

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】令和 3 年 5 月 6 日 (2021.5.6)

【公表番号】特表 2020-519645 (P2020-519645A)

【公表日】令和 2 年 7 月 2 日 (2020.7.2)

【年通号数】公開・登録公報 2020-026

【出願番号】特願 2019-562579 (P2019-562579)

【国際特許分類】

A 6 1 K 35/28 (2015.01)

A 6 1 P 25/00 (2006.01)

C 1 2 N 5/0775 (2010.01)

【F I】

A 6 1 K 35/28

A 6 1 P 25/00

C 1 2 N 5/0775

【手続補正書】

【提出日】令和 3 年 3 月 26 日 (2021.3.26)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

中枢神経系 (C N S) に投与することにより一次進行型多発性硬化症を治療する方法において使用するための、非遺伝子組み換えのヒト脂肪組織由来幹細胞 (h A D S C) を含む医薬組成物。

【請求項 2】

前記 h A D S C は、

(a) 吸引脂肪組織を凍結するステップと、

(b) 前記吸引脂肪組織を解凍し、組織分散酵素を用いて、又は機械的破碎により分散させるステップと、

(c) 前記 h A D S C を含む細胞分画を遠心分離によってペレットリングし、任意に細胞生存率を支持可能な懸濁培地で前記ペレットを洗浄し、前記懸濁液を少なくとも 1 回の追加の遠心分離にかけるステップと、

(d) ステップ (c) で得られた前記ペレットを、細胞生存率を支持可能な懸濁培地で再懸濁し、再懸濁された前記ペレット内の細胞集団から h A D S C を選択するステップと、

、

(e) 任意に、前記 h A D S C の選択の前に少なくとも 1 回濾過をおこなうステップと、

、

(f) 任意に、前記 h A D S C を少なくとも 3 継代にわたって培養するステップと、

によってヒト皮下脂肪から得られた h A D S C である、

請求項 1 に記載の 医薬組成物。

【請求項 3】

前記 h A D S C は、(i) 吸引脂肪組織を凍結するステップと、(i i) 前記吸引脂肪組織を解凍し、組織分散酵素を用いて、又は機械的破碎により分散させるステップと、(i i i) 前記 h A D S C を含む細胞分画を遠心分離によってペレットリングするステップと、(i v) 前記ペレットを等張緩衝液又は培養液で洗浄し、追加の遠心分離にかけるス

テップと、(v)ステップ(iv)で得られた前記ペレットを等張緩衝液又は培養液で再懸濁し、少なくとも1回濾過をおこなうステップと、(vi)再懸濁された前記ペレット内の細胞集団からhADSCを選択するステップと、(vii)前記hADSCを少なくとも3継代にわたって培養するステップと、によってヒト皮下脂肪から得られたhADSCである、

請求項2に記載の医薬組成物。

【請求項4】

遠心分離後に得られた前記hADSCを含む前記細胞分画は、赤血球溶解バッファーにさらされない、請求項2又は請求項3に記載の医薬組成物。

【請求項5】

前記hADSCは、細胞培養容器への付着性によって選択される、請求項1～4のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項6】

ヒト皮下脂肪からヒト脂肪組織由来幹細胞(hADSC)を得るための方法であって、前記方法は、

(a)吸引脂肪組織を凍結するステップと、

(b)前記吸引脂肪組織を解凍し、組織分散酵素を用いて、又は機械的破砕により分散させるステップと、

(c)前記hADSCを含む細胞分画を遠心分離によってペレットリングし、任意に細胞生存率を支持可能な懸濁培地で前記ペレットを洗浄し、前記懸濁液を少なくとも1回の追加の遠心分離にかけるステップと、

(d)ステップ(c)で得られた前記ペレットを、細胞生存率を支持可能な懸濁培地で再懸濁し、少なくとも1回濾過をおこなうステップと、

(e)再懸濁された前記ペレット内の細胞集団からhADSCを選択するステップと、

(f)任意に、前記hADSCを少なくとも3継代にわたって培養するステップと、
から実質的になる、方法。

【請求項7】

前記hADSCは、組織培養容器への付着性によって選択される、請求項6に記載の方法。

【請求項8】

前記得られたhADSCは、多発性硬化症(MS)の治療において使用され、好ましくは、前記多発性硬化症は進行性MSであり、

前記進行性MSは二次進行型MSであるか、または

前記進行性MSは一次進行型MSである、請求項6に記載の方法。

【請求項9】

前記凍結は-80℃で実施され、その後に気相液体窒素が続く、請求項6～8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項10】

前記組織分散酵素は、コラゲナーゼ、ディスパーゼ又はそれらの組合わせから選択される、請求項6～9のいずれか一項に記載の方法。

【請求項11】

前記組織分散酵素はコラゲナーゼである、請求項10に記載の方法。

【請求項12】

前記hADSCは、前記細胞の少なくとも95%によるCD44、CD73及びCD90の陽性発現と、前記細胞の少なくとも90%によるCD105の陽性発現と、前記細胞の少なくとも95%によるCD45、CD19、CD11b及びHLA-DRの陰性発現とによって特徴付けられる、

請求項6～11のいずれか一項に記載の方法。

【請求項13】

前記hADSCは更に、前記細胞の1～10%によるCD34の陽性発現によって特徴

付けられる、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記細胞の少なくとも 5 0 % は、C D 1 0 5、C D 7 3、C D 4 4 及び C D 9 0 に対して陽性であり、C D 4 5、C D 1 9、C D 1 1 b 及び H L A - D R に対して陰性である、請求項 6 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5】

継代数 3 ~ 1 0 まで前記 h A D S C を培養することを含む、請求項 6 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 6】

継代数 3 ~ 5 まで前記 h A D S C を培養することを含む、請求項 6 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記 h A D S C は、髄腔内投与又は心室内若しくは脳室内 (I C V) 投与のためのものである、請求項 6 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記 h A D S C は、1 回の投与につき約 $1 0^5$ ~ $3 \times 1 0^8$ 個の細胞の用量で投与するためのものである、請求項 6 ~ 1 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 9】

前記 h A D S C は自己由来である、請求項 6 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記 h A D S C は同種由来である、請求項 6 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の方法。