

【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4年7月29日(2022.7.29)

【国際公開番号】WO2020/021541
 【公表番号】特表2022-519409(P2022-519409A)
 【公表日】令和4年3月24日(2022.3.24)
 【年通号数】公開公報(特許)2022-052
 【出願番号】特願2021-503582(P2021-503582)
 【国際特許分類】

10

A 6 1 K 3 5 / 2 8 (2 0 1 5 . 0 1)
 A 6 1 P 4 3 / 0 0 (2 0 0 6 . 0 1)
 C 1 2 N 5 / 0 7 7 5 (2 0 1 0 . 0 1)
 C 1 2 N 5 / 1 0 (2 0 0 6 . 0 1)
 C 1 2 N 5 / 0 7 8 9 (2 0 1 0 . 0 1)

【F I】

A 6 1 K 3 5 / 2 8
 A 6 1 P 4 3 / 0 0 1 0 5
 C 1 2 N 5 / 0 7 7 5
 C 1 2 N 5 / 1 0
 C 1 2 N 5 / 0 7 8 9

20

【手続補正書】
 【提出日】令和4年7月21日(2022.7.21)
 【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】

30

【請求項1】

対象の衰弱状態を治療または縮小するのに使用するための医薬組成物であって、前記医薬組成物が、前記対象の体重1キログラムあたり少なくとも $10^5 \sim 2 \times 10^7$ 個のヒト幹細胞を含み、前記ヒト幹細胞が、前記細胞の生存能力を支援することができる薬学的に許容可能な液体培地中に懸濁され、前記ヒト幹細胞が、外因性ミトコンドリアで富化され、前記衰弱状態が、老齢、老齢関連疾患、および抗癌治療の続発症からなる群から選択される、医薬組成物。

【請求項2】

前記富化が、百万個の細胞あたり少なくとも0.044~最大176ミリユニットのCS活性のミトコンドリアの用量と前記幹細胞を接触させることを含むか、または
 前記富化が、百万個の細胞あたり0.044~最大17.6ミリユニットのCS活性のミトコンドリアの用量と前記幹細胞を接触させることを含む、請求項1に記載の医薬組成物。

40

【請求項3】

前記抗癌治療が、放射線、化学療法、およびモノクローナル抗体を用いた免疫療法からなる群から選択される、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項4】

前記ヒト幹細胞が、自家、同系、またはドナーからであるか、
前記ヒト幹細胞が、衰弱状態に罹患している対象に対して同種異系であるか、
前記ヒト幹細胞が、衰弱状態に罹患している対象に対して同種異系であり、かつ前記治療

50

が、衰弱状態に罹患している対象に、前記対象と前記同種異系のドナーの幹細胞との間の有害な免疫原性反応を防止、遅延、最小化、または無効化する薬剤を投与するステップをさらに含むか、

前記ヒト幹細胞が、多能性幹細胞 (P S C) または人工多能性幹細胞 (i P S C) であるか、

前記ヒト幹細胞が、血液幹細胞であるか、

前記ヒト幹細胞が、間葉系幹細胞であるか、

前記ヒト幹細胞が、脂肪組織、口腔粘膜、血液、または臍帯血に由来するか、

前記ヒト幹細胞が、骨髄細胞に由来するか、

前記ヒト幹細胞が、骨髄系共通前駆細胞、リンパ球系共通前駆細胞、またはそれらの任意の組み合わせを含むか、 10

前記ヒト幹細胞が、C D 3 4 + 細胞であるか、

前記ヒト幹細胞が、少なくとも部分的に精製されているか、または

前記ミトコンドリアが、胎盤、培養で成長させた胎盤細胞、および血液細胞からなる群から選択される細胞または組織に由来する、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 5】

前記医薬組成物が、特定の組織または器官に投与されるか、

前記医薬組成物が、全身非経口投与によって投与されるか、

前記医薬組成物が、静脈内、動脈内、筋肉内、皮下、腹腔内、および組織または器官への直接注射からなる群から選択される非経口経路により投与されるか、 20

前記医薬組成物が、前記患者の体重 1 キログラムあたり少なくとも約 1.0×10^6 個のミトコンドリア富化ヒト幹細胞を含むか、または

前記医薬組成物が、ヒトミトコンドリアで富化された、合計約 $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^9$ 個のヒト幹細胞を含む、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

前記ミトコンドリア富化ヒト幹細胞が、ミトコンドリア富化前の前記幹細胞における対応するレベルと比較して、

(i) 増加したミトコンドリア D N A 含有量、

(i i) 増加した C S 活性レベル、

(i i i) コハク酸デヒドロゲナーゼ複合体サブユニット A (S D H A) およびチトクローム C オキシダーゼ (C O X 1) から選択される少なくとも 1 つのミトコンドリアタンパク質の増加した含有量、 30

(i v) 増加した O 2 消費率、

(v) 増加した A T P 産生率、または

(v i) それらの任意の組み合わせ

を有する、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

ヒト幹細胞を外因性ミトコンドリアで富化するためのエクスピボ法であって、

(i) 老齢、老齢関連疾患、および抗癌治療の続発症からなる群から選択される衰弱状態に罹患している個体からまたはドナーから得られたまたは部分的に精製された複数のヒト幹細胞を含む、第 1 の組成物を提供するステップと、 40

(i i) 健康なドナーから得られた単離されたまたは部分的に精製された複数のヒトミトコンドリアを含む、第 2 の組成物を提供するステップと、

(i i i) 前記第 1 の組成物の前記ヒト幹細胞を、前記第 2 の組成物の前記ヒト機能的ミトコンドリアと、 10^6 個の幹細胞あたり $0.044 \sim 176$ m U の C S 活性の比率で接触させるステップと、

(i v) 前記ヒトミトコンドリアが前記ヒト幹細胞に入るのを可能にする条件下で (i i i) の前記組成物をインキュベートし、それにより、前記ヒト幹細胞を前記ヒトミトコンドリアで富化するステップと、を含み、

前記富化されたヒト幹細胞の前記ミトコンドリア含有量が、前記第 1 の組成物中の前記ヒ 50

ト幹細胞の前記ミトコンドリア含有量よりも検出可能に高い、エクスピボ法。

【請求項 8】

ヒト幹細胞を機能的な外因性ミトコンドリアで富化するためのエクスピボ法であって、

(i) 悪性疾患に罹患している個体からまたは健康なドナーから単離されたまたは部分的に精製された複数のヒト幹細胞を含む、第 1 の組成物を提供するステップと、

(i i) 同じ個体からまたは健康なドナーから得られた単離されたまたは部分的に精製された複数のヒトミトコンドリアを含む、第 2 の組成物を提供するステップと、

(i i i) 前記第 1 の組成物の前記ヒト幹細胞を、前記第 2 の組成物の前記ヒトミトコンドリアと、 10^6 個の幹細胞あたり $0.044 \sim 176$ mU の CS 活性の比率で接触させるステップと、

(i v) 前記ヒトミトコンドリアが前記ヒト幹細胞に入るのを可能にする条件下で (i i i) の前記組成物をインキュベートし、それにより、前記ヒト幹細胞を前記ヒトミトコンドリアで富化するステップと、を含み、

前記富化されたヒト幹細胞の前記ミトコンドリア含有量が、前記第 1 の組成物中の前記ヒト幹細胞の前記ミトコンドリア含有量よりも検出可能に高い、エクスピボ法。

10

【請求項 9】

前記第 1 の組成物中の前記幹細胞が、非造血性悪性疾患に罹患している対象から、または悪性疾患に罹患していない健康なドナーから得られる、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記外因性ミトコンドリアが前記ヒト幹細胞に入るのを可能にする前記条件が、前記ヒト幹細胞を、前記外因性ミトコンドリアとともに、 $16 \sim 37$ の範囲の温度で $0.5 \sim 30$ 時間の範囲の時間にわたってインキュベートすることを含むか、

20

インキュベーションの前に、前記方法が、前記ヒト幹細胞および前記外因性ミトコンドリアの、 $2500 \times g$ を超える単一遠心分離をさらに含むか、

前記方法が、前記外因性ミトコンドリアでの富化の前または後に、前記幹細胞を拡大することをさらに含むか、

前記自家ヒト幹細胞が、衰弱状態に罹患する前に凍結および保存されるか、

前記ヒト幹細胞をミトコンドリアで富化するプロセスが、前記細胞を凍結する前に実行されるか、または

前記ヒト幹細胞をミトコンドリアで富化するプロセスが、前記細胞を凍結および解凍した後に実行される、

30

請求項 7 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

前記第 2 の組成物中の前記ミトコンドリアが、抗癌治療の前に悪性疾患に罹患している対象から得られる、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 12】

ミトコンドリア富化前またはミトコンドリア富化後の前記幹細胞のミトコンドリア含有量の検出可能な富化が、(i) SDHA および COX 1 から選択される少なくとも 1 つのミトコンドリアタンパク質の含有量、(i i) クエン酸シンターゼの活性レベル、(i i i) 酸素 (O_2) 消費率、(i v) アデノシン三リン酸 (ATP) 産生率、(v) ミトコンドリア DNA 含有量、ならびにそれらの任意の組み合わせからなる群から選択されるアッセイによって決定される、請求項 7 および 8 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 13】

前記ヒト幹細胞が、多能性幹細胞 (PSC) または人工多能性幹細胞 (iPSC) であるか、

前記ヒト幹細胞が、血液幹細胞であるか、

前記ヒト幹細胞が、間葉系幹細胞であるか、

前記ヒト幹細胞が、脂肪組織、皮膚線維芽細胞、口腔粘膜、血液、臍帯血、または骨髄に由来するか、

前記ヒト幹細胞が、CD34+ 細胞であるか、

50

前記幹細胞が、骨髄細胞であるか、

前記部分的に精製されたミトコンドリア中のミトコンドリアタンパク質の総量が、試料中の細胞タンパク質の総量の20%～80%の間であるか、

ミトコンドリアで富化された前記幹細胞が、ミトコンドリア富化前の幹細胞と比較して、
(i) SDHAおよびCOX1から選択される少なくとも1つのミトコンドリアタンパク質の増加した含有量、

(ii) 増加した酸素(O₂)消費率、

(iii) 増加したクエン酸シターゼの活性レベル、

(iv) 増加したアデノシン三リン酸(ATP)産生率、

(v) 増加したミトコンドリアDNA含有量、または

(vi) それらの任意の組み合わせ

を有する、請求項7および8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項14】

請求項7および8のいずれか一項に記載の方法によって得られた、ミトコンドリアで富化された複数のヒト幹細胞。

【請求項15】

請求項14に記載の複数のヒト幹細胞を含む、医薬組成物。

【請求項16】

富化されていない幹細胞、巨核球、赤血球、肥満細胞、筋芽細胞、好塩基球、好中球、好酸球、単球、マクロファージ、ナチュラルキラー(NK)細胞、小リンパ球、Tリンパ球、Bリンパ球、形質細胞、細網細胞、またはそれらの任意の組み合わせをさらに含む、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項17】

増加したミトコンドリアDNA含有量が、内因性および/または外因性ミトコンドリア由来である、請求項6または13に記載の医薬組成物。

【請求項18】

前記ヒト外因性ミトコンドリアが、ミトコンドリア富化ヒト幹細胞中の全ミトコンドリアの少なくとも1%を構成する、請求項1に記載の医薬組成物。

10

20

30

40

50