및 30 mg의 마그네슘 클로라이드, USP (MgCl₂ · 6H₂O). 이는 항균제를 함유하지 않는다. pH는 수산화나트륨으로 조정된다. pH는 7.4 (6.5 내지 8.0)이다.
- [0201] 동결보존 용액은 Profreeze™을 포함할 수 있다. 동결보존 용액은 추가적으로 또는 대안적으로 배양 배지, 예를 들면, αMEM을 포함할 수 있다.
- [0202] 냉동을 촉진하기 위해서, 동해방지제(cryoprotectant) 예컨대, 예를 들면, 디메틸설폭사이드 (DMSO)가 보통 동결보존 용액에 추가된다. 이상적으로는, 동해방지제는 세포 및 환자에 대해 비독성, 비항원성, 화학적 불활성이어야 하고, 해동 이후 높은 생존율을 제공하고, 세척 없이 이식 가능하여야 한다. 그러나, 가장 일반적으로 사용되는 동해방지제, DMSO는 일부 독성을 나타낸다. 하이드록시에틸 전분 (HES)은 DMSO의 대체물로서 또는 이와 조합하여 사용되어 동결보존 용액의 독성을 감소시킬 수 있다.
- [0203] 동결보존 용액은 DMSO, 하이드록시에틸 전분, 인간 혈청 성분 및 다른 단백질 증량제 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 일 예에서, 동결보존된 용액은 약 5% 인간 혈청 알부민 (HSA) 및 약 10% DMSO를 포함한다. 동결보존 용액은 메틸셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈 (PVP) 및 트레할로스 중 하나 이상을 더 포함할 수 있다.
- [0204] 일 예에서, 세포는 42.5% Profreeze™/50% αMEM/7.5% DMSO에 현탁되고, 조절된-속도 냉동고에서 냉각된다.
- [0205] 동결보존된 조성물은 해동되어 대상체에 직접 투여되거나 또는 예를 들면 HA를 포함하는 다른 용액에 첨가될 수 있다. 대안적으로, 동결보존된 조성물은 해동될 수 있고, 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 투여 이전에 대안적인 담체에 재현탁될 수 있다.
- [0206] 일 예에서, 본원에 기재된 조성물은 MI 이후 약 1 내지 약 10일차에 투여될 수 있다.
- [0207] 다른 예에서, 본원에 기재된 조성물은 MI 이후 약 1 내지 9일, 약 1 내지 8일, 약 2 내지 7일, 약 2 내지 6일, 약 3 내지 5일차에 투여될 수 있다. 예를 들면, 조성물은 MI 이후 약 5일차에 투여될 수 있다.
- [0208] 일 예에서, 본원에 기재된 조성물은 관상동맥 중재술 (PCI) 이후 약 1 내지 약 10일차에 투여될 수 있다.
- [0209] 다른 예에서, 본원에 기재된 조성물은 PCI 이후 약 1 내지 9일, 약 1 내지 8일, 약 2 내지 7일, 약 2 내지 6일, 약 3 내지 5일차에 투여될 수 있다. 예를 들면, 본원에 기재된 조성물은 PCI 이후 약 5일차에 투여될 수 있다.
- [0210] 일 예에서, 본원에 기재된 조성물은 단일 용량으로 투여될 수 있다.
- [0211] 일부 예에서, 본원에 기재된 조성물은 단일 용량에 걸쳐 투여될 수 있다. 예를 들면, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10회 용량.
- [0212] 일 예에서, 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 투여 이전에 배양 증식될 수 있다. 세포 배양의 다양한 방법은 본 기술분야에 공지되어 있다.
- [0213] 일 예에서, 중간엽계 전구 또는 줄기 세포는 투여 이전에 혈청 무함유 배지에서 배양 증식된다.
- [0214] 일부 예에서, 세포는 세포가 대상체 순환계에 존재하는 것을 허용하지 않으나, 세포에 의해 분비되는 인자들이 순환계로 유입되게 하는 챔버 내에 포함되어 있다. 이러한 방식으로, 가용성 인자는 세포가 대상체의 순환계로 인자를 분비할 수 있게 함으로써 대상체에 투여될 수 있다. 이러한 챔버는 대상체의 일정 부위로 동등하게 이식되어 예를 들면 심장 내에 또는 그 부근에 이식되는 가용성 인자의 국소적 수준을 증가시킬 수 있다.
- [0215] 중간엽계 전구 또는 줄기 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자 세포는, 예컨대, 예를 들어, 정맥내, 동맥내, 또는 복강내 투여에 의해 전신으로 투여될 수 있다. 중간엽계 전구 또는 줄기 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자는 또한 근육내 또는 심장내 투여에 의해 투여될 수 있다.
- [0216] 하나의 예에서, 중간엽계 전구 또는 줄기 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자는 심근 속에 직접적으로 투여된다. 예를 들어, 중간엽계 전구 또는 줄기 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유

도된 가용성 인자는 좌심실의 심근 속에 직접적으로 투여될 수 있다.

- [0217] 하나의 예에서, 중간엽계 전구 또는 줄기 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자는 심내막심근 카테터 예컨대 J&J Myostar™ 주사 카테터를 통해 투여된다.
- [0218] 하나의 예에서, 중간엽계 전구 또는 줄기 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자는 실행 가능한 심근에 투여된다.
- [0219] 하나의 예에서, 중간엽계 전구 또는 줄기 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자는 동면 심근에 투여된다.
- [0220] 당해 분야의 숙련가는 당해 기술에서 공지된 방법을 이용하여 실행 가능한 및/또는 동면 심근을 식별할 수 있을 것이다. 예를 들면, 맵핑 카테터 시스템 예컨대 NOGASTAR™ 맵핑 카테터 시스템은 생존 가능 및/또는 동면 심근을 식별할 수 있다.
- [0221] 또 다른 예에서, 중간엽계 전구 또는 줄기 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자는 관동맥내 주입을 통해 투여된다. 예를 들어, 중간엽계 전구 또는 줄기 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자는 좌전하행 (LAD) 동맥에 투여될 수 있다.
- [0222] 하나의 예에서, 중간엽계 전구 또는 줄기 세포 및/또는 이의 자손 및/또는 이로부터 유도된 가용성 인자는 PCI를 통한 LAD 혈관재생 직후 LAD 동맥에 투여된다.
- [0223] 6분 보행 시험 (6MWT)
- [0224] 6분 보행 시험 (6MWT)은 만성 호흡기 질환 및 심부전에서 운동 내성을 평가하기 위해 1963년 (Balke B et al (1963) Rep Civ Aeromed Res Inst US 53:1-8)에 개발되었다. 시험은 대상체가 단단한, 평평한 표면상에서 총 6분에 걸쳐 보행할 수 있는 거리를 측정한다. 목표는 대상체가 6분 지나서 가능한 멀리 보행하는 것이다. 대상체는 자기-페이스가 허용되고 이들이 표시된 보도를 따라 앞뒤로 가로지르는 경우 필요에 따라 쉰다.
- [0225] 수많은 변동 및/또는 변형이, 본 개시내용의 일반적인 광범위로부터 벗어남 없이, 상기- 기재된 구현예에 실시될 수 있는 것이 당업자에 의해 인정될 것이다. 본 구현예는, 따라서, 모든 면에서 예시적 및 비제한적으로서 고려되어야 한다.
- [0226] 하기 특이적 실시예는 단지 예시적으로서 해석되어야 하고, 그리고 어떤 식으로든 무엇이든 본 개시내용의 나머지를 비제한적으로 해석되어야 한다. 추가 상술 없이, 당해 분야의 숙련가가, 본원에서 설명에 기반하여, 그의 최대 정도로 본 발명을 이용할 수 있다고 여겨진다.
- [0227] **실시예**
- [0228] **실시예 1 연구 설계**
- [0229] 연구는 허혈성 또는 비-허혈성 병인의 좌심실 수축 기능부전 때문에 심부전을 가진 대상체에서 중간엽 전구체 세포 (MPC)의 3 증가 용량 (25, 75 또는 150 백만 세포)의 안전성 및 내성을 평가하기 위해 수행되었다. 2차 목적은 다중 파라미터를 통해 효능을 검사하는 것, 및 MPC 치료를 위하여 최적의 유효한 용량 및 최적의 표적 부류를 식별하는 것이었다.
- [0230] 심부전 대상체는 하기이었다: > 18 세; 허혈성 또는 비-허혈성 심근증, 방사선택적 뇌실조영술에서 검출된 < 30%의 박출률 (EF)에 의해 보여진 LV 수축 기능부전, 2-차원 심장초음파검사 또는 핵 자기 공명 영상에 의해 야기된 심부전; 및 에코심박동그래픽으로 결정된 LV 확장종말기 직경 > 3.2 cm/m² 또는 > 6 cm; > 2 개월 동안 휴식중 또는 최소 격심한 활동 (뉴욕 심장 협회 (NYHA) 클래스 II 또는 III)중 호흡곤란 또는 피로의 증상; 스크리닝 이전 12 개월 내에 정맥내 이뇨제 또는 혈관확장제 요법을 요구하는 적어도 1 입원 또는 2 외래환자 왕진; 및 불내성 또는 사용금지되지 않는 한 이뇨제, 베타 차단제, 및 안지오텐신-전환효소 (ACE)-저해제 또는 안지오텐신 수용체 차단제 (ARBs)를 포함한 최적의 의료 요법.
- [0231] 대상체는 이전의 90 일에서 급성 심근경색, 혈청 칼륨 < 4.0 또는 > 5.5 mEq/L, 디곡신 수준 > 1.2ng/mL, 마그네슘 수준 < 1.0 mEq/L, 혈청 크레아티닌 > 2.0 mg/dL 및 혈청 빌리루빈 > 3.0 mg/dL에 기반하여 제외되었다.
- [0232] 대상체는 카테터화 실험실에서 심내막심근 카테터 또는 스크립트 모의 주사 (대조군 그룹)에 의해 25, 75 또는 150 백만 MPC의 주사에 무작위 추출되었다. MPC는 전기 전압에 기반된 실행 가능한/동면 심근을 식별하는 J&J Myostar™ 주사 카테터 및 NOGASTAR™ 맵핑 카테터 시스템을 이용하여 좌심실 (0.2ml/주사의 대략 15-20 주사)

에 투여되어, 이론적으로 건강한 그러나 위험한 조직을 초기에 표적화하였다. 상기 카테터는 본 출원을 위하여 최대 안전성 프로파일과 함께 다중 시험을 거쳐 1,000 환자 넘게 사용되어 왔다. 기능성 효능의 측정은 좌심실 수축기말 용적기수, 또는 LVESV, 및 좌심실 확장기말 용적, 또는 LVEDV, 측정 뿐만 아니라 좌심실 박출률, 또는 LVEF를 관여하였다. 심부전-관련 주요 유해 심장 사건, 또는 HF-MACE의 첫 사건까지 추가 시간 분석은 수행되었다. HF-MACE는 심장 관련된 사망 또는 소생된 심장 사망, 또는 비-치명적 보상부전 심부전 사건의 복합체로서 정의되었다.

[0233] 만성 심부전을 가진 환자에서 MPC의 심내막심근 주사는 실행가능하고 안전하였다. 유해 사건의 발병률은 전체 그룹을 거쳐 유사하였고, MPC를 받은 임의의 환자에서 임상적으로 유의미한 면역 반응은 없었다.

[0234] 150 백만 세포 용량은 좌심실 리모델링 및 기능성 수용력에 관한 최대 효과 및 장기간 HF-MACE 감소에 대한 역치 이점을 보여주었다 (도 1).

[0235] 더 구체적으로, LVESV 및 LVEDV 모두에 관한 용량-관련 효과가 있었고, 150 백만 세포 용량은 12 개월 후 치료에서 6분 보행 시험 (6MTW: $p=0.062$)에 의해 측정된 바와 같이 기능성 운동 능력 및 6 개월 후 치료에서 LV 리모델링 (LVESV 및 LVEDV 모두 $p<0.02$)에 대하여 대조군과 비교된 최대 효과를 보여주었다. p-값은 값 0 내지 1 범위의 개연성이고, 이는 연구의 결과가 치료 및 대조군 그룹 사이에서 상이한 가능성을 나타낸다. p-값이 낮을수록, 우연히 단독으로 결과를 볼 수 있는 것이 어렵다. 0.05 미만의 P-값은 전형적으로 통계적으로 유의미한 것으로 지칭된다.

[0236] 포텐셜 HF-MACE의 독립적인 맹검 관정은 사후 수행되었다. 후속조치의 36 개월 동안, 150 백만 세포 용량은 대조군 그룹과 비교된 HF-MACE 사건이 없이 남아있을 유의미하게 더 큰 개연성과 관련되었다 (카플란-마이어에 의한 0% 대 33% HF-MACE, 로그-순위에 의한 $p=0.026$). 25 및 75 백만 용량은 상기 측정에 관해 대조군과 통계적으로 상이하지 않았다. 이들 결과를 기반으로, 치료 이익을 위한 최적의 용량은 150 백만 MPC 용량인 것으로 간주되었다 (도 2).

[0237] **실시예 2 심장 기능의 파라미터에 관한 MPC 투여의 치료 이점 (치료 의도 분석)**

[0238] 150 백만 MPC 용량에 대하여 가장 적절한 표적 부류를 식별하기 위해, 발명자들은 MPC 요법에 대한 최적의 반응군이 다소 진전된 심부전을 가진 그룹에서였는지를 평가하였다. 추가 사후 분석은 유의미한 심근 수축성 비정상 및 진전된 심부전에 대한 대리로서 100 ml 미만 또는 초과 기준선 LVESV를 가진 것으로 대조군 또는 150 백만 MPC 치료된 환자를 계층화하는 맹검 방식으로 수행되었다. 100 ml LVESV 역치가 선택된 것은 정상 LVESV를 넘는 3 초과 표준 편차에 해당하기 때문이다.

[0239] 아래 표 1은 전체 대상체 (즉 임의의 값의 LVEF를 갖는 것) 대 치료 기도 부류에서 LVESV >100을 가진 대상체의 비교의 분석을 보여준다. 치료 기도 분석은 통계적인 개념이다. 하기에 따른다: Fisher *et al.* (Fisher LD, Dixon DO, Herson J, Frankowski RK, Hearn MS, Peace KE. Intention to treat in clinical trials. In: Peace KE, editor. Statistical issues in drug research and development. New York: Marcel Dekker; 1990. pp. 331-50.

[0240] (1990))에 있어서, ITT 분석은, 입력 기준과 그의 부착에 무관하게, 이들이 실제로 받은 치료에 무관하게, 및 치료로부터 후속의 회수 또는 프로토콜로부터 편차에 무관하게, 이들이 무작위로 배정된 그룹에서 전체 무작위화된 환자를 포함한다. 환언하면, ITT 분석은 무작위화된 치료 배정에 따라 무작위화되는 모든 대상체를 포함한다. 비순응도, 프로토콜 편차, 회수, 및 무작위화 이후 발생하는 임의의 것을 무시한다. ITT 분석은 비순응도 및 프로토콜 편차가 실제의 임상 실시에서 발생할 것 같음을 수용함으로써 비-순응자의 제거에서 비롯된 중재술의 효능의 너무 낙관적인 추정을 피한다.

표 1

[0241] 전체 대상체 대 LVESV >100ml를 가진 대상체의 비교 (ITT, 또는 치료 기도)

	변화 (전체 부류) 기준선 내지 제6개월			변화 (LVESV>100ml 코호트) 기준선 내지 제6개월			
	대조군 (n=15)	MPC-IM-150 (n=15)	대조군에 비 한 변화	대조군 (n=7)	MPC-IM-150 (n=11)	대조군에 비 한 변화	P-값
LVESV (ml)	+20	-7	-27	+46	-8	-54	<0.02
LVEDV (ml)	+20	-10	-30	+41	-10	-51	<0.03

LVEF (%)	-2.3	+0.6	+2.9	-6.4	+1.7	+8.1	<0.05
----------	------	------	------	------	------	------	-------

[0242] 상기 분석은 LV 리모델링의 파라미터에 관한 150 백만 용량의 치료 이익이 실질적인 기준선 LV 수축성 비정상 및 진전된 심부전 (LVESV 100 ml 초과)을 가진 표적 부류에 관한 초점조정에 의해 현저하게 증폭되었다는 것을 입증하였다. **실시예 3 LVESV에 관한 MPC 투여의 치료 이점**

[0243] (심부전 및 비-심부전 대상체의 혼합인) 총 30 대상체는 기준선 LVESV 수준에 대하여 평가되었다. 대상체의 분포는 표 2에서 보여진다. 대상체는 1.5×10^8 중간엽 전구체 세포 (MPC) 투여된 MPC 세포 그룹 또는 위약 그룹으로 카테고리화되었다. 주사는 전기 전압에 기반된 실행가능한/동면 심근을 식별하는 J&J Myostar 주사 카테터 및 NOGASTAR 맵핑 카테터 시스템을 이용하여 좌심실에 제공되었다 (0.2 ml/주사의 대략 15-20 주사). 대상체는 ≤ 100 mL 또는 > 100 mL의 그의 좌심실 수축기말 용적지수 (LVESV) 값을 기반으로 계층화되었다.

표 2

[0244] 기준선 LVESV 값에 따른 대상체의 계층화

	기준선 LVESV ≤ 100 mL		기준선 LVESV >100 mL	
	위약/대조군	MPC 세포 그룹	위약/대조군	MPC 세포 그룹
대상체의 총수	8	4	7	11
NYHA 클래스 II	3	3	3	9
NYHA 클래스 III	5	1	4	2

[0245] 연구를 위하여 평가된 30 대상체 중에서, 18 대상체가 > 100 mL의 기준선 LVESV 값을 가졌다. 일곱 (7) 대상체는 위약에 배정되었고 11은 MPC에 배정되었다. 도 3a는 대상체 그룹에 대한 기준선 LVESV 값을 보여준다. 100 mL 이하 (\leq)의 그의 LVESV에 따라 계층화된 대상체는 81 mL의 평균 기준선 LVESV 값을 가졌다. 100 mL 초과 ($>$)의 그의 LVESV 값에 따라 계층화된 대상체는 136 mL의 평균 기준선 값을 가졌다.

[0246] 대상체는 위약 또는 1.5×10^8 중간엽 전구체 세포 (MPC)의 투여 이후 6 개월 시점에 재-평가되었다. 주요 유해 심장 사건 (MACE) 비율은 LVESV 값을 기반으로 계층화된 대상체에 대하여 결정되었다. 결과는 기준선과 6 개월 시점 사이에서 LVESV 값의 변화로서 나타낸 도 3b에서 보여진다. 위약 (대조군)과 대상체 투여된 MPC 사이에서 LVESV 값의 변화는 통계적으로 유의미하였다.

[0247] 표 3은 수치 및 백분율 값으로 심부전 MACE 비율 (HF-MACE)을 보여준다.

표 3

[0248] 기준선 LVESV 값에 따라 계층화된 대상체에서 LVESV 값의 변화

	기준선 LVESV ≤ 100 mL		기준선 LVESV >100 mL	
	위약/대조군	MPC 세포 그룹	위약/대조군	MPC 세포 그룹
대상체의 총수	8	4	7	11
HF-MACE (n)	0	0	5	0
HF-MACE (%)	0	0	71%	0
HF-MACE (BL NYHA)	NA	NA	클래스 II =2 클래스 III =3	

[0249] 기준선 LVESV 값 ≤ 100 mL을 가진 대상체는 6 개월 평가 기간에 주요 유해 심장 사건이 발생하지 않았고, 이는 대상체가 위약 또는 1.5×10^8 중간엽 전구체 세포 (MPC) 투여되었는지에 무관하였다. HF-MACE는 LVESV >100 mL에 의해 평가된 바와 같이 더 큰 기준선 심장 기능부전의 증거를 가진 위약 대상체 (대조군)에서만 발생하였다. 그에 반해서, MPC 투여된 > 100 mL LVESV에 의해 평가된 바와 같이 기준선 심장 기능부전을 가진 대상체의 아무도 HF-MACE를 발생시키지 않았다. 표 2에서 데이터는 위약으로 치료된 심부전을 가진 대상체가 높은 MACE 비율 (즉 6 개월 기간에 71%)을 경험할 것임을 입증한다. 특히, 높은 MACE 비율은 > 100 mL의 기준선 LVESV 값을 갖는 대상체에서 단지 관측된다.

- [0250] 데이터는 > 100 mL의 기준선 LVESV 값을 가진 심부전 대상체가 MPC의 투여로부터 최적의 치료 이점을 달성한다는 것을 보여준다. 환언하면, 질환 진행의 최고 위험을 가진 대상체는 MPC의 투여로부터 최대 이점을 달성하였다.
- [0251] **실시예 4 LVEDV 및 LVEF에 관한 MPC 투여의 치료 이익**
- [0252] 좌심실 확장기말 용적 (LVEDV)은 100 mL 이하 (\leq) 또는 > 100mL LVESV 값에 따라 계층화된 대상체에서 또한 평가되었다.
- [0253] 도 4a는 대상체에 대하여 기준선 LVEDV 값을 보여준다. \leq 100 mL의 기준선 LVESV를 가진 대상체는 128 mL의 평균 기준선 LVEDV를 가졌다. > 100 mL의 기준선 LVESV 값을 가진 대상체는 198 mL의 평균 기준선 LVEDV 값을 가졌다.
- [0254] 대상체 분포는 표 1에 따른다.
- [0255] 도 4b는 \leq 100 mL의 기준선 LVESV 및 > 100 mL의 기준선 LVESV에 따라 줄무늬된 대상체 사이에서 위약 (대조군) 또는 MPC의 투여 이후 6 개월에서 LVEDV 값의 변화를 보여준다. 상기 도는 최고 MACE 비율을 가진 심부전 대상체가 LVEDV 값의 개선에 의해 입증된 바와 같이 MPC의 투여로부터 치료 이익을 달성한다는 것을 보여준다. LVESV 값 \leq 100 mL 또는 > 100 mL에 따라 줄무늬된 대상체 사이에서 차이는 통계적으로 유의미하였다.
- [0256] 좌심실 박출물 (LVEF) 값은 그의 LVESV 값에 따라 계층화된 대상체에서 또한 평가되었다. 도 5a는 대상체에 대하여 기준선 LVEF 값을 보여준다. \leq 100 mL의 기준선 LVESV를 가진 대상체는 35-40%의 평균 기준선 LVEF를 가졌다. > 100 mL의 기준선 LVESV 값을 가진 대상체는 약 32%의 평균 기준선 LVEF 값을 가졌다.
- [0257] 대상체 분포는 표 1에 따른다.
- [0258] 도 5b는 \leq 100 mL의 기준선 LVESV 및 > 100 mL의 기준선 LVESV에 따라 줄무늬된 대상체 사이에서 위약 (대조군) 또는 MPC의 투여 이후 6 개월에서 LVEF 값의 변화를 보여준다. 상기 도는 최고 MACE 비율을 가진 심부전 대상체가 LVEF 값의 개선에 의해 입증된 바와 같이 MPC의 투여로부터 치료 이익을 달성한다는 것을 보여준다. LVESV 값 \leq 100 mL 또는 > 100 mL에 따라 줄무늬된 대상체 사이에서 차이는 통계적으로 유의미하였다.
- [0259] **실시예 5 LVESV에 관한 MPC의 치료 이익과 질환 중증도 사이의 상관관계**
- [0260] 70 ml와 120ml 사이 기준선 LVESV에서 모든 10분위수를 거친 추가 감수성 분석은 100 ml 초과 LVESV를 이용하여 계층화에서 보여진 발견을 식별하였다.
- [0261] 도 6 내지 11은 위약 (대조군) 또는 MPC (1.5×10^8 중간엽 전구체 세포)의 투여 이후 6 개월에서 평가된 대상체에서 LVESV의 변화를 보여준다. LVESV의 감소는 (기준선 LVESV의 측정에 의해 결정된 바와 같이) 심부전의 수준과 상관되었다. 대상체는 아래 표 4에서 나타낸 바와 같이 LVESV에 따라 줄무늬되었다.

표 4

LVESV의 변화

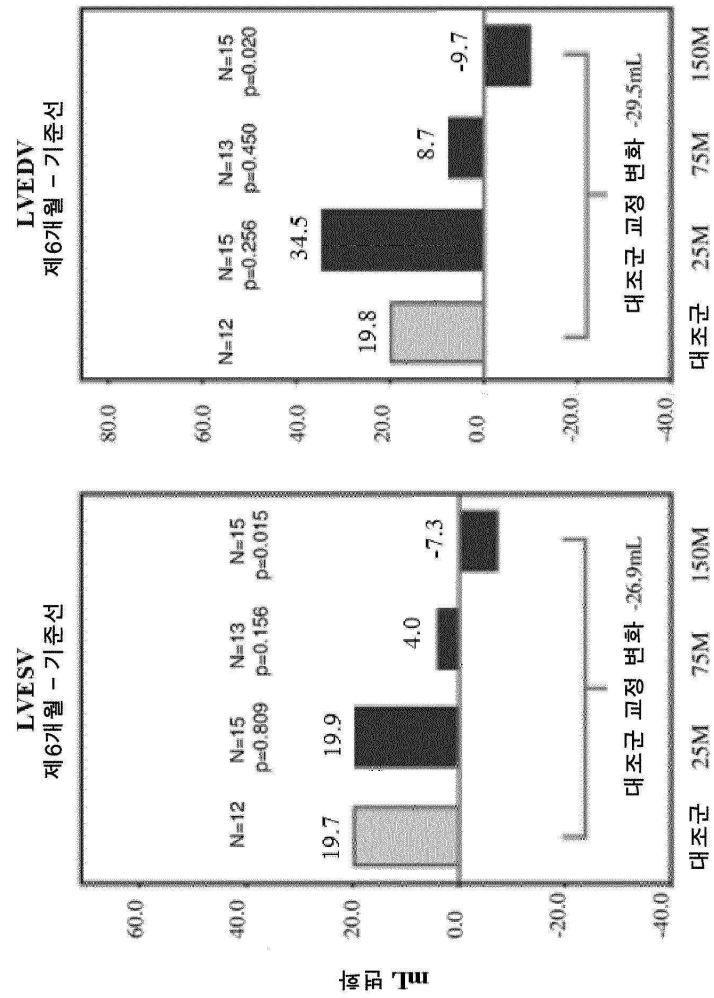
LVESV 컷-오프 값	6 개월에서 LVESV의 변화		P 값
	위약/대조군	MPC 세포 그룹	
>70 mL	21.56	-7.14	0.054
>80 mL	25.7	-7.14	0.035
>90 mL	25.75	-8.31	0.035
>100 mL	46	-8.09	0.022
>110 mL	46	-13.17	0.006
>120 mL	49	-16.8	0.016

- [0263] **실시예 6 LVESV >100ml를 가진 환자에서 HF-MACE.** HF-MACE는 150 백만 MPC를 받는 대상체 및 대조군에서 36 개월 후-치료에 조사되었다. 후속조치의 36 개월 동안 모든 HF-MACE 사건은 진전된 심부전을 가진 대조군에서 배타적으로 발생하였다 (도 12).
- [0264] 이들 빠른 진행자에서 연간 HF-MACE 비율은, 모든 대조군에서 11%와 비교된, 24%이었다.

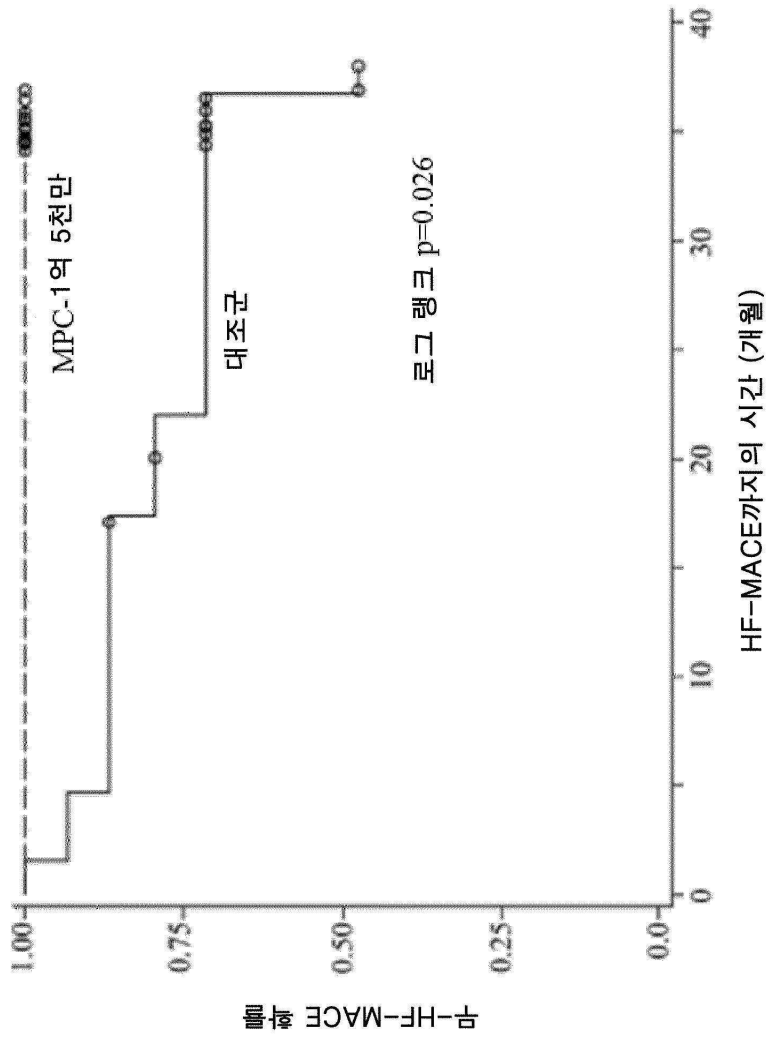
- [0265] 더 구체적으로, 기준선 LVESV > 100 ml를 가진 18 클래스 II/III CHF 환자 중에서, 5/7 (71%) 위약-치료 대 0/11 150 백만 MPC-치료는 36 개월 동안 하나 이상의 HF-MACE 사건을 경험하였다 (p=0.0007).
- [0266] 따라서, 전체 HF-MACE에 관한 150 백만 MPC 용량의 효과는 진전된 심부전 및 높은 비율의 진행을 가진 환자에서 현저하게 증폭되었고 이는 MPC 요법에 대하여 최적의 표적 환자 부류를 나타낼 수 있다.
- [0267] 언급
- [0268] 본원에 나타낸 이러한 데이터는 좌심실 수축 부전으로 인해 만성적 심부전을 갖는 대상체에서의 기준선 좌심실 수축 이상의 정도가 더 클수록, 더 유리한 MPC-관련 심장 방어 효과가 6개월 이후 기간 동안 관찰되는 것을 나타낸다. 데이터는 추가로 진행성 만성 심부전과 관련된 진행성 유해 자연 이력은 MPC로의 치료에 의해 유리하게 변경될 수 있는 것을 나타낸다. 이론에 구속되는 것으로 의도함 없이, 본 발견은 근거리분비 교차-작용 이론 (paracrine cross-talk hypothesis)을 지지하고, 여기서 조직 수분 생화학적/생리학적 장애는 유리한 분리 중재자의 MPC 방출을 촉진하는 국소적 환경을 생성한다. 따라서, 심부전 대상체에서 MPC의 투여에 의해 달성되는 최적의 장점은 질환 진행의 최고 위험을 갖는 대상체, 즉, 70 mL 초과인 기준선 LVESV를 갖는 대상체에서 보여진다.
- [0269] 기준선 LVESV >70 ml은 높은 HF-MACE를 경험하는 좌심실 수축 기능부전 및 만성 심부전을 가진 대상체의 급속 진행 하위그룹을 식별하였다.
- [0270] 기준선 LVESV >70ml, >80ml, >90ml, >100ml, >110ml 또는 >120ml를 가진 대상체에서, 고용량 (150 백만) MPC를 이용한 치료는 대조군 대상체에서 보여졌던 것보다 심장 리모델링 변수 및 HF-MACE에서 더 큰 개선을 초래하였다.
- [0271] 본원에서 나타낸 발견은 세포 요법의 심장보호성 이점에 대하여 최적의 표적 그룹을 식별하고 좌심실 수축 기능부전 때문에 심부전을 가진 대상체에 대하여 시험 설계의 개선을 용이하게 한다.
- [0272] 진전된 심부전 (기준선 LVESV > 100 ml)을 가진 대조군 환자는 LVESV 및 LVEDV 용적의 유의미한 악화, 및 LVEF의 손실에 관하여 6 개월 동안 가장 빠른 진행자가었다. 6 개월 추적 기간 동안, 150 백만 MPC 용량이 실질적인 기준선 LV 수축성 비정상인 클래스 II/III 환자 (즉 기준선 LVESV > 100 ml를 가진 이들)에서 LVESV (p<0.02), LVEDV (p<0.03) 및 LVEF (p<0.05)에 관한 실질적인 심장보호성 효과를 가졌다.
- [0273] 6 개월 추적 기간 동안, 150 백만 MPC 용량이 실질적인 기준선 LV 수축성 비정상인 클래스 II/III 환자 (즉 기준선 LVESV > 100 ml를 가진 이들)에서 LVESV (p<0.02), LVEDV (p<0.03) 및 LVEF (p<0.05)에 관한 실질적인 심장보호성 효과를 가졌다.

도면

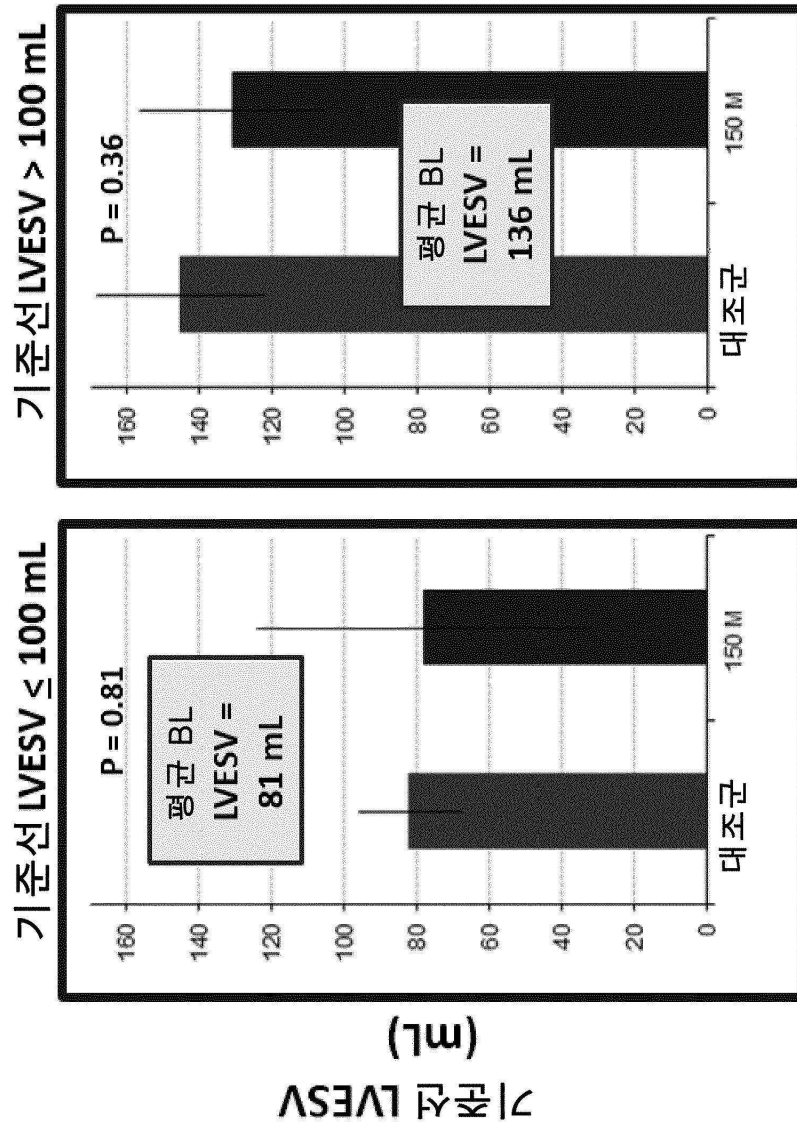
도면1



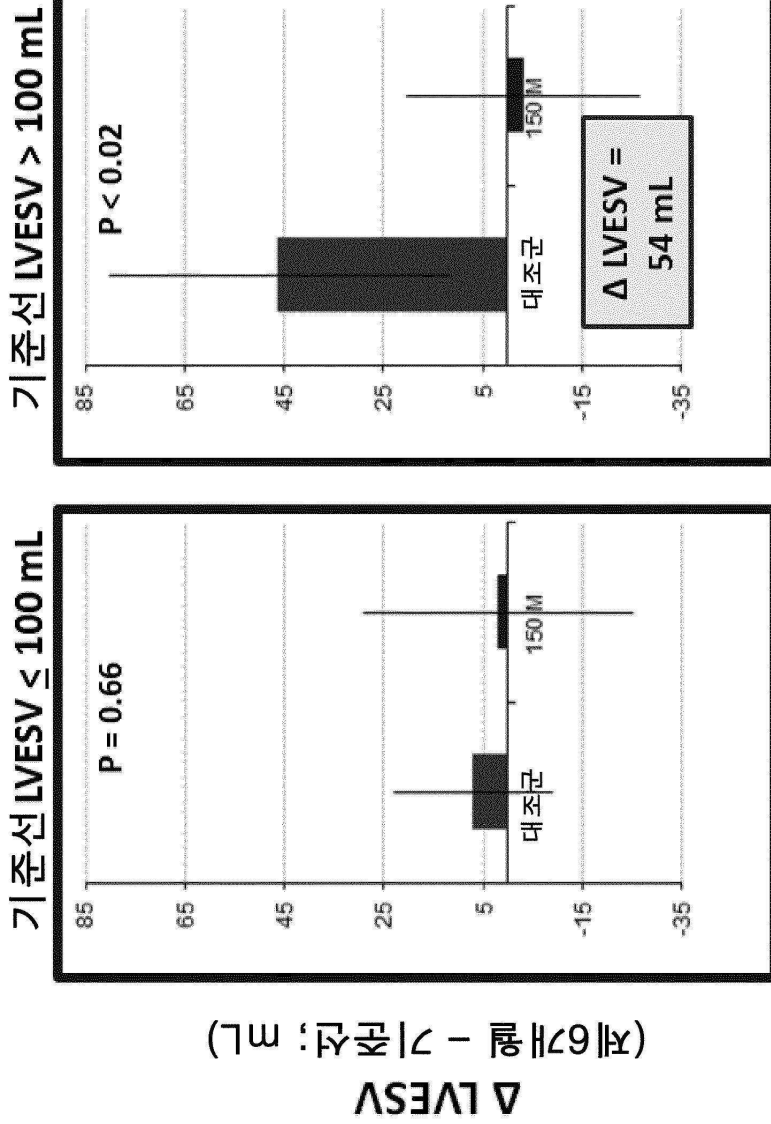
도면2



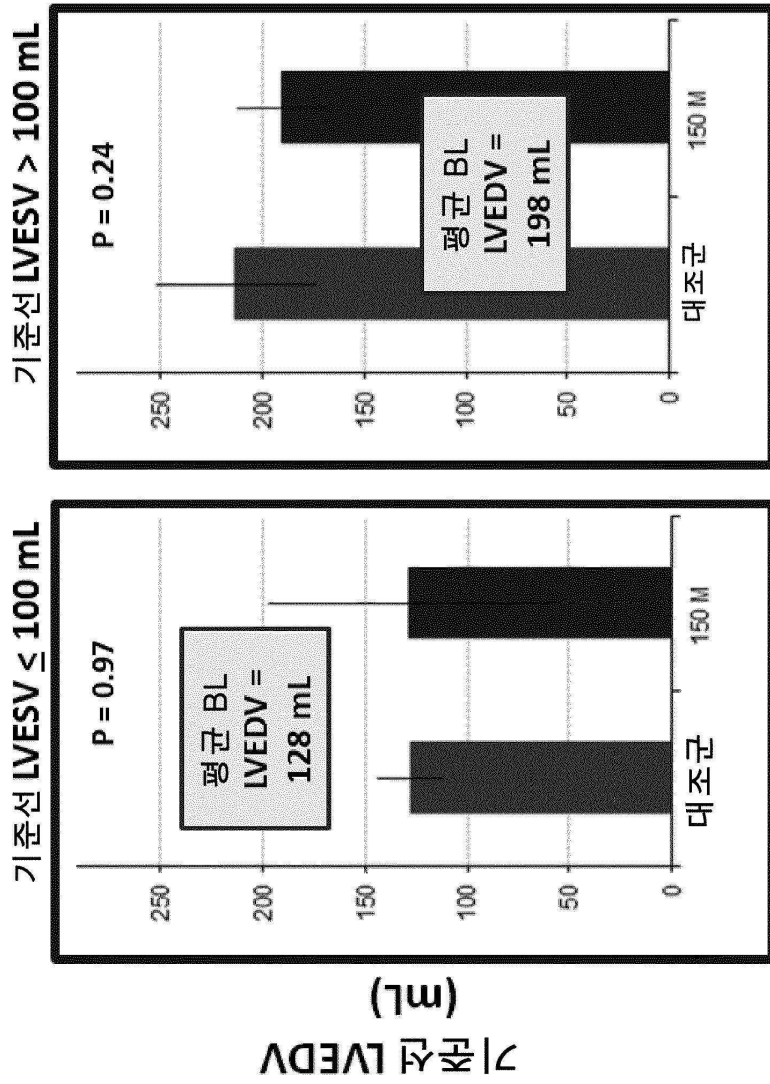
도면3a



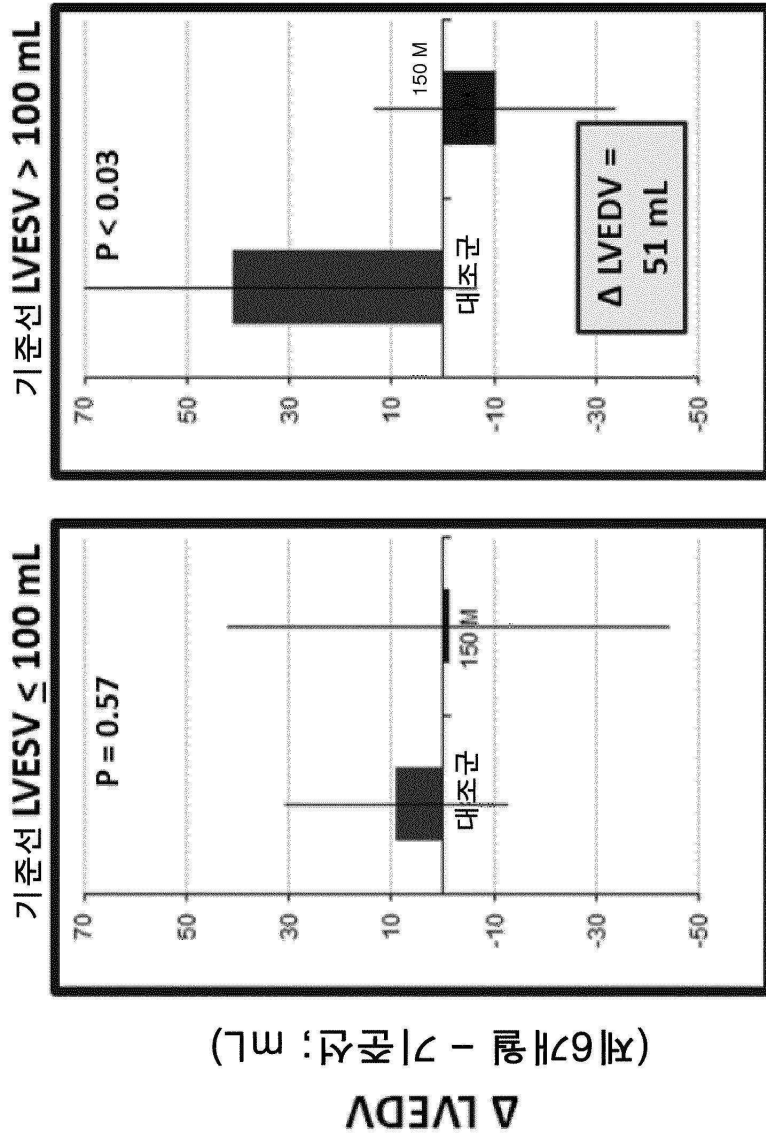
도면3b



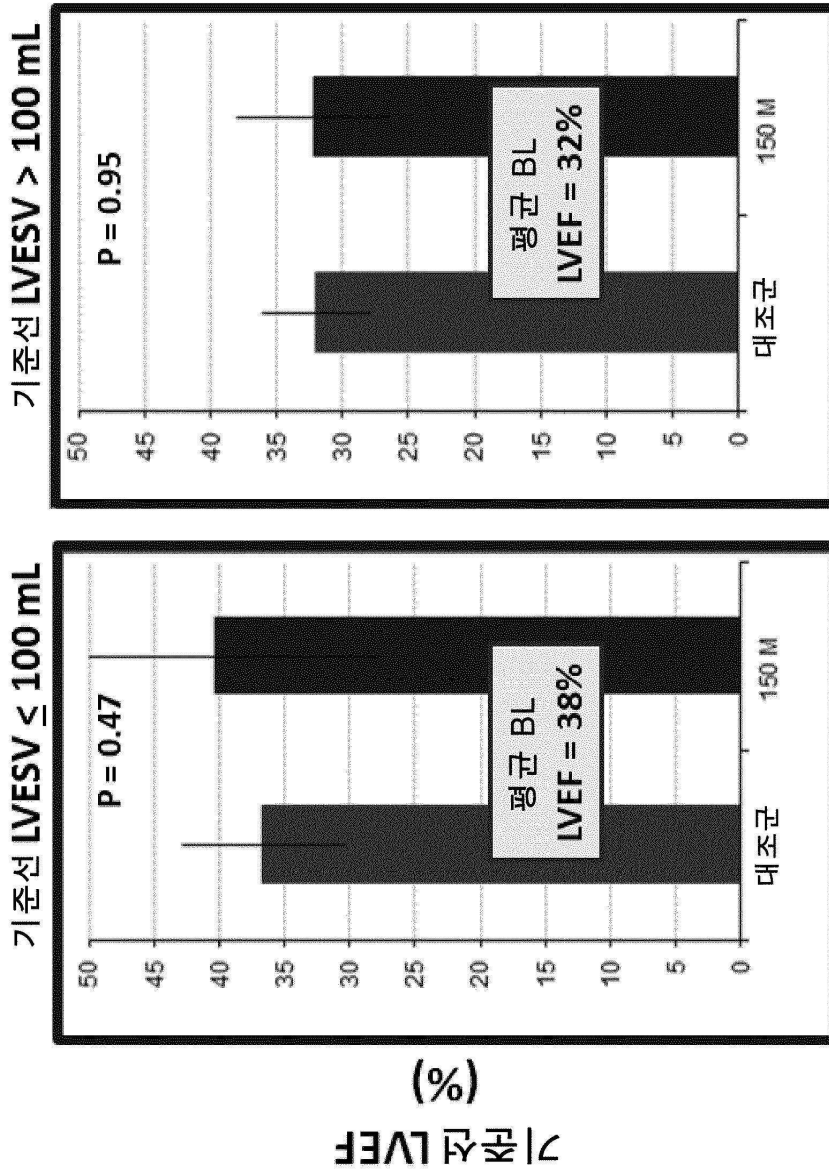
도면4a



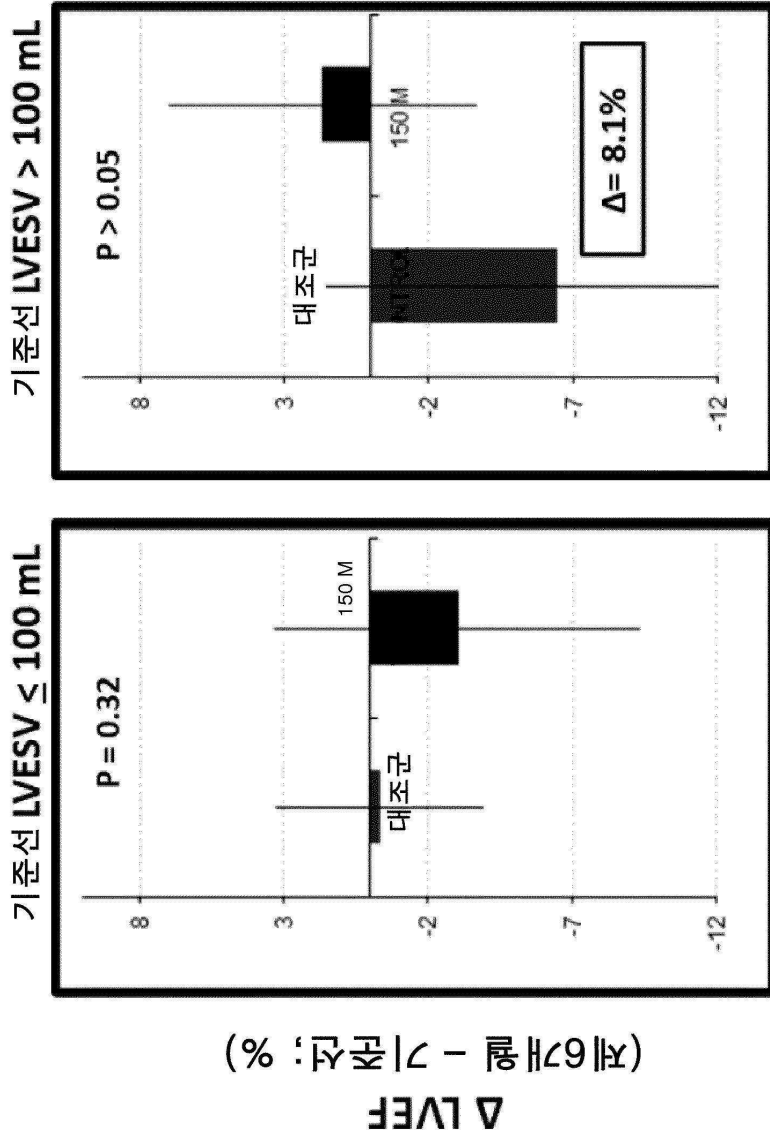
도면4b



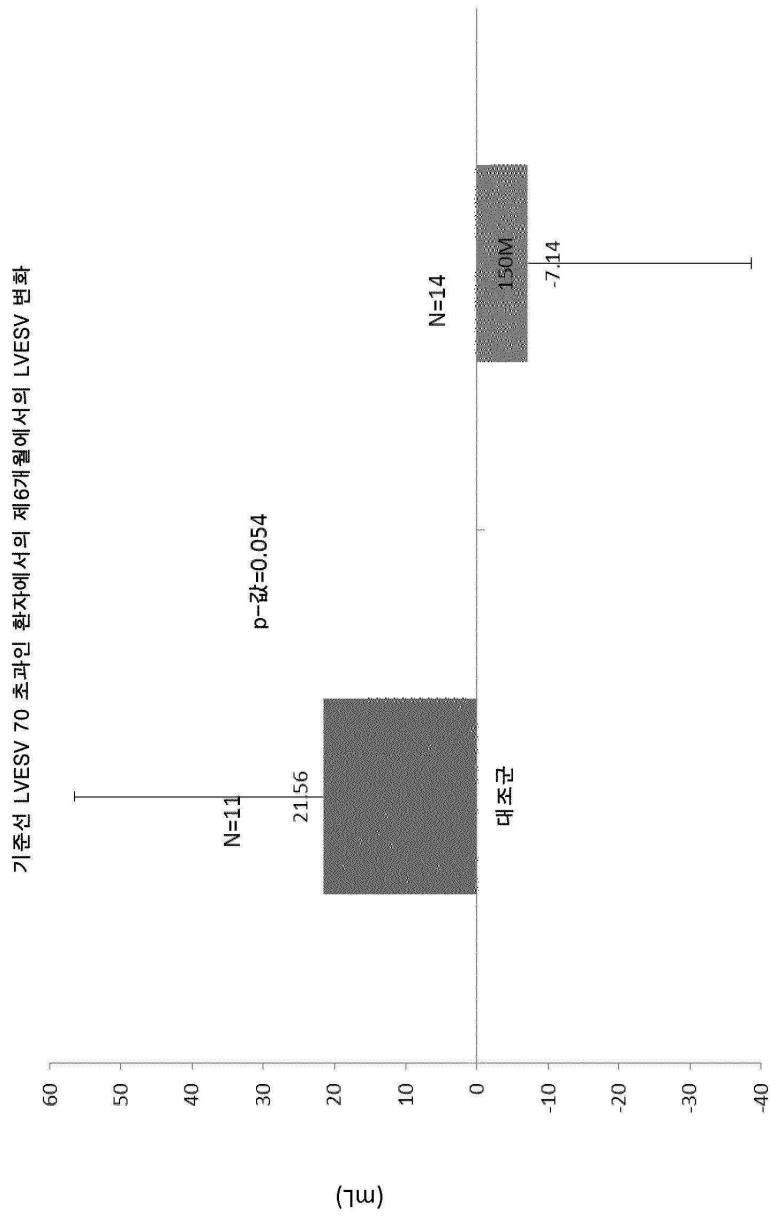
도면5a



도면5b

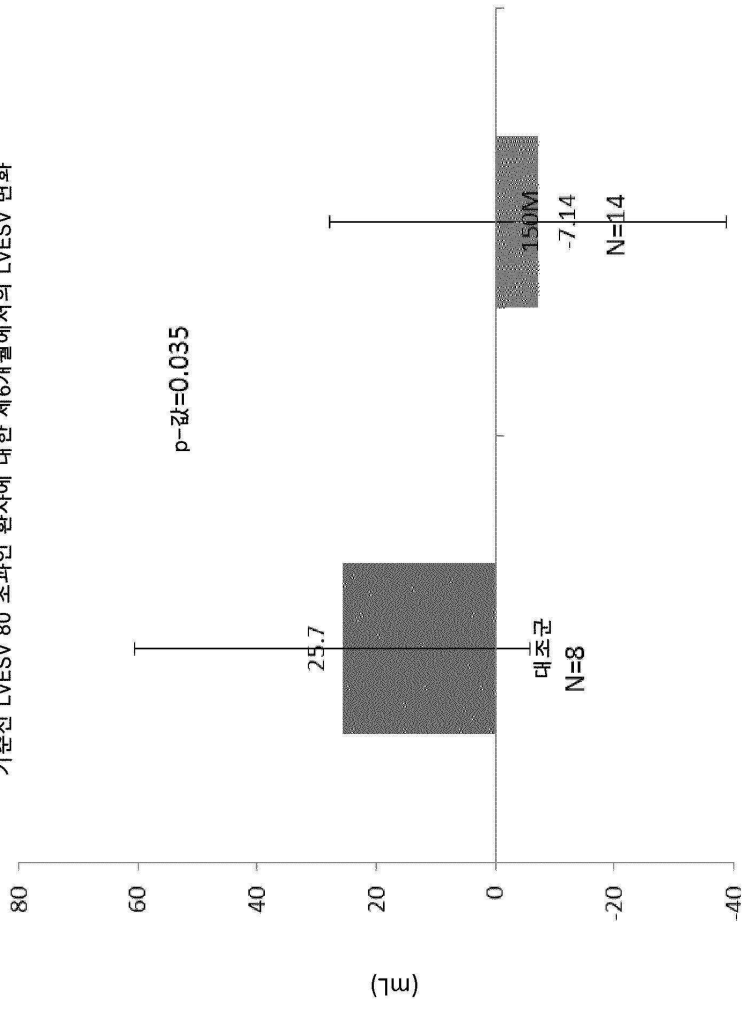


도면6

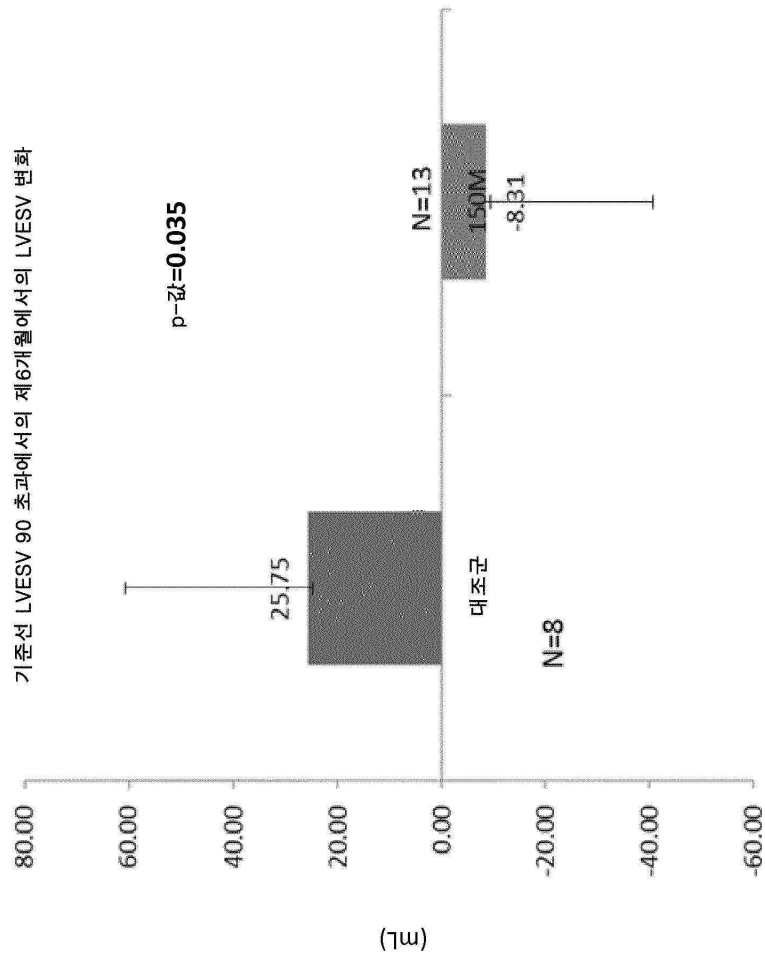


도면7

기준선 LVESV 80 초과인 환자에 대한 제6개월에서의 LVESV 변화

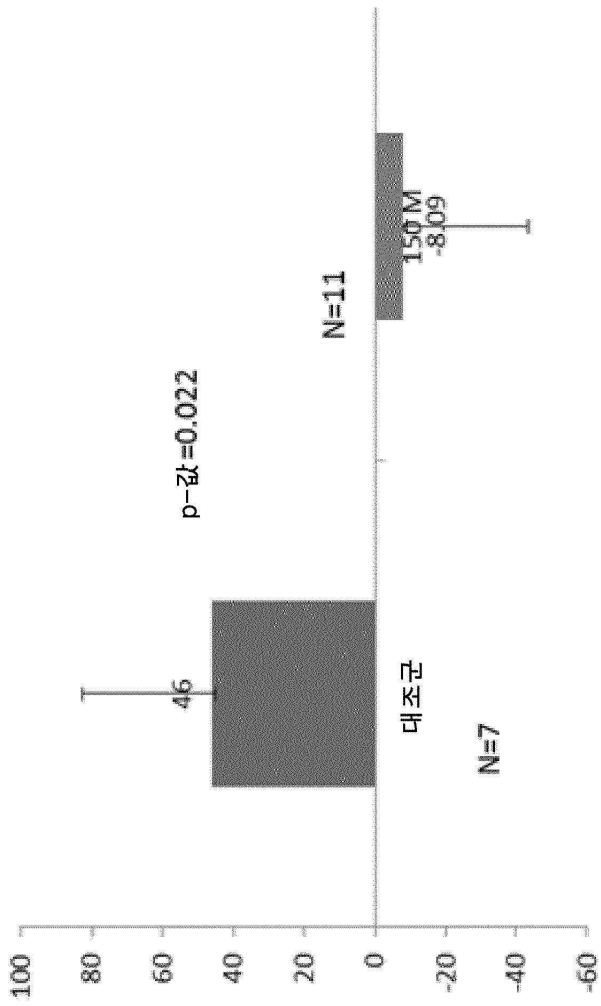


도면8

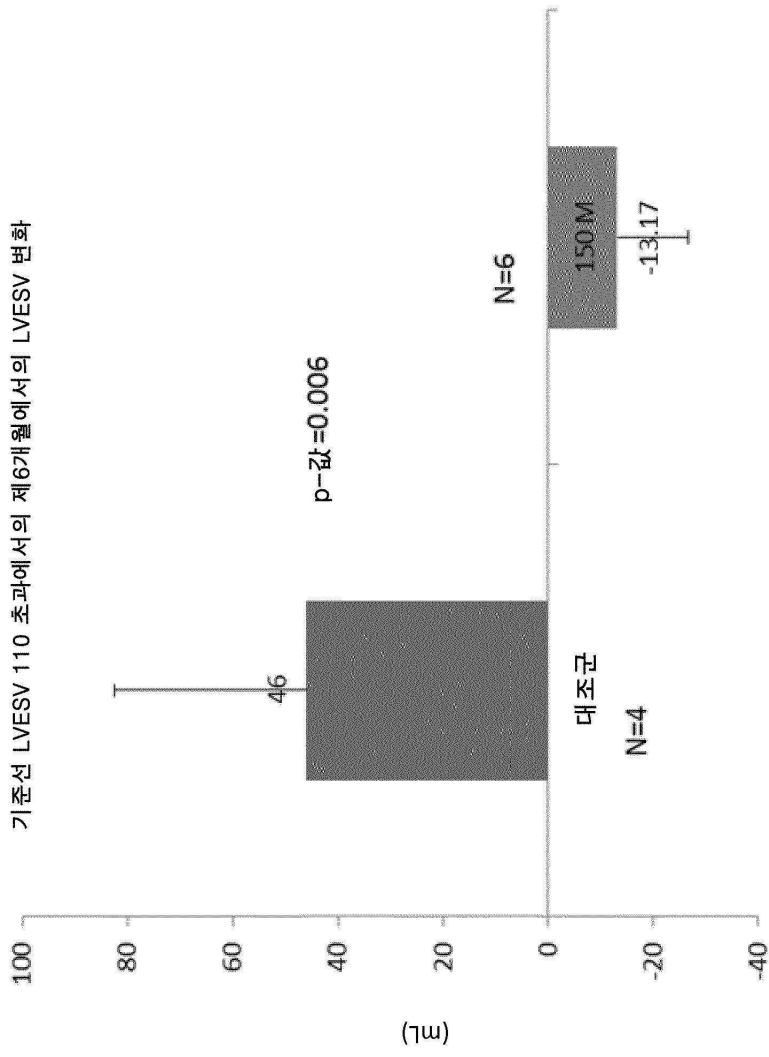


도면9

기준선 LVESV 100 초과에서의 제6개월에서의 LVESV 변화

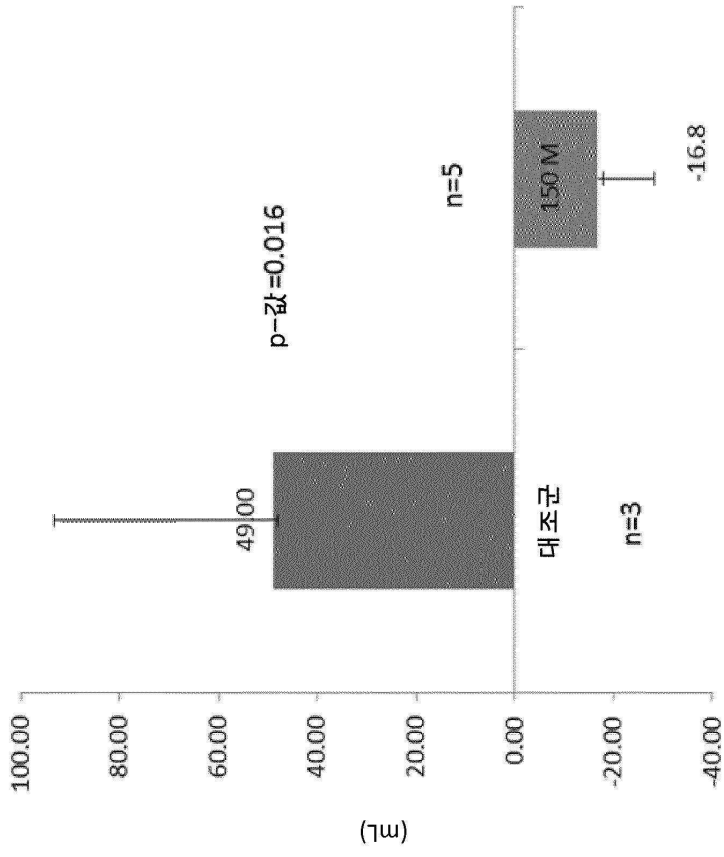


도면10



도면11

기준선 LVESV 120 초과에서의 제6개월에서의 LVESV 변화



도면12

