

【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2月17日(2022.2.17)

【国際公開番号】WO2019/178550

【公表番号】特表2021-518365(P2021-518365A)

【公表日】令和3年8月2日(2021.8.2)

【出願番号】特願2020-549702(P2020-549702)

【国際特許分類】

A 6 1 K 35/30(2015.01)

A 6 1 P 25/00(2006.01)

A 6 1 P 21/04(2006.01)

A 6 1 P 25/16(2006.01)

A 6 1 P 25/14(2006.01)

A 6 1 P 25/28(2006.01)

A 6 1 K 38/18(2006.01)

A 6 1 K 31/65(2006.01)

A 6 1 K 48/00(2006.01)

A 6 1 P 43/00(2006.01)

C 1 2 N 15/85(2006.01)

C 1 2 N 15/12(2006.01)

C 1 2 N 15/09(2006.01)

C 1 2 N 5/0797(2010.01)

C 1 2 N 5/10(2006.01)

10

20

【F I】

A 6 1 K 35/30

A 6 1 P 25/00

A 6 1 P 21/04

A 6 1 P 25/16

A 6 1 P 25/14

A 6 1 P 25/28

A 6 1 K 38/18

A 6 1 K 31/65

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 43/00 1 2 1

C 1 2 N 15/85 Z Z N A

C 1 2 N 15/12

C 1 2 N 15/09

C 1 2 N 5/0797

C 1 2 N 5/10

30

40

【手続補正書】

【提出日】令和4年2月8日(2022.2.8)

【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】

50

複数の人工多能性幹細胞由来神経前駆細胞 (i N P C) を含む、神経変性障害に罹患している個体の中枢神経系におけるグリア由来神経栄養因子 (G D N F) レベルを増加させる方法において使用するための医薬であって、

前記 i N P C が、

構成的プロモーター、

T e t 応答因子を含む誘導性双方向性ポリシストロニックプロモーター、及び G D N F をコードする配列

を含む、ゲノムに組み込まれた発現カセット

を発現する、

前記医薬。

10

【請求項 2】

前記神経変性障害が、筋萎縮性側索硬化症 (A L S)、パーキンソン病、ハンチントン病、及びアルツハイマー病から選択される、請求項 1 に記載の医薬。

【請求項 3】

前記中枢神経系が、脳の領域を含み、

任意で、前記脳の前記領域が、黒質、及び / または運動皮質、及び / または嗅内皮質、及び / または海馬を含み、

任意で、前記個体が、ヒトである、

請求項 1 または 2 に記載の医薬。

20

【請求項 4】

前記ゲノムに組み込まれた発現カセットが、前記ゲノムに組み込まれた発現カセットを含む細胞の発がん性形質転換の確率が低減したゲノムの領域に組み込まれている、及び / または

前記ゲノムに組み込まれた発現カセットが、アデノ随伴ウイルス部位 1 (A A V S 1)、ケモカイン (C - C モチーフ) 受容体 5 (C C R 5) 遺伝子、及びマウス R o s a 2 6 遺伝子座のヒトオルソログから選択されるゲノムの領域に組み込まれている、及び / または前記ゲノムに組み込まれた発現カセットが、相同組み換えにより組み込まれている、及び / または

前記ゲノムに組み込まれた発現カセットが、単一コピーとして組み込まれている、及び、任意で、テトラサイクリンクラス抗生物質が前記個体にさらに投与され、前記テトラサイクリンクラス抗生物質が、前記複数の人工多能性幹細胞由来神経前駆細胞において G D N F m R N A の転写を誘導する、

請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の医薬。

30

【請求項 5】

ある量の細胞を含む、疾患または状態を処置する方法において使用するための医薬であって、前記細胞が、治療用タンパク質またはペプチドを発現し、さらに、前記細胞、治療用タンパク質もしくはペプチド、またはその両方が、前記疾患または状態を処置することが可能であり、任意で、

前記細胞が、神経系細胞であり、任意で、前記神経系細胞が、神経前駆細胞であり、任意で、前記神経前駆細胞が、人工多能性幹細胞 (i P S C) に由来し、

前記細胞が、1 つ以上のベクター由来の発現カセットを発現し、かつ

前記 1 つ以上のベクター由来の前記発現カセットを発現する前記細胞が、ヌクレオフェクト、トランスフェクト、またはエレクトロポレーションされる、

医薬。

40

【請求項 6】

前記 1 つ以上のベクターが、p i g g y B a c ベクター、p B a s e ベクター、またはその両方を含む、

任意で、前記 p i g g y B a c ベクターが、少なくとも 2 つのプロモーターを含み、少なくとも 1 つのプロモーターが、誘導性である、及び / または前記少なくとも 1 つの誘導性プロモーターが、ポリシストロニックである、及び / または前記少なくとも 1 つの誘導性

50

ポリシストロニックプロモーターが、双方向性である、
請求項 5 に記載の医薬。

【請求項 7】

前記発現カセットが、ゲノムに組み込まれており、任意で、前記発現カセットが、前記治療用タンパク質またはペプチドをコードする、及び/または前記治療用タンパク質またはペプチドが、神経栄養因子を含む、及び/または前記神経栄養因子が、グリア由来神経栄養因子 (G D N F) を含む、

請求項 5 に記載の医薬。

【請求項 8】

前記疾患または状態が、神経変性疾患であり、
任意で、前記神経変性疾患が、筋萎縮性側索硬化症 (A L S) である、及び/または前記ある量の細胞が、注射によって投与されるものであり、及び/またはテトラサイクリン、そのアナログまたは誘導体がさらに投与される、
請求項 5 に記載の医薬。

10

【請求項 9】

ある量の人工多能性幹細胞 (i P S C) 由来細胞を提供すること、及び前記 i P S C 由来細胞に少なくとも 2 つのベクターを導入することを含む、方法であって、

前記 i P S C 由来細胞が、神経前駆細胞である、及び/または

少なくとも 2 つのベクターの導入が、ヌクレオフェクション、トランスフェクション及びエレクトロポレーションのうち 1 つ以上を含む、
方法。

20

【請求項 10】

前記少なくとも 2 つのベクターが、 p i g g y B a c ベクター及び p B a s e ベクターを含み、

任意で、前記 p i g g y B a c ベクターが、
構成的プロモーター、

T e t 応答因子を含む誘導性双方向性ポリシストロニックプロモーター、及びタンパク質またはペプチドをコードする配列

を含む発現カセットと、

2 つのトランスポゾン因子と

を含み、前記 2 つのトランスポゾン因子が、前記発現カセットに隣接する、及び/または前記タンパク質またはペプチドが、神経栄養因子を含み、任意で、前記神経栄養因子が、グリア由来神経栄養因子 (G D N F) を含む、及び/または

前記 p i g g y B a c ベクターが、相同組み換え配列を含む、及び/または前記相同組み換え配列が、ゲノムセーフハーバーを標的とすることが可能な配列を含む、及び/または前記ゲノムセーフハーバーが、アデノ随伴ウイルス部位 1 (A A V S 1)、ケモカイン (C - C モチーフ) 受容体 5 (C C R 5) 遺伝子、マウス R o s a 2 6 遺伝子座のヒトオルソログのうち 1 つである、

請求項 9 に記載の方法。

30

40

【請求項 11】

前記 i P S C 由来細胞が、ゲノムに組み込まれた発現カセットを発現する、請求項 9 または 10 に記載の方法により作製された、ある量の細胞。

【請求項 12】

神経変性疾患を処置するための方法において使用するための、ある量の人工多能性幹細胞由来神経前駆細胞 (i N P C) を含む医薬であって、前記細胞が、前記疾患を処置することが可能な神経栄養因子を誘導可能に発現する、及び/または

前記 i N P C が、ヌクレオフェクションにより導入されたゲノムに組み込まれた発現カセットを発現し、前記発現カセットが、

構成的プロモーター、

50

T e t 応答因子を含む誘導性双方向性ポリシストロニックプロモーター、及びグリア由来神経栄養因子 (G D N F) をコードする配列を含み、任意で、テトラサイクリン、そのアナログまたは誘導体がさらに投与される、医薬。

【請求項 1 3】

ある量の人工多能性幹細胞由来神経前駆細胞 (i N P C) を含む、グリア由来神経栄養因子 (G D N F) の誘導可能な発現を可能にするある量の神経前駆細胞であって、前記 i N P C が、

構成的プロモーター、
T e t 応答因子を含む誘導性双方向性ポリシストロニックプロモーター、及び G D N F をコードする配列

を含む、ゲノムに組み込まれた発現カセットを発現する、前記神経前駆細胞。

【請求項 1 4】

請求項 1 3 に記載の細胞を含む、治療における使用のための医薬。

【請求項 1 5】

請求項 1 3 に記載の細胞を含む、筋萎縮性側索硬化症 (A L S) を処置する方法における使用のための医薬。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 1 3

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 1 3】

また、神経変性障害に罹患している個体の中枢神経系でグリア由来神経栄養因子 (G D N F) レベルを増加させる方法における、複数の人工多能性幹細胞由来神経前駆細胞 (i N P C) の使用が本明細書に記載され、i N P C は、構成的プロモーター、T e t 応答因子を含む誘導性双方向性ポリシストロニックプロモーター、及び G D N F をコードする配列を含む、ゲノムに組み込まれる発現カセットを発現する。種々の実施形態では、神経変性障害は、筋萎縮性側索硬化症 (A L S)、パーキンソン病、ハンチントン病、及びアルツハイマー病から選択される。種々の実施形態では、神経変性障害は、筋萎縮性側索硬化症 (A L S) である。種々の実施形態では、神経変性障害は、パーキンソン病である。種々の実施形態では、神経変性障害は、アルツハイマー病である。種々の実施形態では、中枢神経系は、脳の領域を含む。種々の実施形態では、脳の領域は、黒質を含む。種々の実施形態では、脳の領域は、運動皮質を含む。種々の実施形態では、脳の領域は、嗅内皮質及びノまたは海馬を含む。種々の実施形態では、個体は、ヒトである。種々の実施形態では、ゲノムに組み込まれた発現カセットは、ゲノムに組み込まれた発現カセットを含む細胞の発がん性形質転換の確率が低減したゲノムの領域に組み込まれている。種々の実施形態では、ゲノムに組み込まれた発現カセットは、アデノ随伴ウイルス部位 1 (A A V S 1)、ケモカイン (C - C モチーフ) 受容体 5 (C C R 5) 遺伝子、及びマウス R o s a 2 6 遺伝子座のヒトオルソログから選択されるゲノムの領域に組み込まれている。種々の実施形態では、ゲノムに組み込まれた発現カセットは、アデノ随伴ウイルス部位 1 (A A V S 1) に組み込まれている。種々の実施形態では、ゲノムに組み込まれた発現カセットは、ケモカイン (C - C モチーフ) 受容体 5 (C C R 5) 遺伝子に組み込まれている。種々の実施形態では、ゲノムに組み込まれた発現カセットは、相同組み換えにより組み込まれている。種々の実施形態では、ゲノムに組み込まれた発現カセットは、転位因子に由来する配列を欠いている。種々の実施形態では、ゲノムに組み込まれた発現カセットは、トランスポゾンにより組み込まれている。種々の実施形態では、ゲノムに組み込まれた発現カセットは、単一コピーとして組み込まれている。

10

20

30

40

50

[本発明1001]

複数の人工多能性幹細胞由来神経前駆細胞 (iNPC) を、神経変性障害に罹患している個体に投与することを含む、前記個体の中枢神経系におけるグリア由来神経栄養因子 (GDNF) レベルを増加させる方法であって、

前記 iNPC が、

構成的プロモーター、

Tet 応答因子を含む誘導性双方向性ポリシストロニックプロモーター、及び

GDNF をコードする配列

を含む、ゲノムに組み込まれた発現カセット

を発現する、前記方法。

10

[本発明1002]

前記神経変性障害が、筋萎縮性側索硬化症 (ALS)、パーキンソン病、ハンチントン病、及びアルツハイマー病から選択される、本発明1001の方法。

[本発明1003]

前記神経変性障害が、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) である、本発明1001の方法。

[本発明1004]

前記神経変性障害が、パーキンソン病である、本発明1001の方法。

[本発明1005]

前記神経変性障害が、アルツハイマー病である、本発明1001の方法。

[本発明1006]

前記中枢神経系が、脳の領域を含む、本発明1001~1005のいずれかの方法。

20

[本発明1007]

脳の前記領域が、黒質を含む、本発明1002の方法。

[本発明1008]

脳の前記領域が、運動皮質を含む、本発明1002の方法。

[本発明1009]

脳の前記領域が、嗅内皮質及び/または海馬を含む、本発明1002の方法。

[本発明1010]

前記個体が、ヒトである、本発明1001~1009のいずれかの方法。

[本発明1011]

前記ゲノムに組み込まれた発現カセットが、前記ゲノムに組み込まれた発現カセットを含む細胞の発がん性形質転換の確率が低減したゲノムの領域に組み込まれている、本発明1001~1010のいずれかの方法。

30

[本発明1012]

前記ゲノムに組み込まれた発現カセットが、アデノ随伴ウイルス部位1 (AAVS1)、ケモカイン (C-Cモチーフ) 受容体5 (CCR5) 遺伝子、及びマウス Rosa26 遺伝子座のヒトオルソログから選択されるゲノムの領域に組み込まれている、本発明1001~1010のいずれかの方法。

[本発明1013]

前記ゲノムに組み込まれた発現カセットが、前記アデノ随伴ウイルス部位1 (AAVS1) に組み込まれている、本発明1012の方法。

40

[本発明1014]

前記ゲノムに組み込まれた発現カセットが、前記ケモカイン (C-Cモチーフ) 受容体5 (CCR5) 遺伝子に組み込まれている、本発明1012の方法。

[本発明1015]

前記ゲノムに組み込まれた発現カセットが、相同組み換えにより組み込まれている、本発明1001~1014のいずれかの方法。

[本発明1016]

前記ゲノムに組み込まれた発現カセットが、単一コピーとして組み込まれている、本発明1001~1015のいずれかの方法。

50

[本発明1017]

テトラサイクリンクラス抗生物質を前記個体に投与することをさらに含み、前記テトラサイクリンクラス抗生物質が、前記複数の人工多能性幹細胞由来神経前駆細胞において G D N F mRNA の転写を誘導する、本発明1001~1016のいずれかの方法。

[本発明1018]

疾患または状態に罹患している対象に、ある量の細胞を投与することを含み、前記細胞が、治療用タンパク質またはペプチドを発現し、さらに、前記細胞、治療用タンパク質もしくはペプチド、またはその両方が、前記疾患または状態を処置することが可能である、処置方法。

[本発明1019]

前記細胞が、神経系細胞である、本発明1018の方法。

10

[本発明1020]

前記神経系細胞が、神経前駆細胞である、本発明1019の方法。

[本発明1021]

前記神経前駆細胞が、人工多能性幹細胞 (i P S C) に由来する、本発明1020の方法。

[本発明1022]

前記細胞が、1つ以上のベクター由来の発現カセットを発現する、本発明1018の方法。

[本発明1023]

前記1つ以上のベクター由来の前記発現カセットを発現する前記細胞が、ヌクレオフェクト、トランスフェクト、またはエレクトロポレーションされる、本発明1022の方法。

20

[本発明1024]

前記1つ以上のベクターが、p i g g y B a c ベクター、p B a s e ベクター、またはその両方を含む、本発明1023の方法。

[本発明1025]

前記 p i g g y B a c ベクターが、少なくとも2つのプロモーターを含み、少なくとも1つのプロモーターが、誘導性である、本発明1024の方法。

[本発明1026]

前記少なくとも1つの誘導性プロモーターが、ポリシストロニックである、本発明1025の方法。

[本発明1027]

前記少なくとも1つの誘導性ポリシストロニックプロモーターが、双方向性である、本発明1026の方法。

30

[本発明1028]

前記発現カセットが、ゲノムに組み込まれている、本発明1022の方法。

[本発明1029]

前記発現カセットが、前記治療用タンパク質またはペプチドをコードする、本発明1028の方法。

[本発明1030]

前記治療用タンパク質またはペプチドが、神経栄養因子を含む、本発明1029の方法。

[本発明1031]

前記神経栄養因子が、グリア由来神経栄養因子 (G D N F) を含む、本発明1030の方法。

40

[本発明1032]

前記疾患または状態が、神経変性疾患である、本発明1018の方法。

[本発明1033]

前記神経変性疾患が、筋萎縮性側索硬化症 (A L S) である、本発明1032の方法。

[本発明1034]

ある量の細胞の投与が、注射を含む、本発明1018の方法。

[本発明1035]

テトラサイクリン、そのアナログまたは誘導体の投与を含む、本発明1018の方法。

50

[本発明1036]

ある量の人工多能性幹細胞 (i P S C) 由来細胞を提供すること、及び前記 i P S C 由来細胞に少なくとも2つのベクターを導入することを含む、方法。

[本発明1037]

前記 i P S C 由来細胞が、神経前駆細胞である、本発明1036の方法。

[本発明1038]

少なくとも2つのベクターの導入が、ヌクレオフェクション、トランスフェクション及びエレクトロポレーションのうち1つ以上を含む、本発明1036の方法。

[本発明1039]

前記少なくとも2つのベクターが、p i g g y B a c ベクター及びp B a s e ベクターを含む、本発明1036の方法。

10

[本発明1040]

前記p i g g y B a c ベクターが、
構成的プロモーター、
T e t 応答因子を含む誘導性双方向性ポリシストロニックプロモーター、及び
タンパク質またはペプチドをコードする配列
を含む発現カセットと、
2つのトランスポゾン因子と

を含み、前記2つのトランスポゾン因子が、前記発現カセットに隣接する、
本発明1039の方法。

20

[本発明1041]

前記タンパク質またはペプチドが、神経栄養因子を含む、本発明1040の方法。

[本発明1042]

前記神経栄養因子が、グリア由来神経栄養因子 (G D N F) を含む、本発明1041の方法。

[本発明1043]

前記p i g g y B a c ベクターが、相同組み換え配列を含む、本発明1040の方法。

[本発明1044]

前記相同組み換え配列が、ゲノムセーフハーバーを標的とすることが可能な配列を含む、
本発明1043の方法。

30

[本発明1045]

前記ゲノムセーフハーバーが、アデノ随伴ウイルス部位1 (A A V S 1)、ケモカイン (C - C モチーフ) 受容体5 (C C R 5) 遺伝子、マウス R o s a 2 6 遺伝子座のヒトオルソログのうち1つである、本発明1044の方法。

[本発明1046]

前記 i P S C 由来細胞が、ゲノムに組み込まれた発現カセットを発現する、本発明1036の方法により作製された、ある量の細胞。

[本発明1047]

神経変性疾患に罹患している対象に、ある量の人工多能性幹細胞由来神経前駆細胞 (i N P C) を投与することを含み、前記細胞が、前記疾患を処置することが可能な神経栄養因子を誘導可能に発現する、方法。

40

[本発明1048]

前記 i N P C が、ヌクレオフェクションにより導入されたゲノムに組み込まれた発現カセットを発現し、前記発現カセットが、

構成的プロモーター、
T e t 応答因子を含む誘導性双方向性ポリシストロニックプロモーター、及び
グリア由来神経栄養因子 (G D N F) をコードする配列

を含む、本発明1047の方法。

[本発明1049]

50

テトラサイクリン、そのアナログまたは誘導体の投与を含む、本発明1047の方法。

[本発明1050]

ある量の人工多能性幹細胞由来神経前駆細胞 (i N P C) を含む、グリア由来神経栄養因子 (G D N F) の誘導可能な発現を可能にするある量の神経前駆細胞であって、前記 i N P C が、

構成的プロモーター、

T e t 応答因子を含む誘導性双方向性ポリシストロニックプロモーター、及び

G D N F をコードする配列

を含む、ゲノムに組み込まれた発現カセット

を発現する、前記神経前駆細胞。

10

[本発明1051]

本発明1050の細胞を使用して、筋萎縮性側索硬化症 (A L S) を処置する方法。

20

30

40

50