

<https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.715000>

## **Chimeric Antigen Receptor T Cells With Modified Interleukin-13 Preferentially Recognize IL13R $\alpha$ 2 and Suppress Malignant Glioma: A Preclinical Study**

Kiwan Kim, Ho-Shin Gwak, Nayoung Han, Eun Kyung Hong, Beom K Choi, Sangeun Lee, Soyoung Choi, Ju-Hwang Park, Ji-Hye Seok, Yeongha Jeon, Hyuntae Cho, Song-Jae Lee, Yura Lee, Ki Taek Nam, Seong-Won Song

아래 내용은 다카라코리아에서 직접 번역한 내용으로, 해석하는 과정에서 원작자의 의도와 상이한 내용이 포함되어 있을 수 있습니다. 학술 정보를 목적으로 하는 경우 원문을 참고하여 주시기를 바랍니다.

### └ Abstract 미리보기

Interleukin-13 receptor  $\alpha$  2 (IL13R $\alpha$ 2)는 활용성이 매우 기대되는 악성 뇌교종 (MG, malignant glioma)의 종양 유도 항원이다. 본 논문에서는 MG cell의 IL13R $\alpha$ 2에 선택적으로 결합하는 YB-103 CAR (chimeric antigen receptor)-T cell의 효율과 안전성에 대해 검증하였다.

이 과정에서 IL13는 E13K, R66D, S69D, R109K로 세포 외 도메인의 아미노산을 치환하여 변형하였고, retrovirus를 이용해 인간 T cell에 안정적으로 형질 감염 시켰다. *In vitro*에서 YB-103 CAR-T 세포의 효능은 IL13R $\alpha$ 1과 IL13R $\alpha$ 2의 발현이 다르게 보이는 세포주에서 분석하였다. 또한, MG 마우스 모델에서 뇌실 내 (intra-cerebroventricular, i.c.v.)와 정맥 내 (intravenous, i.v.) 경로를 통한 YB-103 CAR-T cell의 생체 내 효능을 확인하였다. 이후 WHO grade 3/4에 해당하는 53명의 환자 수술 표본을 사용하여 MG의 면역조직화학 염색을 수행하고, 염색 강도와 양성 세포의 백분율을 통해 IL13R $\alpha$ 2 발현을 H-score로 정량하였다. YB-103의 binding affinity assay는 이전에 보고된 IL13 modification (E13Y)보다 더 선택적으로 IL13R $\alpha$ 1과 결합하지 않음을 증명하였다. YB-103 CAR-T cell은 U87MG (IL13R $\alpha$ 1<sup>+</sup> / IL13R $\alpha$ 2<sup>+</sup>) cell과 co-culture했을 때 선택적으로 독성을 나타냈지만, A431 (IL13R $\alpha$ 1<sup>+</sup> / IL13R $\alpha$ 2<sup>-</sup>) cell에서는 독성을 나타내지 않았다. 이와 일관되게 U87 MG cell이 orthotopic injection된 누드 마우스에서도 YB-103 CAR-T cell이 종양 성장을 억제하는 것을 확인하였다. YB-103 CAR-T cell을 i.c.v.와 i.v.로 주사했을 때 모두 종양 부피를 감소시키고 종양을 가지는 마우스 전체의 생존 기간을 연장하였다. 환자 유래 MG 조직에서의 IL13R $\alpha$ 2에 대한 H-score 중앙 값은 5 (평균 57.5, SD 87.2, 범위 0~300)로 분석되었다.

이 전임상 연구는 MG cell에서의 IL13R $\alpha$ 2-targeted YB-103 CAR-T cell의 효능을 증명하였다. CAR를 구성하는 변형된 IL13은 IL13R $\alpha$ 1를 발현하는 세포는 보존하면서 IL13R $\alpha$ 2를 발현하는 MG cell만 선택적으로 표적하는 것을 촉진하였다. 특히 YB-103 CAR-T cell은 효과적으로 blood-brain barrier (BBB) 교차를 억제하면서, 두개 내 주사 (intracranial injection)보다 정맥 내 주사가 더 효과적임을 시사하였다. 또한, 교모세포종 (glioblastoma)에서의 IL13R $\alpha$ 2의 높은 H-score는 향후 재발성 교모세포종 환자를 대상으로 한 임상 시험에서 YB-103 CAR-T cell이 적격성을 결정하는 데 사용될 수 있다.

### └ 논문에서 사용된 Takara 관련 제품 알아보기

#### **RetroNectin<sup>®</sup> (Recombinant Human Fibronectin Fragment) (Code T100A)**

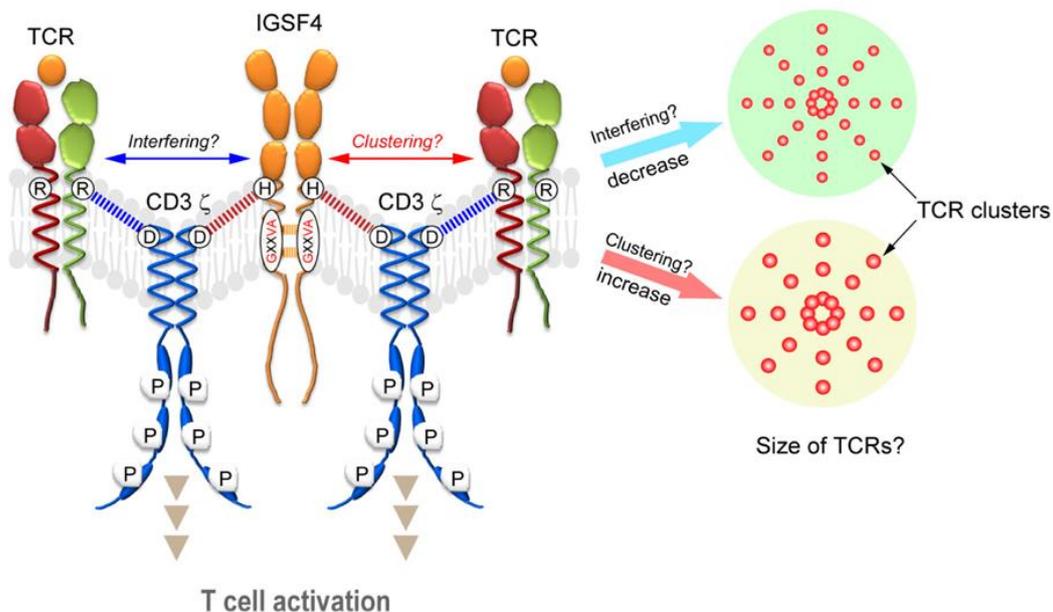
- Lentivirus, Retrovirus의 도입 효율 극대화하는 transduction enhancer
  - 3개의 domain을 통해 바이러스와 목적 세포의 물리적 거리를 가깝게 하는 원리 활용
- Polybrene, Protamine 대비 낮은 세포 독성

## Potentiating the Antitumor Activity of Cytotoxic T Cells via the Transmembrane Domain of IGSF4 That Increases TCR Avidity

Hye-Ran Kim, Jeong-Su Park, Yasmin Fatima, Maiza Kausar, Jin-Hwa Park, Chang-Duk Jun

아래 내용은 다카라코리아에서 직접 번역한 내용으로, 해석하는 과정에서 원작자의 의도와 상이한 내용이 포함되어 있을 수 있습니다. 학술 정보를 목적으로 하는 경우 원문을 참고하여 주시기를 바랍니다.

### Abstract 미리보기



강력한 T-cell 반응은 antitumor immunity를 지속하는 데 있어 중요한 요소다. 이와 관련하여 종양의 항원 표적화에 관여하는 TCR의 결합력 (avidity)는 T-cell 반응의 질에 굉장히 중요하게 작용한다. 본 연구에서는 His177과 Asp36 간의 상호작용을 통해, immunoglobulin superfamily member 4 (IGSF4)의 transmembrane (TM) 도메인과 CD3 ζ-chain의 TM이 결합하여 IGSF4-CD3 ζ dimer를 형성함을 보고하였다. IGSF4는 또한 TM 도메인의 GxxVA 변형을 통해 동종이량체 (homo-dimer)를 형성함으로써, 큰 크기의 TCR cluster를 구성한다. 세포 외 도메인이 결여된 IGSF4 (IG4ΔEXT, deletion mutation of the extracellular domain of IGSF4)의 과발현은 OT1CD8<sup>+</sup> T cell이 IFN-γ와 TNF-α를 방출하고, OVA<sup>+</sup>-B16F10 흑색종 세포를 사멸 시키는 것을 강화한다. 동물 모델에서 IG4ΔEXT는 B16F10 종양의 전이와 성장을 유의하게 감소시킨다. 이를 종합한 결과로, IGSF4의 TM 도메인이 TCR 결합력을 조절할 수 있음을 나타내며, TCR 결합력 조절을 통해 cytotoxic T cell의 항 종양 활성을 개선시키는 데 중요한 역할을 함을 확인할 수 있다.

### Takara 제품을 이용한 method 미리보기

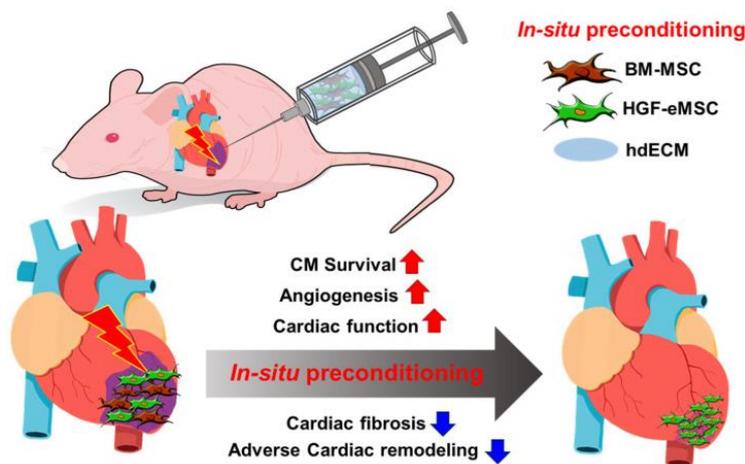
Retrovirus의 transduction을 위해 6cm<sup>2</sup> 크기의 dish에 1 x 10<sup>6</sup>개의 retroviral packaging cell을 seeding하고 overnight 동안 배양하였다. 해당 세포에 retroviral vector (EV, wt-IG4, IG4ΔEXT)와 packaging vector를 transfection하여 retrovirus particle을 생산하였다. 48시간 이후 회수한 상층액은 20 μg/ml의 [RetroNectin® \(Code T100A\)](#)이 코팅된 12 well plate에서 배양된 1 x 10<sup>6</sup>개의 mouse T cell과 혼합하였고, rIL-2 (100 U/ml)를 추가하여 22,000 x g, 25 °C의 조건에서 90분간 원심분리 하였다. Transduction된 T cell을 rIL-2를 포함하는 새로운 배지에서 3일간 유지 및 배양하였고, GFP를 발현하는 세포는 감염 후 2일 차에 측정하였다. Retrovirus transduction을 위해, mouse CD8<sup>+</sup> T cell은 2 μg/ml의 anti-CD3/28이 코팅된 plate에서 rIL-2 (100 U/ml)와 함께 48시간 동안 배양하였다.

# In Situ Preconditioning of Human Mesenchymal Stem Cells Elicits Comprehensive Cardiac Repair Following Myocardial Infarction

Woo-Sup Sim, Bong-Woo Park, Kiwon Ban, Hun-Jun Park

아래 내용은 다카라코리아에서 직접 번역한 내용으로, 해석하는 과정에서 원작자의 의도와 상이한 내용이 포함되어 있을 수 있습니다. 학술 정보를 목적으로 하는 경우 원문을 참고하여 주시기를 바랍니다.

## Abstract 미리보기



성체 줄기세포 중 가장 대표적인 human bone marrow-derived mesenchymal stem cells (BM-MSCs)는 세포를 기반으로 한 심근 재생 치료법의 유망한 소스로 여겨져 왔다. 하지만, 쇠약한 상태의 심장에 이를 투여한 후 세포의 생존율과 유지되는 정도가 낮아, 임상 적용에 상당한 어려움이 있었다. 본 논문의 저자들은 BM-MSC의 치료적 효과 개선을 위해, rat 심근경색증 (myocardial infarction, MI) 모델에서 in situ preconditioning이라는 새로운 치료 플랫폼을 연구하였다.

In situ preconditioning은 유전적으로 조작된 hepatocyte growth factor-expressing MSCs (HGF-eMSCs)와 heart-derived extracellular matrix (hdECM) hydrogel을 BM-MSC와 함께 처리하여 유도한다. 결과적으로, 본 논문에서는 cell mixture를 포함한 in situ preconditioning이 MI을 유도한 rat의 심장에서의 BM-MSCs 생존과 유지를 실질적으로 개선하였음을 입증하였다. MI 심장에서의 심근 보호와 혈관 형성 강화를 통해 BM-MSCs가 더 잘 유지되면서 궁극적으로 심근 기능이 개선되었다. 이 결과는 BM-MSC를 이용한 치료의 가능성을 개선하기 위해 고안된 in situ preconditioning이 MI 심장의 치료에 효과적인 전략이 될 수 있음을 증명하였다.

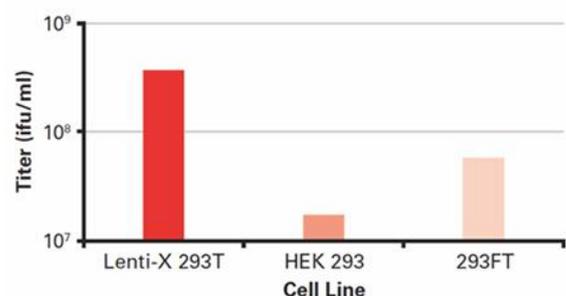
## Takara 제품을 이용한 method 미리보기

Hepatocyte growth factor (HGF)를 지속적으로 발현하도록 hMSC를 조작하였다. 먼저, 각 c-Myc와 hTERT를 포함하는 replication incompetent lentiviral vector를 제작하였고, Tet-off system 사용을 위해 tetracycline trans-activator protein을 발현하는 gene construct와 함께 도입되었다. 이후 [Lenti-X™ 293T Cell Line](#)에 transfection하여 Lentivirus를 생산하였으며, 생산한 Lentivirus는 [RetroNectin®](#)을 이용해 100 multiplicity of infection (MOI)로 BM-MSCs에 transduction 시켰다. Lentivirus 감염 후의 세포 선별 과정에서는 Zeocin (500 µg/ml)와 puromycin (1 µg/ml)를 사용했다.

## 논문에서 사용된 Takara 관련 제품 알아보기

### [Lenti-X™ 293T Cell Line \(Code 632180\)](#)

- 높은 역가의 Lentivirus 생산을 위해 제작된 293T clone
- 293FT cell line의 6배, HEK293 cell line에 비하여 30배 높은 역가의 바이러스 생산 가능



## Effect of *Allium senescens* Extract on Sorafenib Resistance in Hepatocarcinoma Cells

Sohyeon Park, Yoonjin Park, Heejong Shin, Boyong Kim, Seungwan Lee

아래 내용은 다카라코리아에서 직접 번역한 내용으로, 해석하는 과정에서 원작자의 의도와 상이한 내용이 포함되어 있을 수 있습니다. 학술 정보를 목적으로 하는 경우 원문을 참고하여 주시기를 바랍니다.

### Abstract 미리보기

*Allium* 종은 생체 활성에 관여하지만, *Allium senescens*가 간암에서 약물 내성과 관련 되는지에 대한 연구는 아직까지 진행된 바가 없다. *A. senescens* 추출물 내 몇몇 생리 활성 화합물 농도를 결정하기 위해 초고성능의 liquid chromatography 을 이용했으며, 이후 HepG2 cell 에서 flow cytometry, 역전사 및 PCR 반응, siRNA 매개 knockdown 을 통해 다양한 마커의 수준을 평가하였다. 추출물로부터  $4.7291 \pm 0.06 \mu\text{g}/\text{mL}$  수준의 *p*-coumarin acid 를 얻었으며, *p*-coumarin acid 존재 하에서 항생제 내성 세포는 2.1 배 낮은 수준의 protein relevant evolutionary and lymphoid interest (PRELI)을 나타냈다. 내성 세포는 추출물 혹은 *p*-coumarin acid 에 노출되었을 때와 PRELI가 knockdown 되었을 때, influx 단백질 (OCT-1)과 반대로 efflux transporter (ABCB1, ABCG2)를 강하게 downregulation 함을 보였다. 또한, 추출물은 미토콘드리아의 세포 자멸사 (mitochondrial apoptosis)를 유도하고, 자가 포식 (autophagy) 작용을 억제했다. 결과적으로 약물 수송체 발현의 조절, 자가 포식 활성화 및 미토콘드리아 세포 자멸사에 관여하는 주요 단백질인 PRELI 은 추출물과 *p*-coumarin acid 로 인해 downregulation 되었고, 이는 HepG2 cell 의 약물 내성을 약화시켰다. 이 결과는 *A. senescens* 추출물이 암세포가 약물 내성을 가지는 것을 막고, 간암에서의 sorafenib 의 효능을 유지하는 데 긍정적인 효과를 보임을 나타낸다.

### Takara 제품을 이용한 method 미리보기

배양된 HepG2 cell 에 24 시간 동안 PRELI siRNA 와 control siRNA oligonucleotide (negative and positive)을 transfection 한 후, 24 시간 동안 sorafenib 에 노출시켰다. 분석 결과는 negative, positive control 로 보정하였다. PRELI 과발현을 위해서, 배양된 HepG2 cell 에 PRELI Lentiviral Activation particle 을 감염시켰고, RetroNectin®을 함께 처리하였다.

### 논문에서 사용된 Takara 관련 제품 알아보기

#### [RetroNectin® \(Recombinant Human Fibronectin Fragment\) \(Code T100A\)](#)

- Lentivirus, Retrovirus의 유전자 도입 효율 극대화하는 transduction enhancer
- T cell 확대배양을 위한 co-stimulation 효율 확인 (with Anti-CD3 antibody)
- CAR-T therapy 연구 시 최적
  - : 하나의 시약으로 virus의 CAR 유전자 도입 및 T cell 확대 배양에 모두 적용
  - : GMP grade (#T202)를 지원하며, FDA DMF (Drug Master File) 등록 완료

### 함께 사용할 수 있는 제품

용도	Code	제품명
Gas permeable culture bag	FU0005	<a href="#">CultiLife™ 215 Culture Bag</a>
T cell stimulation용 Antibody	T210	<a href="#">Anti-CD3 mAb GMP grade</a>
Human T cell 배양용 배지	WK552S	<a href="#">LymphoONE™ T-Cell Expansion Xeno-Free Medium, 1L Bottle</a>