

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-547728

(P2023-547728A)

(43)公表日 令和5年11月13日(2023.11.13)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード(参考)	
A 6 1 K	38/48 (2006.01)	A 6 1 K	38/48	1 0 0	4 C 0 7 6
A 6 1 P	31/12 (2006.01)	A 6 1 P	31/12		4 C 0 8 4
A 6 1 P	31/14 (2006.01)	A 6 1 P	31/14		
A 6 1 K	9/08 (2006.01)	A 6 1 K	9/08		
A 6 1 K	9/107(2006.01)	A 6 1 K	9/107		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全43頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2023-527970(P2023-527970)	(71)出願人	523165318
(86)(22)出願日	令和3年11月8日(2021.11.8)		アーテック メディカル ジーエムビーエ
(85)翻訳文提出日	令和5年6月19日(2023.6.19)		イチ
(86)国際出願番号	PCT/EP2021/080936		ドイツ連邦共和国, 8 5 6 6 2 ホーエ
(87)国際公開番号	WO2022/096708		ンブルン, ブルンネンガッセ 2 7
(87)国際公開日	令和4年5月12日(2022.5.12)	(74)代理人	100088904
(31)優先権主張番号	20206287.3		弁理士 庄司 隆
(32)優先日	令和2年11月6日(2020.11.6)	(74)代理人	100124453
(33)優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)		弁理士 資延 由利子
(31)優先権主張番号	21159620.0	(74)代理人	100135208
(32)優先日	令和3年2月26日(2021.2.26)		弁理士 大杉 卓也
(33)優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)	(74)代理人	100183656
			弁理士 庄司 晃
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA	(74)代理人	100224786
	最終頁に続く		弁理士 大島 卓之
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 間葉系幹細胞由来の細胞外小胞およびアルファ - 1 アンチトリプシンを含むウイルス感染症治療用組成物

(57)【要約】

本発明は、ヒト対象におけるウイルス感染の治療および/または予防における医薬品として使用するための、間葉系幹細胞(MSC)から単離された細胞外小胞およびアルファ - 1 アンチトリプシン(AAT)タンパク質を含む医薬組成物に関する。さらに、本発明は、対象の気道の粘膜表面および/または口腔内への局所および/または局在投与のための組成物に関する。別の態様において本発明は医薬組成物を分配するための送達システムおよび対応する製剤に関する。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

間葉系幹細胞 (MSC) から単離された細胞外小胞およびアルファ - 1 アンチトリプシン (AAT) タンパク質を含む、ヒト対象におけるウイルス感染症の治療および/または予防における医薬品としての使用のための医薬組成物。

## 【請求項 2】

AAT タンパク質は、細胞外小胞が単離される間葉系幹細胞 (MSC) で発現されるものであって、MSC は、外因性のアルファ - 1 アンチトリプシン (AAT) を発現するように遺伝子組換えされている、請求項 1 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 3】

組成物は、アルファ - 1 アンチトリプシン (AAT) タンパク質が豊富であり、好ましくは、単離された組換え AAT タンパク質が豊富である、請求項 1 または 2 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 4】

医薬組成物が、対象の気道および/または口腔の粘膜表面に局所的および/または局在的に投与される、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

## 【請求項 5】

細胞外小胞はエキソソームおよび/または微小胞である、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

## 【請求項 6】

細胞外小胞はエキソソームであり、  
エキソソームは

- a) 任意で、間葉系幹細胞 (MSC) は外因性のアルファ - 1 アンチトリプシン (AAT) を発現するように遺伝子組換えされた、間葉系幹細胞 (MSC) 由来のエキソソームを含む細胞培養上清を提供する工程、および
  - b) 好ましくは遠心分離、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) および/または限外濾過によって、細胞および/または細胞破片を除去することにより、エキソソームを単離する工程、
- を含む方法によって取得可能である、  
請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

## 【請求項 7】

MSC は、人工多能性幹細胞 (iPSC)、臍帯血、臍帯組織、胎盤、骨髄、骨または脂肪組織に由来するヒト MSC から選択され、および MSC は血小板溶解物中で培養されている、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

## 【請求項 8】

細胞外小胞は、1 ~ 500 nm、好ましくは約 10 ~ 200 nm、より好ましくは 20 ~ 150 nm の平均直径を有する、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

## 【請求項 9】

細胞外小胞の濃度は、0.01 ~ 100 mg/ml、好ましくは 0.1 ~ 10 mg/ml、より好ましくは 1 ~ 5 mg/ml である、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

## 【請求項 10】

細胞外小胞は、AAT タンパク質、好ましくは改変 MSC から発現される外因性 AAT タンパク質、および IFN-、IL-8、IL-10、および TGF- などのサイトカイン、HLA-G、コレステロール、セラミド、ホスホグリセリド、飽和脂肪酸アシル鎖、プロスタグランジン、および RNA、好ましくは miRNA、siRNA および shRNA などの核酸からなる群から選択される、1 つ以上の生物学的因子を含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

## 【請求項 11】

医薬組成物が、対象の上気道または下気道、肺、鼻腔、口腔および/または喉への投与

10

20

30

40

50

に適している、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

医薬組成物は液体または粉末の形態であり、および対象の鼻腔および/または口腔内への噴霧および/または吸入に適している、請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 13】

対象者がウイルス感染症の疑いがある、および/またはウイルス感染症のある個人と近接および/または接触したことがある、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 14】

ウイルス感染症のウイルスが SARS-CoV-2 である、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 15】

請求項 1 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物を送達するための送達システムであって、

該送達システムは、

a) 1 つ以上の医薬賦形剤を含む、請求項 1 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物、および

b) ディスペンサーを含むものであって、

該ディスペンサーは、対象の鼻腔および/または口腔内に組成物を噴霧するのに適している、および/または組成物の吸入に適している、および、好ましくは、単離された細胞外小胞の機能を大きく損なくことなく凍結保存用に処方されている、送達システム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、対象におけるウイルス感染を治療するための医薬品のための組成物および分配システムの分野にある。

本発明は、ヒト対象におけるウイルス感染の治療および/または予防における医薬品として使用するための、間葉系幹細胞 (MSC) から単離された細胞外小胞およびアルファ-1 アンチトリプシン (AAT) タンパク質を含む医薬組成物に関する。さらに、本発明は、対象の気道の粘膜表面および/または口腔内への局所および/または局在投与のための組成物に関する。別の態様において本発明は医薬組成物を分配するための送達システムおよび対応する製剤に関する。

【背景技術】

【0002】

間葉系幹細胞 (MSC) は、骨髄および他の組織に存在する非造血起源の細胞である。MSC は一般に、骨芽細胞、軟骨細胞、脂肪細胞などの限られた数の細胞系列に分化する能力を持つ多能性成体前駆細胞であると考えられている。これらの最終段階の表現型に直接分化するこの能力に基づく治療実体としての MSC の使用に関する研究が実施されており、これには、MSC を使用して骨の修復を促進または増強し、軟骨欠損を修復することが含まれる (非特許文献 1 および 2)。多くの治療適応症のための MSC の分離と培養が記載されており、炎症関連障害の治療に向けた有望なアプローチを表す (例えば、特許文献 1)。

【0003】

MSC は、B 細胞、T 細胞、樹状細胞 (DC)、ナチュラルキラー (NK) 細胞、好中球、マクロファージを含む、自然免疫系および獲得免疫系のほとんどの細胞タイプと相互作用し、病原体に対する反応を緩和する。MSC は、組織の炎症の制御にも役割を果たす。MSC の治療効果は、主に免疫調節因子および再生因子の分泌に起因するとされており、その効果の一部は、投与された MSC を除去し、その過程で免疫調節および再生支援機能に適応する宿主食細胞を介して媒介される可能性がある。

10

20

30

40

50

## 【0004】

活性化された免疫細胞および組織細胞によって分泌されるインターフェロン (IFN $\gamma$ ) および腫瘍壊死因子 (TNF) などの炎症性因子に应答して、MSCは免疫調節表現型の形をとることができる。それらは、プログラム死リガンド1やプロスタグランジンE2を含む抗炎症因子の発現を増加させ、トリプトファンのインドール-アミン2,3-ジオキシゲナーゼ依存性異化作用などによる代謝調節を通じて、免疫細胞の活性と増殖を阻害する。MSCはまた、ATPaseを発現し、CD73発現を通じてエクトヌクレオチダーゼ活性を有し、これにより、MSCはATPを枯渇させることができる。MSCの免疫調節効果は、LPSなどの病原体関連分子によって刺激されるMSCのTLR受容体の活性化によってさらに引き起こされる可能性がある。重要なことに、MSCにはACE2受容体がないため、SARS-CoV-2感染に対する耐性がある(非特許文献3)。

10

## 【0005】

MSCは、細胞損傷を軽減し、修復を促進する因子の分泌を通じて治療効果を発揮すると思われる。MSCの治療効果は、細胞間コミュニケーションのメディエーターとして機能する、ナノメートルサイズの膜結合小胞であるエキソソームなどの細胞外小胞を含むパラクリン因子によって媒介される可能性がある。MSC由来の細胞外小胞には、サイトカインおよび成長因子、シグナル伝達脂質、mRNA、および調節miRNAが含まれる。MSC由来のエキソソームは、腫瘍形成のリスクがなく、免疫原性が低いなど、親のMSCよりも魅力的な利点を備えた新しい無細胞療法を表す可能性があることを示唆する証拠が増えている。それにもかかわらず、外因的に投与されたエキソソームの*in vivo*作用の正確なメカニズム、それらの体内分布、薬物動態、および標的送達の可能性は完全には解明されていない(非特許文献4)。

20

## 【0006】

重症急性呼吸器症候群 (SARS) は、2002年に初めて観察されたコロナウイルス (CoV) 媒介呼吸器疾患である。科学的報告に基づいて、すべてのヒトCoVは人獣共通感染症に由来する可能性があるとして想定されている。人間が感染すると、ウイルスは飛沫感染と人間間の密接な接触を介して急速に広がり、流行のシナリオやパンデミックにさえつながる。一例として、「コロナウイルス病2019」(COVID-19) は、病原性コロナウイルスSARS-CoV-2によって引き起こされる。2019年12月から、ウイルスは数週間で世界中に広がり、国際的な健康上の緊急事態を引き起こした。世界的なパンデミックは、医療システムに大きな課題をもたらし、さらに社会生活の制限と世界市場経済の弱体化につながる。今日まで有効な治療法がなく、この病気は高い罹患率と死亡率を伴うため、病気の人への治療的介入とアウトブレイクを封じ込めるための予防的措置が大いに必要とされている。

30

## 【0007】

最近の報告では、骨髄間葉系幹細胞由来のエキソソームを重度のCOVID-19の治療として使用する可能性が調査されている。免疫系は感染の中心にあるため、免疫応答のバランスを調整して、多臓器損傷につながる可能性のある悪化して有害な可能性のある免疫応答を防ぐことが不可欠である。MSCおよびMSCエキソソームには免疫調節機能があり、抗炎症性マクロファージ、制御性T細胞および制御性B細胞、ならびに制御性樹状細胞を誘導することにより、免疫細胞に影響を与えることができ、そして、T細胞を不活性化できるため、急性COVID-19患者の免疫反応のバランスをとる治療法として使用できる可能性がある(非特許文献5、非特許文献6、非特許文献7)。

40

## 【0008】

アルファ-1アンチトリプシン (A1AT、AAT、PI、SERPINA1としても知られる) は、最も豊富な内因性セリンプロテアーゼ阻害剤 (SERPINスーパーファミリー) の1つである52kDa以上の糖タンパク質である。AATは急性期のタンパク質であると考えられており、急性炎症時にAAT濃度が何倍にも増加する可能性がある。

## 【0009】

主にその抗プロテアーゼおよび抗炎症活性で知られているが、過去10年間に実施され

50

た研究では、AATが免疫調節因子および細胞保護分子でもあることが累積的に示されてきた。そのため、AATが豊富な微小環境には、IL-1、IL-6、およびTNF-などの炎症促進性サイトカインのレベルが低下し、IL-1受容体アンタゴニストやIL-10などの抗炎症性メディエーターのレベルが上昇することが示された。この現象は、吸入AATを受けた嚢胞性線維症患者から得られたサンプルと同様に、ヒトPBMCの*in vitro*研究でも示された。同時に、AATはIL-8、および細胞外HSP70やgp96などの危険関連分子パターン分子(DAMP)に直接結合し、そうでなければ関連する免疫応答のアジュバントとして作用することが実証されている(非特許文献8)。

#### 【0010】

驚くべきことに、AATの抗炎症作用により、自然免疫細胞は本物の脅威に反応することができ、マクロファージは細菌を容易に貪食し、好中球は感染部位を除染し、抗原を負荷した樹状細胞は排出リンパ節に移動する。一方、Tリンパ球は、自然免疫細胞からの刺激を待って、AATが豊富な環境に間接的に反応する。例えば、AATは、防御制御性T細胞の増殖を促進する半成熟抗原提示細胞を誘発することが示されている。自然免疫系と適応免疫系の両方に属するBリンパ球は、AATの存在下で、アイソタイプスイッチングの減少という形で修正された応答を発揮し、その結果、保護IgM産生が増強されると考えられる。たとえばCF患者に見られるように、AATによる治療中の細菌量の減少は、抗病原体免疫応答の増強に関連している可能性があり、同時に、局所組織は、局所DAMPのレベルを上げることによって有害な適応反応を促進する可能性のある不適切な過度の損傷から免れることが示唆されている(非特許文献9)。

10

20

#### 【0011】

アルファ1-アンチトリプシン欠損症(AATD、または1-アンチトリプシン欠損症、またはA1AD)は、アルファ1-アンチトリプシン(A1AT)の産生不全を引き起こす疾患であり、血液や肺でのA1AT活性の低下、肝細胞への過剰な異常A1ATタンパク質の沈着を引き起こす。SERPINA1には75を超える既知の異なる変異があり、アルファ1-アンチトリプシン欠損症の90%はPI\*Zミスセンス変異であるGlu342Lysによるものである。AATの欠損は、抑制されない慢性的な組織破壊につながり、好中球エラスターゼが肺胞間質エラスチンを自由に分解し、気道の炎症や肺気腫などの呼吸器合併症を引き起こす。2020年5月のVianelloの報告によれば、成人で最も一般的な遺伝性疾患であるAATDは、イタリアの北部地域で有病率が最も高く、北部から南部にかけて顕著に減少することがわかっている。AATDのイタリア登録からの最近のデータでは、確認された症例の地理的分布がSARS-CoV-2感染について報告されたものと非常によく似ていることを示しており、ロンバルディア地域で登録された総量の47%(508のうち237)だった。

30

#### 【0012】

報告によると、COVID-19ではAATの産生が増加するが、この抗炎症反応は重度の病気では圧倒される(非特許文献10)。SARS-CoV-2の感染細胞への侵入は、ウイルスのスパイクタンパク質がその受容体結合ドメイン(RBD)を介してヒトアンジオテンシン変換酵素-2(ACE2)標的受容体に結合することによって媒介される。例えば、ヒト抗体によるこの相互作用の遮断は、患者のウイルスの中和につながり、感染症の治癒につながる。さらなる研究により、SARS-CoV-2の侵入が内因性および外因性のプロテアーゼによって促進されることも示されている。これらのプロテアーゼは、SARS-CoV-2スパイク糖タンパク質をタンパク質分解的に活性化し、ウイルス向性の重要なモジュレーターである。AATは、プロテアーゼを介したSARS-CoV-2の侵入を強力に制限する豊富な血清プロテアーゼ阻害剤として同定されている。*in vitro*でのプロテアーゼ媒介SARS-CoV-2侵入のAAT阻害は、血清および気管支肺胞組織に存在する濃度よりも低い濃度で発生し、AAT効果が生理学的に関連していることを示唆する(非特許文献11)。

40

#### 【0013】

これらの進歩にもかかわらず、本発明者らの知る限りでは、ウイルス感染を防止するためにMSC由来の細胞外小胞を使用するという提案は、当技術分野では今までなかった。従前の報告では、MSCエキソソームを使用した急性COVID疾患の治療と免疫応答の望

50

ましくない過剰反応の調節に焦点が当てられていた。さらに、本発明者らの知る限りでは、ウイルス感染を治療および/または予防するために、MSC由来の細胞外小胞をAAT投与と組み合わせるといった提案は、当技術分野ではなかった。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0014】

【特許文献1】WO 2010/119039

【非特許文献】

【0015】

【非特許文献1】Vilquin and Rosset, Regenerative Medicine 2006: 1, 4, p 589 10

【非特許文献2】Veronesi et al, Stem Cells and Development 2013; 22, p 181

【非特許文献3】International Society for Infectious Diseases, international journal of infectious disease, 2020, p433

【非特許文献4】Yin, et al. Biomark Res 7, 8 (2019)

【非特許文献5】Tsuchiya et al, Inflamm Regen. 2020; 40:14

【非特許文献6】Jayaramayya et al, BMB Repv. 53(8); 2020

【非特許文献7】Sengupta et al, Stem Cells Dev. June 15, 2020; 29(12): 747-754

【非特許文献8】Lior et al., Expert Opinion on Therapeutic Patents, 2016

【非特許文献9】Lior et al., Expert Opinion on Therapeutic Patents, 2016 20

【非特許文献10】McElvaney et al, Am J Respir Crit Care Med. 2020 Sep 15; 202(6): 812-821

【非特許文献11】Oguntuyo et al, bioRxiv. Aug 15; 2020

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0016】

先行技術に照らして、本発明の根底にある技術的問題は、ウイルス感染の治療のための代替手段および/または改善手段を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0017】

この課題は、本独立請求項の特徴によって解決される。本発明の好ましい実施形態は、従属請求項によって提供される。

【0018】

したがって、本発明は、ヒト対象におけるウイルス感染の治療および/または予防における医薬品として使用するための、間葉系幹細胞(MSC)から単離された細胞外小胞およびアルファ-1アンチトリプシン(AAT)タンパク質を含む医薬組成物に関する。

【0019】

AATは、組織的な抗炎症効果と、肺組織における局所的な活性を持つ。有利なことに、AATの抗炎症性により、自然免疫細胞は本物の脅威に反応することができる；マクロファージは細菌を容易に貪食し、好中球は感染部位を除染し、抗原を負荷した樹状細胞は排出リンパ節に移動する。したがって、AATは、病原体に対する効果的な免疫応答を可能にしながら、炎症やウイルス感染起因する望ましくないサイトカインストームを軽減するなど、複数の効果を発揮することができ、AATはウイルス感染、特にSARS-CoV-2によるウイルス感染を積極的に阻害することもできると考えられる。プロテアーゼは、SARS-CoV-2スパイク糖タンパク質を活性化することが知られているため、ウイルス指向性を調節する。AATは、プロテアーゼを介したSARS-CoV-2の侵入を制限できる血清プロテアーゼ阻害剤である。

【0020】

MSCは、抗炎症および免疫調節機能を発揮し、損傷した組織の再生を促進し、組織の線維化を阻害すると考えられる。MSCの免疫調節効果には、宿主の免疫細胞に対する直 50

接的および間接的な効果が含まれる。MSCの治療効果は、MSC由来のエクソソームなどの細胞外小胞を含む因子の分泌によって部分的に媒介され、MSCエクソソームを使用してSARS-CoV-2感染における免疫応答を調節する可能性が有望と思われる。

【0021】

したがって、間葉系幹細胞(MSC)から分離された細胞外小胞とアルファ-1アンチトリプシン(AAT)タンパク質の組み合わせは、感染中の免疫調節と標的細胞のウイルス感染の制限の複合効果を達成するための有益なアプローチを表す。

【0022】

驚くべきことに、MSCから分離された細胞外小胞とAATタンパク質の組み合わせは、標的細胞におけるウイルス感染の予防の強化および/または感染に対する免疫応答の強化につながり、これは、単独で投与された場合のいずれか一方の薬剤によって達成される効果の合計よりも大きくなる。いくつかの実施形態において、MSCから分離された細胞外小胞とAATタンパク質の複合効果は、標的細胞におけるウイルス感染の予防および/または感染に対する免疫応答の増強において相乗効果をもたらす。いくつかの実施形態において、MSCから分離された細胞外小胞とAATタンパク質の複合効果は、感染中の免疫調節および標的細胞のウイルス感染の制限における、従前は示唆されていなかった技術的效果を表す。いくつかの実施形態において、この好ましい相乗効果は、ウイルス感染を防止するための新しいアプローチである。

【0023】

本発明者らの知識によれば、間葉系幹細胞から単離された細胞外小胞およびアルファ-1アンチトリプシンタンパク質を含む薬学的組成物は、ヒト対象におけるウイルス感染の治療/予防のためにこれまで提案されていなかった。間葉系幹細胞から単離された細胞外小胞およびアルファ-1アンチトリプシンタンパク質を含む薬学的組成物が、ヒト対象におけるウイルス感染を治療および/または予防できることは、特に驚くべきことであった。

【0024】

1つの実施形態において、AATタンパク質は、組成物に添加される単離されたAATタンパク質である。例えば、AATは、組換えAATタンパク質であってもよいし、例えばヒト血漿から精製された精製AATタンパク質であってもよく、その後、最終的に細胞外小胞と組み合わせるために組成物に添加されてもよい。1つの実施形態において、AATタンパク質は、細胞外小胞が単離されるMSCにおいて産生され得る。1つの実施形態において、AATタンパク質は、細胞外小胞が得られるMSCに対して内因性である。これは、AATタンパク質が元の遺伝子とプロモーターから(例えば、未変更のMSCから)発現されることを意味する。

【0025】

1つの実施形態において、AATタンパク質は外因性タンパク質である。1つの実施形態において、AATは、細胞外小胞を得たMSCに対して外因性である。例えば、AATをコードするトランス遺伝子は、例えば大量のAAT発現を得るために、MSCから発現させることができ、細胞外小胞は、AATを含み、好ましくは、未変更MSCから得られた細胞外小胞中のAATの量よりも比較的多量に、例えばより多量に、AATを含む。

【0026】

1つの実施形態において、本発明は、ヒト対象におけるウイルス感染の治療および/または予防における医薬として使用するための、本明細書に記載の医薬組成物に関するものであって、AATタンパク質は、細胞外小胞が分離される間葉系幹細胞(MSC)で発現するものであって、該MSCは、外因性アルファ-1アンチトリプシン(AAT)を発現するように遺伝子改変されているものである。

【0027】

この実施形態において、AATは、細胞外小胞が得られたMSCにおいて、好ましくはトランスジェニック(外因性)AATの発現によって、細胞外小胞内でまたは細胞外小胞に付随して、AATが細胞外小胞に供給される。改変MSCにおけるトランスジェニック

10

20

30

40

50

発現によって産生された A A T は、驚くべきことに有益に、抗ウイルス効果を増強するのに適したかなりの量で細胞外小胞に存在する。いくつかの実施形態において、外因性 A A T は内因性コード領域 / 遺伝子から生成されるが、より高い発現レベルを持つ修飾プロモーターを介した発現によって生成される。

**【 0 0 2 8 】**

いくつかの実施形態において、細胞外小胞とアルファ - 1 アンチトリプシン (AAT) は両方とも間葉系幹細胞 (MSC) から得られ、外因性アルファ - 1 アンチトリプシン (AAT) を発現するように遺伝子改変されている。この組み合わせは、ヒト対象のウイルス感染を治療 / 予防するという驚くべき効果をもたらす。

**【 0 0 2 9 】**

1 つの実施形態において、本発明は、ヒト対象におけるウイルス感染の治療および / または予防における医薬として使用するための、本明細書に記載の医薬組成物に関するものであって、該組成物はアルファ - 1 アンチトリプシン (AAT) タンパク質が豊富であり、好ましくは、単離された組換え A A T タンパク質が豊富である。

**【 0 0 3 0 】**

したがって、単離された A A T タンパク質は、未改変 MSC の細胞外小胞、またはトランスジェニック A A T を発現する修飾 A A T からの細胞外小胞のいずれかから、MSC 由来の細胞外小胞に追加することができる。

**【 0 0 3 1 】**

A A T は、細菌、昆虫細胞、または哺乳動物細胞を含むさまざまなシステムで組換えにより生成できる。組換え生成された A A T は、翻訳後修飾、好ましくは別個のグリコシル化、より好ましくは N - グリコシル化および / または O - グリコシル化を有する。A A T のグリコシル化パターンの変化は、主に小胞体と血漿の両方でのタンパク質分解速度、およびタンパク質が凝集する速度に影響する。これらの因子は、A A T タンパク質の血漿半減期を 7 分から 1 日、好ましくは 2 日、より好ましくは 3 から 4 日に延長する。したがって、いくつかの実施形態において、A A T は、内因性タンパク質としての発現および単離によって得られる、または適切な組換え系での発現によって得られる、翻訳後修飾の正しいセットによって優先的に最適化される。

**【 0 0 3 2 】**

いくつかの実施形態において、A A T はヒト血漿から抽出される。A A T は、いくつかの実施形態では、A A T 富化血漿調製物を使用して、プールされたヒト血漿から抽出される。

**【 0 0 3 3 】**

間葉系幹細胞は、B 細胞、T 細胞、樹状細胞 (DC)、ナチュラルキラー (NK) 細胞、好中球、およびマクロファージを含む、自然免疫系および獲得免疫系のほとんどの細胞型と相互作用し、病原体に対する応答を緩和する。MSC は、組織の炎症の制御にも役割を果たす。MSC の治療効果は、免疫調節因子および再生因子の分泌に起因するところが大きく、その効果の一部は、投与された MSC を除去し、その過程で免疫調節および再生支援機能に適応する宿主食細胞を介して媒介される可能性がある。MSC の細胞外小胞がこれらの機能を媒介できることを考慮すると、小胞は、AAT 遺伝子改変細胞自体から発現したもの、または単離した MSC に AAT を添加したもの (濃縮) と共に組み合わせて、MSC から得られ、単離され、投与することができる。

**【 0 0 3 4 】**

好ましい実施形態において、間葉系幹細胞から発現された組換え AAT は、免疫調節機能、肺組織へのホーミング、サイトカインストームの減少、宿主細胞への SARS-CoV-2 の侵入の防止、および / または肺組織への損傷の防止という有益な効果がある。

**【 0 0 3 5 】**

A A T が濃縮された、好ましくは単離組換え A A T タンパク質が濃縮された、本明細書に記載の医薬組成物が、ウイルス感染の治療および / または予防における薬剤として使用できることは予想外であった。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 3 6 】

1つの実施形態において、本発明はウイルス感染の治療および/または予防における医薬品として使用するための、本明細書に記載の医薬組成物に関するものであって、細胞外小胞は、エキソソームおよび/または微小胞である。

## 【 0 0 3 7 】

1つの実施形態において、本発明はウイルス感染の治療および/または予防における医薬品として使用するための、本明細書に記載の医薬組成物に関するものであって、細胞外小胞は、AATタンパク質、好ましくは改変MSCから発現されるAATタンパク質、およびIFN-、IL-8、IL-10、およびTGF-などのサイトカイン、HLA-G、コレステロール、セラミド、ホスホグリセリド、飽和脂肪酸アシル鎖、プロスタグランジン、およびRNA、好ましくはmiRNA、siRNAおよびshRNAなどの核酸からなる群から選択される、1つ以上の生物学的因子を含む。

10

## 【 0 0 3 8 】

1つの実施形態において、本発明はウイルス感染の治療および/または予防における医薬品として使用するための、本明細書に記載の医薬組成物に関するものであって、細胞外小胞は、1~500nm、好ましくは約10~200nm、より好ましくは20~150nmの平均直径を有する。

## 【 0 0 3 9 】

1つの実施形態において、本発明はウイルス感染の治療および/または予防における医薬品として使用するための、本明細書に記載の医薬組成物に関するものであって、細胞外小胞の濃度は、0.01~100mg/ml、好ましくは0.1~10mg/ml、より好ましくは1~5mg/mlである。

20

## 【 0 0 4 0 】

エキソソームは、膜構造が1~500nm、好ましくは約10~200nm、より好ましくは20~150nmの細胞外小胞である。エキソソームには、IFN-、IL-8、IL-10、およびTGF-などのサイトカイン、HLA-G、コレステロール、セラミド、ホスホグリセリド、飽和脂肪酸アシル鎖、プロスタグランジン、およびRNA、好ましくはmiRNA、siRNAおよびshRNAなどの核酸が含まれている。生理学的に、エキソソームはタンパク質とRNAの細胞間輸送を助ける。免疫学的には、エキソソームは抗原提示能力を示すことができる。同様に、エキソソームは、心血管、腎臓、神経、および眼の疾患の病態生理学に関連していることがわかった。さらに、エキソソームは、がんの転移に大きな役割を果たしている可能性がある。MSCから分離されたエキソソームがウイルス感染の治療および/または予防の薬剤として使用でき、さらに病態生理学的影響に関して望ましくない副作用を示さないことは驚くべきことである。

30

## 【 0 0 4 1 】

いくつかの実施形態において、本発明はウイルス感染の治療および/または予防における医薬品として使用するための、本明細書に記載の医薬組成物に関するものであって、細胞外小胞はエキソソームであり、以下の工程を含む方法によって取得することができる：

a) 間葉系幹細胞(MSC)由来のエキソソームを含む細胞培養上清を提供する工程であって、任意で、外因性アルファ-1アンチトリプシン(AAT)を発現するように遺伝子組換えされている；および

40

b) 細胞および/または細胞破片を除去することにより、好ましくは遠心分離、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)および/または限外ろ過により、エキソソームを単離する工程。

## 【 0 0 4 2 】

いくつかの実施形態において、エキソソームは、好ましくは遠心分離、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)および/または限外ろ過によって、細胞および/または細胞破片を除去することによって単離されたエキソソームのタンパク質濃度を決定することをさらに含む方法によって得ることができる。

## 【 0 0 4 3 】

50

生体サンプル中のエキソソームのサイズは非常に小さく、希少であるため、エキソソームは、好ましくは、当該技術分野で確立された技術を使用した、遠心分離、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）および/または限外ろ過によって、細胞および/または細胞破片を除去することによって単離される。これらの単離方法は、好ましくはスクロース密度勾配超遠心分離、好ましくは効率的な免疫親和性および/またはマイクロ流体システムアプローチによって達成される。

【0044】

1つの実施形態において、本発明はウイルス感染症の治療および/または予防における薬剤として使用するための本明細書に記載の医薬組成物に関するものであって、間葉系幹細胞（MSC）は、ヒト、マウス、ラットの間葉系幹細胞から選択される。

10

【0045】

いくつかの実施形態において、本発明はウイルス感染症の治療および/または予防における薬剤として使用するための本明細書に記載の医薬組成物に関するものであって、前記MSCは、人工多能性幹細胞（iPSC）、臍帯血、臍帯組織、胎盤、骨髄、骨または脂肪組織および血小板溶解物中で培養されたMSCに由来するヒトMSCから選択される。

【0046】

1つの実施形態において、本発明はウイルス感染症の治療および/または予防における薬剤として使用するための本明細書に記載の医薬組成物に関するものであって、前記組成物は、対象の気道および/または口腔の粘膜表面に局所的および/または局在的に投与される。

20

【0047】

本明細書に記載の医薬組成物が対象の気道および/または腔の粘膜表面に局所的および/または局在的に投与できることは驚くべきことであった。この利点は、薬剤を皮膚に直接塗布できることである。全身薬と比較して、他の臓器への副作用や毒性が軽減されている。局所投与または局在投与が顕著なAATおよび/または小胞の分解をもたらさなかったこともまた驚くべきことであった。投与前のAATと細胞外小胞の組み合わせを含む製剤と投与後の組成物は両方とも、治療効果および/または予防効果を達成するために十分に安定であると思われる。

【0048】

1つの実施形態において、本発明はウイルス感染症の治療および/または予防における薬剤として使用するための本明細書に記載の医薬組成物に関するものであって、該組成物は、対象の上気道または下気道、肺、鼻腔、口腔および/または喉への投与に適している。

30

【0049】

これは、対象の上気道または下気道、肺、鼻腔、口腔および/または喉を含む呼吸気道内での局所的な有効性をもたらす。送達された薬剤は、迅速な作用発現と効果的な持続期間を組み合わせることで最大の肺特異性で作用するため、望ましくない全身影響が最小限に抑えられる。

【0050】

いくつかの実施形態において、本発明はウイルス感染症の治療および/または予防における薬剤として使用するための本明細書に記載の医薬組成物に関するものであって、前記組成物は液体または粉末の形態であり、対象の鼻腔および/または口腔内への噴霧および/または吸入に適している。

40

【0051】

粉末状の組成物は安定性が高いという利点があり、液体製剤では必要となるなんらかの防腐剤を使用する必要がない。液体または懸濁液の形態の組成物は、高い局所薬物（活性物質/ここでは小胞および/またはAAT）濃度、薬物作用の迅速な発現、優れた呼吸選択性、全身薬物曝露の減少、および副作用の減少を提供するので有利である。

【0052】

いくつかの実施形態において、組成物は、活性薬剤を含む溶液、気体中の固体薬物粒子

50

の懸濁液、または乾燥粉末のいずれかであるエアロゾルの形態であってもよい。エアロゾルには、粒子サイズが小さい、噴霧速度が低い、温度が低いという3つの有利な要素がある。これらの要素は、クロロフルオロカーボン駆動の加圧定量吸入器から投与される同じ薬剤と比較して、上気道の埋伏を減少させ、特に細い気道への粒子の気道沈着を増加させる可能性がある。

【0053】

1つの実施形態において、本発明はウイルス感染症の治療における薬剤として使用するための本明細書に記載の医薬組成物に関するものであって、前記組成物は、治療有効量の組成物を血流、目、鼻腔、口腔、喉および/または肺に導入することによって投与される。

10

【0054】

別の実施形態において、本発明はウイルス感染症の治療における薬剤として使用するための本明細書に記載の医薬組成物に関するものであって、前記組成物は、静脈内注射、皮下注射、腹腔内注射および/または吸入（好ましくは吸入）によって投与される。

【0055】

いくつかの実施形態において、本発明は、心血管疾患、腎損傷、免疫疾患、腫瘍、神経疾患にさらに関連する病状の治療における薬剤として使用するための、本明細書に記載の医薬組成物に関する。

【0056】

1つの実施形態において、本発明はウイルス感染症の治療および/または予防における薬剤として使用するための本明細書に記載の医薬組成物に関するものであって、対象者はウイルス感染症の疑いがある、および/またはウイルス感染症のある人物に近接および/または接触したことがあるものである。

20

【0057】

本明細書に記載の医薬組成物は、ウイルス感染の症状がある対象における、および/またはウイルス感染症の個人と近接および/または接触した対象における、ウイルス感染に起因する疾患の発症を防ぐ（またはリスクを軽減する）ための予防的使用（またはリスクを軽減するための使用）を目的とする。さらに、本明細書に記載の医薬組成物は、ウイルス感染症を治療するための医薬として使用することが初めて提案された。

【0058】

いくつかの実施形態において、本発明は発熱、咳、倦怠感、炎症、四肢の痛み、のどの痛み、のどのかゆみ、下痢、結膜炎、頭痛、味覚や嗅覚の喪失、手足の変色、皮膚の発疹、呼吸困難、息切れ、胸部の痛みや圧迫感、および/または言語や運動能力の喪失を伴う病状の治療における薬剤として使用するための本明細書に記載の医薬組成物に関する。いくつかの実施形態において、ウイルス感染症を患っている、またはウイルス感染症のリスクがある患者にはそのような症状がある。

30

【0059】

いくつかの実施形態において、本発明は、肺炎、ウイルス性敗血症、急性呼吸困難、腎不全、サイトカイン放出にさらに関連する病状の治療における医薬として使用するための、本明細書に記載の医薬組成物に関する。

40

【0060】

1つの実施形態において、本発明は、病状の治療における医薬として使用するための、本明細書に記載の医薬組成物に関するものであって、前記病状は、ウイルス感染、好ましくはエンベロープを有するプラス鎖RNAウイルスによる感染に起因する。

【0061】

1つの好ましい実施形態において、本発明はウイルス感染症の治療および/または予防における医薬として使用するための本明細書に記載の医薬組成物に関するものであって、該ウイルスはコロナウイルス科に由来し、好ましくはベータコロナウイルス、より好ましくはSARS-CoVである。

【0062】

50

より好ましい実施形態において、本発明はウイルス感染の治療および/または予防（好ましくは予防）における医薬として使用するための本明細書に記載の医薬組成物に関するものであって、該ウイルスはSARS-CoV-2である。好ましい実施形態において、本発明は、SARS-CoV-2感染症のリスクがある、またはそのような状態にある対象の口腔および/または気道への局所投与および/または局在投与によるSARS-CoV-2感染症の治療および/または予防を対象とする。

【0063】

3つの致死性人獣共通感染症コロナウイルスである、MERS-CoV、SARS-CoV、およびSARS-CoV-2はすべて、過剰かつ異常な宿主免疫応答を誘発し、急性呼吸窮迫症候群につながる重度の肺病変と関連していると考えられる。SARS-CoV-2は、細胞表面のアンジオテンシン変換酵素2（ACE2）を介して宿主細胞に侵入する。関連するサイトカインストームが病因に関与している可能性がある。COVID-19患者では、腫瘍壊死因子（TNF）、インターロイキン1（IL-1）、IL-6、顆粒球コロニー刺激因子、インターフェロンガンマ誘導性タンパク質-10、単球化学誘引物質タンパク質-1、およびマクロファージ炎症性タンパク質1-を含む、炎症誘発性サイトカインおよびケモカインが大幅に上昇した。

10

【0064】

本明細書に記載の組成物が、過剰な炎症を弱めることができる治療介入の効果を達成し、それにより、重篤な疾患を生き延びた人々の末端器官損傷および長期の機能障害を防止し、同時に病原体に対する効果的な免疫応答を可能にするという効果は驚くべきことである。

20

【0065】

別の実施形態において、本発明は、本明細書に記載されるように使用するための医薬組成物に関するものであって、該組成物は、ウイルス、好ましくはSARS-CoV、より好ましくはSARS-CoV-2の感染を防止する。

【0066】

膜貫通型セリンプロテアーゼTMPRSS2は、ウイルスが宿主細胞に侵入するために必要なプロセスである、MERS、SARS-CoV、およびSARS-CoV2コロナウイルスのSタンパク質プライミングに不可欠である。したがって、TMPRSS2の阻害は、コロナウイルスの感染を防ぐアプローチとして期待されている。アルファ1アンチトリプシンがSARS-CoV2プライミングプロテアーゼTMPRSS2の阻害剤であることは驚くべきことである。

30

【0067】

別の実施形態において、本発明は、既存の治療と組み合わせる医薬として、またはウイルス感染症、好ましくはSARS-CoV-2の感染の事前治療として使用するための、本明細書に記載の医薬組成物に関する。

【0068】

さらなる態様において、本発明はウイルス感染の治療および/または予防における医薬として使用するための、本明細書に記載の医薬組成物を送達するための送達システムに関するものであって、該送達システムは以下を含む： a) 1つ以上の医薬賦形剤を含む、請求項のいずれか一項に記載の医薬組成物、およびb) ディスペンサー。

40

【0069】

1つの好ましい実施形態において、本発明は、ウイルス感染の治療および/または予防における医薬として使用するための、本明細書に記載の医薬組成物を送達するための送達システムに関するものであって、該組成物は液体または粉末の形態であり、ディスペンサーは対象の鼻腔および/または口腔内に組成物を噴霧するのに、および/または組成物の吸入に適している。

【0070】

1つの実施形態において、該組成物は、単離された細胞外小胞の機能を大幅に損なうことなく凍結保存できるように処方されている。

【0071】

50

本発明の1つの態様において、組成物は液体製剤を含む。液体製剤は、慢性鼻疾患に伴う可能性のある乾燥やかさぶたを加湿によって防ぐ局所適応に特に便利であると考えられているため、現在点鼻薬市場を支配している。市場には、Ferring の Rhinyleカテーター、単位用量ピペットGlaxoSmithKlineなど、さまざまな液体製剤装置が市販されている。

【0072】

本発明の別の態様において、組成物は粉末製剤を含む。粉末製剤は、安定性が高く、液体組成物に使用される防腐剤の使用を回避できる可能性などの利点を提供できる。粉末は、溶解して除去される前に、鼻粘膜の湿った表面に付着する傾向がある。AstraZenecaのターボヘイラー (Turbohaler)、GlaxoSmithKlineのディスクス/アキュヘラー (Diskus/Accuhaler)、Almirallのジェヌエア (Genuair)、Norton Healthcareのエアマックス (Airmax) など、市場にはさまざまな乾燥粉末装置が販売されている。

10

【0073】

本発明の1つの態様において、組成物は懸濁製剤を含む。吸入溶液および懸濁製剤は、通常、治療上有効な成分を含む水性製剤であり、追加の賦形剤も含む場合がある。懸濁液製剤の利点は液体製剤の場合と同様である。

【0074】

本発明の別の態様において、組成物はエアロゾル形態を含む。エアロゾルは、小容量ネブライザー (SVN)、加圧定量吸入器 (pMDI)、または乾燥粉末吸入器 (DPI) などのエアロゾル発生器によって生成される液体および/または固体粒子の懸濁液である。エアロゾル堆積 (Aerosol deposition) は、エアロゾル粒子が吸収面に堆積するプロセスである。

20

【0075】

エアロゾル堆積の主なメカニズムには、慣性衝突、重力沈降 (沈降)、および拡散が含まれるが、これらに限定されない。慣性衝突は、より大きな ( $3\ \mu\text{m}$ ) 高速移動する粒子で発生する。重力沈降は粒子の質量と時間の関数であり、沈降速度は粒子のサイズと質量に比例する。拡散は  $1\ \mu\text{m}$  より小さい粒子で発生する。これらのメカニズムは、エアロゾル粒子が経口または鼻から吸入されるときに機能する。より大きな粒子 ( $10\ \mu\text{m}$ ) は、通常、主に慣性衝突によって中咽頭に到達する；一般に、 $5\sim 10\ \mu\text{m}$  の粒子は下気道の近位世代に到達し、 $1\sim 5\ \mu\text{m}$  の粒子は肺の末梢に到達する。

30

【0076】

粒子サイズは、粒子速度および沈降時間とともに、肺への堆積において重要な役割を果たす。粒子サイズが  $3\ \mu\text{m}$  を超えると、エアロゾルの堆積は肺の末梢から伝導性の気道に移動する。粒子サイズが  $6\ \mu\text{m}$  を超えると、口腔咽頭への堆積が増加する。  $1\ \mu\text{m}$  以下の非常に小さな粒子のため呼気損失が大きくなる。したがって、肺の末梢に到達するには粒子サイズ  $1\sim 5\ \mu\text{m}$  が好ましいことがあるが、 $5\sim 10\ \mu\text{m}$  の粒子は主に伝導気道に堆積し、 $10\sim 100\ \mu\text{m}$  の粒子は主に鼻に堆積する。

【0077】

本発明の実施形態において、上述のエアロゾル剤は、本発明の組成物の配合および分配を目的とし、これにより、気道の特定の一部を標的とすること、または異なるサイズのエアロゾルを組み合わせ、口腔および/または気道のさまざまな領域全体に活性剤を分布させることができる。

40

【0078】

エアロゾル化薬剤の利点は、1) エアロゾル用量は一般に全身用量より小さい；2) 吸入薬の効果発現は通常、従来の経口投与よりも早い；3) 薬剤は肺に直接送達され、全身への曝露は最小限に抑えられる；4) 全身投与と比較すると、吸入の場合、全身性の副作用の頻度も重度も低くなる；および5) 吸入薬物治療は注射よりも痛みが少なく、比較的快適であることが挙げられる。現在利用可能なエアロゾル製剤と対応する吸入装置は、例えばAccuNeb (登録商標)、Xopenex (登録商標)、および ProAir HFA (登録商

50

標)である。

【0079】

これらの組成物の形態は、本発明の組成物を使用して、鼻腔および/または口腔内での噴霧および/または吸入に適するように作製することができる。

【0080】

好ましい実施形態において、ディスペンサーは、医薬組成物を液体、粉末、懸濁液、エアロゾルに変換するために使用され、薬剤の粒子が気道、肺、呼吸器の他の領域、および/または口腔、および/または鼻腔に直接到達するように吸入および/または噴霧に適している。ディスペンサーは、好ましくは、小容量ネブライザー、加圧定量吸入器、定量吸入器付属装置、乾燥粉末吸入器、点鼻スプレーおよび口腔スプレーの群から選択される。

10

【0081】

本発明の1つの実施形態において、ディスペンサーは小容量ネブライザーである。その利点は、1)あらゆる薬液をエアロゾル化できること; 2)薬物が適合性のある場合、薬物混合物(>1薬物)をエアロゾル化できること; 3)必要な患者の協力や調整が最小限であること; 4)非常に若い患者、非常に高齢の患者、衰弱している患者、または苦痛を抱えている患者に役立つこと; 5)薬物濃度と投与量を変更できること; 6)タイプ、ブランド、モデルが異なるとパフォーマンス特性が異なること; および7)通常の呼吸パターンを使用でき、効果を得るために吸気一時停止は必要ないことである。

【0082】

本発明の1つの実施形態において、ディスペンサーは加圧式定量吸入器である。その利点は、ディスペンサーは持ち運び可能で、軽く、コンパクトであり、複数回投与の利便性があり、治療時間が短く、放出用量の再現性があり、薬剤の調製は必要なく、製剤は汚染されにくいことである。

20

【0083】

本発明の別の態様において、ディスペンサーは定量吸入器付属装置である。その利点としては、口腔咽頭への薬剤の滞留と損失が軽減され、pMDI(加圧式定量吸入器、またはパuffer)単独の場合よりも吸入薬剤が2~4倍増加し、呼吸困難を伴う急性気流閉塞中にpMDIを使用できること、薬剤の準備が不要であること、pMDIの作動と吸入の調整の簡素化、および局所的および全身的な副作用の軽減に役立つことである。

【0084】

本発明の1つの実施形態において、ディスペンサーは乾燥粉末吸入器である。その利点は、小型で持ち運び可能、内蔵投与量、噴射剤不要、呼吸で作動し、準備と投与時間が短いことである。

30

【0085】

さらなる1つの態様において、本発明は医薬品の組み合わせに関する。本明細書に記載される組成物の特徴は、組み合わせを説明するために使用され得る。

【0086】

1つの好ましい実施形態において、本発明は医薬品の組み合わせに関し、以下を含む:  
(a.) MSC由来の治療有効量の細胞外小胞、好ましくはエキソソーム、および  
(b.) 治療有効量のAAT。

40

【0087】

本発明は、コロナウイルス感染などのウイルス感染症の治療に使用するための、および/または、SARSコロナウイルス関連呼吸器疾患の治療および/または予防のための、および対応する治療方法のための、組み合わせに関する。本発明は、このような治療における、治療有効量のMSC由来の細胞外小胞、好ましくはエキソソームと治療有効量のAATの併用投与にも関する。

【0088】

したがって、本発明の組成物は、これまでに記載されていない有利な組み合わせ、好ましくは2つの活性薬剤間の相乗効果の特徴とする組み合わせに関する。

【0089】

50

当業者であれば、ウイルス感染または疾患に対して効果的なこれら2つの薬剤が累積効果を超えて相互作用することは予想しなかったであろう。たとえそれぞれを単独で投与した場合に細胞外小胞およびAATによって達成されるウイルス増殖および/または感染の減少が当該技術分野から得られたとしても、相乗効果は当業者の予想に基づいて予測できなかったであろう。典型的には、抗ウイルス効果を持つ2つのメカニズムを標的にしても、通常は相乗効果は生じないが、追加の効果または無視できるほどの相加効果は生じない。理論に囚われるものではないが、抗ウイルス効果または関連効果で2つの標的を標的にしても、ウイルス感染はすでに阻害されているため、通常、さらなる定量的効果は得られないため、第2の(組み合わせた)因子は追加の効果をもたらさないか、またはせいぜいわずかな累積効果しかもたらさないのが一般的であり、したがって、第二の薬剤による同じまたは関連する抗ウイルス効果の別の位置を標的とすることによって、追加の効果は期待されず、単に第一の薬剤によってすでに達成された効果が強化されるだけである。予想に反して、細胞外小胞とAATによって驚くべき定量的な相乗効果が達成された。

10

**【0090】**

いくつかの実施形態において、細胞外小胞とAATは、重量で10000:1から1:10000、好ましくは重量で10:1から1:10、より好ましくは重量で約5:1から1:5の相対量を有する。

**【0091】**

本発明の実施形態および特徴は、ウイルス感染の治療および/または予防のための、MSCおよびAATからの細胞外小胞を含む組成物に関して記載され、送達システムは、組成物、組み合わせ、または送達システムを特徴付ける特徴を使用して組成物を特徴付けることができ、またその逆も同様であるように、本開示の他のあらゆる態様に関して開示されているとみなされる。本発明の様々な態様は、ヒト対象におけるウイルス感染症の治療および/または予防における医薬品としての使用のための、間葉系幹細胞(MSC)から単離された細胞外小胞およびアルファ-1アンチトリプシン(AAT)タンパク質を含む医薬組成物の共通かつ驚くべき発見によって統合され、恩恵を受け、それに基づいており、および/または関連している。

20

**【0092】**

さらなる1つの態様において、本発明は、ヒト対象におけるウイルス感染症の治療および/または予防における医薬品としての使用のための、アルファ-1アンチトリプシン(AAT)タンパク質を含む医薬組成物に関するものであって、組成物は、エアロゾル形態で、および/または噴霧および/または吸入による投与に適した他の形態を介して投与される。

30

**【0093】**

この態様にておい、いくつかの実施形態において、組成物は、例えばMSC由来のエキソソームなどの細胞外小胞を含まないことが好ましい。しかしながら、本明細書が提供する残りの開示は、例えば投与形態、装置、医療処置、および本発明の他の特徴に関して、本発明のこの態様に依然として関連する。

**【0094】**

例えば、いくつかの実施形態において、AAT含有組成物は、AATタンパク質を含有する溶液の形態、例えばガス中の固体薬物粒子の懸濁液、または微粉化粉末などの乾燥粉末の形態であってもよい。

40

**【0095】**

いくつかの実施形態において、組成物は、活性剤を含む溶液、気体中の固体薬物粒子の懸濁液、または投与時に、すなわち適切な投与装置を使用してエアロゾル化されるか、エアロゾルに含まれ患者に投与される、乾燥粉末のいずれかである。エアロゾルには、AAT投与に関連する有利な要因、すなわち粒子サイズが小さいため、クロロフルオロカーボン駆動の加圧定量吸入器で投与される同じ薬剤と比較して、上気道への埋伏(impaction)を減少させ、特に細かい気道への粒子の堆積を増加させる可能性がある。それにもかかわらず、いくつかの実施形態では、クロロフルオロカーボン駆動の加圧定量吸入器は、

50

A A Tを投与するのに適しており、使用することができる。

【0096】

1つの実施形態において、本発明はウイルス感染症の治療および/または予防における薬剤として使用するための本明細書に記載の医薬組成物に関するものであって、前記組成物は、溶液または懸濁液が、好ましくは適切な装置を使用して製造され、その例は以下に提供されるものを含むA A Tタンパク質を、好ましくは吸入および/または噴霧することによって、治療有効量の組成物を鼻腔、口腔、そして喉および/または肺などの気道に導入することによって投与される。本質的には、鼻腔、口腔および/または気道へのA A Tタンパク質の空中送達に適した任意の投与形態が企図される。このような投与形態は、感染の驚くべき減少、好ましくは感染の予防、または重度のウイルス疾患反応につながる感染の予防もしくは減少をもたらす。鼻、口腔、または気道に送達されたA A Tタンパク質は、標的宿主細胞におけるウイルス粒子、たとえばSARS-CoV-2感染を積極的に予防または軽減できる。

10

【0097】

いくつかの実施形態において、A A T溶液は、100 mL溶液当たり約1から1000 mgのタンパク質、好ましくは100 mL溶液当たり10から500 mgのタンパク質、より好ましくは100 mL溶液当たり50から200 mgまたは約100 mgのタンパク質の濃度を示す投与用に提供される。このような溶液は、適切な装置を使用して投与時にエアロゾル化するのに適しているか、または投与時に粒子または液滴を生成するのに適しており、それにより、口腔もしくは鼻腔および/または上気道もしくは肺内への吸入または噴霧が可能になる。

20

【0098】

特許文献および非特許文献のすべての引用文献は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0099】

間葉系幹細胞：

【0100】

本明細書で使用されるとおり、「間葉系幹細胞」(いくつかの実施形態では「間葉細胞」または「MSC」とも呼ばれ、間葉系間質細胞としても知られる)は、結合組織、骨、軟骨、および循環系やリンパ系の細胞に分化できる多能性細胞である。間葉系幹細胞は、緩く詰め込まれた紡錘形または星状の特殊化されていない細胞からなる胚中胚葉の一部である間葉に存在する。本明細書で使用される間葉系幹細胞には、CD34陰性幹細胞が含まれるが、これに限定されない。

30

【0101】

本発明の1つの実施形態において、間葉細胞は、線維芽細胞様のプラスチック付着細胞であり、いくつかの実施形態では多分化能間葉系間質細胞として定義され、CD34陰性細胞も含まれる。疑念を避けるために、用語間葉系幹細胞は、多能性間葉系間質細胞を包含するものであり、多能性間葉系間質細胞は、間葉細胞、MSC、およびそれらの前駆体の亜集団も含み、この亜集団は、生体内で複数の細胞型に分化できる多能性または多能性の自己再生細胞から構成される。

40

【0102】

本明細書で使用されるとおり、CD34陰性細胞は、CD34を欠く細胞、またはその表面に無視できるレベルのCD34をわずかに発現する細胞を意味するものとする。CD34陰性細胞、およびそのような細胞を単離する方法は、例えば、Lange C.らの"Accelerated and safe expansion of human mesenchymal stromal cells in animal serum-free medium for transplantation and regenerative medicine". J. Cell Physiol. 2007, Apr. 25に記載されている。

【0103】

間葉細胞は、多くの指標によって造血幹細胞(HSC)と区別できる。例えば、HSCは培養中に浮遊し、プラスチック表面に付着しないことが知られている。対照的に、間葉細胞

50

胞はプラスチック表面に接着する。本発明のCD34陰性間葉細胞は、培養下で接着性である。

【0104】

MSCは、既知のプロトコールを使用して培養することができる。例えば、人工多能性幹細胞(iPSC)、臍帯血、臍帯組織、胎盤、骨髄、骨または脂肪組織、およびMSCに由来するヒトMSCは、血小板溶解物の存在下でプラスチック表面上に接着細胞として培養できる。本明細書で使用されるとおり、「血小板溶解物」は、実験および臨床の細胞培養におけるウシ胎児血清(FBS)の代替サプリメントである。これは、凍結/解凍サイクル後のヒト血小板から得られる。凍結/解凍サイクルにより血小板が溶解し、細胞の増殖に必要な成長因子が大量に放出される。FBSフリーの細胞培養培地は、例えば、血小板溶解物や化学的に定義された動物成分フリーのものなどであり、細胞治療や再生医療に使用される。これらは、一般に規制当局の承認の基準となるGMP(適正製造基準)品質で市販されている。プールされたヒト血小板溶解物は、MSCの増殖を促進するための培養サプリメントとして使用されている。代替のMSC培養手順も利用可能であり、当業者に知られている。

10

【0105】

遺伝子改変MSC:

【0106】

MSCは、当技術分野で知られている技術を使用して、例えばトランスジェニックAATを発現するように遺伝的に改変することができる。いくつかの実施形態において、AATをコードする核酸は、MSCに導入され、好ましくは細胞内に安定に組み込まれるか、または安定に維持され、続いて改変されたMSCから発現される。

20

【0107】

本明細書で使用されるとおり、「遺伝子改変」は、遺伝子工学、遺伝子組換えとも呼ばれ、組換えDNA法を使用して目的の遺伝物質を単離および複製するか、またはDNAを人工的に合成して得たDNA断片を別の生物に移植することによって、植物、動物、または微生物の特性を変える技術である。これは、それらを他の生物に挿入することによって行われる。この技術は、たとえば、医薬品を生産する哺乳動物の細胞、真菌、細菌の開発に使用されている。さまざまな遺伝子改変方法がある: 微生物ベクター、マイクロプロジェクトイルボンバードメント(microprojectile bombardment)、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、トランスポシス/トランスポサブルエレメント(transposons/transposable elements)、クローニング、トランスフェクション、レトロウイルスベクター、ノックインおよびノックアウト技術、マーカー支援選択など。

30

【0108】

MSCの改変に適した技術には、レトロウイルス、レンチウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、非ウイルスベクター(リポソームおよびプラスミド)などのウイルスベクターの使用、または、CRISPR/Cas9、ZFN、および/またはTALENなどの遺伝子編集が含まれるが、これらに限定されない。ウイルスベクターは、MSCの遺伝子改変プロトコールで最も一般的に使用されるツールであり、これらの細胞におけるウイルス形質導入の高い効率は、免疫表現型の特性、ならびに遺伝子組換え後に保存される細胞分化および生理活性分子の分泌の可能性にも影響を与えないことが実証されている。さらに、ウイルス形質導入は、目的の遺伝子の安定かつ長期的な転写を保証し、その結果、MSCの遺伝子改変にウイルスベクターを使用しない他の方法と比較して効率が高くなる。遺伝子の部位特異的組み込みは、遺伝子を認識しおよび部位特異的に遺伝子を直接組み込みが可能であるヌクレアーゼである、ジンクフィンガーヌクレアーゼ(ZFN)、転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ(TALENS)、またはクラスター化し規則的に間隔をあけられた短いパンドロームリピート(CRISPR/Cas9)などのツールを使用して実現できる。これらの分子編集ツールは非常に効率的かつ正確であり、遺伝子挿入/発現の安全性と効率を向上させるために使用できる。

40

50

## 【0109】

任意の所与の遺伝子送達方法が本発明に包含され、好ましくは本発明はウイルスベクターまたは非ウイルスベクター、ならびにトランスフェクションの生物学的または化学的方法に関する。この方法では、使用するシステムで安定した遺伝子発現または一過性の遺伝子発現を実現できる。

## 【0110】

遺伝子改変ウイルスは、幹細胞への遺伝子の送達に広く応用されている。本明細書に記載されるMSCの遺伝子改変のための好ましいウイルスベクターは、レトロウイルスベクター、特にガンマレトロウイルスベクターに関する。ガンマレトロウイルス（哺乳類C型レトロウイルスと呼ばれることもある）は、レンチウイルス分岐群の姉妹属であり、レトロウイルス科のオルソレトロウイルス亜科のメンバーである。マウス白血病ウイルス（MLVまたはMuLV）、ネコ白血病ウイルス（FeLV）、異種指向性マウス白血病ウイルス関連ウイルス（XMRV）、およびテナガザル白血病ウイルス（GALV）は、ガンマレトロウイルス属のメンバーである。当業者は、MSCの遺伝子改変におけるガンマレトロウイルスの利用に必要な技術を知っている。例えば、Maetzigらによって記載されたベクター（Gamma retroviral vectors: biology, technology and application, 2001, Viruses Jun;3(6):677-713）または同様のベクターを使用することができる。例えば、単純なガンマレトロウイルスであるマウス白血病ウイルス（MLV）は、ガンマレトロウイルス改変MSCの作製および対象への送達後の前記MSCからの治療用導入遺伝子の発現という状況において、遺伝子治療の効率的な媒体に変換することができる。

## 【0111】

アデノウイルス、またはレンチウイルスなどのRNAウイルス、または他のレトロウイルスが適用されてもよい。アデノウイルスは、遺伝子導入細胞工学用の一連のベクターを生成するために使用されてきた。アデノウイルスベクターの最初の世代は、E1遺伝子（ウイルス複製に必要）を欠失させて、4kbのクローニング能力を有するベクターを生成することによって産生された。E3（宿主免疫応答を担う）をさらに欠失させると、8kbのクローニング能力が可能になった。E2および/またはE4欠失を含むさらなる世代が生成されている。レンチウイルスは、レトロウイルス科のウイルスのメンバーである（M. Scherr et al., Gene transfer into hematopoietic stem cells using lentiviral vectors. Curr Gene Ther. 2002 Feb; 2(1):45-55）。レンチウイルスベクターは、LTRおよびシス作用パッケージングシグナルを除くウイルス配列全体を欠失させることによって生成される。得られたベクターは約8kbのクローニング容量を持っている。これらのベクターがレトロウイルスベクターと区別できる特徴の1つは、分裂細胞および非分裂細胞、さらには最終分化細胞にも形質導入できることである。

## 【0112】

従来のプラスミド導入やインテグラーゼまたはトランスポザーゼ技術の使用による標的遺伝子組み込みの適用を含む代替戦略など、非ウイルス性の方法も使用できる。これらはベクター形質転換のアプローチを表しており、それらの組み込みにおいて、効率的であり、かつ多くの場合部位特異的であるという利点がある。ベクターを細胞に導入する物理的方法は当業者に知られている。1つの例はエレクトロポレーションに関するものであり、これは、静電容量を克服することによって膜内に一時的な孔を形成する短い高電圧電気パルスを使用することによる。この方法の利点の1つは、ほとんどの細胞型で安定した遺伝子発現と一過性の遺伝子発現の両方に利用できることである。別の方法は、リポソームまたはタンパク質導入ドメインの使用に関するものである。適切な方法は当業者に知られており、本発明の実施形態を限定するものではない。

## 【0113】

1つの実施形態において、MSCの遺伝子改変の産物としてトランスジェニックAAT遺伝子から発現される外因性AATは、構成的プロモーター、または誘導性プロモーターまたは条件的プロモーター、好ましくは構成的プロモーターによって制御される。

## 【0114】

10

20

30

40

50

本明細書で使用されるとおり、構成的プロモーターは、関連する遺伝子の継続的な転写を可能にする本質的に制御されていないプロモーターである。構成的プロモーターは、AATの高度かつ一貫した発現を可能にし、それによって本発明で使用されるエキソソーム中のタンパク質を濃縮することができるため、好ましい。1つの実施形態において、本明細書に記載の遺伝子改変間葉幹細胞は、AAT発現プロモーターが、例えば、EF1 Sプロモーター、PGKプロモーター、CMVまたはSV40ウイルスプロモーター、GAGプロモーター、またはUBプロモーターなどのEF1 プロモーターであることを特徴とする。

【0115】

本明細書で使用されるとおり、「核酸」とは、DNA、RNA、およびそれらのハイブリッドまたは改変されたその変異体を含むがこれらに限定されず、任意の核酸分子を意味するものとする。「外因性核酸」または「外因性遺伝要素」は、細胞に導入された任意の核酸に関し、細胞の「元の」または「天然」ゲノムの構成要素ではない。外因性核酸は、組み込まれていても組み込まれていない場合もあり、あるいは安定にトランスフェクトされた核酸に関連している場合もある。外因性核酸は、好ましくはAATをコードし、それによって外因性AATタンパク質の発現をもたらす。

10

【0116】

外因性タンパク質：

【0117】

本明細書で使用されるとおり、「外因性タンパク質」とは、細胞の非天然の遺伝要素から発現されるタンパク質を指す。例えば、外因性タンパク質をコードするコード核酸は、天然に存在する細胞には存在しない。例えば、外因性タンパク質は、発現細胞のゲノムに組み込まれる外因性DNAを通じて発現される。したがって、外因性AATという用語は、既存の（天然；内因性）AAT遺伝子から発現されるのではなく、むしろ外因性AAT核酸から発現されるか、または後の使用のために組換え生成され単離されるAATタンパク質に関する。いくつかの実施形態において、AATタンパク質は、天然に存在するコード配列から発現されるが、改変/トランスジェニックプロモーターまたは他の遺伝子調節要素の制御下にある場合、外因性であると考えられる。

20

【0118】

本明細書で使用されるとおり、「組換えタンパク質」は、組換え遺伝子によってコードされ、特定の組換え発現システムによって生成されるタンパク質である。組換えタンパク質は、生物学的プロセスを研究するため、およびタンパク質薬剤を工業的に製造するための重要なツールである。適切な発現系の選択は、組換えタンパク質の特性および意図する用途に依存し、十分な量のタンパク質を生産するために不可欠である。一般的に使用される発現系は、大腸菌、ピキアパストリス、バキュロウイルス、昆虫細胞、および哺乳動物細胞である。

30

【0119】

細胞外小胞：

【0120】

本明細書で使用されるとおり、「細胞外小胞」(EV)は、脂質二重層で区切られた粒子である。これらは細胞から自然に放出され、細胞とは異なり複製することができず、直径は物理的に可能な最小の単層リポソームのサイズ(通常約20~30ナノメートル)に近いものから10ミクロン以上のサイズまでであるが、大部分の細胞外小胞の大きさは200nm未満である。それらは、親細胞由来のタンパク質、核酸、脂質、代謝産物、さらには細胞小器官の積荷を運ぶ。これまでに研究されているほとんどの細胞は、細胞壁に囲まれた一部の細菌、真菌、植物細胞を含めて、細胞外小胞を放出すると考えられている。多種多様な細胞外小胞のサブタイプが提案されており、サイズ、生合成経路、積荷、細胞源、および機能によってさまざまに定義されており、エキソソームやエクソソームなどの用語を含む歴史的に不均一な命名法となっている。

40

【0121】

本明細書で使用されるとおり、「微小胞」はエクソソームや微粒子とも呼ばれ、細胞膜

50

から放出される細胞外小胞の一種である。多細胞生物では、微小胞やその他のEVは、組織（細胞間の間隙）と多くの種類の体液の両方に見られる。リン脂質二重層によって区切られた微小胞は、最小のEV（直径 30 nm）ほど小さい場合もあれば、1000 nm ほど大きい場合もある。これらは、エキソソームとして知られる細胞内で生成されるEVよりも平均して大きいと考えられている。微小胞は細胞間コミュニケーションに役割を果たし、mRNA、miRNA、タンパク質などの分子を細胞間で輸送できる。

【0122】

本明細書で使用されるとおり、「エキソソーム」は、ほとんどの真核細胞によって分泌される細胞外小胞であり、細胞間コミュニケーションに関与する。エキソソームの構成要素は、タンパク質、DNA、mRNA、マイクロRNA、長鎖非コードRNA、環状RNAなどを 10  
含む。これらは、脂質二重層膜に囲まれた細胞外小胞のサブセットであり、ほとんどの真核細胞によって分泌され、直径サイズは 1~500 nm、好ましくは約10~200 nmの間、より好ましくは20~150nmの間である。

【0123】

本明細書で使用されるとおり、「細胞外小胞」への言及は「エキソソーム」に置き換えられる場合もあり、その逆も同様である。

【0124】

本明細書で使用されるとおり、本明細書で使用される「濃度」は、成分の存在量を混合物の総体積で割ったものである。濃度はあらゆる種類の化学混合物を表すことができるが、最も多くの場合、溶液中の溶質と溶媒が含まれる。モル（量）濃度には、標準濃度や浸透圧濃度などのバリエーションがある。濃度の種類としては、質量濃度、モル濃度、個数濃度、体積濃度などがある。 20

【0125】

細胞外小胞または微小胞とエキソソームの濃度は、例えば、Nanosight：つまり小さな粒子の定量に適合した光学顕微鏡、または例えば ExoELISA：つまりエキソソーム粒子の定量に特化した ELISA キットを使用して、例えば、エキソソームを溶解し、その後標準的なタンパク質を定量し、電子顕微鏡で粒子サイズを測定し、エキソソームと他の小胞を区別する、従来技術による方法によって決定される。

【0126】

細胞外小胞（EV）は、診断および治療に関連する可能性があるため、最近大きな注目を集めている。EV の分離と分析にはさまざまな技術が使用されている。対象をサイズによって分離するサイズ排除クロマトグラフィー（SEC）は、精製と分析に広く適用されている。小胞の単離には、超遠心分離、サイズ排除（ろ過またはクロマトグラフィー）、免疫親和性単離、沈殿（ExoQuick または「塩析」）、または上記の技術の組み合わせを含む、他のさまざまな方法が使用されている。HPLC および/または限外ろ過などの技術を使用して、エキソソームなどの細胞外小胞を生成することもできる。 30

【0127】

本明細書で使用されるとおり、「高速液体クロマトグラフィー（HPLC）」（以前は高圧液体クロマトグラフィーと呼ばれていた）は、混合物中の各成分を分離、同定、および定量するために使用される分析化学の技術である。これは、サンプル混合物を含む加圧液体溶媒を、固体吸着剤が充填されたカラムに通すためのポンプを備えている。サンプル中の各成分は吸着剤とわずかに異なる相互作用をし、成分ごとに異なる流量が生成され、カラムから流出する際に成分が分離される。HPLC、例えばサイズ排除HPLCは、エキソソームなどの細胞外小胞を特徴づけ、単離するために使用できる。 40

【0128】

脂肪由来間葉系幹細胞から分泌されるエキソソームは、3つの一般的な技術：100,000 gでの段階的超遠心分離、3 kDa 排除膜による限外ろ過、および電荷ベースの沈殿法、を使用して取得できることが従前に示されている。したがって、間葉系幹細胞によって生成されたエキソソームは、限外ろ過および超遠心分離によって、in vitro または in vivo 実験用に高品質で取得できる。後の治療用途には、超遠心分離によって得られる工 50

キソソームと比較して、細胞外小胞の凝集がなく濃度が高いため、限外ろ過が好ましい。

【0129】

本明細書で使用されるとおり、「限外ろ過」は、圧力や濃度勾配などの力によって半透膜を通過させ分離をもたらす膜ろ過の一種である。浮遊固体と高分子量の溶質は保持液に保持されるが、水と低分子量の溶質は透過液の膜を通過する。この分離プロセスは、高分子溶液、特にタンパク質溶液、細胞外小胞、微小胞、およびエキソソームの精製と濃縮のために産業や研究で使用されている。

【0130】

アルファ - 1 アンチトリプシン (AAT) :

【0131】

アルファ - 1 アンチトリプシン (A1AT、AAT、PI、SERPINA1 としても知られる) は、最も豊富な内因性セリン プロテアーゼ阻害剤 (SERPIN スーパーファミリー) の 1 つである約 52 kDa の糖タンパク質である。AAT は急性期タンパク質であると考えられており、急性炎症時には AAT 濃度が何倍にも増加する可能性がある。

【0132】

AATコード領域は、好ましくは、ヒトAATと比較して活性が低下、同じ、類似、もしくは増加しているAAT機能を示すか、またはヒトAATと機能的に類似しており、天然に存在するまたは合成のAATタンパク質配列をコードする任意の核酸である。AATのアミノ酸配列は、NCBIデータベースからアクセッション番号1313184Bで入手できる。AATをコードする対応する核酸配列は、分子生物学または遺伝学の当業者によって提供され得る。非修飾ヒト型AATと機能的類似性または類似性を示すAATの配列変異体の使用は、本発明に包含される。

【0133】

[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NM\\_000295.4](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NM_000295.4)で公開されているSERPINA1 コード配列 (CDS)は、1つの好ましい実施形態であり、完全配列の塩基262から1518を含む (配列番号1) :

```

ATGCCGTCTTCTGTCTCGTGGGGCATCCTCCTGCTGGCAGGCCTGTGCTGCCTGGTC
CCTGTCTCCCTGGCTGAGGATCCCCAGGGAGATGCTGCCCAGAAGACAGATACATC
CCACCATGATCAGGATCACCCAACCTTCAACAAGATCACCCCAACCTGGCTGAGT
TCGCCTTCAGCCTATACCGCCAGCTGGCACACCAGTCCAACAGCACCAATATCTTC
TTCTCCCCAGTGAGCATCGCTACAGCCTTTGCAATGCTCTCCCTGGGGACCAAGGC
TGACACTCACGATGAAATCCTGGAGGGCCTGAATTTCAACCTCACGGAGATTCCGG
AGGCTCAGATCCATGAAGGCTTCCAGGAACCTCCTCCGTACCCTCAACCAGCCAGAC
AGCCAGCTCCAGCTGACCACCGGCAATGGCCTGTTCCCTCAGCGAGGGCCTGAAGCT
AGTGGATAAGTTTTTGGAGGATGTTAAAAAGTTGTACCACTCAGAAGCCTTCACTG
TCAACTTCGGGGACACCGAAGAGGGCCAAGAAACAGATCAACGATTACGTGGAGAAG
GGTACTCAAGGGAAAATTGTGGATTTGGTCAAGGAGCTTGACAGAGACACAGTTTTT
TGCTCTGGTGAATTACATCTTCTTTAAAGGCAAATGGGAGAGACCCTTTGAAGTCA
AGGACACCGAGGAAGAGGACTTCCACGTGGACCAGGTGACCACCGTGAAGGTGCCT
ATGATGAAGCGTTTtagGCATGTTTAAACATCCAGCACTGTAAGAAGCTGTCCAGCTG
GGTGCTGCTGATGAAATACCTGGGCAATGCCACCGCCATCTTCTTCCCTGCCTGATG
AGGGGAAACTACAGCACCTGGAAAATGAACTCACCCACGATATCATCACCAAGTTC
CTGGAAAATGAAGACAGAAGGTCTGCCAGCTTACATTTACCCAAACTGTCCATTAC
TGGAACCTATGATCTGAAGAGCGTCCTGGGTCAACTGGGCATCACTAAGGTCTTCA
GCAATGGGGCTGACCTCTCCGGGGTCCACAGAGGAGGCACCCCTGAAGCTCTCCAAG
GCCGTGCATAAGGCTGTGCTGACCATCGACGAGAAAGGGACTGAAGCTGCTGGGGC
CATGTTTTTTAGAGGCCATACCCATGTCTATCCCCCCCGAGGTCAAGTTCAACAAAC
CCTTTGTCTTCTTAATGATTGAACAAAATACCAAGTCTCCCTCTTCATGGGAAAA
GTGGTGAATCCCACCCAAAAATAA

```

【0134】

10

20

30

40

50

本発明のいくつかの実施形態では、CDSは、タンパク質産生を増加させるためにコドンが最適化される。コドン最適化後のコード配列は、好ましくは以下の通りである（配列番号2）：

```

ATGCCCAGCAGCGTGTCTCTGGGGAATTCTGCTGCTGGCCGGCCTGTGTTGTCTGGT
GCCTGTGTCTCTGGCCGAGGACCCCTCAGGGGGATGCCGCCAGAAAACCGATACCA
GCCACCACGACCAGGACCACCCACCTTCAACAAGATCACCCCAACCTGGCCGAG
TTCGCCTTCAGCCTGTACAGACAGCTGGCCACCAGAGCAACAGCACCAACATCTT
TTTCAGCCCCGTGTCTATCGCCACCGCCTTCGCCATGCTGAGCCTGGGCACAAAGG
CCGACACCCACGACGAGATCCTGGAAGGCCTGAACTTCAACCTGACCGAGATCCCC
GAGGCCCAGATCCACGAGGGCTTCCAGGAACTGCTGCGGACCCTGAACCAGCCCGA
TAGCCAGCTGCAGCTGACAACCGGCAACGGCCTGTTTCTGAGCGAGGGACTGAAGC
TGGTGGACAAGTTTCTGGAAGATGTGAAGAAGCTGTATCACAGCGAGGCCTTACC
GTGAACTTCGGCGACACCGAGGAAGCCAAGAAGCAGATCAACGACTACGTGGAAAA
GGGCACCCAGGGCAAGATCGTGGACCTCGTGAAGAGCTGGACCGGGACACCGTGT
TCGCCCTCGTGAACCTACATCTTCTTCAAGGGCAAGTGGGAGCGGCCCTTCGAAGTG
AAGGACACAGAGGAAGAGGACTTTCACGTGGACCAAGTGACCACCGTGAAGGTGCC
CATGATGAAGAGACTGGGCATGTTCAACATCCAGCACTGCAAGAACTGAGCAGCT
GGGTGCTGCTGATGAAGTACCTGGGCAACGCTACCGCCATATTCTTTCTGCCCGAC
GAGGGCAAGCTGCAGCACCTGGAAAACGAGCTGACCCACGACATCATCAACAAATT
TCTGGAAAATGAGGACCGGCGGAGCGCCAGCCTGCATCTGCCTAAGCTGTCTATCA
CCGGCACCTACGACCTGAAGTCCGTGCTGGGACAGCTGGGCATCACCAAGGTGTTT
AGCAACGGCGCCGATCTGAGCGGCGTGACAGAAGAGGCCCTCTGAAGCTGTCCAA
GGCCGTGCACAAAGCCGTGCTGACCATCGACGAGAAGGGCACCGAAGCCGCTGGCG
CCATGTTTCTGGAAGCCATCCCCATGAGCATCCCCCTGAAGTGAAGTTCAACAAG
CCCTTCGTGTTTCTGATGATCGAGCAGAACACCAAGAGCCCCCTGTTTCATGGGCAA
GGTCGTGAACCCACCCAGAAA

```

【0135】

配列番号1および/または2に記載のヌクレオチド配列は、配列番号3に示されるヒトAATタンパク質をコードするものであり、本発明で好ましいものである：

```

MPSSVSWGILLLAGLCLVPVSLAEDPQGDAAQKTDTSHHDDHPTFNKITPNLAE
FAFSLYRQLAHQSNSTNIFFSPVSIATAFAMLSLGTKADTHDEILEGLNLFNLTEIPEA
QIHEGFQELLRTLNPDSQLQLTTGNGLFLSEGLKLVDFLEDVKKLYHSEAFVNF
GDTEEAKKQINDYVEKGTQGKIVDLVKELDRTVFALVNYIFFKKGKWERPFVVDTE
EEDFHVDQVTTVKVPMKRLGMFNIQHCKKLSSWVLLMKYLGNATAIFFLPDEGKL
QHLENELTHDIITKFLNEDRRSASLHLPKLSITGTYDLKSVLGQLGITKVFNSGADL
SGVTEEAPLKLKAVHKAVLTIDEKGEAAGAMFLEAIPMSIPPEVKFNKPFVFLMIE
QNTKSPLFMGKVVNPTQK

```

【0136】

したがって、本発明は、以下からなる群から選択される核酸分子を含む本明細書に記載のトランスジェニックAATを発現する遺伝子改変MSCの使用を包含する：

- a) 例えば配列番号3に示されるAATタンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む核酸分子、好ましくは配列番号1または2に示されるヌクレオチド配列による核酸分子、
- b) a)に示されるヌクレオチド配列に相補的な核酸分子；
- c) a)またはb)に記載のヌクレオチド配列と機能的に類似/同等であるのに十分な配列同一性を有するヌクレオチド配列を含む核酸分子であって、好ましくは、a)またはb)に示されるヌクレオチド配列と少なくとも70%、80%、好ましくは90%、より好ましくは95%の配列同一性を有する；
- d) 遺伝暗号の結果として、a)からc)に示されるヌクレオチド配列に縮退される核酸分子；および/または
- e) 欠失、付加、置換、転座、逆位および/または挿入によって改変されており、および

a) ~ d) のヌクレオチド配列と機能的に類似 / 同等である、a) ~ d) のヌクレオチド配列に示される核酸分子。

【0137】

したがって、本発明は配列番号3に示されるAATタンパク質またはその変異体、または配列番号3に示されるアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含む、本明細書に記載の遺伝子改変MSCの使用を包含する。

【0138】

本発明は、配列番号3に示される配列のさらなる配列変異体、特に、配列番号3に対して少なくとも70%の配列同一性、好ましくは配列番号3に対して少なくとも80%、85%、90%、または少なくとも95%の配列同一性を有する配列変異体を包含する。このような配列変異体は、好ましくは、本明細書に開示されるヒトAAと機能的に類似または同等である。配列番号3のヒトAATの機能的同等性が維持される場合、タンパク質の長さの変化も本発明に包含される。例えば、最大50アミノ酸、40、30、20、または10アミノ酸のタンパク質の長さの切断または伸長は、AAT活性を維持する可能性があり、したがって本発明に包含される。

【0139】

機能的に類似した配列とは、機能的なAAT遺伝子産物をコードし、ヒトAATと同じまたは類似の機能的効果を可能にする能力を指す。AATの機能は、トリプシンなどのインビトロでの様々なプロテアーゼを阻害する能力、または好中球エラスターゼを阻害する能力(後述)によって決定され得る。プロテアーゼ活性を決定するための、または、好中球エラスターゼ活性を決定するための適切なアッセイは、当業者に知られている。

【0140】

アミノ酸配列およびそのような分子をコードする核酸配列の置換によって起こり得るAATタンパク質に対するタンパク質修飾は、本発明の範囲に包含される。本明細書で定義される置換は、タンパク質のアミノ酸配列に対して行われる修飾であり、それにより、1つまたは複数のアミノ酸が同じ数の(異なる)アミノ酸で置換され、一次タンパク質とは異なるアミノ酸配列を含むタンパク質が生成される。いくつかの実施形態において、この修飾によりタンパク質の機能が大きく変更されることはない。付加と同様に、置換も自然なものまたは人為的なものがある。タンパク質の機能を大きく変えることなくアミノ酸置換を行うことができることは当技術分野でよく知られている。これは、修飾が「保存的」アミノ酸置換、つまり、あるアミノ酸を同様の特性を持つ別のアミノ酸に置換することに関する場合に特に当てはまる。このような「保存された」アミノ酸は、サイズ、電荷、極性および立体構造により、タンパク質の構造および機能に大きな影響を与えることなく置換できる天然または合成アミノ酸であり得る。多くのアミノ酸は、タンパク質の機能に悪影響を与えることなく保存的アミノ酸に置換され得る。一般的に、非極性アミノ酸 Gly、Ala、Val、Ile、Leu; 非極性芳香族アミノ酸 Phe、Trp、Tyr; 中性極性アミノ酸 Ser、Thr、Cys、Gln、Asn、Met; 正に荷電したアミノ酸 Lys、Arg、および His; 負に荷電したアミノ酸の Asp と Glu、は保存的アミノ酸のグループを表す。このリストはすべてを網羅したものではない。例えば、Ala、Gly、Ser、および場合によっては Cys は、たとえ異なるグループに属していても、互いに置換できることはよく知られている。

【0141】

他の実施形態において、アルファ-1アンチトリプシン(AAT)タンパク質は、他のセリンプロテアーゼ阻害剤で置き換えることができる。したがって、本明細書に開示されるAATに関するあらゆる特徴は、他のセリンプロテアーゼ阻害剤にも関連し得る。1つの実施形態では、セリンプロテアーゼ阻害剤はトリプシン様セリンプロテアーゼ阻害剤である。

【0142】

トリプシン様セリンプロテアーゼ阻害剤は、トリプシン様活性でセリンプロテアーゼを阻害する。セリンは、セリンプロテアーゼ酵素の活性部位で求核アミノ酸として機能する。数多くのトリプシン様セリンプロテアーゼが阻害の治療標的として積極的に研究されて

10

20

30

40

50

きた。エンドサイトーシスを介したウイルスの侵入は、セリンプロテアーゼなどの標的細胞プロテアーゼに依存する。

【0143】

ウイルスがウイルスの侵入と増殖に標的細胞セリンプロテアーゼを必要とする場合、ウイルス感染は標的細胞セリンプロテアーゼに依存する。

【0144】

標的細胞セリンプロテアーゼは、ウイルス膜と標的細胞膜の融合、および標的細胞のサイトゾルへのウイルスゲノムの放出に必要なウイルススパイクタンパク質を活性化する。宿主細胞のセリンプロテアーゼを標的とすることにより、エンドサイトーシス依存性ウイルスのウイルス増殖を防ぐことができ、それにより、標的細胞のセリンプロテアーゼを阻害することは、エンドサイトーシス依存性ウイルスに感染した対象を治療するための有効な方法となる。セリンプロテアーゼ阻害剤、好ましくはトリプシン様セリンプロテアーゼ阻害剤は、ウイルス感染およびウイルス増殖を阻害する。非限定的な例として、トリプシン様セリンプロテアーゼ阻害剤には、カモスタット、アプロチニン、ベンズアミジン、ガベキサート、ロイペプチン、ナファモスタット、ペプスタチンA、リバビリン、セピモスタット、ウリナスタチン、およびパタモスタットが含まれる。

10

【0145】

医学的適応症：

【0146】

本発明の1つの態様において、対象におけるウイルス感染および/またはウイルス感染に関連する病状の治療および/または予防に使用するための、本明細書に記載の医薬組成物または組み合わせが提供される。治療される好ましいウイルス感染症または関連疾患は、本明細書に記載のものである。

20

【0147】

本明細書で使用されるとおり、「ウイルス感染症」は、病原性ウイルスが生物の体に侵入することで起こる。ウイルスの種類は、好ましくは、アデノウイルス、コクサッキーウイルス、エプスタイン・バーウイルス、A型肝炎ウイルス、B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、単純ヘルペスウイルス1型、単純ヘルペスウイルス2型、サイトメガロウイルス、ヒトヘルペスウイルス8型、HIV、インフルエンザウイルス、麻疹ウイルス、ムンプスウイルス、ヒトパピローマウイルス、ポリオウイルス、狂犬病ウイルス、RSウイルス、風疹ウイルス、水痘・帯状疱疹ウイルス、SARS-CoV-2ウイルスからなる群から選択される。1つの実施形態において、該ウイルスのファミリーは、好ましくはアデノウイルス科、ピコルナウイルス科、ヘルペスウイルス科、ピコルナウイルス科、ヘパドナウイルス科、フラビウイルス科、ヘルペスウイルス科、レトロウイルス科、オルソミクソウイルス科、パラミクソウイルス科、パピローマウイルス科、ピコルナウイルス科、ラブウイルス科、トガウイルス科、ヘルペスウイルス科、コロナウイルス科からなる群から選択される。

30

【0148】

本発明の1つの態様において、SARSコロナウイルスに関連する病状の治療に使用するための、本明細書に記載の本発明による医薬組成物または組み合わせが提供されるものであって、SARSコロナウイルスに関連する病状は、好ましくは、COVID-19またはSARSコロナウイルスに関連する呼吸器疾患である。

40

【0149】

本明細書で使用されるとおり、「患者」または「対象」は脊椎動物であってよい。本発明の文脈において、「対象」という用語には、ヒトと動物、特に哺乳類および他の生物の両方が含まれる。

【0150】

本発明において、「治療」または「療法」は、一般に、所望の薬理学的効果および/または生理学的効果を得ることを意味する。この効果は、疾患および/または症状を完全または部分的に予防するという観点から、例えば、対象が疾患または症状を有するリスクを

50

軽減することによって、予防的であり得、または疾患および/または疾患の副作用を部分的または完全に治癒するという観点から治療的であり得る。

【0151】

本発明において、「治療」には、哺乳動物、特にヒトにおける疾患または状態の任意の治療、例えば、以下の(a)&#12316;(c)の治療が含まれる：(a)患者の病気、状態、または症状の発症の予防；(b)症状の抑制、すなわち症状の進行の防止；(c)状態の症状の改善、すなわち疾患または症状の退行の誘導。

【0152】

1つの実施形態において、本明細書に記載される治療は、標的細胞へのウイルスの侵入を防ぐことによって、コロナウイルス感染またはその症状を軽減または阻害することに関する。本明細書に記載の予防療法は、本明細書に記載の薬剤による治療後のACE2タンパク質との相互作用を介した細胞のコロナウイルス感染の可能性の低下による、コロナウイルス感染のリスクの予防または軽減を包含することを意図している。

10

【0153】

本明細書で使用されるとおり、「感染症の症状のある患者」は、発熱、下痢、疲労、筋肉痛、咳、動物に噛まれた場合の呼吸困難、発熱を伴う激しい頭痛、発疹または腫れ、原因不明または長期にわたる発熱や視力の問題の症状のうち1つまたは複数呈する対象であるが、これらに限定されない。その他の症状には、発熱や悪寒、極度の低体温、尿量の減少（乏尿）、脈拍の速さ、呼吸の速さ、吐き気、および嘔吐などがある。好ましい実施形態において、感染症の症状は、発熱、下痢、疲労、筋肉痛、脈拍の速さ、呼吸の速さ、吐き気および嘔吐、および/または咳である。

20

【0154】

本明細書で使用されるとおり、「気道のウイルス感染症の症状」のある患者は、これらに限定されるものではないが、例えば、発熱、咳、鼻水、くしゃみ、喉の痛み、呼吸困難、頭痛、筋肉痛、疲労、脈拍の増加、呼吸の速さ、吐き気と嘔吐、味覚および/または嗅覚の欠如、および/または倦怠感（気分の悪さ）などの、風邪のような症状またはインフルエンザのような病気のうち1つ以上を呈する対象である。

【0155】

いくつかの実施形態において、SARS ウイルス感染の症状は、発熱、喉の痛み、咳、筋肉痛、または疲労などであり、いくつかの実施形態において、さらに、喀痰、頭痛、喀血および/または下痢が起こる。いくつかの実施形態において、SARS - コロナウイルス（例えばSARS-CoV-2）による感染の症状は、発熱、喉の痛み、咳、味覚および/または嗅覚の欠如、息切れおよび/または疲労感である。

30

【0156】

本明細書で使用されるとおり、「重症急性呼吸器症候群（SARS）を発症するリスクがある患者」という用語は、SARSを発症するリスクが高い（例えば、平均を上回る）対象、好ましくは一般集団内の特定の人物とは異なる対象に関する。いくつかの実施形態において、患者にはSARSの症状またはSARSコロナウイルス感染症の症状がある。いくつかの実施形態において、患者は、SARSの症状またはSARSコロナウイルス感染症の症状を有さない。いくつかの実施形態において、対象はSARSコロナウイルス感染症または症状のある人々と接触したことがある。いくつかの実施形態において、SARSを発症するリスクのある人は、SARS コロナウイルス感染症の有無について検査を受けている。いくつかの実施形態において、SARSを発症するリスクのある人は、SARS コロナウイルス感染症、できればコロナウイルス感染症の存在について検査で陽性反応を示している。

40

【0157】

実施形態において、SARS 発症のリスクがある患者は、SARSの特有の症状を（まだ）示していない無症候性の患者である。無症状の患者は、SARS コロナウイルスに感染した人と接触したことがあるために、SARSを発症するリスクがある可能性がある。例えば、無症状患者は、スマートフォンまたは対応する（ポータブル）デバイスにインストールされ、それぞれの携帯電話/スマートフォン上の対応するアプリを使用して、感染患者

50

との物理的近接または物理的距離の近さを示すソフトウェアアプリケーション（アプリ）によって、SARS発症のリスクがあると特定される可能性がある。感染者との接触／物理的近接性を決定する他の方法は当業者に知られており、本発明の方法に同様に適用される。

【0158】

いくつかの実施形態において、重症急性呼吸器症候群（SARS）を患っている、または発症するリスクがある患者がコロナウイルスに感染している。

【0159】

コロナウイルスは、哺乳類や鳥類に病気を引き起こす関連ウイルスのグループである。コロナウイルスの学名はOrthocoronavirinaeまたはCoronavirinaeである。コロナウイルスはコロナウイルス科に属す。この科はコロナウイルス亜科とトロウイルス亜科に分けられ、さらに6属に分類される：アルファコロナウイルス、ベータコロナウイルス、ガンマコロナウイルス、デルタコロナウイルス、トロウイルス、およびバフィニウイルス。アルファコロナウイルス属およびベータコロナウイルス属のウイルスは主に哺乳類に感染するが、ガンマコロナウイルスは鳥類に感染し、デルタコロナウイルス属のウイルスは哺乳類と鳥類の両方の宿主で見つがっている。

【0160】

ヒトにおいて、コロナウイルスは、風邪などの軽度の気道感染症を引き起こす場合もあれば、SARS、MERS、およびCOVID-19など致死的な場合もある呼吸器感染症を引き起こす場合もある。コロナウイルスは、プラスの一本鎖RNAゲノムと螺旋対称のヌクレオカプシドを持つエンベロープウイルスである。コロナウイルスのゲノムサイズは約27～34キロベースの範囲にあり、既知のRNAウイルスの中で最大である。

【0161】

ヒトコロナウイルスにはさまざまな種が知られている、例えば、これらに限定するものではないが、-CoV属のヒトコロナウイルスOC43（HCoV-OC43）、-CoV属のヒトコロナウイルスHKU1（HCoV-HKU1）、-CoV属のヒトコロナウイルス229E（HCoV-229E）、-CoV属のヒトコロナウイルスNL63（HCoV-NL63）、中東呼吸器症候群関連コロナウイルス（MERS-CoV）、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス（SARS-CoV）、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス2（SARS-CoV-2）が知られている。

【0162】

コロナウイルスの危険因子は大きく異なる。感染者の30%以上を死亡させる可能性のあるもの（MERS-CoVなど）もあれば、風邪のように比較的無害なものもある。コロナウイルスは、発熱やアデノイドの腫れなどによる喉の痛みなどの主な症状を伴う風邪を引き起こし、主に冬から春先にかけて発生する。コロナウイルスは、肺炎（直接ウイルス性肺炎または二次性細菌性肺炎のいずれか）および気管支炎（直接性ウイルス性気管支炎または二次性細菌性気管支炎）を引き起こす可能性がある。コロナウイルスもSARSを引き起こす可能性がある。

【0163】

核酸配列決定技術（一般に次世代シーケンシング、NGSと呼ばれる）の進歩により、さまざまな生体サンプルから得られる大規模な配列データが提供され、既知のウイルス株と新規ウイルス株の両方の特性評価が可能になった。したがって、コロナウイルス感染を判定するために確立された方法が利用可能である。

【0164】

組成と投与:

【0165】

本発明によれば、組成物の投与は、好ましくは、対象の気道および／または口腔の粘膜表面に対して局所的および／または局在的に行われ得る。「局所投与（Topical administration）」とは、薬剤が表面および／または下にある組織に効果を発揮するように、薬剤を皮膚、粘膜表面、または他の組織の特定の領域に局所的に適用することである。「局在投与（Local administration）」とは、特定の限られた領域への投与、好ましくは

局所投与による投与である。

【0166】

本明細書で使用されるとおり、「気道」は一般に、鼻、咽頭、喉頭、気管、および肺とそのさまざまな区画から構成されると考えられている。気道は哺乳類の呼吸過程に關与しており、呼吸器系の一部であり、呼吸粘膜または呼吸上皮で覆われている。

【0167】

本明細書で使用されるとおり、「粘膜表面」は、上を覆う粘膜液、例えば、唾液、涙、鼻水、胃粘液、頸管粘液、気管支粘液の存在を特徴とし、その機能には、成長因子、抗菌タンパク質、および免疫グロブリンを含む一連の免疫調節および治癒促進種を供給および送達することが含まれる。

【0168】

本明細書で使用されるとおり、「医薬賦形剤」とは、本質的に、組成物中の有効医薬成分以外のものである。

【0169】

医薬組成物の製剤化において、賦形剤は通常、1) 製剤の安定性を保護、サポート、または強化するために、2) 強力な薬剤の場合、正確な剤形の製剤化を助けるために製剤をバルクアップするために、3) 患者の受容性を向上させるために、4) 有効薬剤の生物学的利用能の向上を助けるために、5) 保管中および使用中の製剤の全体的な安全性と有効性を強化するために、有効な医薬成分と一緒に添加される。

【0170】

医薬組成物の製剤化に使用される賦形剤は、得られる製剤中で果たそうとする役割に応じて、さまざまな機能分類にさらに分類される。一部の賦形剤は、異なる製剤タイプで異なる機能的役割を持つことができ、さらに、個々の賦形剤は、それらの異なる機能的役割に応じて、異なるグレード、タイプ、およびソースを持つことができる。医薬懸濁液の製剤化に一般的に使用される賦形剤の可能なタイプは、溶媒/ビヒクル、共溶媒、緩衝剤、防腐剤、酸化防止剤、湿潤剤/界面活性剤、消泡剤、凝集調整剤、懸濁剤/粘度調整剤、着香剤、甘味剤、着色剤、保湿剤、およびキレート剤を含む。

【0171】

本明細書で使用されるとおり、「凍結保存」とは、細胞小器官、細胞、組織、細胞外基質、器官、または制御されていない化学反応速度によって引き起こされる損傷を受けやすいその他の生物学的構築物を、凍結によって非常に低い温度に冷却すること（通常は固体二酸化炭素を使用して $-20 \sim -80$ 、場合によっては液体窒素を使用して $-196$ まで）によって保存するプロセスである。十分に低い温度では、問題の生物材料に損傷を与える可能性のある酵素または化学活動が効果的に停止される。凍結保存方法は、凍結中に氷の結晶の形成によって引き起こされるさらなる損傷を引き起こすことなく、低温に達することを指す。

【0172】

本明細書で使用されるとおり、「エアロゾル」は、例えば少量ネブライザー (SVN)、加圧定量吸入器 (pMDI)、または乾燥粉末吸入器 (DPI) などのエアロゾル発生器によって生成される液体および固体粒子の懸濁液である。エアロゾル堆積は、エアロゾル粒子が吸収面に堆積するプロセスである。

【0173】

臨床で使用されているエアロゾル装置は、不均一分散（多分散とも呼ばれる）粒子サイズを生成し、これは、エアロゾル中にさまざまなサイズが混在していることを意味する。特定のサイズおよび/またはサイズ範囲は、上記の発明の概要に示されている。単一の粒子サイズからなる単分散エアロゾルはまれである。多分散エアロゾルは、質量中央径 (MMAD) によって定義できる。この測定により、粒子の質量の50%が含まれる上下の粒子サイズ ( $\mu\text{m}$  単位) が決まる。これは、粒子サイズ分布における薬物の質量または量を均等に分割する粒子サイズである。サイズの測定方法により、これは通常、質量中央空気力学直径 (またはMMAD) として与えられる。MMAD が高くなるほど、より大きな直径

10

20

30

40

50

の粒子サイズが多くなる。

【0174】

乾燥粉末製剤には、液体製剤よりも優れた安定性や、防腐剤が不要になる可能性などの利点がある。粉末は、溶解して除去される前に、鼻粘膜の湿った表面に付着する傾向がある。生体接着性賦形剤または繊毛作用を遅らせる薬剤を使用すると、クリアランス速度が低下し、吸収が向上する可能性がある。感湿性、溶解度、粒子サイズ、粒子形状、流動特性などの多くの要因が、堆積と吸収に影響を与える。

【0175】

乾燥粉末点鼻薬の例：

【0176】

SBNLファーマ ([www.sbnl.com](http://www.sbnl.com)) は最近、以前に *in vitro* 研究で記載された、吸収を高めるためのゾルミトリプタン粉末シクロデキストリン製剤 ( $\mu$ co (商標) システム) を用いた第1相研究のデータを報告した。ゾルミトリプタンの吸収は速く、相対的な生物学的利用能は市販の錠剤や点鼻スプレーよりも高かった。同社は、本発明による粉末製剤の投与に適した、カプセルベースの単回用量粉末装置 (Fit-lizer) を有する。チャンパーに挿入されると、カプセルの上部と下部が鋭い刃で切断される。プラスチックチャンパーは手で圧縮され、作動中に圧縮空気が一方向弁とカプセルを通過し、粉末が放出される。

【0177】

Bespak ([www.bespak.com](http://www.bespak.com)) は、Unidose-DPTMの原理である、Fit-lizer デバイスに似ている。空気で満たされたコンパートメントは、ピンが膜を破って圧力を解放し、粉末のブルームを放出するまで圧縮される。モデル抗体 (ヒト IgG) の粉末製剤の送達は、ヒトMRI画像に基づいた鼻キャストモデルでテストされている。投与量の約95%が鼻腔に送達されたが、その大部分は鼻前庭より先には沈着せず、鼻腔のより深い区画には約30%だけ沈着した。

【0178】

乾燥粉末吸入器の例：

【0179】

アストラゼネカは、鼻吸入用に改良されたタービュヘイラー複数回用量吸入器で供給されるブデソニド粉末を販売している (Rhinocort Turbuhaler (登録商標); [www.az.com](http://www.az.com))。一部の市場では、液体スプレーの代替品として、アレルギー性鼻炎や鼻ポリープ用に販売されている。

【0180】

Aptar グループ ([www.aptar.com](http://www.aptar.com)) は、シンプルなプリスターベースの粉末吸入器を提供している。使用前にプリスターに穴を開け、片方の鼻孔に装置のノーズピースを装着する。対象はもう片方の鼻孔を指で閉じ、粉末を鼻の中に吸い込む。Pfeiffer/Aptar製のプリスターベースの粉末吸入器 (BiDose (商標) / Prohaler (商標)) を使用したパーキンソン病用のアポモルヒネの粉末製剤が、最近StadaPharmaceutical ([www.stada.de](http://www.stada.de)) によって買収された英国の企業Britannia によって臨床開発中である。このような投与装置は、本明細書に記載の組成物を投与するために企図される。

【0181】

液体製剤の吸入器の例：

【0182】

吸入溶液および懸濁剤は、通常、治療上有効な成分を含む水性製剤であり、追加の賦形剤も含む場合がある。水ベースの経口吸入溶液および懸濁液は無菌でなければならない。吸入溶液および吸入懸濁液は、局所的および/または全身的效果を得るために経口吸入によって肺に送達することを目的としており、指定されたネブライザーと併用して使用される。これらの医薬品は、使用中の微生物汚染を防ぐため、単位用量での提供が推奨される。これらの医薬品の容器密閉システムは、容器と密閉容器で構成され、ホイルで覆うなどの保護包装を含めることができる。

10

20

30

40

50

## 【 0 1 8 3 】

例えば、アミカシンリポソーム吸入懸濁液（ALIS; Arikayce（登録商標））は、アミノグリコシド系抗菌薬アミカシンのリポソーム製剤である。噴霧後の吸入を介して投与されるALIS製剤は、全身への曝露を最小限に抑えながら、肺への標的を絞った局所的な薬物送達を促進するように設計されている。このような投与装置は、本明細書に記載の組成物を投与するために企図される。

## 【 0 1 8 4 】

液体製剤の点鼻薬の例：

## 【 0 1 8 5 】

点鼻スプレーディスペンサーは通常、定量された有効成分を含むスプレーを送達する非加圧ディスペンサーである。投与量はスプレーポンプで計量することも、製造中に事前に計量することもできる。点鼻スプレーユニットは、単位投与用に設計することも、原薬を含む製剤を最大数百回の計量スプレーで放出することもできる。点鼻薬は局所のおよび/または全身的な効果を得るために鼻腔に塗布される。

## 【 0 1 8 6 】

液体点鼻製剤は主に水溶液であるが、懸濁液や乳濁液も送達できる。液体製剤は、慢性鼻疾患に伴うことが多い乾燥やかさぶたを加湿によって防ぐ局所適応に特に便利であると考えられている。

## 【 0 1 8 7 】

例えば、Nemera (La Verpilliere, France)またはAptar Pharma (Illinois, USA)などから入手可能なディスペンサーが好ましい。例えば、NemeraはAdvancia（登録商標）点鼻スプレーディスペンサーを提供しており、これは、優れた投与量の一貫性とプライム保持力、目詰まり防止アクチュエーターを有し、製剤に金属が接触せず、衛生的な抗作動スナップオンオーバーキャップを備えた高性能ポンプである。さらなる例として、Aptar Pharmaの鼻ポンプ技術により、製薬会社が鼻スプレー製剤に防腐剤を添加する必要がなくなる。先端的防腐剤フリー（APF）システムは、チップシールとフィルター技術を使用して製剤の汚染を防ぐ。パネ仕掛けのチップシール機構が換気チャネル内のフィルター膜とともに採用されている。

## 【 0 1 8 8 】

計量およびスプレー生成（例えば、オリフィス、ノズル、ジェットなど）ポンプ機構およびコンポーネントは、製剤の再現可能な送達に使用され、そしてこれらは、寸法と構成の点で正確に制御された、さまざまな設計の多くの部品で構築できる。スプレーとして製剤を分散させるにはエネルギーが必要である。これは通常、鼻用アクチュエーターとその開口部を通して製剤を強制的に通過させることによって達成される。製剤と容器密閉システム（容器、密閉容器、ポンプ、およびあらゆる保護パッケージ）が集散的に医薬品を構成する。容器閉鎖システムの設計は、医薬品の投与性能に影響を与える。

## 【 0 1 8 9 】

いくつかの実施形態において、多用途ディスペンサー（multi-use dispenser）には、細菌やウイルスがリザーバーやポンプ装置に侵入するのを防ぐ膜（シリコン製が好ましい）が採用されている。いくつかの実施形態において、多用途ディスペンサーは金属を含まない流体経路を採用しており、それにより製剤の酸化を防ぐ。いくつかの実施形態において、多用途ディスペンサーにはパネ仕掛けのチップシール機構が採用されており、スプレーイベントの間に微生物がデバイスに侵入するのを防ぐ。

## 【 0 1 9 0 】

いくつかの実施形態において、ディスペンサーは、5 ~ 1000  $\mu$ L、好ましくは5 ~ 500  $\mu$ L、より好ましくは10 ~ 300  $\mu$ L、より好ましくは20 ~ 200  $\mu$ Lの複数の個別スプレーイベント用に構成される。

## 【 0 1 9 1 】

いくつかの実施形態において、ディスペンサーは、0.1 ~ 500 mL、好ましくは1 ~ 100 mL、より好ましくは2 ~ 50 mL、例えば約5、10または15 mLの組成物

の総量を含む。

【0192】

液剤用のドスプレーの例：

【0193】

Bona (ShenZhen, China)は、医療用包装材と補完品のサプライヤーである。同社は、のドスプレーや喉を標的にする必要があるその他の治療用に設計された、優れた分配と投与を提供するロングネックスプレーの製品ラインを提供している。

【0194】

ディスペンサーのアームは消費者が使いやすいように360度回転する。スプレーは、薬による喉の治療だけでなく、ウイルス感染から喉を保護するなど、局所治療を行うその他の治療にも適している。ディスペンサーは製薬グレードのPPおよびPEで作られていることが好ましく、ディスペンサーはあらゆるサイズのボトルと組み合わせることができる。現在、ネブライザーにはさまざまな一般的なサイズ(18/410、18/415、20/410、24/410)があり、220マイクロリットルから50マイクロリットルまで放出するように設定できる。

10

【0195】

医薬品の組み合わせ：

【0196】

本発明は医薬組成物に関し、他の実施形態では薬学的組み合わせ(pharmaceutical combination)に関する。本発明によれば、「薬学的組み合わせ」は、好ましくは、MSC由来の細胞外小胞およびAATタンパク質の組み合わせの存在、または組み合わせ投与における2つの成分の使用に関する。1つの実施形態において、この組み合わせは併用投与に適している。

20

【0197】

1つの実施形態において、本明細書に記載の薬学的組合せは、MSC由来の細胞外小胞が薬学的に許容される担体と混合された医薬組成物中にあることを特徴とし、そして、AATは、薬学的に許容される担体と混合された別個の医薬組成物中にある。したがって、本発明の薬学的組合せは、いくつかの実施形態では、互いに近接した2つの別個の組成物または剤形の存在に関連し得る。組み合わせた薬剤は、単一の組成物中に存在する必要はない。

30

【0198】

1つの実施形態において、本明細書に記載の薬学的組合せは、MSC由来の細胞外小胞および本明細書に記載のAATタンパク質が、空間的に近接しているが別個の容器および/または組成物中にキット中に存在することを特徴とする。キットの製造は当業者の能力の範囲内にある。1つの実施形態において、2つの別個の薬剤を含む別個の組成物は、組み合わせとして一緒に包装され、販売され得る。他の実施形態において、単一のカタログなど、2つの剤を組み合わせる個別のパッケージで提供することは、組み合わせとして理解される。

【0199】

1つの実施形態において、本明細書に記載の薬学的組合せは、MSC由来の細胞外小胞および本明細書に記載のAATタンパク質が、薬学的に許容される担体と混合して単一の医薬組成物中に組み合わせられることを特徴とする。組み合わせ薬剤または組成物は、組み合わせにおける両方の薬剤に適した適合性担体材料および製剤形態を評価できる当業者には公知である。

40

【0200】

併用投与：

【0201】

本発明によると、「併用投与」という用語は、同時投与または共同治療としても知られており、本明細書に記載の化合物の別個の薬剤の投与により、治療は、互いに、数分以内、同じ時間、同じ日、同じ週、または同じ月に同時に行うことができる、いくつかの実施

50

形態を包含する。2つの薬剤の交互投与は、併用投与の一実施形態とみなされる。時差投与は、併用投与という用語に包含され、1つの薬剤を投与し、続いて第2の薬剤を投与し、場合によっては再び第1の薬剤を投与するなどである。複数の薬剤の同時投与は、併用投与の一実施形態として考慮される。いくつかの実施形態では、同時投与は、例えば複数の薬剤を含む複数の組成物を同時に摂取すること、例えば別々の錠剤を同時に摂取することによる経口摂取を包含する。本明細書に開示される複数の薬剤と任意に追加の抗癌剤を含む単一製剤などの併用薬剤も、単回投与または用量で様々な成分を併用投与するために使用され得る。

#### 【0202】

1つの薬剤の併用療法または併用投与は、数分から数週間の範囲の間隔で、併用される他の薬剤による治療と同時に、または治療の前後に行われてもよい。第2の薬剤と第1の薬剤が別々に投与される実施形態では、一般に、第1の薬剤と第2の薬剤が治療部位に有利に組み合わせられた相乗効果を発揮することができるように、各送達の時間の間にかなりの時間が経過していないことを確認することになる。このような例では、互いに約12~24時間以内、より好ましくは互いに約6~12時間以内に両方のモダリティで対象に接触することが想定されており、遅延時間はわずかに約12時間が最も好ましい。状況によっては、治療期間を大幅に延長することが望ましい場合があるが、各投与は、数日(2、3、4、5、6、または7日)から数週間(1、2、3、4、5、6、7、または8日)の間隔がある。

10

#### 【0203】

本発明の意味において、本明細書に記載される複数の薬剤のいかなる投与形態も併用投与に包含され、有益な追加の治療効果、好ましくは相乗効果が2つの薬剤の併用投与を通じて達成される。

20

#### 【0204】

相乗効果:

#### 【0205】

いくつかの実施形態において、MSC由来の細胞外小胞とAATタンパク質の組み合わせは相乗効果をもたらす。

#### 【0206】

任意の組み合わせによって得られる相乗効果または拮抗作用の程度を決定または定量化するために、多数のモデルを使用することができる。典型的には、相乗効果は、2つの既知の効果の合計を超える規模の効果であると考えられる。いくつかの実施形態において、組み合わせた反応は、参照モデルを使用して計算された非相互作用の仮定の下で、予想される組み合わせ反応と比較されます(Tang J. et al.を参照(Tang, Wennerberg, and Aittokallio 2015))。

30

#### 【0207】

一般的に使用される参照モデルには、最高単一エージェント(HSA)モデル(Berenbaum 1989)、Loewe相加モデル(LOEWE 1953)、Bliss独立モデル(BLISS 1939)、そしてより最近ではゼロ相互作用効力(ZIP)モデル(Yadav et al. 2015)が含まれる。これらの参照モデルで行われている仮定は互いに異なるため、相乗効果の程度について多少一貫性のない結論が得られる可能性がある。それにも関わらず、本発明によれば、これらのモデルのいずれかが本明細書に記載の組み合わせにおける薬剤間の相乗効果を示す場合、相乗効果が達成されたと仮定することができる。好ましくは、これらのモデルの2、3、または全4つは、本明細書に記載されている組み合わせの任意の2つの薬剤間の相乗効果を明らかにする。

40

#### 【0208】

限定されるものではないが、信頼できる結果が得られる4つの参照モデルが推奨される: (i) HSAモデル。相乗効果スコアは、最高の単一薬物反応に対する超過を定量化する; (ii) Loeweモデル。相乗効果スコアは、2つの薬物が同じ化合物である場合に、予想される反応に対する超過分を定量化する; (iii) Blissモデル。期待される

50

反応は、2つの薬物が独立して作用するような乗数効果である；および（i v）ZIPモデル。期待される反応は、2つの薬剤が互いの効力に影響を与えないかのように、相加効果に対応する。

【0209】

最も広く使用されている組み合わせの基準であり、相乗効果を決定するための推奨モデルは、「Loewe相加性」もしくは「Loeweモデル」(Loewe 1928; LOEWE 1953; Loewe and Muischnek 1926)、または「用量相加性」であり、用量マトリックスの両側に同じ化合物が含まれている場合の、2つの薬剤間の効力のトレードオフを説明するものである。例えば、1 uMの薬物Aまたは1 uMの薬物Bによって個別に50%阻害が達成される場合、0.5 uMのAと0.5 uMのBの組み合わせでも50%阻害されるはずである。このレベルを超える相乗効果は、提案される併用療法の臨床使用を正当化する場合に特に重要であり、これは、単にどちらかの薬剤の用量を増やすよりも、併用が追加の利益を提供できる点を定義するためである。

10

【図面の簡単な説明】

【0210】

以下の図は、本発明の特定の実施形態を説明するために提示されるものであり、範囲を限定するものではない。

【0211】

【図1】AATは、遺伝子組換えMSC由来のAATをコードする導入遺伝子から発現される。

20

【図2】遺伝子組換えMSCおよびヒト血漿から発現されたAATは、好中球エラスターゼの阻害において同等に強力である。

【図3】マウスモデルにおけるエラスターゼ誘発性肺気腫の治療のための生体内実験の概略図。

【図4-1】マウスモデルにおけるエラスターゼ誘発性気腫の治療における、AATを発現するように形質導入されたMSCのin vivo有効性。

【図4-2】同上

【図5】肺組織の修復と再生は組織学的分析によって評価された。

【発明を実施するための形態】

【0212】

以下の実施例は、本発明の特定の実施形態を説明するために提示されるものであり、範囲を限定するものではない。

30

【実施例】

【0213】

遺伝子組換えMSCからのAAT発現：

【0214】

4人の健康なドナーに由来する初代ヒトMSCに、最適化されたレトロウイルス構築物を形質導入した（n=36）。形質導入された細胞をピューロマイシンで選択し、確立されたプロトコルに従って増殖させた。遺伝子改変されたMSCから分泌されたタンパク質（分泌された細胞外小胞の形態を含む）は、ヒトAATを特異的に検出するELISAによって細胞培養上清中で定量された。AAT-MSCは48時間で平均約650ng AAT/ $1 \times 10^5$ 細胞/VCを生成する。結果は図1に示される。

40

【0215】

遺伝子組換えMSCから発現したAATとヒト血漿から発現したAAT：

【0216】

形質導入されたMSCの上清（分泌された細胞外小胞を含む）を好中球エラスターゼとともにインキュベートした後、蛍光エラスターゼ基質を添加した。上清による好中球エラスターゼの阻害の場合、基質の加水分解が減少し、その結果、RFU出力が減少した。ヒト血清由来の天然の完全長AATをポジティブコントロールとしてテストした。DME Mおよび非形質導入MSC由来の上清はネガティブコントロールとして機能した。形質導

50

入されたMSCおよびヒト血漿由来のAATは、好中球エラスターゼの阻害において同等に強力である。結果は図2に示される。

【0217】

エラスターゼ誘発性肺気腫の治療のためのトランスジェニックAATを発現するMSC:

【0218】

AATを発現するように形質導入されたMSCのin vivo有効性を、マウスモデルにおけるエラスターゼ誘発性肺気腫の治療において評価した。モデルの概要を図3に示す。

【0219】

図4に見られるように、6つの肺機能パラメータのうち5つの統計的に有意な改善は、ネイティブMSCではなく、AAT-MSCによって達成された。

10

【0220】

肺組織の修復と再生は、未変更MSCまたはAAT-MSCでの治療後の組織学的分析によって評価された。図5に示すように、AAT-MSCを2回適用した後の有意な肺組織の修復/再生が確認された。

【0221】

まとめ:

【0222】

上に示したように、AATは外因性遺伝子からMSCで効果的に発現され、ヒト血漿から単離されたAATと同様の活性を示す。本明細書に記載のエラスターゼ誘発性気腫肺モデルの治療は、特に肺組織に関して、MSC由来のAAT発現および分泌、ならびにそこで達成される望ましい抗炎症特性の支持を表す。

20

【0223】

単離されたMSC細胞外小胞を、MSCから濃縮または発現されたAATと組み合わせで使用した場合のウイルス感染に対する効果の直接評価が進行中である。

【0224】

図面の用語

AAT[ng/1x10<sup>5</sup> cells/48h/VCN] AAT[ng/1x10<sup>5</sup> 細胞/48時間/VCN]

MSCs transduced 形質導入されたMSC

NE Activity NE活性

human plasma ヒト血漿

30

Elastase エラスターゼ

1st MSC application 第1のMSC適用

2ndMSC application 第2のMSC適用

Group 群

Treatment 処置

Cell dose/mouse 細胞投与量/マウス

Applicationvolume 適用容量

cells/mouse [μL] 細胞/マウス[μL]

Administration route 投与経路

Animals/Group 動物/群

40

Saline 生理食塩水

Oropharyngeal 中咽頭

Forced Expiratory Volume 努力呼気量

Dynamic Compliance 動的なコンプライアンス

Forced Vital Capacity 強制肺活量

Chord compliance 気道コンプライアンス

Inspiratory Capacity 吸気能力

Vital Capacity 肺活量

Emphysema scoring 肺気腫のスコアリング

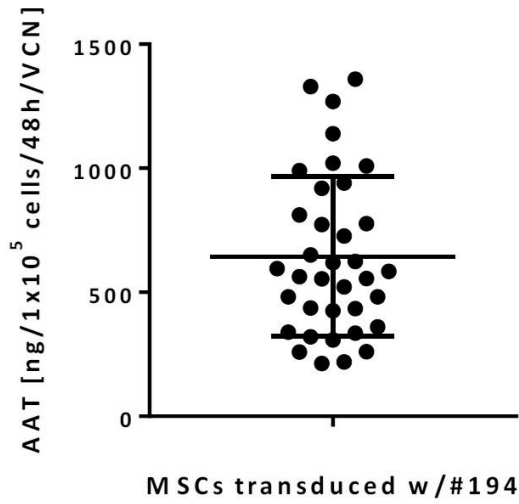
Scoring スコアリング

50

【 図 面 】

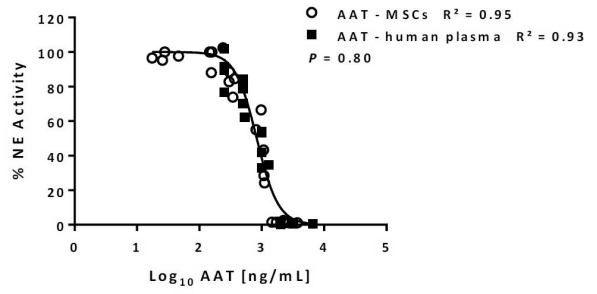
【 図 1 】

Fig. 1



【 図 2 】

Fig. 2

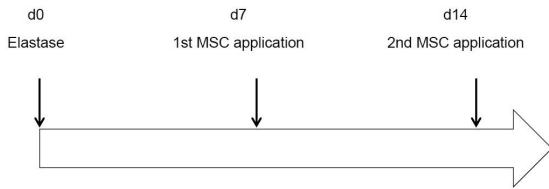


10

20

【 図 3 】

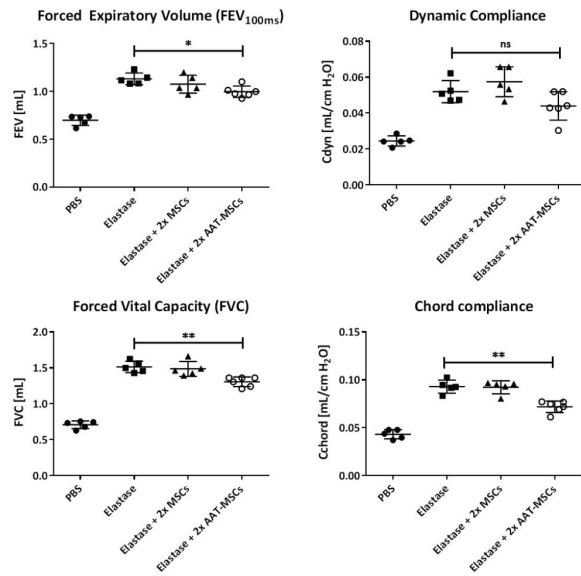
Fig. 3



Group	Treatment 1	Treatment 2	Cell dose/mouse	Application volume cells/mouse [μl]	Administration route	Animals/group
1	PBS	Saline	N.a.	100	Oropharyngeal	6
2	Elastase	Saline	N.a.	100	Oropharyngeal	6
3	Elastase	MSCs	5x10 <sup>5</sup> (2x)	100	Oropharyngeal	6
4	Elastase	AAT-MSCs	5x10 <sup>5</sup> (2x)	100	Oropharyngeal	6

【 図 4 - 1 】

Fig. 4



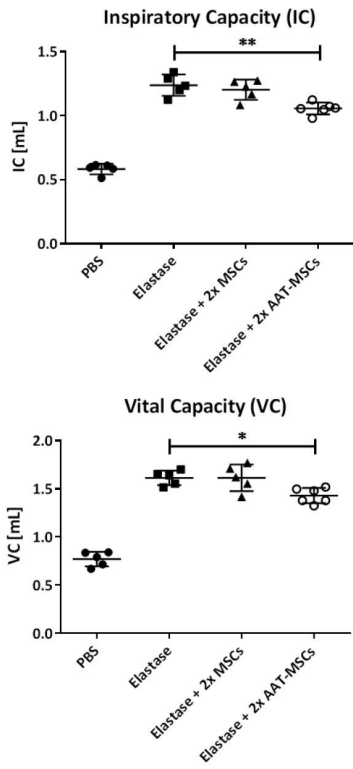
30

40

50

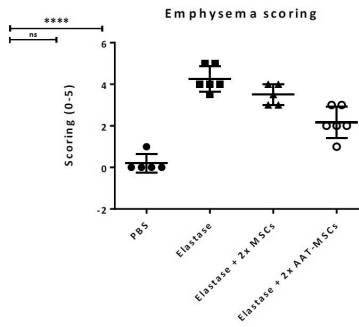
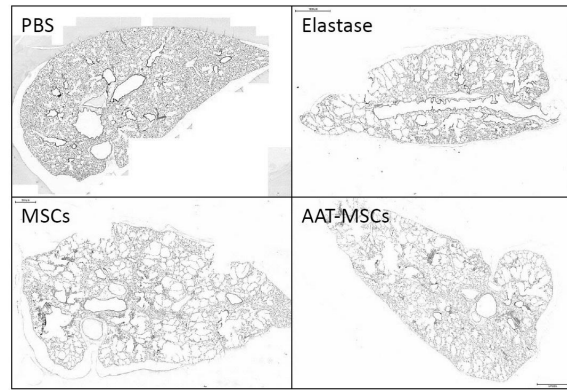
【 図 4 - 2 】

Fig. 4 (cont.)



【 図 5 】

Fig. 5



10

20

30

40

50

【 配列表 】

2023547728000001.app

【手続補正書】

【提出日】令和4年4月4日(2022.4.4)

【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】

アルファ-1アンチトリプシン(AAT)タンパク質を含む、ヒト対象におけるウイルス感染症の治療および/または予防における医薬品としての使用のための医薬組成物であって、該医薬組成物は吸入によって投与されるものである、医薬組成物。 10

【請求項2】

医薬組成物はAATタンパク質を含有する溶液の形態である、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項3】

医薬組成物は固体薬物粒子の懸濁液の形態である、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項4】

医薬組成物は微粉化粉末などの乾燥粉末の形態である、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項5】

医薬組成物が、AATタンパク質を含む溶液または懸濁液を吸入および/または噴霧することによって、治療有効量の医薬組成物を鼻腔、口腔または気道に導入することによって投与される、請求項1~4のいずれか1項に記載の医薬組成物。 20

【請求項6】

医薬組成物はネブライザーによって投与される、請求項1~5のいずれか1項に記載の医薬組成物。

【請求項7】

医薬組成物は加圧定量吸入器または乾燥粉末吸入器のいずれかのディスペンサーによって投与される、請求項1~5のいずれか1項に記載の医薬組成物。

【請求項8】

医薬組成物は点鼻スプレーまたは口腔スプレーのいずれかのディスペンサーによって投与される、請求項1~5のいずれか1項に記載の医薬組成物。 30

【請求項9】

100mL溶液当たり10から500mgのタンパク質の濃度を示す、好ましくは100mL溶液当たり50から200mgまたは約100mgのタンパク質の濃度を示す、AAT溶液が投与される、請求項1~8のいずれか1項に記載の医薬組成物。

【請求項10】

AATタンパク質は配列番号3に示される配列を含む、および/または配列番号1もしくは2に記載のヌクレオチド配列によりコードされる、請求項1~9のいずれか1項に記載の医薬組成物。 40

【請求項11】

対象者がウイルス感染症の疑いがある、および/またはウイルス感染症のある個人と近接および/または接触したことがある、請求項1~10のいずれか1項に記載の医薬組成物。

【請求項12】

重症急性呼吸器症候群(SARS)を発症するリスクがある患者に予防的に投与される、請求項1~11のいずれか1項に記載の医薬組成物。

【請求項13】

ウイルス感染症のウイルスがコロナウイルスである、請求項1~12のいずれか1項に記載の医薬組成物。 50

【請求項 14】

ウイルス感染症のウイルスがSARS-CoV-2である、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 15】

ウイルス感染症のウイルスはSARS-CoV-2であり、および医薬組成物はネブライザーによって投与される、請求項 1 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

10

20

30

40

50

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No <b>PCT/EP2021/080936</b>
--

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
INV.	<b>A61K9/00</b>	<b>A61K35/28</b>
		<b>A61K38/57</b>
		<b>A61P31/12</b>
ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
<b>A61K A61P</b>		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
<b>EPO-Internal, BIOSIS, Sequence Search, EMBASE, FSTA, WPI Data</b>		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
<b>A</b>	<b>GEIGER S. ET AL: "Amelioration of lung function and pulmonary tissue regeneration after treatment with AAT-expressing human mscs in a murine model of elastase-induced emphysema", CYTOTHERAPY, vol. 19, no. 5, 1 May 2017 (2017-05-01), pages S23-S24, XP055795144, GB ISSN: 1465-3249, DOI: 10.1016/j.jcyt.2017.02.041 abstract</b>	<b>1-15</b>
<b>A</b>	<b>WO 2016/146819 A1 (APCETH GMBH &amp; CO KG [DE]) 22 September 2016 (2016-09-22) page 22 - page 23</b>	<b>1-15</b>
	----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
<b>26 January 2022</b>	<b>04/02/2022</b>	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer  <b>Dolce, Luca</b>	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

page 1 of 3

10

20

30

40

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2021/080936
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p><b>BARI ET AL:</b> "Adipose Mesenchymal Extracellular Vesicles as Alpha-1-Antitrypsin Physiological Delivery Systems for Lung Regeneration", <b>CELLS</b>, vol. 8, no. 9, 23 August 2019 (2019-08-23), page 965, XP055786126, DOI: 10.3390/cells8090965 figures 4-6</p> <p>-----</p>	1-15
A	<p><b>WO 2012/125471 A1 (CHILDRENS MEDICAL CENTER [US]; MITSIALIS S ALEXANDER [US] ET AL.)</b> 20 September 2012 (2012-09-20) page 2 - page 3</p> <p>-----</p>	1-15
A	<p><b>ROCHA JOSÉ LUCAS MARTINS ET AL:</b> "Mesenchymal Stromal Cells in Viral Infections: Implications for COVID-19", <b>STEM CELL REVIEWS AND REPORTS</b>, vol. 17, no. 1, 7 September 2020 (2020-09-07), pages 71-93, XP037374869, ISSN: 2629-3269, DOI: 10.1007/s12015-020-10032-7 page 78 - page 87</p> <p>-----</p>	1-15
Y	<p><b>PINKY ET AL:</b> "Mesenchymal Stem Cell Derived Exosomes: a Nano Platform for Therapeutics and Drug Delivery in Combating COVID-19", <b>STEM CELL REVIEWS AND REPORTS</b>, vol. 17, no. 1, 13 July 2020 (2020-07-13), pages 33-43, XP037374747, ISSN: 2629-3269, DOI: 10.1007/s12015-020-10002-z figure 1</p> <p>-----</p>	1-15
Y	<p><b>SENGUPTA VIKRAM ET AL:</b> "Exosomes Derived from Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells as Treatment for Severe COVID-19", <b>STEM CELLS AND DEVELOPMENT</b>, vol. 29, no. 12, 12 May 2020 (2020-05-12), pages 747-754, XP055795147, US ISSN: 1547-3287, DOI: 10.1089/scd.2020.0080 figure 3</p> <p>-----</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	1-15

10

20

30

40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/EP2021/080936

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>Oguntuyo Kasopefoluwa Y ET AL: "In plain sight: the role of alpha-1-antitrypsin in COVID-19 pathogenesis and therapeutics", bioRxiv, 15 August 2020 (2020-08-15), pages 1-27, XP055795146, DOI: 10.1101/2020.08.14.248880 Retrieved from the Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7430570/ [retrieved on 2021-04-14] abstract, fig. 3</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-15

10

20

30

40

International application No.

PCT/EP2021/080936

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

**Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)**

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a.  forming part of the international application as filed:

in the form of an Annex C/ST.25 text file.

on paper or in the form of an image file.

b.  furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

c.  furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2.  In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

10

20

30

40

50

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

**PCT/EP2021/080936**

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
<b>WO 2016146819 A1</b>	<b>22-09-2016</b>	<b>NONE</b>	
-----			
<b>WO 2012125471 A1</b>	<b>20-09-2012</b>	<b>CA 2829586 A1</b>	<b>20-09-2012</b>
		<b>CN 103648509 A</b>	<b>19-03-2014</b>
		<b>CN 109432126 A</b>	<b>08-03-2019</b>
		<b>EP 2683389 A1</b>	<b>15-01-2014</b>
		<b>ES 2629502 T3</b>	<b>10-08-2017</b>
		<b>JP 6204830 B2</b>	<b>27-09-2017</b>
		<b>JP 6524162 B2</b>	<b>05-06-2019</b>
		<b>JP 2014507482 A</b>	<b>27-03-2014</b>
		<b>JP 2018030845 A</b>	<b>01-03-2018</b>
		<b>KR 20140024310 A</b>	<b>28-02-2014</b>
		<b>KR 20190018536 A</b>	<b>22-02-2019</b>
		<b>US 2014065240 A1</b>	<b>06-03-2014</b>
		<b>US 2018221412 A1</b>	<b>09-08-2018</b>
		<b>WO 2012125471 A1</b>	<b>20-09-2012</b>
-----			

10

20

30

40

50

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K 9/14 (2006.01) A 6 1 K 9/14

A 6 1 K 9/72 (2006.01) A 6 1 K 9/72 Z N A

,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,D  
 K,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),O  
 A(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,B  
 B,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD  
 ,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,  
 LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,  
 RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,Z  
 W

(74)代理人 100225015

弁理士 中島 彩夏

(72)発明者 シュタンゲル, マンフレート

ドイツ連邦共和国, 8 2 0 5 4 ザウエルラッハ, ヴィルトフェルトウエグ 1 4

(72)発明者 ストラスメア, マイケル

ドイツ連邦共和国, 8 5 6 6 2 ホーエンブルン, ブルンネンガッセ 2 7, シーノオー ジュンク

トゥセル バイオメッド マニュファクチャリング ジーエムビーエイチ

F ターム (参考) 4C076 AA11 AA22 AA29 AA93 BB22 BB25 CC35

4C084 AA02 AA03 BA44 DC03 MA17 MA23 MA43 MA57 MA59 NA14

ZB33