

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-517557

(P2017-517557A)

(43) 公表日 平成29年6月29日 (2017.6.29)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 35/22 (2015.01)	A 6 1 K 35/22	4 C 0 7 6
A 6 1 K 35/32 (2015.01)	A 6 1 K 35/32	4 C 0 8 7
A 6 1 K 35/34 (2015.01)	A 6 1 K 35/34	
A 6 1 K 35/407 (2015.01)	A 6 1 K 35/407	
A 6 1 K 35/42 (2015.01)	A 6 1 K 35/42	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 36 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2016-572736 (P2016-572736)	(71) 出願人	514002662
(86) (22) 出願日	平成27年6月9日 (2015.6.9)		セル セラピー リミテッド
(85) 翻訳文提出日	平成29年2月7日 (2017.2.7)		CELL THERAPY LIMITE
(86) 国際出願番号	PCT/GB2015/051672		D
(87) 国際公開番号	W02015/189586		英国 エスエー2 8ビービー シングル
(87) 国際公開日	平成27年12月17日 (2015.12.17)		トン パーク スウォンジ スウォンジ
(31) 優先権主張番号	1410506.8		ユニバーシティー スクール オブ メデ
(32) 優先日	平成26年6月12日 (2014.6.12)		ィシン ルーム 137 ファースト フ
(33) 優先権主張国	英国 (GB)		ロアー インスティテュート オブ ライ
			フ サイエンス (番地なし)
			Institute of Life S
			ciences First Floor
			, Room 137 School o
			f Medicine Swansea
			University Singleto
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ハイブリッド組成物

(57) 【要約】

本発明は、損傷したヒトまたは動物組織を修復するように最適に化学的に製剤化された、生体適合性繊維および生体適合性成分と組み合わされた生細胞を含む、新規の化学組成物に関する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

ハイブリッド組成物であって：

(a) 1つまたは複数の生体適合性繊維；

(b) 1つまたは複数の治療的細胞；および

(c) (i) 前記の 1つまたは複数の治療的細胞を前記の 1つまたは複数の繊維に付着させる、および／または、前記の 1つまたは複数の治療的細胞および前記の 1つまたは複数の繊維を埋め込む、または、(ii) 前記組成物を組織に付着させることが可能な、1つまたは複数の生体適合性成分、

を含む、

ハイブリッド組成物。

10

【請求項 2】

請求項 1 に記載のハイブリッド組成物であって、

前記の 1つまたは複数の繊維は、1つまたは複数のセルロース繊維、1つまたは複数のコラーゲン繊維、1つまたは複数のコラーゲン-グリコサミノグリカン繊維、1つまたは複数のゼラチン繊維、1つまたは複数の絹フィブロイン繊維、1つまたは複数のフィブリン繊維、1つまたは複数のキトサン繊維、1つまたは複数のスターチ繊維、1つまたは複数のアルギン酸繊維、1つまたは複数のヒアルロン酸繊維、1つまたは複数のポロキサマー繊維、またはそれらの組み合わせである、

ハイブリッド組成物。

20

【請求項 3】

請求項 2 に記載のハイブリッド組成物であって、

前記グリコサミノグリカンは、コンドロイチンである、

ハイブリッド組成物。

【請求項 4】

請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載のハイブリッド組成物であって、

前記の 1つまたは複数の生体適合性成分は、前記の 1つまたは複数の治療的細胞を、前記の 1つまたは複数の繊維に付着させる生体適合性接着剤を含む、

ハイブリッド組成物。

30

【請求項 5】

請求項 4 に記載のハイブリッド組成物であって、

前記生体適合性接着剤は、前記の 1つまたは複数の治療的細胞を、前記の 1つまたは複数の繊維の表面上および／または前記の 1つまたは複数の繊維の中に付着させる、

ハイブリッド組成物。

【請求項 6】

請求項 4 または 5 に記載のハイブリッド組成物であって、

前記生体適合性接着剤は、フィブリンゲル、インテグリンまたはカドヘリンである、

ハイブリッド組成物。

【請求項 7】

請求項 4 から 6 のいずれか一項に記載のハイブリッド組成物であって、

前記生体適合性接着剤は、血小板溶解物を含む、

ハイブリッド組成物。

40

【請求項 8】

請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載のハイブリッド組成物であって、

前記の 1つまたは複数の生体適合性成分は、前記の 1つまたは複数の治療的細胞および前記の 1つまたは複数の繊維を埋め込む生体適合性ゲルを含む、

ハイブリッド組成物。

【請求項 9】

請求項 8 に記載のハイブリッド組成物であって、

前記生体適合性ゲルは、セルロースゲル、コラーゲンゲル、ゼラチンゲル、フィブリン

50

ゲル、キトサンゲル、スターチゲル、アルギン酸ゲル、ヒアルロン酸ゲル、アガロースゲル、ポロキサマーゲル、またはそれらの組み合わせである、ハイブリッド組成物。

【請求項 10】

請求項 8 または 9 に記載のハイブリッド組成物であって、前記生体適合性ゲルは、血小板溶解物を含む、ハイブリッド組成物。

【請求項 11】

請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載のハイブリッド組成物であって、前記の 1 つまたは複数の治療的細胞は、1 つまたは複数の中胚葉性系統の前駆細胞（PML）、1 つまたは複数の免疫調節前駆（IMP）細胞、1 つまたは複数の間葉系幹細胞、1 つまたは複数の樹状細胞、1 つまたは複数の血小板、1 つまたは複数の線維芽細胞、1 つまたは複数の筋線維芽細胞、またはそれらの組み合わせを含む、ハイブリッド組成物。 10

【請求項 12】

請求項 11 に記載のハイブリッド組成物であって、前記の 1 つまたは複数の PML は、（a）検出可能なレベルの CD 29、CD 44、CD 73、CD 90、CD 105 および CD 271 を発現し、および、（b）検出可能なレベルの CD 14、CD 34 および CD 45 を発現しない、ハイブリッド組成物。 20

【請求項 13】

請求項 12 に記載のハイブリッド組成物であって、前記の 1 つまたは複数の PML は、検出可能なレベルの CD 62P（P-セレクトイン）および／または CD 62E（E-セレクトイン）を発現する、ハイブリッド組成物。

【請求項 14】

請求項 12 に記載のハイブリッド組成物であって、前記の 1 つまたは複数の IMP 細胞は、検出可能なレベルの MIC A/B、CD 304（ニューロピリン 1）、CD 178（FAS リガンド）、CD 289（Toll 様受容体 9）、CD 363（スフィンゴシン-1-リン酸受容体 1）、CD 99、CD 181（1 型 C-X-C ケモカイン受容体；CXCR1）、上皮成長因子受容体（EGF-R）、CXCR2 および CD 126 を発現する、ハイブリッド組成物。 30

【請求項 15】

請求項 12 または 14 に記載のハイブリッド組成物であって、前記の 1 つまたは複数の IMP 細胞は、検出可能なレベルの 1 つまたは複数の CD 10、CD 111、CD 267、CD 47、CD 273、CD 51/CD 61、CD 49f、CD 49d、CD 146、CD 55、CD 340、CD 91、Notch2、CD 175s、CD 82、CD 49b、CD 95、CD 63、CD 245、CD 58、CD 108、B2-ミクログロブリン、CD 155、CD 298、CD 44、CD 49c、CD 105、CD 166、CD 230、HLA-ABC、CD 13、CD 29、CD 49e、CD 59、CD 73、CD 81、CD 90、CD 98、CD 147、CD 151 および CD 276 を発現する、ハイブリッド組成物。 40

【請求項 16】

請求項 12、14 または 15 のいずれか一項に記載のハイブリッド組成物であって、前記の 1 つまたは複数の IMP 細胞は：
（a）検出可能なレベルの 1 つまたは複数の CD 156b、CD 61、CD 202b、CD 130、CD 148、CD 288、CD 337、SSEA-4、CD 349、CD 140b、CD 10、CD 111、CD 267、CD 47、CD 273、CD 51/CD 6 50

1、CD49f、CD49d、CD146、CD55、CD340、CD91、Notch2、CD175s、CD82、CD49b、CD95、CD63、CD245、CD58、CD108、B2-ミクログロブリン、CD155、CD298、CD44、CD49c、CD105、CD166、CD230、HLA-ABC、CD13、CD29、CD49e、CD59、CD73、CD81、CD90、CD98、CD147、CD151およびCD276；および／または

(b) 検出可能なレベルの1つまたは複数のCD72、CD133、CD192、CD207、CD144、CD41b、FMC7、CD75、CD3e、CD37、CD158a、CD172b、CD282、CD100、CD94、CD39、CD66b、CD158b、CD40、CD35、CD15、PAC-1、CLIP、CD48、CD278、CD5、CD103、CD209、CD3、CD197、HLA-DM、CD20、CD74、CD87、CD129、CDw329、CD57、CD163、TPBG、CD206、CD243(BD)、CD19、CD8、CD52、CD184、CD107b、CD138、CD7、CD50、HLA-DR、CD158e2、CD64、DCIR、CD45、CLA、CD38、CD45RB、CD34、CD101、CD2、CD41a、CD69、CD136、CD62P、TCR $\alpha\beta$ 、CD16b、CD1a、ITGB7、CD154、CD70、CDw218a、CD137、CD43、CD27、CD62L、CD30、CD36、CD150、CD66、CD212、CD177、CD142、CD167、CD352、CD42a、CD336、CD244、CD23、CD45RO、CD229、CD200、CD22、CDH6、CD28、CD18、CD21、CD335、CD131、CD32、CD157、CD165、CD107a、CD1b、CD332、CD180、CD65およびCD24

を発現する、

ハイブリッド組成物。

【請求項17】

請求項1から16のいずれか一項に記載のハイブリッド組成物であって、

前記の1つまたは複数の治療的細胞は、自己由来または同種異系である、

ハイブリッド組成物。

【請求項18】

リボソーム組成物であって、

1つまたは複数のリボソーム内に包含された、請求項1から17のいずれか一項に記載の1つまたは複数のハイブリッド組成物を含む、

リボソーム組成物。

【請求項19】

マイクロバブル組成物であって、1つまたは複数のマイクロバブル内に包含された、請求項1から17のいずれか一項に記載の1つまたは複数のハイブリッド組成物を含む、マイクロバブル組成物。

【請求項20】

請求項1から17のいずれか一項に記載のハイブリッド組成物を生産する方法であって、

(a) 1つまたは複数の生体適合性繊維、1つまたは複数の治療的細胞、および、1つまたは複数の生体適合性成分を、提供するステップ、および、

(b) 前記の1つまたは複数の治療的細胞を、前記の1つまたは複数の繊維に、1つまたは複数の生体適合性成分を用いて付着させるステップ、および／または、前記の1つまたは複数の治療的細胞および前記の1つまたは複数の繊維を、1つまたは複数の生体適合性成分内に埋め込むステップ、

または、

前記の1つまたは複数の繊維、前記の1つまたは複数の細胞、および、前記の1つまたは複数の成分を組み合わせて、それにより、請求項1から17のいずれか一項に記載のハイブリッド組成物を生産するステップ、

を含む、
方法。

【請求項 2 1】

患者における損傷組織を修復する方法であって、

前記の損傷組織を、請求項 1 から 1 7 のいずれか一項に記載のハイブリッド組成物、請求項 1 8 に記載のリポソーム組成物、または、請求項 1 9 に記載のマイクロバブル組成物と、接触させるステップを含み、

ここで、前記組成物は、治療的に効果的な数の細胞を含み、それにより、前記患者における前記損傷組織を治療する、
方法。

10

【請求項 2 2】

請求項 2 1 に記載の方法であって、

前記ハイブリッド組成物または前記リポソーム組成物を前記損傷組織内に移植または注入するステップ、または、前記ハイブリッド組成物または前記リポソーム組成物を前記損傷組織に付着または固定するステップ、を含む、
方法。

【請求項 2 3】

請求項 2 1 または 2 2 に記載の方法であって、

前記の 1 つまたは複数の繊維は、前記組織における損傷の深さとほぼ同じ長さである、
方法。

20

【請求項 2 4】

請求項 2 1 から 2 3 のいずれか一項に記載の方法であって、

前記組織は、前記中胚葉から得られる、
方法。

【請求項 2 5】

請求項 2 4 に記載の方法であって、

前記組織は、心臓、骨、軟骨、腱、靱帯、肝臓、腎臓または肺の組織である、
方法。

【請求項 2 6】

請求項 2 1 から 2 5 のいずれか一項に記載の方法であって、

前記組織は、外傷または疾患により損傷されたものである、
方法。

30

【請求項 2 7】

請求項 2 6 に記載の方法であって、

前記方法は、前記患者における、心臓、骨、軟骨、腱、靱帯、肝臓、腎臓または肺の外傷または疾患を治療するためのものである、
方法。

【請求項 2 8】

請求項 2 7 に記載の方法であって、

前記の心臓の外傷または疾患は、心筋梗塞、左室肥大、右室肥大、塞栓、心不全、先天性心臓欠陥、心臓弁膜症、不整脈および心筋炎から選択される、
方法。

40

【請求項 2 9】

請求項 2 5 に記載の方法であって、

前記の骨の外傷または疾患は、骨折、Salter-Harris 骨折、若木骨折、骨棘、頭蓋骨癒合症、コフィン-ローリー症候群、進行性骨化線維異形成症、線維性骨異形成症、Fong 病（または爪膝蓋骨症候群）、低ホスファターゼ症、クリッペル・ファイル症候群、代謝性骨疾患、爪膝蓋骨症候群、変形性関節症、変形性骨炎（または骨パジェット病）、嚢胞性線維性骨炎（または線維性骨炎またはフォンレックリングハウゼン骨病）、恥骨骨炎、硬化性骨炎（condensing osteitis）（または硬化性

50

骨炎（osteitis condensans））、硬化性腸骨炎、離断性骨軟骨炎、骨形成不全症、骨軟化症、骨髄炎、骨減少症、大理石骨病、骨粗鬆症、骨壊死、骨萎縮性骨化過剰症、原発性副甲状腺機能亢進症、腎性骨ジストロフィー、骨癌、転移性癌と関連する骨病変、Gorham Stout 病、原発性副甲状腺機能亢進症、歯周病、および関節置換の無菌弛緩から選択される。

方法。

【請求項 30】

請求項 21 から 29 のいずれか一項に記載の方法であって、
治療的細胞の集団は、前記患者または同種異系ドナーから得られる、

方法。

10

【請求項 31】

請求項 1 から 17 のいずれか一項に記載のハイブリッド組成物、請求項 18 に記載のリポソーム組成物、または、請求項 19 に記載のマイクロバブル組成物であって、

患者における損傷組織を修復する方法で使用するための、
ハイブリッド組成物、リポソーム組成物、または、マイクロバブル組成物。

【請求項 32】

請求項 1 から 17 のいずれか一項に記載のハイブリッド組成物、請求項 18 に記載のリポソーム組成物、または、請求項 19 に記載のマイクロバブル組成物であって、

患者における心臓、骨、軟骨、腱、靱帯、肝臓、腎臓または肺の外傷または疾患を治療する方法で使用するための、

20

ハイブリッド組成物、リポソーム組成物、または、マイクロバブル組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、損傷したヒトまたは動物組織を修復するように最適に化学的に製剤化された、生体適合性繊維および生体適合性成分と組み合わされた生細胞を含む、新規の化学組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

様々な異なる細胞のタイプが、損傷組織を修復するのに用いられている。患者に投与された時点で、細胞は典型的に、パラクリンシグナリングを通して、および、損傷組織において隣接細胞の生存、修復および再生を促進することにより、それらの治療的効果を与える。

30

【0003】

治療的細胞による損傷細胞の修復は、以下の理由により非効率であることが多い。（１）細胞は、損傷組織の表面にのみアクセスして修復することができるが、損傷組織のより深い部分には届くことができず、（２）細胞は、制限された期間、修復のために最適な位置に留まり、そして、（３）細胞が置かれる局所的な微小環境は、修復および再生を促進するのに最適ではない。これらの制限は、しばしば、損傷組織の準最適または部分的な修復をもたらす。

40

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

本発明者らは、驚くべきことに、生細胞、生体適合性繊維および生体適合性成分の独特のハイブリッド組成物が、損傷組織を修復するのにより効果的であることを見いだした。例えば、生体適合性繊維および成分は、細胞に、最適な位置へのアクセスを与えることが可能であり、損傷組織の最適な修復をもたらす。細胞は、例えば、損傷組織のより深い部分に到達し得る。また、生体適合性繊維および成分は、細胞を、最適な位置に保持することも可能であり、損傷組織の最適な修復をもたらす。また、組成物は、最適な修復および再生のための、それ自身の最適な微小環境も作り出す。

50

【課題を解決するための手段】

【0005】

本発明は、したがって、以下を含むハイブリッド組成物を提供する：

(a) 1つまたは複数の生体適合性繊維；

(b) 1つまたは複数の治療的細胞；および

(c) (i) 前記の1つまたは複数の治療的細胞を前記の1つまたは複数の繊維に付着させる、および／または、前記の1つまたは複数の治療的細胞および前記の1つまたは複数の繊維を埋め込む、または、(ii) 前記組成物を組織に付着させることが可能な、1つまたは複数の生体適合性成分。

【0006】

また、本発明は、以下も提供する：

－ 1つまたは複数のリボソーム内に包含された、1つまたは複数の本発明のハイブリッド組成物を含む、リボソーム組成物；

－ 1つまたは複数のマイクロバブル内に包含された、1つまたは複数の本発明のハイブリッド組成物を含む、マイクロバブル組成物；

－ (a) 1つまたは複数の生体適合性繊維、1つまたは複数の治療的細胞、および、1つまたは複数の生体適合性成分を、提供するステップ、および、(b) 前記の1つまたは複数の治療的細胞を、前記の1つまたは複数の繊維に、1つまたは複数の生体適合性成分を用いて付着させるステップ、および／または、前記の1つまたは複数の治療的細胞および前記の1つまたは複数の繊維を、1つまたは複数の生体適合性成分内に埋め込むステップ、または、前記の1つまたは複数の繊維、前記の1つまたは複数の細胞および前記の1つまたは複数の成分を組み合わせて、それにより、本発明のハイブリッド組成物を生産するステップ、を含む、本発明のハイブリッド組成物を生産する方法；

－ 損傷組織を、本発明のハイブリッド組成物、本発明のリボソーム組成物、または、本発明のマイクロバブル組成物と接触させるステップ（ここで、組成物は、治療的に効果的な数の細胞を含む）、および、それにより、患者における損傷組織を治療するステップ、を含む、患者における損傷組織を修復する方法；または、

－ 患者における損傷組織を修復する方法での使用のための、本発明のハイブリッド組成物、本発明のリボソーム組成物、または、本発明のマイクロバブル組成物。

【図面の簡単な説明】

【0007】

【図1】 生体適合性成分を用いて治療的細胞が1つまたは複数の繊維に付着した、本発明のハイブリッド組成物の一般的構造を示す。

【図2】 治療的細胞が生体適合性成分に埋め込まれた、本発明のハイブリッド組成物の一般的構造を示す。

【図3】 図1に示されたタイプのハイブリッド組成物の好ましい構造を示す。それぞれの場合において、治療的細胞はヒト間葉系幹細胞（MSC）であり、1つまたは複数の繊維は、ポリ（D，L－ラクチド－コ－グリコリド）（PLGA）を含む。生体適合性成分は、フィブリン、インテグリンまたはアドヘリンを含む。

【図4】 図2に示されたタイプのハイブリッド組成物の好ましい構造を示す。それぞれの場合において、治療的細胞はヒト間葉系幹細胞（MSC）であり、1つまたは複数の繊維は、ポリ（D，L－ラクチド－コ－グリコリド）（PLGA）を含む。生体適合性成分は、フィブリン、インテグリンまたはカドヘリンを含む。

【図5】 図1に示されたタイプのハイブリッド組成物の好ましい構造を示す。それぞれの場合において、治療的細胞は間葉前駆細胞（MPC）であり、1つまたは複数の繊維は、ポリ（D，L－ラクチド－コ－グリコリド）（PLGA）を含む。生体適合性成分は、フィブリン、インテグリンまたはカドヘリンを含む。

【図6】 図2に示されたタイプのハイブリッド組成物の好ましい構造を示す。それぞれの場合において、治療的細胞は間葉前駆細胞（MPC）であり、1つまたは複数の繊維は、ポリ（D，L－ラクチド－コ－グリコリド）（PLGA）を含む。生体適合性成分は、フ

10

20

30

40

50

ィブリン、インテグリンまたはカドヘリンを含む。

【発明を実施するための形態】

【0008】

開示された産物および方法の異なる適用は、当該分野における特定のニーズに合わせられ得ることが理解されるよう。また、本明細書において用いられる専門用語は、本発明の特定の実施態様を説明する目的のためだけであり、限定されることを意図しないことも理解されよう。

【0009】

さらに、本明細書および添付の特許請求の範囲で用いられる、単数形「a」、「an」、および「the」は、内容が明らかに別段の指示をしない限り、複数形の指示対象を含む。したがって、例えば、「細胞 (a cell)」との言及は「細胞 (複数) (cells)」を含み、「組織 (a tissue)」との言及は2以上のそのような組織を含み、「患者 (a patient)」との言及は2以上のそのような患者を含むなどである。

10

【0010】

上記であろうと下記であろうと本明細書中に挙げられる全ての刊行物、特許および特許出願は、それらの全体で参照により本明細書に援用される。

【0011】

本発明の組成物

本発明は、ハイブリッド組成物を提供する。組成物は、生細胞と、生きていない繊維および成分とを含むので、ハイブリッドである。

20

【0012】

組成物は、損傷組織を修復するのに適している。組成物は、損傷組織内に移植または注入され得る。組成物は、損傷組織に付着または固定され得る。このことは、本発明の治療的实施態様に関してより詳細に以下に述べる。

【0013】

生体適合性繊維

本発明の組成物は、1つまたは複数の生体適合性繊維を含む。繊維は、損傷組織と接触した場合に、いかなる有害反応または副作用も引き起こさないならば、生体適合性である。

30

【0014】

任意の数の生体適合性繊維が、組成物内に存在してよい。組成物は、ただ1つの繊維を含んでよい。組成物は典型的に、1よりも多い繊維、例えば少なくとも2、少なくとも5、少なくとも10、少なくとも20、少なくとも30、少なくとも40、少なくとも50、少なくとも100、少なくとも200、少なくとも500の繊維、少なくとも1000の繊維、またはさらにそれよりも多くの繊維を含む。

【0015】

適切な生体適合性繊維は、当該分野で知られている。1つまたは複数の生体適合性繊維は、天然または合成であってよい。好ましい生体適合性繊維は、限定されないが、セルロース繊維、コラーゲン繊維、コラーゲン-グリコサミノグリカン繊維、ゼラチン繊維、絹フィブロイン繊維、1つまたは複数のフィブリン繊維、キトサン繊維、スターチ繊維、アルギン酸繊維、ヒアルロン酸繊維、ポロキサマー (poloxamer) 繊維、またはそれらの組み合わせを含む。グリコサミノグリカンは、好ましくはコンドロイチンである。セルロースは、好ましくは、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースまたはメチルセルロースである。ポロキサマーは、好ましくはプルロニック酸であり、場合によりプルロニック F-127 である。

40

【0016】

1よりも多い繊維が組成物内に存在する場合は、繊維の集団は同種であってよい。換言すれば、集団内の全ての繊維は、同じタイプの繊維、例えばセルロース繊維であってよい。あるいは、繊維の集団は、異種であってよい。換言すれば、繊維の集団は、異なるタイ

50

プの繊維、例えばセルロース繊維およびコラーゲン繊維を含んでよい。

【0017】

1つまたは複数の繊維は、任意の長さであってよい。1つまたは複数の繊維は、好ましくは、組成物を用いて治療される組織における損傷の深さとほぼ同じ長さである。1つまたは複数の繊維の長さは、好ましくは、組成物が、規定の深さまで損傷組織に浸透することができるように設計される。1つまたは複数の繊維は、任意の長さであってよい。1つまたは複数の繊維の長さの下限は、典型的に、1つまたは複数の治療的細胞の直径により決定される。適切な長さは、限定されないが、少なくとも $1\mu\text{m}$ の長さ、少なくとも $10\mu\text{m}$ の長さ、少なくとも $100\mu\text{m}$ の長さ、少なくとも $500\mu\text{m}$ の長さ、少なくとも 1mm の長さ、少なくとも 10mm (1cm) の長さ、少なくとも 100mm (10cm) の長さ、少なくとも 500mm (50cm) の長さまたは少なくとも 1000mm (100cm または 1m) の長さを含む。1つまたは複数の繊維は、さらにより長くてよい。例えば、1つまたは複数の繊維は、例えばヒト腸管に沿った損傷を修復するために用いられる場合は 5m または 10m までの長さであってよく、または、ウマのようなより大きな動物で用いられる場合はさらにより長い。1つまたは複数の繊維の長さは、典型的に、それらの使用目的、および／または、例えば外科医による、ロボットによる、または磁性のような一部の他の手段を介した、取り扱われ得るそれらの能力により、決定される。

10

【0018】

1つまたは複数の繊維は、帯電されてよい。1つまたは複数の繊維は、好ましくは正に帯電している。1つまたは複数の繊維は、好ましくは負に帯電している。

20

【0019】

1つまたは複数の繊維は、磁性でよい。1つまたは複数の繊維は、1つまたは複数の磁性原子または磁性基を含むように修飾されてよい。このことは、組成物の磁性標的化を可能にする。磁性原子または磁性基は、常磁性または超常磁性であってよい。適切な原子または基は、限定されないが、金原子、鉄原子、コバルト原子、ニッケル原子、および、任意のこれらの原子を含む金属キレート基、例えばニトリロ三酢酸を含む。金属キレート基は、例えば、 $\text{C}(\text{=O})\text{O}-$ 、 $-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$ 、 $-\text{C}(\text{=O})-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{C}(\text{=O})-\text{NH}$ 、 $-\text{C}(\text{=O})-\text{CH}_2-\text{I}$ 、 $-\text{S}(\text{=O})_2-$ および $-\text{S}-$ から選択される基を含んでよい。

【0020】

30

生体適合性成分

また、組成物は、1つまたは複数の生体適合性成分も含む。1つまたは複数の生体適合性成分は、(i) 1つまたは複数の治療的細胞を1つまたは複数の繊維に付着させる、および／または、1つまたは複数の治療的細胞および1つまたは複数の繊維を埋め込む、および／または、(ii) 組成物を組織に付着させることが可能である。1つまたは複数の生体適合性成分は、(a) 1つまたは複数の治療的細胞を1つまたは複数の繊維に付着させ得る、(b) 1つまたは複数の治療的細胞および1つまたは複数の繊維を埋め込み得る、(c) 組成物を組織に付着させることが可能であり得る、(d) 1つまたは複数の治療的細胞を1つまたは複数の繊維に付着させ、かつ、1つまたは複数の治療的細胞および1つまたは複数の繊維を埋め込み得る、(e) 1つまたは複数の治療的細胞を1つまたは複数の繊維に付着させ、かつ、組成物を組織に付着させることが可能であり得る、(f) 1つまたは複数の治療的細胞および1つまたは複数の繊維を埋め込み、かつ、組成物を組織に付着させることが可能であり得る、または、(g) 1つまたは複数の治療的細胞を1つまたは複数の繊維に付着させ、1つまたは複数の治療的細胞および1つまたは複数の繊維を埋め込み、かつ、組成物を組織に付着させることが可能であり得る。

40

【0021】

成分は、損傷組織と接触した場合に、いかなる有害反応または副作用も引き起こさないのならば、生体適合性である。

【0022】

任意の数の生体適合性成分が、組成物に存在してよい。組成物は典型的に、1つの成分

50

のみ、または2つの成分を含む。組成物は、2よりも多い成分、例えば、少なくとも3、少なくとも5、少なくとも10、少なくとも20、少なくとも30、少なくとも40、少なくとも50の成分、またはさらにそれよりも多くの成分を含んでよい。

【0023】

1つまたは複数の生体適合性成分は、好ましくは、1つまたは複数の治療的細胞を1つまたは複数の繊維に付着させる生体適合性接着剤を含む。生体適合性接着剤は、1つまたは複数の治療的細胞を、(a) 1つまたは複数の繊維の表面上に、(b) 1つまたは複数の繊維の中に、または(c) 1つまたは複数の繊維の表面上およびその中の両方に、付着させ得る。

【0024】

生体適合性接着剤は、天然または合成であってよい。適切な生体適合性接着剤は、当該分野で知られている。適切な接着剤は、限定されないが、フィブリン、フィブリンゲル、インテグリン、インテグリンゲル、カドヘリンおよびカドヘリンゲルを含む。

【0025】

1つまたは複数の生体適合性成分は、好ましくは、1つまたは複数の治療的細胞および1つまたは複数の繊維を埋め込む生体適合性ゲルを含む。適切な生体適合性ゲルは、当該分野で知られている。生体適合性ゲルは、天然または合成であってよい。好ましい生体適合性ゲルは、限定されないが、セルロースゲル、コラーゲンゲル、ゼラチンゲル、フィブリンゲル、キトサンゲル、スターチゲル、アルギン酸ゲル、ヒアルロン酸ゲル、アガロースゲル、ポロキサマーゲル、またはそれらの組み合わせを含む。

【0026】

セルロースゲルは、上記に述べた任意のセルロース類から形成され得る。セルロースポリマー濃度は、好ましくは約1.5% (w/w) ~ 約4.0% (w/w)、例えば約2.0% (w/w) ~ 約3.0% (w/w) である。セルロースポリマーは、好ましくは、約450,000 ~ 約4,000,000、例えば約500,000 ~ 約3,500,000、約500,000 ~ 約3,000,000、または約750,000 ~ 約2,500,000の分子量を有する。

【0027】

ポロキサマーゲルは、好ましくは、プルロニック酸ゲルであり、場合によりプルロニックF-127ゲルである。

【0028】

接着剤および/またはゲルは、好ましくは、室温で1000 ~ 500,000 mPa·s (cps)、例えば室温で約1500 ~ 約450,000 mPa·s、室温で約2000 ~ 約400,000 mPa·s、室温で約2500 ~ 約350,000 mPa·s、室温で約5000 ~ 約300,000 mPa·s、室温で約10,000 ~ 約250,000 mPa·s、室温で約50,000 ~ 約200,000 mPa·s、または室温で約50,000 ~ 約150,000 mPa·sの範囲の粘度を有する。

【0029】

粘度は、接着剤および/またはゲルが、剪断応力または引張応力のいずれかによって変形される耐性の尺度である。粘度は、当該分野で知られている任意の方法を用いて測定することができる。適切な方法は、限定されないが、粘度計またはレオメータの使用を含む。

【0030】

室温は、典型的に、約18°C ~ 約25°C、例えば、約19°C ~ 約24°C、または、約20°C ~ 約23°C、または、約21°C ~ 約22°Cである。室温は、好ましくは、18°C、19°C、20°C、21°C、22°C、23°C、24°Cおよび25°Cのいずれかである。粘度は、最も好ましくは25°Cで測定される。

【0031】

1つまたは複数の生体適合性成分は、好ましくは、1つまたは複数の治療的細胞を1つまたは複数の繊維に付着させる生体適合性接着剤、および、1つまたは複数の治療的細胞

10

20

30

40

50

および1つまたは複数の繊維を埋め込む生体適合性ゲルを含む。例えば、組成物は、1つまたは複数の治療的細胞を1つまたは複数の繊維に付着させるフィブリンゲル、および、1つまたは複数の治療的細胞および1つまたは複数の繊維を埋め込むセルロースゲルを含んでよい。

【0032】

任意の上述した実施態様では、生体適合性接着剤および／または生体適合性ゲルは、好ましくは血小板溶解物を含む。例えば、接着剤および／またはゲルは、血小板溶解物ゲルであってよい。血小板溶解物とは、血小板に含まれる天然の成長因子の組み合わせを指し、これらの血小板の溶解により放出されている。溶解は、化学的手段（すなわちCaCl₂）、浸透圧的手段（蒸留H₂Oの使用）、または凍結融解手順により、達成することができる。血小板溶解物は、米国特許第5,198,357号に記載のように全血から採取することができる。血小板溶解物は、好ましくは、PCT/GB12/052911（WO2013/076507として公開）に記載のように調製される。例えばそれは、血小板の集団を少なくとも1回の凍結融解サイクルに供することにより調製され得て、ここで、各サイクルの凍結部分は、-78℃以下の温度で行なわれる。

【0033】

接着剤および／またはゲルは、好ましくは、（a）血小板溶解物、（b）少なくとも1つの薬学的に許容できるポリマー、および、（c）リジン、アルギニン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、アラニン、メチオニン、プロリン、セリン、アスパラギン、システイン、ポリアミノ酸、プロタミン、アミノグアニジン、亜鉛イオンおよびマグネシウムイオンからなる群より選択される少なくとも1つの薬学的に許容できる正電荷の化学種を含み、ここで、組成物は、室温で1000～500,000mPa・s（cps）の範囲の粘度を有する水性ゲルである。薬学的に許容できるポリマーは、好ましくは、セルロースまたはポロキサマーである。上記に述べた任意のセルロースおよびポロキサマーであってよい。

【0034】

血小板溶解物は、好ましくはヒト血小板溶解物である。血小板溶解物は、以下により詳細に述べられる。

【0035】

治療的細胞

また、組成物は、1つまたは複数の治療的細胞も含む。治療的細胞は、治療的效果を有することのできる細胞である。治療的細胞は典型的に、生細胞である。治療的細胞は典型的に、損傷組織を修復することが可能な細胞である。1つまたは複数の治療的細胞は、好ましくは自己由来である。換言すれば、1つまたは複数の細胞は、好ましくは、損傷組織を修復するために細胞が投与される患者から採取される。あるいは、1つまたは複数の細胞は、好ましくは同種異系である。換言すれば、細胞は、好ましくは、損傷組織を修復するために細胞が投与される患者と免疫学的に適合する患者から採取される。1つまたは複数の細胞は、半一同種異系であってよい。半一同種異系の集団は、典型的に、細胞が投与される患者と免疫学的に適合する2以上の患者から生産される。換言すれば、1つまたは複数の細胞の全ては、好ましくは、それらが投与される患者と遺伝学的に同一であり、または、細胞は、それらが投与される患者と免疫学的に適合するように十分に遺伝学的に同一である。

【0036】

任意の数の細胞が、組成物中に存在してよい。組成物は、1つの細胞のみ含んでよい。例えば、組成物は、1つの細胞および1つの繊維を含んでよい。

【0037】

組成物は典型的に、1よりも多い細胞、例えば少なくとも2、少なくとも5、少なくとも10、少なくとも20、少なくとも30、少なくとも40、少なくとも50、少なくとも100、少なくとも200、少なくとも500、少なくとも1000、少なくとも2000、少なくとも5000、少なくとも10000、少なくとも50000、少なくとも

100000、少なくとも 5×10^5 、少なくとも 1×10^6 、少なくとも 2×10^6 、少なくとも 5×10^6 、少なくとも 1×10^7 、少なくとも 2×10^7 、少なくとも 5×10^7 、少なくとも 1×10^8 または少なくとも 2×10^8 の細胞を含む。ある場合には、組成物は、少なくとも 1.0×10^7 、少なくとも 1.0×10^8 、少なくとも 1.0×10^9 、少なくとも 1.0×10^{10} 、少なくとも 1.0×10^{11} または少なくとも 1.0×10^{12} の細胞、またはさらにより多くの細胞を含んでよい。

【0038】

1よりも多い細胞が組成物中に存在する場合は、細胞の集団は同種であってよい。換言すれば、集団内の全ての細胞は、同じタイプの細胞、例えば間葉系幹細胞（MSC）であってよい。あるいは、細胞の集団は、異種であってよい。換言すれば、細胞の集団は、異なるタイプの細胞、例えばMSCおよび中胚葉性系統（PML）の前駆細胞を含んでよい。

10

【0039】

1つまたは複数の治療的細胞は、好ましくは、1つまたは複数の中胚葉性系統の前駆細胞（PML）である。PMLは、PCT/GB2012/051600（WO2013/005053として公開）に開示される。そこに開示される任意の細胞を用いてよい。PMLは、検出可能なレベルのCD29、CD44、CD73、CD90、CD105およびCD271を発現するが、検出可能なレベルのCD14、CD34およびCD45を発現しない。

【0040】

PMLを有利に用いて患者における損傷組織を修復し得る。PMLは、組織において抗炎症性効果を効率的に発揮することが可能である。PMLの抗炎症性効果は、損傷組織における隣接細胞の生存、修復および再生を促進する。また、細胞は、血管形成性、走化性および抗アポトーシス性の因子の分泌のような、パラクリン作用を発揮することも可能である。

20

【0041】

以下により詳細に述べるように、PMLは、ヒト個体などの個体から得られる単核細胞（MC）（末梢MCなど）から生産される。PMLはMCから生産されるので、それらは（例えば末梢血から）容易に生産され得て、処置される患者にとって自己由来であり得て、それにより、患者による免疫学的拒絶のリスクを回避する。

30

【0042】

MCの様々なサンプル（すなわち血液の様々なサンプル）を得ることができるので、原理的には、単一の個体から無制限の数のPMLを生産することが可能である。非常に多くの数のPMLを単一の個体から生産することが確実に可能である。したがって、本発明のPMLは多くの数で作ることができる。

【0043】

PMLは、臨床関連の条件下で、例えば、微量のエンドトキシンおよび他の環境汚染物質、ならびにウシ胎仔血清などの動物産物の不存在下で生産される。このことは、PMLを、患者への投与に特に適切にする。

【0044】

PMLはMCから生産されるので、それらは実質的に同質であり、自己由来であり得る。また、それらは、間葉系幹細胞（MSC）で頻繁に生じるドナー間の変動を回避する。PMLの非常に多くの集団は、化学療法または放射線療法のような任意の他の治療が始まる前に、患者から得られた単一のサンプルから生産することができる。したがって、PMLは、これらの治療の任意の有害な効果を回避することができる。

40

【0045】

PMLは、迅速に作製することができる。PMLは、30日未満、例えば約22日で、MCから生産することができる。

【0046】

MCからのPMLの生産は、ヒト胚性幹細胞（hESC）に由来する間葉系幹細胞（M

50

SC)の使用と関連する道徳的および倫理的影響を回避する。

【0047】

PMLは典型的に、ヒトMCから生産される。したがって、PMLは典型的にヒトである。あるいは、PML細胞は、他の動物または哺乳類由来、例えば、ウマ、ウシ、ヒツジまたはブタのような商業的に飼育される動物由来、マウスまたはラットのような実験動物由来、または、ネコ、イヌ、ウサギまたはモルモットのようなペット由来のMCから生産され得る。

【0048】

PMLは、系統限定マーカー、構造的および機能的特徴の発現を含む、当該分野で知られている標準的な方法を用いて、中胚葉性系統の前駆細胞として同定することができる。PMLは、中胚葉性系統の前駆細胞の特徴であることが知られる細胞表面マーカーを検出可能なレベルで発現する。特に、以下により詳細に述べるマーカーに加えて、PMLは、 α -平滑筋アクチン、I型コラーゲン α -鎖、GATA6、Mohawk、およびビメンチンを発現し得る (Sagi Betal Stem Cells Dev. 2012 Mar 20; 21(5): 814-28)。

【0049】

PMLは、分化アッセイをインビトロでうまく完了することが可能であり、それらが中胚葉性系統であることが確認される。そのようなアッセイは、限定されないが、脂肪生成の分化アッセイ、骨分化アッセイ、および神経分化アッセイを含む (Zaim Met al Ann Hematol. 2012 Aug; 91(8): 1175-86)。

【0050】

PMLは幹細胞ではない。具体的には、それらは間葉系幹細胞(MSC)ではない。それらは最終分化している。それらは、インビトロで適切な条件下で、例えば軟骨または骨細胞へ分化させることができるが、インビボでは分化しない。PMLは、損傷組織においてパラクリンシグナリングを発揮することにより、それらの効果を有する。具体的には、PMLは、好ましくは、損傷組織において抗炎症性(anti-inflammatory)効果を誘導することが可能である。このことは以下により詳細に述べられる。

【0051】

PMLは典型的に、紡錘形の形態により特徴付けられる。PMLは典型的に、線維芽細胞様であり、すなわちそれらは、長細い多少の細胞突起を有する小さな細胞体を有する。細胞は典型的に、約10~約20 μ mの直径である。

【0052】

PMLは、それらのマーカー発現パターンを介して他の細胞から区別される。PMLは、検出可能なレベルのCD29、CD44、CD73、CD90、CD105およびCD271を発現する。PMLは、CD29、CD44、CD73、CD90、CD105およびCD271のうちの1つまたは複数、例えばすべてを過剰発現し得る。PMLは、CD29、CD44、CD73、CD90、CD105およびCD271のうちの1つまたは複数、それらが他のPMLおよび/またはMSCよりも多く発現する場合に過剰発現する。PMLは、検出可能なレベルのCD14、CD34およびCD45を発現しない。PMLは、好ましくは、CD62E(E-セレクトイン)および/またはCD62P(P-セレクトイン)を発現する。

【0053】

当該分野で知られている標準的な方法を用いて、上記(および以下)に述べる様々なマーカーの、検出可能な発現、低い発現、またはその欠如を判定し得る。適切な方法は、限定されないが、免疫細胞化学、免疫測定法、フローサイトメトリー、例えば蛍光活性化細胞ソーティング(FACS)、およびポリメラーゼ連鎖反応(PCR)、例えば逆転写PCR(RT-PCR)を含む。適切な免疫測定法は、限定されないが、ウェスタンブロッティング、酵素結合免疫測定法(ELISA)、酵素結合免疫吸着スポット分析(ELISPOT分析)、競合的酵素免疫分析法、放射性アレルゲン吸着(RAST)試験、ラジオイムノアッセイ、ラジオバインディングアッセイおよび免疫蛍光を含む。ウェスタンブ

10

20

30

40

50

ロッティング、E L I S A および R T - P C R は、全て定量的なので、存在するならば様々なマーカーの発現のレベルを測定するために用いることができる。F A C S の使用が好ましい。本明細書において述べられる様々なマーカーの全てに関する抗体および蛍光標識抗体は市販される。

【0054】

1 つまたは複数の治療的細胞は、好ましくは、本出願と同時に本出願される U K 出願に開示される 1 つまたは複数の免疫調節前駆 (I M P) 細胞である (C T L R e f . I M P 1) 。 I M P 細胞は、検出可能なレベルの M I C A / B 、 C D 3 0 4 (ニューロピリン 1) 、 C D 1 7 8 (F A S リガンド) 、 C D 2 8 9 (T o l l 様受容体 9) 、 C D 3 6 3 (スフィンゴシン-1-リン酸受容体 1) 、 C D 9 9 、 C D 1 8 1 (1 型 C - X - C ケモカイン受容体 ; C X C R 1) 、 上皮成長因子受容体 (E G F - R) 、 C X C R 2 および C D 1 2 6 を発現する。

10

【0055】

I M P 細胞を有利に用いて、患者における損傷組織を修復し得る。I M P 細胞は、組織において抗炎症性効果を発揮することが可能である。I M P 細胞の抗炎症性効果は、損傷組織における隣接細胞の生存、修復および再生を促進する。また、細胞は、血管形成性、走化性および抗アポトーシス性の因子の分泌のような、パラクリン作用を発揮することも可能である。

【0056】

I M P 細胞は典型的に、ヒト M C から生産される。したがって、本発明の I M P 細胞は、典型的にヒトである。あるいは、I M P 細胞は、他の動物または哺乳類由来、例えば、ウマ、ウシ、ヒツジまたはブタのような商業的に飼育される動物由来、マウスまたはラットのような実験動物由来、または、ネコ、イヌ、ウサギまたはモルモットのようなペット由来の M C から生産され得る。

20

【0057】

また、I M P 細胞は、ヒト個体などの個体から得られる単核細胞 (M C) (末梢 M C など) から生産される。それ故に、それらは、上記に述べた P M L と同じ利点を有する。I M P 細胞は、分化アッセイをインビトロでうまく完了することが可能であり、それらが中胚葉性系統であることが確認される。そのようなアッセイは、限定されないが、脂肪生成の分化アッセイ、骨分化アッセイ、および神経分化アッセイを含む (Z a i m M e t a l A n n H e m a t o l . 2 0 1 2 A u g ; 9 1 (8) : 1 1 7 5 - 8 6) 。

30

【0058】

I M P 細胞は幹細胞ではない。具体的には、それらは M S C ではない。それらは最終分化されている。それらは、インビトロで適切な条件下で、例えば軟骨または骨細胞へ分化させることができるが、典型的に、インビボでは分化しない。本発明の I M P 細胞は、損傷組織においてパラクリンシグナリングを発揮することにより、それらの効果を有する。具体的には、I M P 細胞は、好ましくは、損傷組織において抗炎症性 (a n t i - f l a m m a t o r y) 効果を誘導することが可能である。このことは以下により詳細に述べられる。

【0059】

I M P 細胞は典型的に、紡錘形の形態により特徴付けられる。I M P 細胞は典型的に、線維芽細胞様であり、すなわちそれらは、長細い多少の細胞突起を有する小さな細胞体を有する。細胞は典型的に、約 1 0 ~ 約 2 0 μ m の直径である。

40

【0060】

本発明の I M P 細胞は、それらのマーカー発現パターンを介して、M S C を含む公知の細胞から区別される。I M P 細胞は、検出可能なレベルの M I C A / B 、 C D 3 0 4 (ニューロピリン 1) 、 C D 1 7 8 (F A S リガンド) 、 C D 2 8 9 (T o l l 様受容体 9) 、 C D 3 6 3 (スフィンゴシン-1-リン酸受容体 1) 、 C D 9 9 、 C D 1 8 1 (1 型 C - X - C ケモカイン受容体 ; C X C R 1) 、 上皮成長因子受容体 (E G F - R) 、 C X C R 2 および C D 1 2 6 を発現する。I M P 細胞は、好ましくは、M S C と比較して増加

50

した量のこれらのマーカーを発現する。これは、同一の条件下で同一の技術を用いて、本発明のIMPでのマーカーの発現レベル／量を、MSCでの発現レベル／量と比較することにより判定することができる。適切なMSCは市販されている。比較に用いるMSCは、好ましくはヒトMSCである。ヒトMSCは、Mesoblast（登録商標）Ltd、Osiris Therapeutics（登録商標）Inc. またはLonza（登録商標）から市販される。ヒトMSCは、好ましくはLonza（登録商標）から得られる。そのような細胞を実施例で比較に用いた。MSCは、上記に述べた動物または哺乳類のいずれかから得てよい。

【0061】

IMP細胞は、好ましくは、MSCと比較して増加した量の、1つまたは複数のMIC A／B、CD304（ニューロピリン1）、CD178（FASリガンド）、CD289（Toll様受容体9）、CD363（スフィンゴシン-1-リン酸受容体1）、CD99、CD181（1型C-X-Cケモカイン受容体；CXCR1）、上皮成長因子受容体（EGF-R）、CXCR2およびCD126を発現する。IMP細胞は、好ましくは、MSCと比較して、増加した量の10個のマーカー全てを発現する。

【0062】

上記に開示した任意の方法を用いて、これらのマーカーの検出可能な発現または増加した発現を判定してよい。本明細書に開示される任意のマーカーの発現または増加した発現は、好ましくは、ハイスループットFACS（HT-FACS）を用いてなされる。

【0063】

IMP細胞は、好ましくは、MIC A／Bに関して少なくとも330、例えば少なくとも350または少なくとも400の抗体平均蛍光強度（MFI）、CD304（ニューロピリン1）に関して少なくとも210、例えば少なくとも250または少なくとも300のMFI、CD178（FASリガンド）に関して少なくとも221、例えば少なくとも250または少なくとも300のMFI、CD289（Toll様受容体9）に関して少なくとも186、例えば少なくとも200または少なくとも250のMFI、CD363（スフィンゴシン-1-リン酸受容体1）に関して少なくとも181、例えば少なくとも200または少なくとも250のMFI、CD99に関して少なくとも184、例えば少なくとも200または少なくとも250のMFI、CD181（1型C-X-Cケモカイン受容体；CXCR1）に関して少なくとも300、例えば少なくとも350または少なくとも400のMFI、上皮成長因子受容体（EGF-R）に関して少なくとも173、例えば少なくとも200または少なくとも250のMFI、CXCR2に関して少なくとも236、例えば少なくとも250または少なくとも300のMFI、および、CD126に関して少なくとも160、例えば少なくとも200または少なくとも250のMFIを示す。平均蛍光強度（MFI）は、平方メートルあたりのワットで測定される、強度、時間平均エネルギー束の測定単位である。それはSI単位である。各マーカーに関するMFIは、典型的に、HT-FACSを用いて測定される。各マーカーに関するMFIは、好ましくは、本出願と同時に出願されるUK出願の実施例に記載のようにHT-FACSを用いて測定される（CTL Ref. IMP1）。

【0064】

上記に特定した10個のマーカーに加えて、IMP細胞は典型的に、本出願と同時に出願されるUK出願の実施例の表1に示される他のマーカーの1つまたは複数を検出可能なレベルで発現する（CTL Ref. IMP1）。IMP細胞は、これらのマーカーの任意の数および組み合わせを検出可能なレベルで発現し得る。

【0065】

IMP細胞は、好ましくは、検出可能なレベルの1つまたは複数のCD267、CD47、CD51／CD61、CD49f、CD49d、CD146、CD340、Notch2、CD49b、CD63、CD58、CD44、CD49c、CD105、CD166、HLA-ABC、CD13、CD29、CD49e、CD73、CD81、CD90、CD98、CD147、CD151およびCD276を発現する。IMP細胞は、より

10

20

30

40

50

好ましくは、検出可能なレベルの1つまたは複数のCD10、CD111、CD267、CD47、CD273、CD51/CD61、CD49f、CD49d、CD146、CD55、CD340、CD91、Notch2、CD175s、CD82、CD49b、CD95、CD63、CD245、CD58、CD108、B2-ミクログロブリン、CD155、CD298、CD44、CD49c、CD105、CD166、CD230、HLA-ABC、CD13、CD29、CD49e、CD59、CD73、CD81、CD90、CD98、CD147、CD151およびCD276を発現する。IMP細胞は、これらのマーカーの任意の数および組み合わせを検出可能なレベルで発現し得る。IMP細胞は、好ましくは、これらのマーカーの全てを検出可能なレベルで発現する。

【0066】

IMP細胞は、好ましくは、検出可能なレベルの1つまたは複数のCD156b、CD61、CD202b、CD130、CD148、CD288、CD337、SSEA-4、CD349およびCD140bを発現する。IMP細胞は、より好ましくは、検出可能なレベルの1つまたは複数のCD156b、CD61、CD202b、CD130、CD148、CD288、CD337、SSEA-4、CD349、CD140b、CD10、CD111、CD267、CD47、CD273、CD51/CD61、CD49f、CD49d、CD146、CD55、CD340、CD91、Notch2、CD175s、CD82、CD49b、CD95、CD63、CD245、CD58、CD108、B2-ミクログロブリン、CD155、CD298、CD44、CD49c、CD105、CD166、CD230、HLA-ABC、CD13、CD29、CD49e、CD59、CD73、CD81、CD90、CD98、CD147、CD151およびCD276を発現する。IMP細胞は、これらのマーカーの任意の数および組み合わせを検出可能なレベルで発現し得る。IMP細胞は、好ましくは、これらのマーカーの全てを検出可能なレベルで発現する。

【0067】

IMP細胞は、好ましくは、検出可能なレベルの1つまたは複数のCD72、CD133、CD192、CD207、CD144、CD41b、FMC7、CD75、CD3e、CD37、CD158a、CD172b、CD282、CD100、CD94、CD39、CD66b、CD158b、CD40、CD35、CD15、PAC-1、CLIP、CD48、CD278、CD5、CD103、CD209、CD3、CD197、HLA-DM、CD20、CD74、CD87、CD129、CDw329、CD57、CD163、TPBG、CD206、CD243(BD)、CD19、CD8、CD52、CD184、CD107b、CD138、CD7、CD50、HLA-DR、CD158e2、CD64、DCIR、CD45、CLA、CD38、CD45RB、CD34、CD101、CD2、CD41a、CD69、CD136、CD62P、TCRαβ、CD16b、CD1a、ITGB7、CD154、CD70、CDw218a、CD137、CD43、CD27、CD62L、CD30、CD36、CD150、CD66、CD212、CD177、CD142、CD167、CD352、CD42a、CD336、CD244、CD23、CD45RO、CD229、CD200、CD22、CDH6、CD28、CD18、CD21、CD335、CD131、CD32、CD157、CD165、CD107a、CD1b、CD332、CD180、CD65およびCD24を発現する。IMP細胞は、これらのマーカーの任意の数および組み合わせを検出可能なレベルで発現し得る。IMP細胞は、好ましくは、これらのマーカーの全てを検出可能なレベルで発現する。

【0068】

1つまたは複数のIMP細胞は、本出願と同時に出願されるUK出願に開示される集団のいずれかの部分であってよい(CTL Ref. IMP1)。

【0069】

IMP細胞は、好ましくは、患者における特定の損傷組織に付着することが可能である。付着および接着アッセイは、当該分野で知られている(Humphries, Meth

10

20

30

40

50

ods Mol Biol. 2009; 522: 203-10)。

【0070】

IMP細胞は、好ましくは、患者における特定の損傷組織において、増殖することが可能である。細胞増殖アッセイは、当該分野でよく知られている。そのようなアッセイは、例えばLife Technologies（登録商標）から市販されている。

【0071】

IMP細胞は、好ましくは、患者における特定の損傷組織において、血管新生を促進することが可能である。血管新生アッセイは、当該分野で知られている（Auerback et al., Clin Chem. 2003 Jan; 49(1): 32-40）。

【0072】

IMP細胞は、好ましくは、患者の損傷組織において、抗炎症性効果を有することが可能である。また、本発明のIMP細胞が抗炎症性効果を有する能力は、当該分野で知られている標準的なアッセイを用いて測定してもよい。適切な方法は、限定されないが、サイトカインの分泌に関する酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）、増強された混合白血球反応、および、共刺激分子および成熟マーカーの上方制御（フローサイトメトリーにより測定される）を含む。用いられ得る特定の方法は、実施例に開示される。測定されるサイトカインは、典型的に、インターロイキン、例えばインターロイキン-8（IL-8）、セレクチン、接着分子、例えば細胞間接着分子-1（ICAM-1）、および化学誘引物質タンパク質、例えば単球走化性タンパク質-1（MCP-1）および腫瘍壊死因子α（TNF-α）である。これらのサイトカインに関するアッセイは市販されている。抗炎症性因子は、好ましくは、実施例に記載のLuminex（登録商標）アッセイを用いて検出および測定される。そのようなアッセイは、Life Technologies（登録商標）から市販される。

【0073】

IMP細胞は、好ましくは、検出可能なレベルの1つまたは複数のインターロイキン-6（IL-6）、IL-8、C-X-Cモチーフケモカイン10（CXCL10；インターフェロンγ誘導性タンパク質10；IP-10）、ケモカイン（C-Cモチーフ）リガンド2（CCL2；単球走化性タンパク質-1；MCP-1）およびケモカイン（C-Cモチーフ）リガンド5（CCL5；regulated on activation, normal T cell expressed and secreted；RANTES）を分泌する。IMP細胞は、これらの因子の任意の数および組み合わせを分泌し得る。IMP細胞は、好ましくは、これらのマーカーの全てを分泌する。

【0074】

IMP細胞は、好ましくは、MSCと比較して増加した量の1つまたは複数のIL-6、IL-8、IP-10、MCP-1およびRANTESを分泌する。IMP細胞は、これらの因子の任意の数および組み合わせを増加した量で分泌し得る。IMP細胞は、好ましくは、これらのマーカーの全てを増加した量で分泌する。

【0075】

IMP細胞は、好ましくは、間葉系幹細胞MSCと比較して減少した量のインターロイキン-10（IL-10）および／またはIL-12を分泌する。IL-10およびIL-12は、炎症促進性のサイトカインである。

【0076】

IMP細胞は、上記に述べたものに加えて、様々な異なる他のマーカーを発現する。これらの一部は、IMP細胞が、損傷組織において抗炎症性効果を有するそれらの能力を補助する。本発明のIMP細胞はいずれも、検出可能なレベルの1つまたは複数の（i）インスリン様成長因子-1（IGF-1）、（ii）IGF-1受容体；（iii）1型C-Cケモカイン受容体（CCR1）、（iv）ストロマ細胞由来因子-1（SDF-1）、（v）低酸素誘導因子-1α（HIF-1α）、（vi）Akt1および（vii）肝細胞増殖因子（HGF）および／または顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）を、さらに発現し得る。

10

20

30

40

50

【0077】

I G F - 1 受容体は、I G F - 1 勾配に向かう遊走能力を促進する。I G F - 1 が遊走を増大させるメカニズムの1つは、細胞の表面上のC X C R 4の上方制御によるものであり、S D F - 1 シグナリングに対してそれらをより感受性にさせる。このことは上述されている。

【0078】

C C R 1 は、C C L 7（以前はM C P 3として知られる）の受容体であり、M S Cのホーミングおよび生着能力を高め（したがって、本発明のI M P細胞に関して同一の効果を有することが期待される）、および、パラクリンシグナリングを介して、外傷心筋における毛管密度を増大させることができる。

10

【0079】

H I F - 1 α は、酸素送達を増大させかつ適応性の生存促進性の応答を促進するパスウェイを活性化する。多くのH I F - 1 α の標的遺伝子の中には、エリスロポエチン（E P O）、エンドセリンおよびV E G F（その受容体F l k - 1を有する）がある。H I F - 1 α を発現する、または増加した量のH I F - 1 α を発現するI M P細胞は、より治療的なサブタイプを促進し得る様々な血管原性成長因子などのパラクリン刺激の発現が上方制御される。以下により詳細に記載するように、本発明のI M P細胞は、低酸素（20%未満の酸素）、例えば、約2%または約0%の酸素の条件下でそれらを培養することにより、より治療的なサブタイプへ前もって調整することができる。

【0080】

A k t 1 は、グルコース代謝、細胞増殖、アポトーシス、転写および細胞遊走などの複数の細胞のプロセスにおいて重要な役割を果たす、細胞内セリン／トレオニンタンパク質キナーゼである。A k t 1の過剰発現は、ラットM S Cがアポトーシスを受けるのを防ぐことが示されていて、本発明のI M P細胞において同一の効果を有するであろう。アポトーシスからの保護は、I M P細胞の治療効果を高める。

20

【0081】

M S CによるH G Fの過剰発現は、血管新生およびカルシニューリンが仲介するパスウェイを介したアポトーシスの阻害により、虚血後の心不全を防ぐことが示されている。H G FおよびG - C S Fは、この点について相乗効果を示す。また、H G Fおよびその受容体c - m e tが高発現であるM S Cは、損傷組織への遊走能力も高い（ホルモンのパラクリンおよびオートクリンシグナリングを介して達成される）。H G Fおよび／またはG - C S Fを発現している本発明のI M P細胞についても同様である。

30

【0082】

I M P細胞は、検出可能なレベルの、上記に定義した（i）～（v i i）の1または複数を発現し得る。本発明のI M P細胞は、好ましくは、M S Cと比較して増加した量の（i）～（v i i）の1または複数を発現する。細胞マーカーに関する定量分析は上述される。これらのマーカーの検出可能な発現およびそれらの発現レベルは、上述のように測定し得る。

【0083】

任意のI M P細胞は、検出可能なレベルの1または複数の（i）血管内皮成長因子（V E G F）、（i i）形質転換成長因子 β （T G F - β ）、（i i i）インスリン様成長因子-1（I G F - 1）、（i v）線維芽細胞成長因子（F G F）、（v）腫瘍壊死因子 α （T N F - α ）、（v i）インターフェロン γ （I F N - γ ）および（v i i）インターロイキン-1 α （I L - 1 α ）を発現し得る。V E G Fを過剰発現している細胞由来の馴化培地は、ハムスターモデルにおいて心不全を緩和することが示されている。それ故に、V E G Fを発現する、または増加した量のV E G Fを発現する本発明のI M P細胞は、損傷した心臓の組織の同一効果を有する。

40

【0084】

I M P細胞は、検出可能なレベルの1または複数の（i）～（v i i）を発現し得る。I M P細胞は、M S Cと比較して増加した量の1または複数の（i）～（v i i）を発現

50

【 0 0 8 5 】

50

(v) および (v i) ; (i) 、 (i i) 、 (i i i) 、 (v) および (v i i) ; (i) 、 (i i) 、 (i i i) 、 (v i) および (v i i) ; (i) 、 (i i) 、 (i v) 、 (v) および (v i) ; (i) 、 (i i) 、 (i v) 、 (v i) および (v i i) ; (i) 、 (i i) 、 (v) 、 (v i) および (v i i) ; (i) 、 (i i i) 、 (i v) 、 (v) および (v i) ; (i) 、 (i i i) 、 (i v) 、 (v) および (v i i) ; (i) 、 (i i i) 、 (i v) 、 (v i) および v i i ; (i) 、 (i i i) 、 (v) 、 (v i) および (v i i) ; (i) 、 (i v) 、 (v) 、 (v i) および (v i i) ; (i i) 、 (i i i) 、 (i v) 、 (v) および (v i) ; (i i) 、 i i i) 、 (i v) 、 (v) および (v i i) ; (i i) 、 (i i i) 、 (i v) 、 (v i) および (v i i) ; (i i) 、 (i i i) 、 (v) 、 (v i) および (v i i) ; (i i) 、 (i v) 、 (v) 、 (v i) および (v i i) ; (i i i) 、 (i v) 、 (v) 、 (v i) および v i i ; (i) 、 (i i) 、 (i i i) 、 (i v) 、 (v) および (v i i) ; (i) 、 (i i) 、 (i i i) 、 (i v) 、 (v i) および (v i i) ; (i) 、 (i i) 、 (i i i) 、 (v) 、 (v i) および (v i i) ; (i) 、 (i i) 、 (i v) 、 (v) 、 (v i) および (v i i) ; (i) 、 (i i i) 、 (i v) 、 (v) 、 (v i) および (v i i) ; または (i) 、 (i i) 、 (i i i) 、 (i v) 、 (v) 、 (v i) および (v i i) を、発現し得る。(i) ~ (v i i) の各定義の組み合わせは、このリストから独立に選択される。

10

20

【0086】

上述した任意のマーカーに加えて、IMP細胞は、好ましくは、検出可能なレベルのLIFおよび／または血小板由来成長因子(PDGF)受容体も発現する。本発明のIMP細胞は、好ましくは、間葉系幹細胞と比較して増加した量のLIFおよび／または血小板由来成長因子(PDGF)受容体を発現する。PDGF受容体は、好ましくは、PDGF-A受容体および／またはPSDGF-B受容体である。これらの受容体の発現が高いMSCは、血小板が活性化されている領域、例えば創傷および血栓性血管へ、効率的に遊走することができる。当該受容体を発現または増加した量の当該受容体を発現しているIMP細胞についても同様である。

【0087】

PMLおよび／またはIMP細胞は、好ましくは自己由来である。換言すれば、細胞は、好ましくは、細胞が投与される患者から採取される。あるいは、PMLおよび／またはIMP細胞は、好ましくは同種異系である。換言すれば、細胞は、好ましくは、細胞が投与される患者と免疫学的に適合する患者から採取される。

30

【0088】

PMLおよび／またはIMP細胞は、抗体に基づく技術を含む様々な技術を用いて単離され得る。細胞は、PMLおよび／またはIMP細胞上に存在するこれらの表面マーカー(上記参照)に対するモノクローナル抗体の結合に基づくネガティブおよびポジティブ選択技術を用いて単離され得る。それ故に、PMLおよび／またはIMP細胞は、蛍光活性化細胞ソーティング(FACS)および磁気ビーズ分離を含む、任意の抗体に基づく技術を用いて分離され得る。

40

【0089】

以下により詳細に述べるように、PMLおよび／またはIMP細胞は、エキスピボで処置され得る。したがって、細胞は、治療薬または診断薬がロードまたはトランスフェクトされ得て、その結果、本発明の方法において治療的に用いられる。

【0090】

1つまたは複数のPMLおよび／またはIMP細胞は、任意の公知の方法を用いて生産してよい。1つまたは複数のPMLは、好ましくは、国際出願PCT/GB2012/051600(WO2013/005053として公開)に記載の方法を用いて生産される。1つまたは複数のIMP細胞は、好ましくは、本出願と同時に出願されるUK出願に開

50

示の方法を用いて生産される (C T L R e f . I M P 1) 。

【0091】

これは典型的に、単核細胞 (M C) を、M C が P M L または I M P 細胞へ分化するのを誘導する条件下で培養するステップ、およびそれから、上述のマーカーを発現する P M L または I M P 細胞を採取および培養するステップを含む。

【0092】

単核細胞 (M C) およびそれらを単離する方法は、当該分野で知られている。M C は、骨髓から単離される初期の (p r i m a r y) M C であってよい。M C は、好ましくは末梢血 M C (P B M C)、例えば、リンパ球、単球および／またはマクロファージである。P B M C は、F i c o l l (登録商標) などの親水性多糖類を用いて、血液から単離することができる。例えば、P B M C は、実施例に開示されるように、F i c o l l - P a q u e (登録商標) (市販の密度培地) を用いて血液から単離され得る。

【0093】

培養する前に、M C を、間葉系幹細胞エンリッチメントカクテルに曝してよい。カクテルは、好ましくは、C D 3、C D 1 4、C D 1 9、C D 3 8、C D 6 6 b (不要な細胞上に存在する) を認識する抗体および赤血球の成分を含む。そのようなカクテルは、不要な細胞を赤血球と架橋させてイムノロゼット (i m m u n o r o s e t t e) を形成し、それは必要な M C から除去され得る。好ましいカクテルは R o s e t t e S e p (登録商標) である。

【0094】

M C が間葉系細胞 (主に中胚葉に由来する組織) へ分化するのを誘導する適切な条件は、当該分野で知られている。例えば、適切な条件は、C a p e l l i , C . , e t a l . (Human platelet lysate allows expansion and clinical grade production of mesenchymal stromal cells from small samples of bone marrow aspirates or marrow filter washouts. Bone Marrow Transplantation, 2007. 40: p. 785-791) に開示される。これらの条件を用いて、本発明のとおり M C が P M L 分化するのを誘導してもよい。

【0095】

当該方法は、好ましくは、M C を血漿溶解物とともに培養して、M C が P M L または I M P 細胞へ分化するのを誘導するステップを含む。血小板溶解物とは、血小板に含まれる天然の成長因子の組み合わせ (これらの血小板の溶解により放出されたもの) をいう。溶解は、化学的手段 (すなわち C a C l ₂)、浸透圧的手段 (蒸留 H₂O の使用) を介して、または、凍結／融解の手順を介して、達成することができる。血小板溶解物は、米国特許第 5, 198, 357 号に記載のとおり、全血から得ることができる。血小板溶解物は、好ましくは、P C T / G B 1 2 / 0 5 2 9 1 1 (W O 2 0 1 3 / 0 7 6 5 0 7 として公開) に記載のとおり調製される。血漿溶解物は、好ましくはヒト血漿溶解物である。

【0096】

例えば、M C は、血小板溶解物を含む培地中で、M C が P M L または I M P 細胞へ分化するのを誘導するのに十分な時間、培養され得る。十分な時間は典型的に、約 15～約 25 日、好ましくは約 22 日である。培地は、好ましくは、約 20 体積% またはそれ未満の血小板溶解物、例えば約 15 体積% またはそれ未満、または約 10 体積% またはそれ未満を含む。培地は、好ましくは、約 5 体積%～約 20 体積% の血小板溶解物、例えば約 10 体積%～約 15 体積% を含む。培地は、好ましくは、約 10 体積% の血小板溶解物を含む。

【0097】

あるいは、M C は、間葉性エンリッチメントカクテルに曝され、それから、M C が P M L または I M P 細胞へ分化するのを誘導するのに十分な時間、血小板溶解物を含む培地中で培養され得る。十分な時間は、典型的に、約 15～約 25 日、好ましくは約 22 日であ

10

20

30

40

50

る。

【0098】

培地は、好ましくは最小必須培地（MEM）である。MEMは、Sigma-Aldrichを含む様々な供給源から市販される。培地は、好ましくは、ヘパリン、L-グルタミンおよびペニシリン／ストレプトアビジン（P/S）の1または複数をさらに含む。L-グルタミンは、GlutaMAX（登録商標）（Life Technologiesから市販される）と置き換えてよい。

【0099】

MCは、典型的に、PMLまたはIMP細胞が付着するのを可能にする条件下で培養される。適切な条件は、上記により詳細に述べられている。

10

【0100】

MCは、好ましくは、低酸素条件下で培養される。MCは、好ましくは、約20%未満の酸素（ O_2 ）、例えば約19%未満、約18%未満、約17%未満、約16%未満、約15%未満、約14%未満、約13%未満、約12%未満、約11%未満、約10%未満、約9%未満、約8%未満、約7%未満、約6%未満、約5%未満、約4%未満、約3%未満、約2%未満、または約1%未満の酸素（ O_2 ）において培養される。MCは、好ましくは、約0%～約19%の O_2 、例えば約1%～約15%の O_2 、約2%～約10%の O_2 、または約5%～約8%の O_2 において培養される。MCは、最も好ましくは、約0%の O_2 において培養される。上記で見積もられた酸素の%（または O_2 の%）に関する数字は、例えば細胞インキュベーターにより、培養中に細胞に供給されるガス中の酸素の体積%に関連する。一部の酸素は、インキュベーター内に漏れ得て、または、ドアが開いているときに入り得ることが可能である。

20

【0101】

MCは、最も好ましくは、血小板溶解物の存在下および低酸素条件下で培養される。この組み合わせは、損傷組織内の自然な条件を模倣するので、より健康的かつより治療的に強力な細胞をもたらす。従来の細胞培養は、20%または21%酸素（およそ大気の含有量）で行われるが、ヒト体内に、この酸素レベルを有する場所はない。肺内の上皮細胞は、この酸素レベルを「見る」が、酸素が溶解して肺を去る時点で、17%付近に減少する。それから、組織の大部分でさらにいっそう約1～2%まで減少するが、関節内の軟骨のような無血管組織では0.1%という低さになる。

30

【0102】

また、1つまたは複数のPMLまたはIMP細胞を生産するステップは、上述の必須マーカー発現パターンを有するPMLまたはIMP細胞を採取および培養するステップも含む。必須マーカー発現パターンを有するPMLまたはIMP細胞は、蛍光活性化細胞ソーティング（FACS）および磁気ビーズ分離を含む任意の抗体に基づく技術を用いて採取してよい。FACSが好ましい。

【0103】

上述から明らかなように、1つまたは複数のPMLまたはIMP細胞の生産は、臨床関連の条件、すなわち、微量のエンドトキシンおよび他の環境汚染物質、例えば、リポ多糖、リポペプチドおよびペプチドグリカンなどの不存在下で行なわれる。このことは、PMLまたはIMP細胞を、患者への投与に特に適切にさせる。

40

【0104】

MCは、好ましくは、患者または同種異系ドナーから得られる。

【0105】

1つまたは複数の治療的細胞は、好ましくは、1つまたは複数の間葉系幹細胞（MSC）である。適切なMSCは、当該分野で知られている。上記に開示の任意のMSCを用いてよい。

【0106】

1つまたは複数の治療的細胞は、好ましくは、1つまたは複数の間葉前駆細胞（MPC）である。1つまたは複数の治療的細胞は、より好ましくは、1つまたは複数のヒト間葉

50

前駆細胞（MPC）である。

【0107】

1つまたは複数の治療的細胞は、好ましくは、1つまたは複数の樹状細胞である。

【0108】

1つまたは複数の治療的細胞は、好ましくは、1つまたは複数の血小板である。

【0109】

1つまたは複数の治療的細胞は、好ましくは、1つまたは複数の線維芽細胞である。

【0110】

1つまたは複数の治療的細胞は、好ましくは、1つまたは複数の筋線維芽細胞である。

【0111】

1つまたは複数の治療的細胞は、好ましくはヒトである。1つまたは複数の治療的細胞は、PMLおよびIMP細胞の由来に関して上述した任意の動物または哺乳類から採取してよい。

【0112】

1つまたは複数の治療的細胞は、典型的に、組成物中の他の成分と組み合わせられる前に、インビトロで培養される。細胞を培養する技術は、当業者によく知られている。細胞は、血清を含まない培地中、37℃、5%CO₂の標準的な条件下で培養され得る。細胞は、好ましくは、以下により詳細に述べる低酸素条件下で培養される。細胞は、標準的な6ウェルプレートのような平板のウェルを含む任意の適切なフラスコまたは容器内で培養してよい。そのようなプレートは、Fisher scientific、VWR suppliers、Nunc、StarstedtまたはFalconから市販される。ウェルは典型的に、約1ml～約4mlの容量を有する。

【0113】

フラスコ、容器またはウェル（その中に集団が含まれ、または培養される）は、細胞のハンドリングを促進するように改変され得る。例えば、フラスコ、容器またはウェルは、細胞の培養を促進するように、例えば、増殖マトリックスを含むなどにより改変され得る。フラスコ、容器またはウェルは、細胞の付着を可能にするように、または表面上への細胞の固定化を可能にするように、改変され得る。1つまたは複数の表面は、細胞外マトリックスタンパク質、例えば、ラミニンまたはコラーゲン、または、細胞に結合してそれらを表面（単数または複数）上に固定化または補足する任意の他の捕捉分子によりコーティングされ得る。

【0114】

細胞は、本明細書に記載の任意の技術を用いて、エキスピボで改変され得る。例えば、集団は、治療薬または診断薬がトランスフェクトまたはロードされ得る。それから集団は、以下により詳細に述べる治療方法において用いられ得る。

【0115】

好ましい組成物

好ましい本発明のハイブリッド組成物を、以下の表に要約する。

【0116】

10

20

30

【表 1】

	繊維 (単数または複数)	細胞 (単数または複数)	成分 (単数または複数)	型
1	PLGA	MSC、MPC、I MP、PMLまたは それらの混合物	フィブリン (ゲル)	繊維 (単数または複数) に付着した細胞 (単数 または複数)
2	PLGA	MSC、MPC、I MP、PMLまたは それらの混合物	インテグリン	繊維 (単数または複数) に付着した細胞 (単数 または複数)
3	PLGA	MSC、MPC、I MP、PMLまたは それらの混合物	カドヘリン	繊維 (単数または複数) に付着した細胞 (単数 または複数)
4	PLGA	MSC、MPC、I MP、PMLまたは それらの混合物	フィブリン (ゲル)	成分 (単数または複数) 内に埋め込まれた細胞 (単数または複数)
5	PLGA	MSC、MPC、I MP、PMLまたは それらの混合物	インテグリン	成分 (単数または複数) 内に埋め込まれた細胞 (単数または複数)
6	PLGA	MSC、MPC、I MP、PMLまたは それらの混合物	カドヘリン	成分 (単数または複数) 内に埋め込まれた細胞 (単数または複数)

【0117】

リポソーム組成物

また、本発明は、1つまたは複数のリポソーム内に包含された、1つまたは複数の本発明のハイブリッド組成物を含む、リポソーム組成物も提供する。適切なリポソームは、当該分野で知られている。適切なリポソームは、例えば、Akbarzadeh et al. Nanoscale Research Letters 2013, 8:102 and Meghana et al. International Journal Of Pharmaceutical And Chemical Sciences, 2012, 1(1):1-10に開示される。リポソームの形成で用いるための適切な脂質は、マイクロバブルに関して以下に述べられる。

【0118】

マイクロバブル組成物

また、本発明は、1つまたは複数のマイクロバブル内に包含された、1つまたは複数の本発明のハイブリッド組成物を含む、マイクロバブル組成物も提供する。マイクロバブル、それらの形成および生体医学的使用は、当技術分野で知られている（例えばSirsi

and Borden, Bubble Sci Eng Technol. Nov 2009; 1 (1-2): 3-17)。

【0119】

マイクロバブルは、直径が1ミリメートルより小さく、直径が1マイクロメートルよりも大きいバブルである。本発明のマイクロバブルは、好ましくは、直径が8 μm 以下、例えば直径が7 μm 以下、直径が6 μm 以下、直径が5 μm 以下、直径が4 μm 以下、直径が3 μm 以下、または直径が2 μm 以下である。

【0120】

マイクロバブルは、任意の物質から形成され得る。マイクロバブルの一般的な組成は、シェルにより安定化されたガスコアである。ガスコアは、空気または重いガス、例えばパーフルオロカーボン、窒素またはパーフルオロプロパン(perflouropropane)を含み得る。重いガスは、水溶性が低いので、マイクロバブルから漏出してマイクロバブルの溶解をもたらす可能性が低い。重いガスコアを有するマイクロバブルは、典型的に、循環において、より長持ちする。

【0121】

シェルは、任意の材料から形成され得る。シェル材料は、好ましくは、タンパク質、界面活性剤、脂質、ポリマーまたはそれらの混合物を含む。

【0122】

適切なタンパク質は、限定されないが、アルブミン、リゾチームおよびアビジンを含む。シェル内のタンパク質は、例えばシステイン-システイン結合により、化学的に架橋され得る。他の架橋は当該分野で知られている。

【0123】

適切な界面活性剤は、限定されないが、ソルビタンモノパルミテート(SPAN-40など)、ポリソルベート洗浄剤(TWEEN-40など)、SPAN-40およびTWEEN-40の混合物、およびスクロースステアリン酸(モノ-およびジ-エステル)を含む。

【0124】

適切なポリマーは、限定されないが、アルギネートポリマー、エチリデンの二重エステルポリマー、共重合体ポリ(D, L-ラクチド-コ-グリコリド)(PLGA)、ポリ(ビニルアルコール)(PVA)、共重合体ポリパーフルオロオクチルオキシカルボニル(polyperfluorooctyloxycaronyl)-ポリ(乳酸)(PLA-PFO)および他のブロック共重合体を含む。ブロック共重合体は、2以上のモノマーのサブユニットが共に重合されて単一のポリマー鎖を作る、ポリマー材料である。ブロック共重合体は、典型的に、それぞれのモノマーサブユニットにより与えられる特性を有する。しかしながら、ブロック共重合体は、個々のサブユニットから形成されるポリマーが保有しない独特の特性を有し得る。ブロック共重合体は、水性培地中で、モノマーサブユニットの1つが疎水性(すなわち脂溶性)であり、一方で、他方のサブユニット(単数または複数)が親水性であるように改変することができる。この場合、ブロック共重合体は、両親媒性の特性を有し得て、生物学的な膜を模倣する構造を形成し得る。ブロック共重合体は、ジブロック(2つのモノマーサブユニットからなる)であり得るが、2個よりも多いモノマーサブユニットからも作られ、両親媒性物質(amphipile)として振る舞う、より複雑な配置を形成し得る。共重合体は、トリブロック、テトラブロックまたはペンタブロック共重合体であり得る。また、ブロック共重合体は、脂質サブ材料として分類されないサブユニットから作られてもよく;例えば、疎水性ポリマーは、シロキサンまたは他の非炭化水素系モノマーから作られ得る。また、ブロック共重合体の親水性のサブ部分は、低いタンパク質結合特性を有してもよく、このことは、生の生物学的サンプルに曝された場合に抵抗性が高い膜の形成を可能にする。この頭部基ユニットは、非古典的な脂質頭部基からも生じ得る。

【0125】

マイクロバブルを形成する任意の脂質材料が用いられ得る。脂質組成は、マイクロバブ

10

20

30

40

50

ルが、表面電荷、充填密度または機械的特性などの必要な特性を有するように選択される。脂質組成は、1または複数の異なる脂質を含むことができる。例えば、脂質組成は、100までの脂質を含むことができる。脂質組成は、好ましくは1～10の脂質を含む。脂質組成は、天然起源の脂質および／または人工の脂質を含んでよい。

【0126】

脂質は典型的に、頭部基、界面部分、および、同一または異なってよい2つの疎水性尾部基を含む。適切な頭部基は、限定されないが、中性頭部基、例えばジアシルグリセリド(DG)およびセラミド(CM)；双性イオン性頭部基、例えばホスファチジルコリン(PC)、ホスファチジルエタノールアミン(PE)およびスフィンゴミエリン(SM)；負に帯電した頭部基、例えばホスファチジルグリセロール(PG)；ホスファチジルセリン(PS)、ホスファチジルイノシトール(PI)、リン酸(phosphatidic acid)(PA)およびカルジオリピン(CA)；および正に帯電した頭部基、例えばトリメチルアンモニウムプロパン(TAP)を含む。適切な界面部分は、限定されないが、天然起源の界面部分、例えばグリセロール系またはセラミド系の部分を含む。適切な疎水性尾部基は、限定されないが、飽和炭化水素鎖、例えばラウリン酸(n-ドデカン酸)、ミリスチン酸(n-テトラデカン酸)、パルミチン酸(n-ヘキサデカン酸)、ステアリン酸(n-オクタデカン)およびアラキジン(n-エイコサン)；不飽和炭化水素鎖、例えばオレイン酸(シス-9-オクタデカン)；および分岐炭化水素鎖、例えばフィタノイルを含む。鎖の長さ、および、不飽和炭化水素鎖中の二重結合の位置および数は、変更することができる。鎖の長さ、および、分岐炭化水素鎖中の分岐の位置および数(例えばメチル基)は、変更することができる。疎水性尾部基は、エーテルまたはエステルとして界面部分に結合することができる。

【0127】

また、脂質は、化学的に修飾することもできる。脂質の頭部基または尾部基は、化学的に修飾することができる。頭部基が化学的に修飾されている適切な脂質は、限定されないが、PEG修飾脂質、例えば1,2-ジアシル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-[メトキシ(ポリエチレングリコール)-2000]；官能性PEG脂質、例えば1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-[ビオチニル(ポリエチレングリコール)2000]；および、結合のために修飾された脂質、例えば1,2-ジオレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-(スクシニル)および1,2-ジパルミトイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-(ビオチニル)を含む。尾部基が化学的に修飾されている適切な脂質は、限定されないが、重合性脂質、例えば1,2-ビス(10,12-トリコサジイノイル(tricosadiynoyl))-sn-グリセロ-3-ホスホコリン；フッ素化脂質、例えば1-パルミトイル-2-(16-フルオロパルミトイル)-sn-グリセロ-3-ホスホコリン；重水素化脂質、例えば1,2-ジパルミトイル-D62-sn-グリセロ-3-ホスホコリン；および、エーテル結合脂質、例えば1,2-ジオ-フィタニル-sn-グリセロ-3-ホスホコリンを含む。上述のように、脂質は、化学的に修飾され、または官能化され、リガンド、受容体または抗体の結合を促進し得る。

【0128】

脂質組成は、マイクロバブルの特性に影響する1または複数の添加剤を含み得る。適切な添加剤は、限定されないが、脂肪酸、例えばパルミチン酸、ミリスチン酸およびオレイン酸；脂肪族アルコール、例えばパルミチンアルコール、ミリスチンアルコールおよびオレインアルコール；ステロール類、例えばコレステロール、エルゴステロール、ラノステロール、シトステロールおよびスチグマステロール；リゾリン脂質、例えば1-アシル-2-ヒドロキシ-sn-グリセロ-3-ホスホコリン；およびセラミド類を含む。

【0129】

マイクロバブルシェルは、好ましくはリン脂質から形成される。適切なリン脂質は当該分野で知られている。

【0130】

Definity (Lantheus Medical Imaging) および Sonovue (登録商標) (Bracco Diagnostics) などの、様々な市販の脂質シェルマイクロバブル製剤が存在する。

【0131】

また、マイクロバブルは、予め形成されたマイクロバブル上に高分子電解質多層 (PEM) シェルを形成することを含むポリマー界面活性剤ハイブリッドからも形成され得る。予め形成されたマイクロバブルは、帯電した界面活性剤またはタンパク質層で覆われ、それは、PEM沈着のための基質として働く。多層集合の技術を用いて、逆に帯電したポリイオンをマイクロバブルシェルに連続して吸着させる。例えば、PEMは、ポリ (アリルアミンハイドロクロライド) (PAH) およびポリ (スチレンスルホナート) (PSS) をポリイオンペアに用いて、マイクロバブル上に沈着することができる。カチオン性頭部基トリメチルアンモニウムプロパン (TAP) を下層シェルとして、および、DNAとポリ (L-リジン) (PLL) をポリイオンペアとして含む、リン脂質を有する PEM マイクロバブルも開発されている。

10

【0132】

マイクロバブルは典型的に、ガスとマイクロバブルシェル材料との間の界面を与えることにより形成される。上述した任意の材料を用いてよい。リン脂質などの一部の材料は、自然発生的にマイクロバブルを形成する。リン脂質は、マイクロバブルに自己集合する。他の材料は、界面のソニケーション、すなわち界面に対する音波または音エネルギーの適用を必要とする。超音波が典型的に用いられる。適切な方法は、ソニケーションに関する分野で知られている。

20

【0133】

マイクロバブルは、マイクロバブルの形成後、またはマイクロバブルの形成中に、ハイブリッド組成物がロードされ得る。

【0134】

薬物、方法および治療的用途

本発明のハイブリッド組成物または本発明のリボソームまたはマイクロバブル組成物は、ヒトまたは動物の体の治療方法で用いられ得る。したがって、本発明は、治療によるヒトまたは動物の体の治療方法での使用のための、本発明のハイブリッド組成物または本発明のリボソームまたはマイクロバブル組成物を提供する。具体的には、本発明は、患者における損傷組織を修復するための、本発明のハイブリッド組成物または本発明のリボソームまたはマイクロバブル組成物の使用に関する。また、本発明は、患者における、心臓、骨、軟骨、腱、靱帯、肝臓、腎臓または肺の外傷または疾患を治療するための、本発明のハイブリッド組成物または本発明のリボソームまたはマイクロバブル組成物の使用にも関する。

30

【0135】

本発明は、患者における損傷組織を修復する方法を提供し、損傷組織を、本発明のハイブリッド組成物または本発明のリボソームまたはマイクロバブル組成物と接触させるステップ (ここで、組成物は、治療的に効果的な数の細胞を含む)、および、それにより、患者における損傷組織を治療するステップ、を含む。また、本発明は、患者における損傷組織の修復での使用のための、本発明のハイブリッド組成物または本発明のリボソームまたはマイクロバブル組成物を提供する。また、本発明は、患者における損傷組織を修復するための薬物の製造での、本発明のハイブリッド組成物または本発明のリボソームまたはマイクロバブル組成物の用途を提供する。

40

【0136】

組織は、好ましくは、中胚葉から得られる。組織は、より好ましくは、心臓、骨、軟骨、腱、靱帯、肝臓、腎臓または肺の組織である。

【0137】

組織に対する損傷は、外傷または疾患に起因し得る。外傷または疾患は、好ましくは、患者における、心臓、骨、軟骨、腱、靱帯、肝臓、腎臓または肺の外傷または疾患である

50

。したがって、本発明は、患者における、心臓、骨、軟骨、腱、靱帯、肝臓、腎臓または肺の外傷または疾患を治療する方法を提供し、患者に、本発明のハイブリッド組成物または本発明のリポソームまたはマイクロバブル組成物を投与するステップ（ここで、組成物は、治療的に効果的な数の細胞を含む）、およびそれにより、患者における外傷または疾患を治療するステップ、を含む。また、本発明は、患者における、心臓、骨、軟骨、腱、靱帯、肝臓、腎臓または肺外傷または疾患の治療での使用のための、本発明のハイブリッド組成物または本発明のリポソームまたはマイクロバブル組成物も提供する。また、本発明は、患者における、心臓、骨、軟骨、腱、靱帯、肝臓、腎臓または肺外傷または疾患を治療するための薬物の製造での、本発明のハイブリッド組成物または本発明のリポソームまたはマイクロバブル組成物の用途も提供する。

10

【0138】

心臓の外傷または疾患は、好ましくは、心筋梗塞（MI）、左室肥大、右室肥大、塞栓、心不全、先天性心臓欠陥、心臓弁膜症、不整脈および心筋炎から選択される。

【0139】

MIは、心筋により放出されるVEGFおよびEPOのレベルを増大させる。さらに、MIは、炎症性反応と関連し、および、梗塞組織は、マクロファージ遊走阻止因子（MIF）、インターロイキン（IL-6）およびKC/Gro- α も放出する。CCl7（以前はMCP3として知られる）、CXCL1、CXCL2は、心筋梗塞（MI）後に心臓内で著しく上方制御され、梗塞心筋へのMSCのホーミングおよび生着の制御に参与し得る。

20

【0140】

心筋梗塞マウスモデルでは、IL-8は、まず、MI後の最初の2日に遺伝子発現を高度に上方制御することが示された。驚くべきことに、IL-8発現の増加は、主に、梗塞領域および境界域で生じ、残りの心筋ではよりいっそう低い程度であった。CXCR2を活性化することにより、MIFは、ケモカイン様の機能を示し、炎症性細胞動員およびアテローム発生の主なレギュレーターとして作用する。

【0141】

骨の疾患または外傷は、好ましくは、骨折、Salter-Harris骨折、若木骨折、骨棘、頭蓋骨癒合症、コフィンローリー症候群、進行性骨化線維異形成症、線維性骨異形成症、Fong病（または爪膝蓋骨症候群）、低ホスファターゼ症、クリッペル・

ファイル症候群、代謝性骨疾患、爪膝蓋骨症候群、変形性関節症、変形性骨炎（または骨パジェット病）、嚢胞性線維性骨炎（または線維性骨炎またはフォンレックリングハウゼン骨病）、恥骨骨炎、硬化性骨炎（condensing osteitis）（または硬化性骨炎（osteitis condensans））、硬化性腸骨炎、離断性骨軟骨炎、骨形成不全症、骨軟化症、骨髄炎、骨減少症、大理石骨病、骨粗鬆症、骨壊死、骨萎縮性骨化過剰症、原発性副甲状腺機能亢進症、腎性骨ジストロフィー、骨癌、転移性癌と関連する骨病変、Gorham Stout病、原発性副甲状腺機能亢進症、歯周病、および関節置換の無菌弛緩から選択される。骨癌は、ユーイング肉腫、多発性骨髄腫、骨肉腫（骨の巨大な腫瘍）、骨軟骨腫または破骨細胞腫であり得る。骨病変をもたらす転移性癌は、乳癌、前立腺癌、腎臓癌、肺癌および／または成人T細胞白血病であり得る。

30

40

【0142】

全ての例において、1つまたは複数の治療的細胞は、好ましくは、患者または同種異系ドナーから採取される。患者からの細胞を採取することは、患者の免疫系により細胞自身が拒絶されないことを確実にするであろう。ドナーおよびレシピエントの間の任意の違いは、細胞のクリアランスを最終的に引き起こすが、それらが損傷組織の少なくとも一部を修復する前ではない。

【0143】

本発明は、患者に対して治療的に効果的な数の治療的細胞を、患者へ投与することに関する。治療的に効果的な数は、損傷、疾患または外傷の症状の1つまたは複数改善する数である。治療的に効果的な数は、好ましくは、損傷組織を修復する、または疾患または

50

外傷を治療する数である。適切な数は、以下により詳細に述べられる。

【0144】

本発明のハイブリッド組成物または本発明のリボソームまたはマイクロバブル組成物は、任意の適切な患者へ投与され得る。患者は一般に、ヒト患者である。患者は、PMLおよびIMP細胞の由来に関して上述した任意の動物または哺乳類であってよい。

【0145】

患者は、幼児、子どもまたは成人であってよい。患者は、損傷組織を有すること、または損傷組織を有する疑いがあることが、知られていてよい。患者は、関連のある疾患または外傷を起こしやすく、またはそのリスクがあってよい。例えば、患者は、遺伝学的に心不全に罹りやすくてよい。

10

【0146】

本発明は、損傷組織を修復する、または疼痛緩和を提供する、他の手段および物質と組み合わせて用いてよい。ある場合には、本発明のハイブリッド組成物または本発明のリボソームまたはマイクロバブル組成物は、損傷組織を修復する、または疼痛緩和を提供することを目的とする他の物質と、同時に、連続して、または別々に投与され得る。本発明のハイブリッド組成物または本発明のリボソームまたはマイクロバブル組成物は、損傷組織のための既存の治療と組み合わせて用いてよく、例えば、そのような治療と単純にミックスしてよい。したがって、本発明を用いて、損傷組織の既存の治療の有効性を増大させ得る。

【0147】

本発明は、好ましくは、治療薬および／または診断薬がロードまたはトランスフェクトされた、治療的細胞の使用に関する。治療薬は、損傷組織の修復を助け得る。蛍光分子などの診断薬は、患者における組成物の位置を特定するのを助け得る。細胞は、当該分野で知られている任意の方法を用いてロードまたはトランスフェクトされ得る。細胞のロードは、インビトロまたはエキスピボで行なわれ得る。それぞれの場合において、細胞は、培養物中で薬剤と単純に接触され得る。あるいは、細胞は、リボソームのような送達ビヒクルを用いて、薬剤がロードされ得る。そのようなビヒクルは当該分野で知られている。

20

【0148】

PMLまたはIMP細胞などの細胞のトランスフェクションは、インビトロまたはエキスピボで行なわれ得る。あるいは、安定したトランスフェクションは、MC段階で行なわれ得て、導入遺伝子を発現するPMLが、それらから分化するのを可能にする。細胞は典型的に、薬剤をコードする核酸でトランスフェクトされる。例えば、ウイルス粒子または薬剤をコードする他のベクターが用いられ得る。これを行なう方法は、当該分野で知られている。

30

【0149】

核酸は、細胞内で薬剤の発現を生じさせる。核酸分子は、好ましくは、薬剤をコードする配列に動作可能に連結されかつPML内で活性であり、または細胞内で誘導され得る、プロモーターを含む。

【0150】

特に好ましい実施態様では、薬剤をコードする核酸は、ウイルス粒子を介して送達され得る。ウイルス粒子は標的化分子を含み、効率的なトランスフェクションを確実にし得る。標的化分子は典型的に、その分子がウイルスを細胞に対して標的化することができるように、ウイルスの表面上に全体的または部分的に与えられる。

40

【0151】

任意の適切なウイルスを、そのような実施態様で用いてよい。ウイルスは、例えば、レトロウイルス、レンチウイルス、アデノウイルス、アデノ関連ウイルス、ワクシニアウイルス、または単純ヘルペスウイルスであってよい。特に好ましい実施態様では、ウイルスは、レンチウイルスであってよい。レンチウイルスは、遺伝子を送達する使用に適切な改変HIVウイルスであってよい。レンチウイルスは、SIV、FIV、またはウマ伝染性貧血ウイルス(EQIA)に基づくベクターであってよい。ウイルスは、モロニーミュー

50

リン白血病ウイルス（MMLV）であってよい。本発明で用いられるウイルスは、好ましくは複製欠損型である。

【0152】

ウイルス粒子を使用する必要はない。従来のプラスミドDNAまたはRNAトランスフェクションなど、細胞をトランスフェクトすることが可能な任意のベクターを用いてよい。

【0153】

核酸構築物の取り込みは、トランスフェクション剤の使用を含むもののようないくつかの公知のトランスフェクション技術により増強され得る。これらの試薬の例は、カチオン剤、例えば、リン酸カルシウムおよびDEAE-デキストランおよびリポフェクタント（lipofectant）、例えば、リポフェクタミン、フュージーン（fugene）およびトランスフェクタム（transfectam）を含む。

【0154】

細胞は、適切な条件下でロードまたはトランスフェクトされ得る。細胞および薬剤またはベクターは、例えば、5分～10日間、好ましくは1時間～5日間、より好ましくは5時間～2日間、さらにより好ましくは12時間～1日、接触させてよい。

【0155】

一部の実施態様では、MCは、患者から回収され、上述のようにPMLおよび／またはIMP細胞に変換され、インビトロでロードまたはトランスフェクトされ、およびそれから、同一患者に戻してよい。そのような例では、本発明で用いられるPMLおよび／またはIMP細胞は、自己由来の細胞であり、患者と完全に一致する。好ましい例では、本発明で用いられる細胞は、患者から回収され、エキスピボで使用され、その後同一患者へ戻される。

【0156】

医薬組成物および投与

本発明の組成物は、任意の適切な方法を用いて製剤化され得る。標準的な薬学的に許容できる担体および／または賦形剤を用いた細胞の製剤化は、調剤分野における常法を用いて行なわれ得る。製剤の厳密な性質は、投与される細胞および所望の投与経路を含むいくつかの因子に依存する。適切な製剤タイプは、Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th Edition, Mack Publishing Company, Eastern Pennsylvania, USAに完全に記載されている。

【0157】

組成物は、任意の経路により投与され得る。適切な経路は、限定されないが、静脈内、筋肉内、腹腔内または他の適切な投与経路を含む。組成物は、好ましくは、損傷組織に直接投与される。

【0158】

組成物は、生理的に許容できる担体または希釈剤を用いて調製され得る。組成物は、薬学的に許容でき有効成分と適合する賦形剤と混合され得る。適切な賦形剤は、例えば、水、生理食塩水、ブドウ糖、グリセロールなど、およびそれらの組み合わせである。

【0159】

加えて、必要に応じて、本発明の医薬組成物は、少量の補助物質、例えば、湿潤剤または乳化剤、pH緩衝剤、および／または有効性を高めるアジュバントを含んでよい。組成物は、好ましくはヒト血清アルブミンを含む。

【0160】

適切な担体または希釈剤の1つは、Plasma-Lyte A（登録商標）である。これは、静脈内投与のための、滅菌の、非発熱性の等張液である。各100mLは、526mgの塩化ナトリウム、USP（NaCl）；502mgのグルコン酸ナトリウム（C₆H₁₁NaO₇）；368mgの酢酸ナトリウム三水和物、USP（C₂H₃NaO₂・3H₂O）；37mgの塩化カリウム、USP（KCl）；および30mgの塩化マグ

ネシウム、USP ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) を含む。それは抗菌剤を含まない。pH は水酸化ナトリウムを用いて調整される。pH は 7.4 (6.5 ~ 8.0) である。

【0161】

組成物は、投与製剤と適合する方法で、治療的に効果的であるような量で投与される。投与される治療的細胞の量は、治療される対象、対象の免疫系の能力、および所望の修復割合に依存する。投与が必要とされる細胞の正確な量は、熟練者の判断に依存し得て、および、各対象に特有であり得る。

【0162】

任意の適切な数の細胞が、対象に投与され得る。例えば、患者の kg あたり、少なくとも、または約、 0.2×10^6 、 0.25×10^6 、 0.5×10^6 、 1.5×10^6 、 4.0×10^6 または 5.0×10^6 の細胞が投与され得る。例えば、少なくとも、または約、 10^5 、 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 の細胞が投与され得る。目安として、投与される細胞の数は、 $10^5 \sim 10^9$ 、好ましくは $10^6 \sim 10^8$ であり得る。典型的に、 2×10^8 までの IMP 細胞が、各患者に投与される。上述の任意の特定の数が投与され得る。

【0163】

以下の実施例は、本発明を説明する。

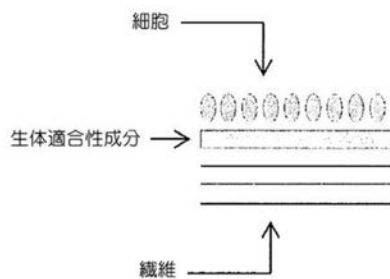
【実施例】

【0164】

ハイブリッド組成物を、図 3 ~ 6 に示されるスキームに従って製造した。

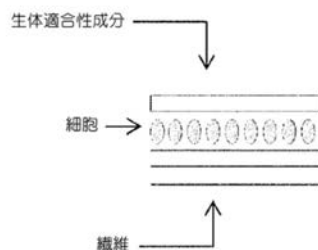
【図 1】

Fig. 1



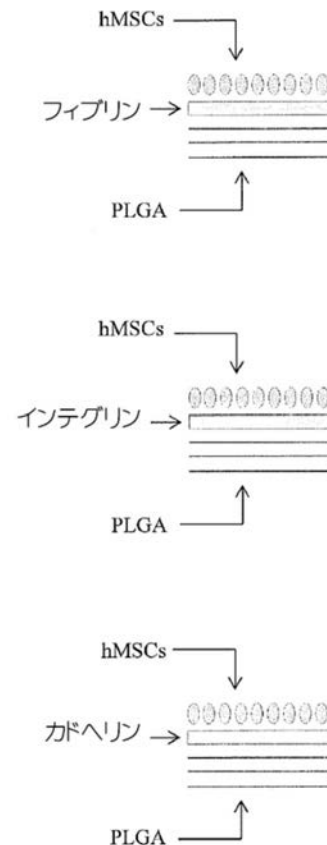
【図 2】

Fig. 2



【図 3】

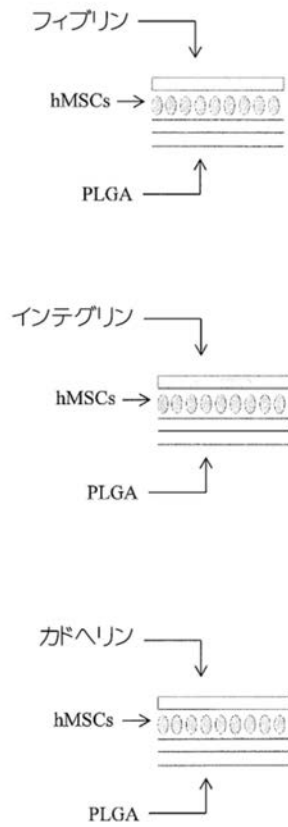
Fig. 3



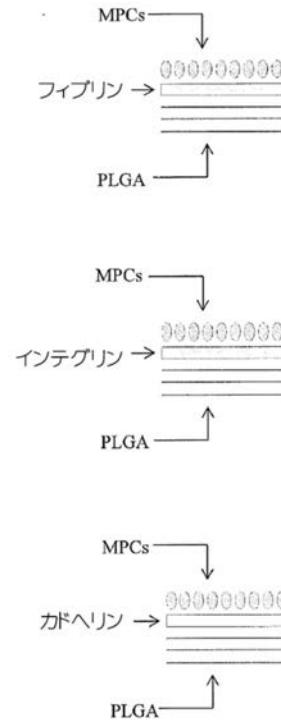
10

20

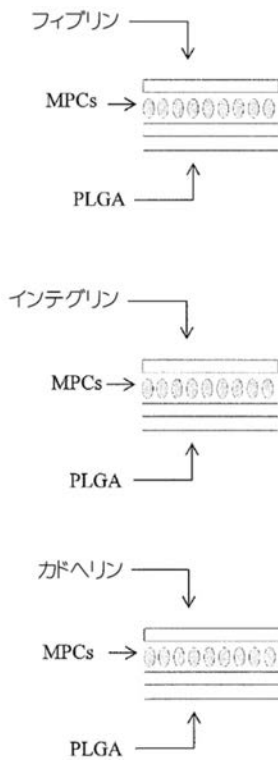
【 図 4 】

Fig. 4

【 図 5 】

Fig. 5

【 図 6 】

Fig. 6

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/GB2015/051672

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61L27/18 A61L27/22 A61L27/38
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61L

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)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2013/004541 A1 (THOMOPOULOS STAVROS [US] ET AL) 3 January 2013 (2013-01-03) claims 1,2,4	1-32
X	----- WO 2008/142129 A2 (CINV AG [DE]; ASGARİ SOHEIL [DE]) 27 November 2008 (2008-11-27) page 6 - page 7; claims 1,8 page 10, lines 19-28 -----	1,2,4-6, 11,17,20



Further documents are listed in the continuation of Box C.



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

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"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)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"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

"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

"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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

5 August 2015

Date of mailing of the international search report

13/08/2015

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel: (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Siebum, Bastiaan

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/GB2015/051672

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2013004541 A1	03-01-2013	US 2013004541 A1	03-01-2013
		US 2014135945 A1	15-05-2014
-----		-----	
WO 2008142129 A2	27-11-2008	AU 2008252907 A1	27-11-2008
		CA 2687637 A1	27-11-2008
		EP 2146756 A2	27-01-2010
		WO 2008142129 A2	27-11-2008

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)
A 6 1 K	47/61	(2017.01)	A 6 1 K	47/61
A 6 1 K	47/38	(2006.01)	A 6 1 K	47/38
A 6 1 K	47/42	(2017.01)	A 6 1 K	47/42
A 6 1 K	47/36	(2006.01)	A 6 1 K	47/36
A 6 1 K	47/34	(2017.01)	A 6 1 K	47/34
A 6 1 K	47/59	(2017.01)	A 6 1 K	47/59
A 6 1 K	47/62	(2017.01)	A 6 1 K	47/62
A 6 1 K	47/46	(2006.01)	A 6 1 K	47/46
A 6 1 K	35/19	(2015.01)	A 6 1 K	35/19 Z
A 6 1 K	35/28	(2015.01)	A 6 1 K	35/28
A 6 1 K	35/33	(2015.01)	A 6 1 K	35/33
A 6 1 K	35/15	(2015.01)	A 6 1 K	35/15 Z
A 6 1 K	9/127	(2006.01)	A 6 1 K	9/127
A 6 1 K	9/10	(2006.01)	A 6 1 K	9/10
A 6 1 P	19/00	(2006.01)	A 6 1 P	19/00
A 6 1 P	21/00	(2006.01)	A 6 1 P	21/00
A 6 1 P	9/00	(2006.01)	A 6 1 P	9/00
A 6 1 P	1/16	(2006.01)	A 6 1 P	1/16
A 6 1 P	13/12	(2006.01)	A 6 1 P	13/12
A 6 1 P	11/00	(2006.01)	A 6 1 P	11/00

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,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,DK,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),OA(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,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,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,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

(71)出願人 514002662

セル セラピー リミテッド

CELL THERAPY LIMITED

英国 エスエー2 8ピーピー シングルトン パーク スウォンジ スウォンジ ユニバーシティー スクール オブ メディシン ルーム 137 ファースト フロアー インスティテュート オブ ライフ サイエンス (番地なし)

Institute of Life Sciences First Floor, Room 137 School of Medicine Swansea University Singleton Park Swansea SA2 8PP United Kingdom

(74)代理人 100113376

弁理士 南条 雅裕

(74)代理人 100179394

弁理士 瀬田 あや子

(74)代理人 100185384

弁理士 伊波 興一朗

(74)代理人 100137811

弁理士 原 秀貢人

(72)発明者 エヴァンス マーティン ジョン

英国 エスエー2 8ピーピー ウェスト グラモーガン シングルトン パーク スウォンジ
スウォンジ ユニバーシティー スクール オブ メディシン, ルーム 137, ファースト フ
ロアー, インスティテュート オブ ライフ サイエンシズ, セル セラピー リミテッド

(72)発明者 レジナルド アジヤン

英国 エスエー2 8ピーピー ウェスト グラモーガン シングルトン パーク スウォンジ
スウォンジ ユニバーシティー スクール オブ メディシン, ルーム 137, ファースト フ
ロアー, インスティテュート オブ ライフ サイエンシズ, セル セラピー リミテッド

(72)発明者 スルタン サベナ

英国 エスエー2 8ピーピー ウェスト グラモーガン シングルトン パーク スウォンジ
スウォンジ ユニバーシティー スクール オブ メディシン, ルーム 137, ファースト フ
ロアー, インスティテュート オブ ライフ サイエンシズ, セル セラピー リミテッド

Fターム(参考) 4C076 AA09 AA16 AA19 BB32 CC09 EE23 EE31 EE36 EE41 EE42

EE43 EE59

4C087 AA01 AA02 BB38 BB41 BB46 BB47 BB52 BB55 BB63 MA05

MA67 NA05 ZA36 ZA59 ZA75 ZA81 ZA94 ZA96