

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7436089号
(P7436089)

(45)発行日 令和6年2月21日(2024.2.21)

(24)登録日 令和6年2月13日(2024.2.13)

(51)国際特許分類

A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	48/00	Z N A
A 6 1 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	25/28 (2006.01)	A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
A 6 1 K	38/18 (2006.01)	A 6 1 K	38/18	

請求項の数 36 (全40頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2018-565253(P2018-565253)
 (86)(22)出願日 平成29年3月2日(2017.3.2)
 (65)公表番号 特表2019-511570(P2019-511570
 A)
 (43)公表日 平成31年4月25日(2019.4.25)
 (86)国際出願番号 PCT/US2017/020397
 (87)国際公開番号 WO2017/151884
 (87)国際公開日 平成29年9月8日(2017.9.8)
 審査請求日 令和2年2月4日(2020.2.4)
 審判番号 不服2022-3071(P2022-3071/J1)
 審判請求日 令和4年3月1日(2022.3.1)
 (31)優先権主張番号 62/302,525
 (32)優先日 平成28年3月2日(2016.3.2)
 (33)優先権主張国・地域又は機関
 米国(US)

最終頁に続く

(73)特許権者 301040958
 ザ・チルドレンズ・ホスピタル・オブ・
 フィラデルフィア
 THE CHILDREN'S HOSPITAL OF PHILADELPHIA
 アメリカ合衆国 19104 ペンシルバニア州 フィラデルフィア シビックセンター ブールバード 3401
 509088125
 ザ トラスティーズ オブ ザ ユニバーシティー オブ ペンシルバニア
 アメリカ合衆国 19104 ペンシルバニア州, フィラデルフィア, スイート 200, チェスナットストリート 31
 60

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 前頭側頭型認知症の治療

(57)【特許請求の範囲】**【請求項1】**

前頭側頭型認知症(FTD)を処置するために使用される組成物であって、前記組成物がAAVキャプシドタンパク質を含む組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)粒子を含み、一対のAAV逆位末端反復配列の間に挿入されたプログラニュリンをコードする核酸を含有し、前記rAAV粒子が哺乳動物の脳脊髄液(CSF)に接触する脳実質細胞又は細胞に形質導入するのに効果的な形で、前記哺乳動物のクモ膜下腔、及び/又は髄腔内に投与され、前記細胞が前記プログラニュリンを発現することを特徴とする、前記組成物。

【請求項2】

前記核酸が、一対のAAV逆位末端反復配列の間に挿入された、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

前記AAVキャプシドタンパク質が、AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV-rh74、AAV-rh10及びAAV-2i8 VP1、VP2及び/若しくはVP3キャプシドタンパク質、又はAAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV-rh74、AAV-Rh10若しくはAAV-2i8 VP1、VP2及び/若しくはVP3キャプシド配列と70%若しくはそれ以上の同一性を有するキャプシド配列からなる群から選択される、請求項1に記載の組成物。

【請求項 4】

I T R の対の 1 つ又は複数が、 A A V 1 、 A A V 2 、 A A V 3 、 A A V 4 、 A A V 5 、 A A V 6 、 A A V 7 、 A A V 8 、 A A V 9 、 A A V 10 、 A A V 11 、 A A V 12 、 A A V - r h 7 4 、 A A V - r h 10 若しくは A A V - 2 i 8 I T R 、又は A A V 1 、 A A V 2 、 A A V 3 、 A A V 4 、 A A V 5 、 A A V 6 、 A A V 7 、 A A V 8 、 A A V 9 、 A A V 10 、 A A V 11 、 A A V 12 、 A A V - r h 7 4 、 A A V - R h 10 若しくは A A V - 2 i 8 I T R 配列と 70 % 若しくはそれ以上の同一性を有する I T R を含む又はからなる、請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 5】

前記 r A A V 粒子が発現調節エレメントをさらに含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の組成物。 10

【請求項 6】

前記発現調節エレメントがプロモーターを含む、請求項 5 に記載の組成物。

【請求項 7】

前記発現調節エレメントがエンハンサー要素を含む、請求項 5 に記載の組成物。

【請求項 8】

前記発現調節エレメントが、 C M V エンハンサー、チキンベータアクチンプロモーター、 C A G プロモーター及び / 又は配列番号 4 に示される C M V エンハンサーと 80 % 若しくはそれ以上の同一性を有する配列及び / 又は配列番号 3 に示される C A G プロモーターと 80 % 若しくはそれ以上の同一性を有する配列を含む、請求項 5 に記載の組成物。 20

【請求項 9】

複数の r A A V 粒子が投与される、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 10】

前記 r A A V が約 1×10^6 ~ 約 1×10^{18} v g / k g の用量で投与される、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の組成物。 1

【請求項 11】

前記投与が脳室内注射を含む、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 12】

前記脳室が側脳室を含む、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 13】

前記細胞が、脳室上皮、軟膜、内皮、脳室、髄膜、若しくはグリア細胞及び / 又はニューロンを含む、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の組成物。 30

【請求項 14】

前記細胞が、前記プログラニュリンを前記 C S F に分泌する、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 15】

前記 r A A V 粒子が、脳の 1 ~ 5 箇所に注射される、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 16】

前記 r A A V 粒子が、吻側側脳室 ; 及び / 又は尾側側脳室 ; 及び / 又は右側脳室 ; 及び / 又は左側脳室 ; 及び / 又は右吻側側脳室 ; 及び / 又は左吻側側脳室 ; 及び / 又は右尾側側脳室 ; 及び / 又は左尾側側脳室に投与される、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の組成物。 40

【請求項 17】

前記 r A A V 粒子が、前記哺乳動物の大槽脳室内腔、脳室、クモ膜下腔、髄腔内、又は脳室上皮のいずれかに多回用量で投与される、請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 18】

前記プログラニュリンが哺乳動物のものである、請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載の組成物。 50

【請求項 19】

形質導入した細胞が、前記哺乳動物の C S F に前記プログラニュリンを発現及び分泌する、請求項 1 ~ 18 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 20】

正常な G R N の発現の約 5 ~ 50 % の間まで G R N の発現を増加させる、請求項 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 21】

正常な G R N の発現の 50 % より高くまで G R N の発現を増加させる、請求項 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 22】

ニューロンの変性又は死を阻害、減少、又は防止する、請求項 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 23】

ニューロンの機能又は生存を増加、保存、回復、又は救出する、請求項 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 24】

皮質ニューロンの機能又は生存を増加、保存、回復、又は救出する、請求項 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 25】

皮質ニューロンの変性又は死を阻害、減少、又は防止する、請求項 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 26】

皮質運動ニューロンの機能又は生存を増加、保存、回復、又は救出する、請求項 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 27】

皮質運動ニューロンの変性又は死を阻害、減少、又は防止する、請求項 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 28】

前頭側頭型認知症 (F T D) の症状又は有害作用を改善、低減、又は減少する、請求項 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 29】

前頭側頭型認知症 (F T D) の症状又は有害作用を安定化させる、その悪化を防止する、又は好転させる、請求項 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 30】

前記症状又は有害作用が、初期若しくは後期の症状；行動、人格若しくは言語症状；及び／又は認知症状を含む、請求項 28 又は 29 に記載の組成物。

【請求項 31】

前記哺乳動物が非げっ歯類哺乳動物である、請求項 1 ~ 30 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 32】

前記非げっ歯類哺乳動物がヒトである、請求項 31 に記載の組成物。

【請求項 33】

前記哺乳動物又はヒトが内在性 G R N の発現又は機能の喪失又は低減を示す、請求項 1 ~ 32 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 34】

前記疾患がプログラニュリンの発現又は機能の欠乏又は欠損によって引き起こされる、請求項 1 ~ 33 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 35】

1 つ又は複数の免疫抑制剤の投与をさらに含む、請求項 1 ~ 34 のいずれか一項に記載の組成物。

10

20

30

40

50

【請求項 3 6】

前記プログラニュリンが、
(化1)

MWTLVSWVALTAGLVAGTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLG
GPCQVDAHCSAGHSCI VSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCPCRGFHCSADGRSCFQRSGN
NSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCPPAQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHT
RCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSVMCPDARSRCPDGSTCCELSKPSGKYGCCPMVN
ATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKEATTDLTKLPAHTVGDKCDMEVSCP DGYT
CCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTC EQGPHQVPWMEKAPAHLS
LPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTS GEWGCCCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVA
EGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPH
AVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSC EKEVVSAQPATFLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDN
QTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDA PLRDPA
LRQLL

として示される配列からなる、請求項 1 ~ 3 5 のいずれか一項に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

[関連出願]

[0001]本出願は、2016年3月2日に出願された米国特許仮出願第62/302,525号の優先権を主張する。上記出願の全内容は、全文、表、配列表、及び図面を含むその全体が参考により本明細書に組み込まれる。

【0 0 0 2】

[導入]

[0001]前頭側頭型認知症（FTD）は、平均発症年齢が52~58歳であり、壮年期の女性よりも男性がわずかに多く罹患する、アルツハイマー病に次いで若年性認知症の2番目に多い型である。この高度に遺伝性の臨床症候群の根底にある病変、前頭側頭葉変性症（FTLD）は前頭葉及び側頭葉のニューロンの喪失及び萎縮を特徴とし、アパシーから、言語の低下、衝動制御の喪失及び低下した社会意識を含む行動的重大な変化までの範囲の様々な臨床症状を生じる。

【0 0 0 3】

[0002]患者は、収入がピークになり得る頃に悪化するだけでなく、同時に介護者に共感する能力も失うため、FTDによる家族の社会経済的及び情動的負担は非常に大きい。2~10年以内に死に至る。アパシー又は攻撃性などの行動症状は、抗うつ薬又は抗精神薬などの薬物療法によって幾分か減弱され得るが、FTDの疾患修飾治療又は治療法はない。

【0 0 0 4】

[0003]FTLDは、変性ニューロン内に沈着した主要なタンパク質によって病理学的に細分される。FTLDの約半数の症例では、異常タンパク質はリン酸化タウ（FTLD-tau）であり、もう半数は、最も一般的には43kDのトランス活性応答（TAR）D NA結合タンパク質（TDP-43；FTLD-TDP）から構成され、転写を制御するユビキチン化封入体（FTLD-u）を含有する。（注目すべきことに、これは、筋委縮性側索硬化症（ALS）でも蓄積する主な病原タンパク質であり、これらの疾患は一範囲内に存在すると考えられる。）

【0 0 0 5】

[0004]FTD-TDPの主なメンデルの遺伝学的要因は、プログラニュリン（GRN）の欠乏である。GRNは593aaの分泌された前駆体タンパク質であり、グラニュリンへと切断され、炎症、創傷治癒、及び発生を含む複数の全身的なプロセスに含まれる。FTLDを引き起こすほぼ70個のGRN突然変異が同定されており、>90%がナンセンス突然変異であり、切断型のGRN産物を生じ、最終的にGRNハプロ不全をもたらす。利用可能なGRNのこの減少が、どのようにTDP-43蓄積及びその後の疾患をもたらすかは分かっていない。

10

20

30

40

50

【 0 0 0 6 】

[0005] F T D の疾患修飾治療はなく、F T D の人々の脳に蓄積する様々なタンパク質 (TDP - 43 及びタウ) の標的化、又はリソーム機能の変更を中心に展開される F T D の治療を開発する努力がなされている。対照的に、本発明は、容易に同定された F T D 患者群の正確な分子欠損を標的化することによって分子的に特異的な処置を提供する。

【 0 0 0 7 】

[概要]

[0006] プログラニュリンは、炎症、創傷治癒、及びがんなどの生物学的プロセスにおけるその役割、並びに神経栄養特性が公知の分泌型成長因子である。ホモ接合体 G R N 突然変異は、まれなリソーム蓄積症であるセロイドリポフスチン沈着症を引き起こし、プログラニュリンはリソームを含むニューロン内膜区画に局在する。G R N ヘテロ接合体は、典型的には前頭側頭型認知症 (F T D) を発生する。本発明の組成物、方法、及び使用は、ヒトなどの哺乳動物を含む、ホモ接合体対象とヘテロ接合体対象の両方の処置を目的とする。

10

【 0 0 0 8 】

[0007] P G R N の発現を減少させる G R N 変異体は、アルツハイマー病 (A D) 及びパーキンソン病 (P D) を発生するリスクを増加させ、不十分な P G R N がニューロンを変性させやすくすることを実証している。プログラニュリンは、アルツハイマー病のアミロイド 沈着及び毒性を防ぐ。G R N 多型は、遅発性アルツハイマー病 (A D) と関係し得る。G R N はアミロイド (A) 沈着を阻害し、食作用を損ない、斑負荷が 3 倍に増加し、認知障害が悪化した A D マウスモデルにおいて G R N のミクログリア発現を低減させる。G R N は、A 毒性も防いだ。G R N の過剰発現は、A D マウスにおける空間記憶の欠損及び海馬ニューロンの喪失を防いだ。G R N の保護効果は、G R N が複数の神経変性疾患に治療的に使用され得ることを示している。

20

【 0 0 0 9 】

[0008] 本発明により、プログラニュリンを哺乳動物の中枢神経系に送達するための方法及び使用を提供する。一実施形態では、方法又は使用は、哺乳動物において細胞が、プログラニュリン、その変異体、誘導体、又は機能性断片を発現するように、哺乳動物の脳脊髄液 (C S F) に接触する細胞に形質導入するのに効果的な、プログラニュリン、その変異体、誘導体、又は機能性断片をコードする核酸を含むベクターを、哺乳動物の脳室に投与するステップを含む。

30

【 0 0 1 0 】

[0009] 本発明により、プログラニュリンの発現又は機能の欠乏又は欠損によって引き起こされる哺乳動物の疾患を処置するための方法及び使用を提供する。一実施形態では、方法又は使用は、哺乳動物の脳脊髄液 (C S F) に接触する細胞に形質導入するのに効果的な形で、プログラニュリン、その変異体、誘導体、又は機能性断片をコードする核酸を含むベクターを含む r A A V 粒子を、哺乳動物の脳室に投与するステップを含み、疾患を処置するために細胞がプログラニュリン、その変異体、誘導体、又は機能性断片を発現する。

【 0 0 1 1 】

[0010] 本発明により、プログラニュリンを哺乳動物の中枢神経系に送達する方法及び使用を提供する。一実施形態では、方法又は使用は哺乳動物において細胞が、プログラニュリン、変異体、誘導体、又は機能性断片を発現するように、哺乳動物の脳脊髄液 (C S F) に接触する脳実質細胞又は細胞に形質導入するのに効果的な形で、プログラニュリン、変異体、誘導体、又は機能性断片をコードする核酸を含むベクターを、哺乳動物の脳実質組織 (parenchyma) 、クモ膜下腔、及び / 又は髄腔内に投与するステップを含む。

40

【 0 0 1 2 】

[0011] 本発明により、プログラニュリンの発現又は機能の欠乏又は欠損によって引き起こされる哺乳動物の疾患を処置する方法及び使用を提供する。一実施形態では、方法又は使用は、哺乳動物の脳脊髄液 (C S F) に接触する脳実質細胞又は細胞に形質導入するのに効果的な形で、一対の A A V 逆位末端反復配列の間に挿入されたプログラニュリン、変

50

異体、誘導体、又は機能性断片をコードする核酸を含むベクターを、哺乳動物の脳実質組織、クモ膜下腔、及び／又は髄腔内に投与するステップを含み、疾患を処置するために細胞がプログラニュリン、変異体、誘導体、又は機能性断片を発現する。

【0013】

[0012]ある特定の実施形態では、ベクターは、一対のAAV逆位末端反復配列の間に挿入されたAAVキャプシドタンパク質及び核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)粒子を含む。

【0014】

[0013]ある特定の実施形態では、AAVキャプシドタンパク質は、AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV-rh74、AAV-rh10及びAAV-2i8VP1、VP2及び／若しくはVP3キャプシドタンパク質、又はAAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV-rh74、AAV-Rh10若しくはAAV-2i8VP1、VP2及び／若しくはVP3キャプシド配列と60%若しくはそれ以上の同一性を有するキャプシド配列から選択される。10

【0015】

[0014]ある特定の実施形態では、ITRの対の1つ又は複数は、AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV-rh74、AAV-rh10若しくはAAV-2i8ITR、又はAAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV-rh74、AAV-Rh10若しくはAAV-2i8ITR配列と60%若しくはそれ以上の同一性を有するITRを含む又はからなる。20

【0016】

[0015]ある特定の実施形態では、ベクター(例えば、AAVベクター)は、発現調節エレメントを含む。ある特定の態様では、発現調節エレメントはプロモーター及び／又はエンハンサーエレメントを含む。ある特定の態様では、発現調節エレメントは、CMVエンハンサー、チキンベータアクチンプロモーター、CAGプロモーター及び／又は配列番号4に示されるCMVエンハンサーと80%若しくはそれ以上の同一性を有する配列及び／又は配列番号3に示されるCAGプロモーターと80%若しくはそれ以上の同一性を有する配列を含む。30

【0017】

[0016]ある特定の実施形態では、複数のrAAV粒子が投与される。

【0018】

[0017]ある特定の実施形態では、rAAV粒子は約 1×10^6 ～約 1×10^{18} vg/kgの用量； 1×10^7 ～ 1×10^{16} vg/mlの約0.1～5mlの用量； 1×10^5 ～ 1×10^{16} vg/mlの約0.5～5mlの用量； 1×10^5 ～ 1×10^{16} vg/mlの約1～5mlの用量； 1×10^7 ～ 1×10^{14} vg/mlの約1～3mlの用量；又は 1×10^8 ～ 1×10^{13} vg/mlの約1～2mlの用量で投与される。40

【0019】

[0018]ある特定の実施形態では、rAAV粒子は脳室内注射によって投与又は送達される。

【0020】

[0019]ある特定の実施形態では、rAAV粒子は実質組織内注射(intraparenchymal injection)によって投与又は送達される。

【0021】

[0020]ある特定の実施形態では、rAAV粒子は脳室、より詳細には側脳室に投与又は送達される。

【0022】

50

[0021]ある特定の実施形態では、rAAV粒子はCNS細胞、より詳細には脳室上皮、軟膜、内皮、脳室、髄膜、グリア細胞及び／又はニューロンに形質導入する。

【0023】

[0022]ある特定の実施形態では、細胞(CNS細胞)は、プログラニュリン、その変異体、誘導体、又は機能性断片を発現する。

【0024】

[0023]ある特定の実施形態では、細胞(CNS細胞)は、プログラニュリン、その変異体、誘導体、又は機能性断片をCSFに分泌する。

【0025】

[0024]ある特定の実施形態では、脳室上皮、軟膜、内皮、脳室、髄膜細胞は、プログラニュリン、その変異体、誘導体、又は機能性断片を発現する。 10

【0026】

[0025]ある特定の実施形態では、脳室上皮、軟膜、内皮、脳室、髄膜細胞は、プログラニュリン、その変異体、誘導体、又は機能性断片をCSFに分泌する。

【0027】

[0026]ある特定の実施形態では、rAAV粒子は哺乳動物の脳室、クモ膜下腔、及び／又は髄腔内に投与又は送達される。

【0028】

[0027]ある特定の実施形態では、ベクター(例えばrAAV粒子)は、脳の単一箇所に注射される。 20

【0029】

[0028]ある特定の実施形態では、ベクター(例えばrAAV粒子)は、脳の1～5箇所に注射される。

【0030】

[0029]ある特定の実施形態では、ベクター(例えばrAAV粒子)は、哺乳動物の大槽脳室内腔、脳室、クモ膜下腔、髄腔内、又は脳室上皮に単回用量で投与又は送達される。

【0031】

[0030]ある特定の実施形態では、ベクター(例えばrAAV粒子)は、吻側側脳室；及び／又は尾側側脳室；及び／又は右側脳室；及び／又は左側脳室；及び／又は右吻側側脳室；及び／又は左吻側側脳室；及び／又は右尾側側脳室；及び／又は左尾側側脳室に投与又は送達される。 30

【0032】

[0031]ある特定の実施形態では、ベクター(例えばrAAV粒子)は、哺乳動物の大槽脳室内腔、脳室、クモ膜下腔、髄腔内、及び／又は脳室上皮のいずれかに多回用量で投与又は送達される。

【0033】

[0032]ある特定の実施形態では、プログラニュリン、変異体、誘導体、又は機能性断片は哺乳動物(例えば、ヒト、靈長類、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ブタ、又はイヌ)のものである。

【0034】

[0033]ある特定の実施形態では、方法又は使用は、典型的にはCNSにおいて、GRNの発現又は機能を提供する又は増加させる。 40

【0035】

[0034]ある特定の実施形態では、形質導入された細胞は、前記哺乳動物の脳室、側脳室、前頭皮質、線条体、脳幹、及び／又は脊髄のいずれかにおいてプログラニュリンを発現する。

【0036】

[0035]ある特定の実施形態では、形質導入された細胞は、前記哺乳動物のCSFに前記プログラニュリンを発現及び分泌する。

【0037】

10

20

30

40

50

[0036]ある特定の実施形態では、方法又は使用は、正常なG R Nの発現の約5～50%の間までG R Nの発現を増加させる。

【0038】

[0037]ある特定の実施形態では、方法又は使用は、正常なG R Nの発現の50%より高くまでG R Nの発現を増加させる。

【0039】

[0038]ある特定の実施形態では、方法又は使用は、喪失又は低減したG R Nの発現又は機能に関して、ヒトホモ接合体(G R N^{-/-})において正常なG R Nの発現の約5～50%の間までG R Nの発現を増加させる。

【0040】

[0039]ある特定の実施形態では、方法又は使用は、喪失又は低減したG R Nの発現又は機能に関して、ヒトヘテロ接合体(G R N^{+/-})において正常なG R Nの発現の50%より高くまでG R Nの発現を増加させる。

【0041】

[0040]ある特定の実施形態では、方法又は使用は、ニューロンの変性又は死を阻害、減少、又は防止する。

【0042】

[0041]ある特定の実施形態では、方法又は使用は、ニューロンの機能又は生存を増加、保存、回復、又は救出する。

【0043】

[0042]ある特定の実施形態では、方法又は使用は、皮質ニューロンの機能又は生存を増加、保存、回復、又は救出する。

【0044】

[0043]ある特定の実施形態では、方法又は使用は、皮質ニューロンの変性又は死を阻害、減少、又は防止する。

【0045】

[0044]ある特定の実施形態では、方法又は使用は、皮質運動ニューロンの機能又は生存を増加、保存、回復、又は救出する。

【0046】

[0045]ある特定の実施形態では、方法又は使用は、皮質運動ニューロンの変性又は死を阻害、減少、又は防止する。

【0047】

[0046]ある特定の実施形態では、方法又は使用は、前頭側頭葉変性症(F T L D)を安定化、その悪化を防止する、又は好転させる。

【0048】

[0047]ある特定の実施形態では、方法又は使用は、前頭側頭型認知症(F T D)又はバッテン病の症状又は有害作用を改善、低減、又は減少する。

【0049】

[0048]ある特定の実施形態では、方法又は使用は、前頭側頭型認知症(F T D)又はバッテン病の症状又は有害作用を安定化、その悪化を防止する、又は好転させる。

【0050】

[0049]ある特定の実施形態では、症状又は有害作用は、初期若しくは後期の症状；行動、人格、若しくは言語症状；及び／又は認知症状を含む。

【0051】

[0050]ある特定の実施形態では、哺乳動物は非げっ歯類哺乳動物である。ある特定の態様では、非げっ歯類哺乳動物は靈長類、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ブタ、又はイヌである。

【0052】

[0051]ある特定の実施形態では、靈長類はヒトである。ある特定の態様では、ヒトは小児である。ある特定の態様では、小児は約1歳～約4歳である。

【0053】

10

20

30

40

50

[0052]ある特定の実施形態では、哺乳動物、靈長類、又はヒトは内在性G R Nの発現又は機能の喪失又は低減を示す。

【0054】

[0053]ある特定の実施形態では、哺乳動物、靈長類、又はヒトは、喪失又は低減したG R Nの発現又は機能に関して、ホモ接合体(G R N - / -)又はヘテロ接合体(G R N + / -)である。

【0055】

[0054]ある特定の実施形態では、疾患はプログラニュリンの発現又は機能の欠乏又は欠損によって引き起こされる。

【0056】

[0055]ある特定の実施形態では、疾患は前頭側頭型認知症(F T D)又はバッテン病を含む。

10

【0057】

[0056]ある特定の実施形態では、方法又は使用は、1つ又は複数の免疫抑制剤を投与するステップ又は送達するステップをさらに含む。ある特定の実施形態では、免疫抑制剤はベクター(例えば、r A A V粒子)の投与又は送達の前又はそれと同時に投与される。ある特定の態様では、免疫抑制剤は抗炎症剤である。ある特定の態様では、免疫抑制剤はシクロスボリン、ミコフェノール酸、又はその誘導体である。

【図面の簡単な説明】

【0058】

【図1】注射1ヵ月後のプログラニュリンヌルマウスにおけるヒトプログラニュリンの過剰発現を示す図である。

20

【図2】注射3ヵ月後のプログラニュリンヌルマウスにおけるヒトプログラニュリンの過剰発現を示す図である。

【0059】

[詳細な説明]

[0059]G R N - 欠乏 - 媒介神経変性のメカニズムは分かっていないが、G R Nの発現又は活性を最適にはおよそ生理的レベルに回復又は増加させることは、変性プロセスを防ぐ又は停止する可能性が高い。したがって、本発明はG R Nの発現又は活性を遺伝子送達により提供する又は回復する方法及び使用を提供する。A A V媒介遺伝子送達は、複数の他の疾患で複数の臨床試験中である。特定の実施形態では、G R Nを欠乏した哺乳動物へのG R NのA A V媒介送達。例えば、正常なG R Nと比較してG R Nの活性又は発現が低減し、又は存在しないヒトへのG R Nを含むA A Vベクターの脳室内送達。

30

【0060】

[0060]本明細書は、本明細書に記載の方法を必要とする、G R Nの活性又は発現の増加により恩恵を受けるであろう哺乳動物、例えば、内在性G R Nの発現又は機能の喪失又は低減を示す対象に投与するための方法及び使用を提供する。したがって、一実施形態では、対象において正常なG R Nと比較してG R Nの活性又は発現は低減し、又は存在しない。

【0061】

[0061]ある特定の実施形態では、対象は、喪失又は低減したG R Nの発現又は機能に関して、ホモ接合体(G R N - / -)又はヘテロ接合体(G R N + / -)である。さらなる実施形態では、本明細書に記載の方法又は使用が使用され、前頭側頭型認知症(F T D)又はバッテン病の1つ又は複数の症状の数、重症度、頻度、進行度、又は発症を処置、防止、阻害、低減、減少、又は遅延する。

40

【0062】

[0062]ある特定の実施形態では、本明細書は、G R Nの活性又は発現の欠乏又は欠損によって引き起こされる哺乳動物の疾患を、中枢神経系の組織又は体液に直接、ベクター、例えばG R Nの活性を有するタンパク質の発現を導くr A A V粒子(本明細書ではr A A V - G R N粒子と呼ばれる)を投与することによって処置する方法を提供する。本明細書は、動物モデルの脳及び/又は脊髄へのr A A V - G R N送達/投与が、脳/C N Sの様

50

々な領域における G R N の発現を提供するのに効果的であることを示すデータを開示する。

【 0 0 6 3 】

[0063]ある特定の実施形態では、r A A V - G R N 粒子は脳に投与される。ある特定の実施形態では、r A A V - G R N 粒子は前記哺乳動物の脳脊髄液 (C S F) に投与される。

【 0 0 6 4 】

[0064]ある特定の実施形態では、r A A V - G R N 粒子は脳室系に投与される。ある特定の実施形態では、r A A V - G R N 粒子は脳室に投与される。

【 0 0 6 5 】

[0065]ある特定の実施形態では、r A A V - G R N 粒子は脳実質組織、クモ膜下腔、及び / 又は髄腔内に投与される。ある特定の実施形態では、r A A V - G R N 粒子は前記哺乳動物の大槽、脳室内腔、クモ膜下腔、髄腔内、及び / 又は脳室上皮に投与される。10

【 0 0 6 6 】

[0066]さらに別の実施形態では、r A A V - G R N 粒子は吻側側脳室に投与され；及び / 又は尾側側脳室に投与され；及び / 又は右側脳室に投与され；及び / 又は左側脳室に投与され；及び / 又は右吻側側脳室に投与され；及び / 又は左吻側側脳室に投与され；及び / 又は右尾側側脳室に投与され；及び / 又は左尾側側脳室に投与される。

【 0 0 6 7 】

[0067]さらに追加の実施形態では、r A A V - G R N P 1 粒子は、前記哺乳動物の脳室上皮細胞などの C N S 細胞に A A V 粒子が接触及び形質導入するように投与される。そのような C N S 細胞（例えば脳室上皮細胞）はコードされた G R N を発現し、任意選択で G R N は細胞により分泌される。特定の実施形態では、G R N は C S F 、及び / 又は脳（例えば、線条体、視床、髓質、小脳、後頭皮質、前頭皮質、及び / 又は前頭前野皮質、脊髄）、及び / 又は C N S で発現される。20

【 0 0 6 8 】

[0068]任意の好適な哺乳動物は、本明細書に記載の方法又は使用によって処置され得る。典型的には、哺乳動物は本明細書に記載の方法を必要としており、G R N の活性若しくは発現を欠乏若しくは欠損していると考えられる、又はしている。

【 0 0 6 9 】

[0069]哺乳動物の非限定的な例としては、ヒト、非ヒト靈長類（例えば、類人猿、テナガザル、チンパンジー、オラウータン、サル、マカクなど）、飼育動物（例えば、イヌ及びネコ）、家畜（例えば、ウマ、ウシ、ヤギ、ヒツジ、ブタ）、及び実験動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、モルモット）が挙げられる。ある特定の実施形態では、哺乳動物はヒトである。ある特定の実施形態では、哺乳動物は非げっ歯類哺乳動物（例えば、ヒト、ブタ、ヤギ、ヒツジ、ウマ、イヌなど）である。ある特定の実施形態では、非げっ歯類哺乳動物はヒトである。哺乳動物は、任意の年齢又は任意の発生段階であってもよい（例えば、大人、10代、小児、乳児、又は子宮内の哺乳動物）。哺乳動物は、雄又は雌であってもよい。ある特定の実施形態では、哺乳動物は動物疾患モデル、例えば、F T L D / F T D などのプログラニュリンの発現又は機能の欠乏又は欠損の研究に使用される動物モデルであってもよい。30

【 0 0 7 0 】

[0070]本明細書に記載の方法又は組成物によって処置した対象は大人（18歳又はそれ以上）及び小児（18歳より小さい）を含む。小児の年齢は、1~2歳、又は2~4、4~6、6~18、8~10、10~12、12~15及び15~18歳の範囲である。小児はまた、乳児も含む。乳児は、典型的には1~12ヶ月齢の範囲である。40

【 0 0 7 1 】

[0071]アデノ随伴ウイルス (A A V) はパルボウイルス科の小型非病原性ウイルスである。現在までに、多くの血清学的に異なる A A V が同定されており、ヒト又は靈長類から 1 ダースより多くが単離されている。A A V は、複製のヘルパーウイルスへの依存によってこの科の他のメンバーと異なる。

【 0 0 7 2 】

[0072] AAVゲノムは、宿主細胞ゲノムに安定的に組み込まれ；広宿主域を有し；分裂細胞と非分裂細胞の両方に *in vitro* 及び *in vivo* で形質導入し、形質導入した遺伝子の高レベルの発現を維持することが示されている。AAVウイルス粒子は、熱安定性であり、溶媒、界面活性剤、pHの変化、温度に耐性であり、CsCl勾配又は他の方法によってカラム精製及び／又は濃縮され得る。AAVゲノムは、一本鎖デオキシリボ核酸(ssDNA)、プラス鎖又はマイナス鎖のいずれかを含む。ヘルパーウイルスの非存在下では、AAVは遺伝子座に特異的な形で、例えば第19染色体のq腕に組み込まれ得る。AAVのおよそ5kbのゲノムは、プラス又はマイナス極性のいずれかの一本鎖DNAの1つのセグメントからなる。ゲノムの末端は、ヘアピン構造に折りたたまれ、ウイルスDNA複製起点として働くことができる短い逆方向末端反復配列(ITS)である。

10

【0073】

[0073] AAV「ゲノム」は、最終的にパッケージング又はカプセル化されAAV粒子を形成する、組換え核酸配列を指す。AAV粒子は、キャップシドタンパク質とパッケージングされたAAVゲノムを含むことが多い。組換えプラスミドを使用して組換えベクターを構築又は製造する場合、ベクターゲノムは組換えプラスミドのベクターゲノム配列に相当しない「プラスミド」の部分を含まない。組換えプラスミドのこの非ベクターゲノム部分は「プラスミド骨格」と呼ばれ、プラスミドのクローニング及び増幅、増殖及び組換えウイルス産生に必要なプロセスに重要であるが、それ自体はウイルス(例えばAAV)粒子にパッケージング又はカプセル化されない。したがって、ベクター「ゲノム」は、ウイルスタンパク質によってパッケージング又はカプセル化される核酸を指し、AAVの場合にはキャップシド又はキャップシドタンパク質である。

20

【0074】

[0074] AAVビリオン(粒子)は、直径およそ25nmの非エンベロープ、二十面体粒子である。AAV粒子は互いに作用してキャップシドを形成する、3つの関連キャップシドタンパク質、VP1、VP2、及びVP3から構成される二十面体対称を含む。右のORFがキャップシドタンパク質、VP1、VP2、及びVP3をコードすることが多い。これらのタンパク質は、それぞれ1:1:1の比で見出されることが多いが、様々な比であってもよく、全て右側ORF由来である。VP1、VP2、及びVP3キャップシドタンパク質は、選択的スプライシング及び独特の開始コドンの使用によって互いに異なる。欠失解析により、選択的にスプライシングされたメッセージから翻訳されるVP1の除去又は変更は、感染性粒子の産生の低減をもたらすことが示されている。VP3コード領域内の突然変異は、任意の一本鎖子孫DNA又は感染性粒子の産生の失敗をもたらす。

30

【0075】

[0075] AAV粒子はAAVキャップシドを含むウイルス粒子である。ある特定の実施形態では、AAV粒子のゲノムは、1つ、2つ、又は全てのVP1、VP2、及びVP3ポリペプチドをコードする。

【0076】

[0076] 最も天然のAAVのゲノムは、2つのオープンリーディングフレーム(ORF)を含有するが多く、左のORF及び右のORFと呼ばれることがある。左のORFは、一本鎖子孫ゲノムの産生に加えて複製及び転写の制御に関与する、非構造Repタンパク質、Rep40、Rep52、Rep68、及びRep78をコードすることが多い。2つのRepタンパク質は、ヒト第19染色体のq腕の領域へのAAVゲノムの優先的な組込みと関連している。Rep68/78は、NTP結合活性並びにDNA及びRNAヘリカーゼ活性を有することが示されている。いくつかのRepタンパク質は、核局在シグナル並びにいくつかの潜在的なリン酸化部位を有する。ある特定の実施形態では、AAV(例えばrAAV)のゲノムはいくつか又は全てのRepタンパク質をコードする。ある特定の実施形態では、AAV(例えばrAAV)のゲノムはRepタンパク質をコードしない。ある特定の実施形態では、1つ又は複数のRepタンパク質はトランスで送達することができ、したがって、ポリペプチドをコードする核酸を含むAAV粒子に含まれない。

40

【0077】

50

[0077] AAV ゲノムの末端は、ウイルス DNA 複製起点として働く T 型ヘアピン構造へと折りたたむ能力を有する短い逆方向末端反復配列 (ITR) を含む。したがって、AAV のゲノムは、一本鎖ウイルス DNA ゲノムに隣接する 1 つ又は複数の（例えば一対の）ITR 配列を含む。ITR 配列はそれぞれ約 145 塩基の長さを有することが多い。ITR 領域内に、ITR、GAGC 反復配列モチーフ及び末端分離部位 (trs) の機能に中心的であると考えられる 2 つのエレメントが記載されている。反復配列モチーフは、ITR が線状又はヘアピン構造のいずれかである場合に Rep に結合することが示されている。この結合は、切断のため Rep 68 / 78 を trs に配置し、部位及び鎖特異的な形で起こると考えられる。複製におけるそれらの役割に加えて、これらの 2 つのエレメントはウイルスの組込みに中心的であると考えられる。第 19 染色体内に含有される組込み遺伝子座は、trs と隣接する Rep 結合部位である。これらのエレメントは遺伝子座特異的組込みに機能性及び必要であることが示されている。

【0078】

[0078] ある特定の実施形態では、AAV（例えば rAAV）は 2 つの ITR を含む。ある特定の実施形態では、AAV（例えば rAAV）は一対の ITR を含む。ある特定の実施形態では、AAV（例えば rAAV）は、GRN の機能又は活性を有するポリペプチドを少なくともコードするポリヌクレオチドに隣接する（すなわち、各 5' 及び 3' 末端）一対の ITR を含む。

【0079】

[0079] 用語「ベクター」は、核酸の挿入又は組込みによって操作され得る小さい担体核酸分子、プラスミド、ウイルス（例えば AAV ベクター）、又は他のビヒクルを指す。ポリヌクレオチドが細胞によって転写及び続いて翻訳されるように、AAV ベクターなどのベクターを使用してポリヌクレオチドを細胞に導入／移送することができる。

【0080】

[0080] 「発現ベクター」は、宿主細胞での発現に必要な必須の制御領域を有する遺伝子又は核酸配列を含有する特殊なベクターである。ベクターの核酸配列は通常、細胞での増殖のための少なくとも 1 つの複製起点、及び異種ポリヌクレオチド配列、発現調節エレメント（例えば、プロモーター、エンハンサー）、イントロン、ITR（複数可）、ポリアデニル化シグナルなど任意選択でさらなるエレメントを含有する。

【0081】

[0081] ウイルスベクターは、ウイルスゲノムを含む 1 つ又は複数の核酸エレメントに由来する又は基づく。特定のウイルスベクターは、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを含む。本明細書に開示したように、GRN ポリペプチド、変異体又はサブ配列（例えば、GRN 酶活性を有するポリペプチド変異体又は断片）をコードする核酸配列を含むベクター（例えば AAV）を提供する。

【0082】

[0082] 用語「組換え」は、組換えウイルス、例えばレンチウイルス又はパルボウイルス（例えば AAV）ベクターなどのベクターの修飾物、並びに組換えポリヌクレオチド及びポリペプチドなどの配列の修飾物として、組成物が天然では通常起こらない様式で操作されている（すなわち、工学的に操作された）ことを意味する。AAV ベクターなどの組換えベクターの特定の例は、野生型ウイルス（例えば AAV）ゲノムに通常存在しないポリヌクレオチドがウイルスゲノム内に挿入される場合である。組換えポリヌクレオチドの例は、5'、3' 及び / 若しくはイントロン領域あり又はなしで、GRN ポリペプチドをコードする核酸（例えば遺伝子）がベクターにクローニングされる場合であり、遺伝子は通常ウイルス（例えば AAV）ゲノムと関連する。用語「組換え」は、本明細書において常にウイルス及び AAV ベクターなどのベクター、並びにポリヌクレオチドなどの配列に関して使用されるわけではないが、ポリヌクレオチド、核酸、導入遺伝子等を含む「組換え」形態は、任意のそのような省略にもかかわらずはっきりと含まれる。

【0083】

[0083] 組換えウイルス「ベクター」又は組換え「AAV ベクター」は、ウイルス（例え

10

20

30

40

50

ば AAV) から野生型ゲノムを除去する分子的な方法の使用、及び GRN コード核酸配列などの非天然核酸との置き換えによって、AAVなどのウイルスの野生型ゲノムに由来する。典型的には、AAVに関して、AAVゲノムの一方又は両方の逆方向末端反復配列(ITS)配列が rAAVベクターに保持される。GRN コード核酸配列などのウイルス(例えばAAV)ゲノムの核酸に関して、ウイルスゲノムの全て又は一部が非天然の配列と置き換えられているため、「組換え」ウイルスベクター(例えば rAAV)はウイルス(例えばAAV)ゲノムと区別される。したがって、非天然配列の組込みは、ウイルスベクター(例えばAAV)を「組換え」ベクターと定義し、AAVの場合には「rAAVベクター」と呼ばれ得る。

【0084】

[0084]AAVベクター(例えば rAAVベクター)はパッケージングされてもよく、本明細書において、*ex vivo*、*in vitro*、又は*in vivo*で、細胞へのその後の感染(形質導入)のための「AAV粒子」と呼ばれる。組換えAAVベクターがAAV粒子にカプセル化又はパッケージングされる場合、粒子は「rAAV粒子」とも呼ばれ得る。ある特定の実施形態では、AAV粒子は rAAV 粒子である。rAAV 粒子は、rAAVベクター又はその部分を含むことが多い。rAAV 粒子は 1 つ又は複数の rAAV 粒子(例えば複数の AAV 粒子)であってもよい。rAAV 粒子は、典型的には、rAAV ベクターゲノムをカプセル化又はパッケージングするタンパク質を含む(例えばキャプシドタンパク質)。rAAVベクターへの言及は、rAAV粒子の言及にも使用され得ることに留意されたい。

10

【0085】

[0085]任意の好適なAAV粒子(例えば rAAV粒子)は、本明細書の方法又は使用に使用され得る。rAAV粒子、及び/又は rAAV粒子に含まれるゲノムは、任意の好適なAAVの血清型又は株に由来し得る。rAAV粒子、及び/又は rAAV粒子に含まれるゲノムは、2つ又はそれ以上のAAVの血清型又は株に由来し得る。したがって、rAAVは、任意のAAVの血清型又は株のタンパク質及び/若しくは核酸、又はその部分を含むことができ、AAV粒子は、哺乳動物細胞の感染及び/若しくは形質導入に好適である。AAV血清型の非限定的な例としては、AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV-rh74、AAV-rh10、又はAAV-2i8が挙げられる。

20

【0086】

[0086]ある特定の実施形態では、複数の rAAV 粒子は、同じ株若しくは血清型(又はサブグループ若しくは変異体)の、又は、それに由来する粒子を含む。ある特定の実施形態では、複数の rAAV 粒子は、2つ又はそれ以上の異なる rAAV 粒子の(例えば異なる血清型及び/又は株の)混合物を含む。

30

【0087】

[0087]本明細書で使用する場合、用語「血清型」は、他のAAVの血清型とは血清学的に異なるキャプシドを有するAAVを指すために使用される区別である。血清学的な区別性は、別のAAVと比較した場合に、1つのAAVに対する抗体間の交差反応性の欠如に基づいて決定される。そのような交差反応性の違いは、通常キャプシドタンパク質配列/抗原決定基の違いによる(例えばAAV血清型のVP1、VP2、及び/又はVP3の配列の違いによる)。キャプシド変異体を含むAAV変異体が、参照のAAV又は他のAAVの血清型と血清学的に異なることはない可能性にもかかわらず、それらは、参照又は他のAAV血清型と比較して少なくとも1つのヌクレオチド又はアミノ酸残基が異なる。

40

【0088】

[0088]ある特定の実施形態では、rAAV粒子はある特定の血清型を除外する。一実施形態では、rAAV粒子はAAV4粒子ではない。ある特定の実施形態では、rAAV粒子は抗原的に又は免疫学的にAAV4と異なる。違いは標準的な方法で決定され得る。例えば、ELISA及びウェスタンプロットを使用して、ウイルス粒子が抗原的に又は免疫学的にAAV4と異なるかどうか決定され得る。さらに、ある特定の実施形態では、rA

50

A A V 2 粒子は A A V 4 と異なる組織向性を保持する。

【 0 0 8 9 】

[0089]ある特定の実施形態では、r A A V ベクターは、ベクターをパッケージングする1つ又は複数のキャプシドタンパク質の血清型に相当する第1の血清型ゲノムに基づく。例えば、A A V ベクターゲノムを含む1つ又は複数のA A V 核酸（例えばI T R）の血清型は、r A A V 粒子を含むキャプシドの血清型に相当する。

【 0 0 9 0 】

[0090]ある特定の実施形態では、r A A V ベクターゲノムは、ベクターをパッケージングする1つ又は複数のA A V キャプシドタンパク質の血清型と異なるA A V（例えばA A V 2）血清型ゲノムに基づいてもよい。例えば、r A A V ベクターゲノムは、A A V 2 由来核酸（例えばI T R）を含み得るが、3つのキャプシドタンパク質のうちの少なくとも1つ又は複数が異なる血清型、例えば、A A V 1、A A V 3、A A V 4、A A V 5、A A V 6、A A V 7、A A V 8、A A V 9、A A V 10、A A V 11、A A V 12、R h 10、R h 7 4、若しくはA A V - 2 i 8 血清型又はその変異体に由来する。

10

【 0 0 9 1 】

[0091]ある特定の実施形態では、参照血清型に関連するr A A V 粒子又はそのベクターゲノムは、A A V 1、A A V 2、A A V 3、A A V 4、A A V 5、A A V 6、A A V 7、A A V 8、A A V 9、A A V 10、A A V 11、A A V 12、R h 10、R h 7 4 又はA A V - 2 i 8 粒子のポリヌクレオチド、ポリペプチド、又はサブ配列と少なくとも60%又はそれ以上（例えば65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、99.1%、99.2%、99.3%、99.4%、99.5%等）同一の配列を含む、又はそれからなるポリヌクレオチド、ポリペプチド、又はそのサブ配列を有する。特定の実施形態では、参照血清型に関連するr A A V 粒子又はそのベクターゲノムは、A A V 1、A A V 2、A A V 3、A A V 4、A A V 5、A A V 6、A A V 7、A A V 8、A A V 9、A A V 10、A A V 11、A A V 12、R h 10、R h 7 4、又はA A V - 2 i 8 血清型のキャプシド又はI T R 配列と少なくとも60%又はそれ以上（例えば65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、99.1%、99.2%、99.3%、99.4%、99.5%等）同一の配列を含む、又はそれからなるキャプシド又はI T R 配列を有する。

20

【 0 0 9 2 】

30

[0092]ある特定の実施形態では、本明細書の方法は、r A A V 9 粒子の使用、投与、又は送達を含む。ある特定の実施形態では、本明細書の方法は、r A A V 2 粒子の使用、投与、又は送達を含む。

【 0 0 9 3 】

[0093]ある特定の実施形態では、r A A V 9 粒子はA A V 9 キャプシドを含む。ある特定の実施形態では、r A A V 9 粒子は、天然又は野生型A A V 9 粒子の相当するキャプシドタンパク質と少なくとも60%、65%、70%、75%又はそれ以上同一であり、例えば80%、85%、85%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.1%、99.2%、99.3%、99.4%、99.5%等、100%まで同一である1つ又は複数のキャプシドタンパク質（例えば、V P 1、V P 2、及び／又はV P 3）を含む。ある特定の実施形態では、r A A V 9 粒子は、天然又は野生型A A V 9 粒子の相当するキャプシドタンパク質と少なくとも75%又はそれ以上同一であり、例えば80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.1%、99.2%、99.3%、99.4%、99.5%等、100%まで同一であるV P 1、V P 2、及びV P 3 キャプシドタンパク質を含む。ある特定の実施形態では、r A A V 9 粒子は天然又は野生型A A V 9 粒子の変異体である。いくつかの態様では、A A V 9 変異体の1つ又は複数のキャプシドタンパク質は、天然又は野生型A A V 9 粒子のキャプシドタンパク質（複数可）と比較して1、2、3、4、5、5~10、10~15、15~20又はそれ以上のアミノ酸置換を有する。

40

50

【0094】

[0094]ある特定の実施形態では、rAAV2粒子はAAV2キャプシドを含む。ある特定の実施形態では、rAAV2粒子は、天然又は野生型AAV2粒子の相当するキャプシドタンパク質と少なくとも60%、65%、70%、75%又はそれ以上同一であり、例えば80%、85%、85%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.1%、99.2%、99.3%、99.4%、99.5%等、100%まで同一である1つ又は複数のキャプシドタンパク質（例えば、VP1、VP2、及び／又はVP3）を含む。ある特定の実施形態では、rAAV2粒子は、天然又は野生型AAV2粒子の相当するキャプシドタンパク質と少なくとも75%又はそれ以上同一であり、例えば80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.1%、99.2%、99.3%、99.4%、99.5%等、100%まで同一であるVP1、VP2、及びVP3キャプシドタンパク質を含む。ある特定の実施形態では、rAAV2粒子は天然又は野生型AAV2粒子の変異体である。いくつかの態様では、AAV2変異体の1つ又は複数のキャプシドタンパク質は、天然又は野生型AAV2粒子のキャプシドタンパク質（複数可）と比較して1、2、3、4、5、5～10、10～15、15～20又はそれ以上のアミノ酸置換を有する。

10

【0095】

[0095]ある特定の実施形態では、rAAV粒子は、それらが1つ又は複数の所望のITR機能（例えば、所望であれば、DNA複製を可能にするヘアピンを形成する能力；AAV-DNAの宿主細胞ゲノムへの組込み；及び／又はパッケージング）を保持する限り、天然又は野生型AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV-rh74、AAV-rh10、又はAAV-2i8の相当するITRと少なくとも75%又はそれ以上同一であり、例えば80%、85%、85%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.1%、99.2%、99.3%、99.4%、99.5%等、100%まで同一である1つ又は2つのITR（例えば一対のITR）を含む。

20

【0096】

[0096]ある特定の実施形態では、rAAV9粒子は、それらが1つ又は複数の所望のITR機能（例えば、所望であれば、DNA複製を可能にするヘアピンを形成する能力；AAV-DNAの宿主細胞ゲノムへの組込み；及び／又はパッケージング）を保持する限り、天然又は野生型AAV2粒子の相当するITRと少なくとも75%又はそれ以上同一であり、例えば80%、85%、85%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.1%、99.2%、99.3%、99.4%、99.5%等、100%まで同一である1つ又は2つのITR（例えば一対のITR）を含む。

30

【0097】

[0097]ある特定の実施形態では、rAAV2粒子は、それらが1つ又は複数の所望のITR機能（例えば、所望であれば、DNA複製を可能にするヘアピンを形成する能力；AAV-DNAの宿主細胞ゲノムへの組込み；及び／又はパッケージング）を保持する限り、天然又は野生型AAV2粒子の相当するITRと少なくとも75%又はそれ以上同一であり、例えば80%、85%、85%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.1%、99.2%、99.3%、99.4%、99.5%等、100%まで同一である1つ又は2つのITR（例えば一対のITR）を含む。

40

【0098】

[0098]rAAV粒子は、任意の好適な数の「GAGC」反復配列を有するITRを含み得る。ある特定の実施形態では、AAV2粒子のITRは、1、2、3、4、5、6、7、8、9若しくは10又はそれ以上の「GAGC」反復配列を含む。ある特定の実施形態

50

では、r A A V 2 粒子は 3 つの「G A G C」反復配列を含む I T R を含む。ある特定の実施形態では、r A A V 2 粒子は 4 つより少ない「G A G C」反復配列を有する I T R を含む。ある特定の実施形態では、r A A V 2 粒子は、4 つより多い「G A G C」反復配列を有する I T R を含む。ある特定の実施形態では、r A A V 2 粒子の I T R は、最初の 2 つの「G A G C」反復配列の 4 番目のヌクレオチドが T ではなく C である R e p 結合部位を含む。

【 0 0 9 9 】

[0099] r A A V 粒子へのパッケージング / カプセル化のための r A A V ベクターに組み込まれ得る D N A の例示的な好適な長さは、約 5 キロベース (k b) 又はそれ以下であり得る。特定の実施形態では、D N A の長さは約 5 k b より小さい、約 4 . 5 k b より小さい、約 4 k b より小さい、約 3 . 5 k b より小さい、約 3 k b より小さい、又は約 2 . 5 k b より小さい。
10

【 0 1 0 0 】

[0100] ポリペプチドの発現を導くポリヌクレオチドを含む組換え A A V ベクターは、当技術分野で公知の好適な組換え技術を使用して生成され得る（例えば、S a m b r o o k ら、1989 年参照）。組換え A A V ベクターは、典型的には、形質導入可能な A A V 粒子にパッケージングされ、A A V ウィルスパッケージングシステムを使用して増殖する。形質導入可能な A A V 粒子は、哺乳動物細胞に結合及び侵入し、続いて核酸積荷（例えば、異種遺伝子）を細胞の核に送達することができる。したがって、形質導入可能な完全な r A A V 粒子を構成し、哺乳動物細胞に形質導入する。哺乳動物細胞に形質導入するよう構成された r A A V 粒子は、複製可能ではないことが多い、自己複製のためにはさらなるタンパク質機構が必要である。したがって、哺乳動物細胞に形質導入するように構成される r A A V 粒子は、哺乳動物細胞に結合及び侵入し、細胞に核酸を送達するように工学的に操作され、送達のための核酸は r A A V ゲノムの一対の A A V I T R の間に位置することが多い。
20

【 0 1 0 1 】

[0101] 形質導入可能な A A V 粒子を産生するための好適な宿主細胞としては、限定はされないが、微生物、酵母細胞、昆虫細胞、及び哺乳動物細胞が挙げられ、異種 r A A V ベクターの受容体として使用され得る、又は使用されている。安定なヒト細胞株由来の細胞、293（例えば、アメリカ培養細胞系統保存機関から受託番号 A T C C C R L 1573 で容易に入手可能）が使用され得る。ある特定の実施形態では、アデノウィルス 5 型の D N A 断片によって形質転換され、アデノウィルス E 1 a 及び E 1 b 遺伝子を発現する、改変ヒト胚腎臓細胞株（例えば、H E K 293）が使用され、組換え A A V 粒子が生成される。改変 H E K 293 細胞株は、容易にトランスフェクトされ、r A A V 粒子を産生する特に便利なプラットフォームを提供する。哺乳動物細胞に形質導入することができる高力価の A A V 粒子を生成する方法は、当技術分野で公知である。例えば、A A V 粒子は W r i g h t 、2008 年及び W r i g h t 、2009 年に示されるように製造され得る。
30

【 0 1 0 2 】

[0102] ある特定の実施形態では、A A V 発現ベクターのトランスフェクションより前、又はそれと同時に A A V ヘルパー構築物を宿主細胞にトランスフェクトすることによって宿主細胞に A A V のヘルパー機能が導入される。したがって、A A V ヘルパー構築物が時々使用され、A A V r e p 及び / 又は c a p 遺伝子の少なくとも一過的な発現を提供し、生産的な A A V の形質導入に必要な A A V 機能の欠如を補足する。A A V ヘルパー構築物は、A A V I T R を欠くことが多く、それ自体では複製もパッケージングもできない。これらの構築物は、プラスミド、ファージ、トランスポゾン、コスミド、ウイルス、又はビリオンの形態であってもよい。R e p と C a p 両方の発現産物をコードする一般的に使用されるプラスミド p A A V / A d 及び p I M 29 + 45 などのいくつかの A A V ヘルパー構築物が記載されている。R e p 及び / 又は C a p の発現産物をコードするいくつかの他のベクターが公知である。
40

【 0 1 0 3 】

10

20

30

40

50

[0103]本明細書で使用される「導入遺伝子」は、細胞又は生物に導入しようとする又は導入されている核酸／ポリヌクレオチドを便利に指す。導入遺伝子は、ポリペプチド又はタンパク質（例えばG R N）をコードする遺伝子などの任意の核酸を含み、一般には天然に生じるA A Vゲノム配列に関して異種性である。

【0104】

[0104]用語「形質導入する」は、ベクター（例えばA A V粒子）による細胞又は宿主生物への核酸の導入を指す。したがって、r A A V粒子による細胞への導入遺伝子の導入は、細胞の「形質導入」と呼ばれ得る。導入遺伝子は形質導入細胞のゲノム核酸に組み込まれても組み込まれなくてもよい。導入した導入遺伝子が受容細胞又は生物の核酸（ゲノムD N A）に組み込まれる場合、導入遺伝子はその細胞又は生物で安定に維持され、受容細胞又は生物の子孫細胞又は子孫生物にさらに受け継がれる又は遺伝する。最終的に、導入した導入遺伝子は受容細胞又は宿主生物に、染色体外に、又は一過性にのみ存在し得る。したがって、「形質導入細胞」は、形質導入によって導入遺伝子が導入されている細胞である。したがって、「形質導入した」細胞は、導入遺伝子が導入されている細胞又はその子孫である。形質導入細胞は増殖することができ、導入遺伝子が転写され、コードタンパク質が発現される。遺伝子治療用の使用及び方法のため、形質導入細胞は哺乳動物由来であり得る。

10

【0105】

[0105]G R N活性を有する又は含むG R N又はポリペプチドは、好適なアッセイを使用して、配列番号1のヒトG R Nのペプチダーゼ活性の少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は約100%を示す哺乳動物のG R Nタンパク質又はその部分を指す。ある特定の実施形態では、G R N活性を有する又は含むポリペプチドは、配列番号1のヒトG R Nのペプチダーゼ活性の少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は約100%を示す哺乳動物のG R Nタンパク質、又はそのサブ配列若しくは変異体を指す。

20

【0106】

[0106]G R N活性を有する又は含むポリペプチドは、少なくとも部分的なG R N活性を保持するG R Nポリペプチドの切断、変異、キメラ、又は修飾形態を含み得る。G R N活性を有する又は含むポリペプチドは、任意の好適な生物から（例えば、哺乳動物から、ヒトから、非ヒト哺乳動物から、例えばイヌ、ブタ、ウシなどから）得たG R Nタンパク質、又はその部分を含み得る。ある特定の実施形態では、G R N活性を有する又は含むポリペプチドは、配列番号1に示されるG R Nタンパク質と少なくとも60%同一性、少なくとも70%同一性、少なくとも75%同一性、少なくとも80%同一性、少なくとも85%同一性、少なくとも90%同一性、少なくとも95%同一性、少なくとも98%同一性、又は100%同一性を有する。

30

【0107】

[0107]ある特定の実施形態では、r A A V粒子は、A A Vキャプシドタンパク質及びG R N活性を有する又は含むポリペプチドをコードする導入遺伝子／核酸を含む。ある特定の実施形態では、r A A V粒子はA A Vキャプシドタンパク質並びにG R N活性を有する又は含むポリペプチドの発現及び／又は分泌を導く核酸を含む。

40

【0108】

[0108]代表的なヒトG R Nアミノ酸配列を配列番号1に示す。代表的なヒトG R N核酸配列を配列番号2に示す。

【0109】

[0109]ある特定の実施形態では、r A A V粒子は、A A Vキャプシドタンパク質及びG R Nポリペプチド、又はその酵素的に活性な部分をコードする導入遺伝子／核酸を含む。ある特定の実施形態では、r A A V粒子は、A A Vキャプシドタンパク質並びにG R Nポリペプチド、又はその酵素的に活性な部分の発現及び／又は分泌を導く導入遺伝子／核酸

50

を含む。ある特定の実施形態では、投与される核酸は G R N、野生型 G R N と実質的に同一性を有する G R N、及び / 又は G R N の変異体、突然変異体、若しくは断片をコードする。ある特定の実施形態では、G R N ポリペプチドは、配列番号 1 に示されるタンパク質と少なくとも 60% 同一性、少なくとも 70% 同一性、少なくとも 75% 同一性、少なくとも 80% 同一性、少なくとも 85% 同一性、少なくとも 90% 同一性、少なくとも 95% 同一性、少なくとも 98% 同一性、又は 100% 同一性を有する。

【 0 1 1 0 】

[0110]ある特定の実施形態では、r A A V 粒子は、配列番号 2 に示される核酸と少なくとも 50% 同一性、少なくとも 60% 同一性、少なくとも 70% 同一性、少なくとも 75% 同一性、少なくとも 80% 同一性、少なくとも 85% 同一性、少なくとも 90% 同一性、少なくとも 95% 同一性、少なくとも 98% 同一性、又は 100% 同一性を有する導入遺伝子 / 核酸を含む。ある特定の実施形態では、G R N の機能若しくは活性を有するタンパク質をコードする、又は G R N ポリペプチドの発現をコードする若しくは導く導入遺伝子 / 核酸は、配列番号 2 に示される核酸と少なくとも 50% 同一性、少なくとも 60% 同一性、少なくとも 70% 同一性、少なくとも 75% 同一性、少なくとも 80% 同一性、少なくとも 85% 同一性、少なくとも 90% 同一性、少なくとも 95% 同一性、少なくとも 98% 同一性、又は 100% 同一性を有する核酸である。

10

【 0 1 1 1 】

[0111]ある特定の実施形態では、方法又は使用は、r A A V - G R N 粒子を哺乳動物に投与又は送達するステップ、及び任意選択で 1 つ又は複数の免疫抑制剤を哺乳動物に投与するステップを含む。ある特定の実施形態では、方法又は使用は、r A A V - G R N 粒子を哺乳動物に投与又は送達するステップ、及び任意選択で 2、3、4 つ又はそれ以上の免疫抑制剤を哺乳動物に投与するステップを含む。

20

【 0 1 1 2 】

[0112]ある特定の実施形態では、免疫抑制剤は抗炎症剤である。ある特定の実施形態では、免疫抑制剤はミコフェノール酸、又はその誘導体である。そのようなミコフェノール酸誘導体の例は、ミコフェノール酸モフェチル (MMF) である。ある特定の実施形態では、免疫抑制剤はシクロスボリン、又はその誘導体である。2 つ又はそれ以上の免疫抑制剤が投与される場合、各免疫抑制剤は別個である及び / 又は異なる（例えば、各薬剤は構造及び / 又は作用メカニズムが異なる）。

30

【 0 1 1 3 】

[0113]ある特定の実施形態では、免疫抑制剤は、哺乳動物への r A A V - G R N 粒子の投与前、投与中、及び / 又は投与後に投与される。ある特定の実施形態では、免疫抑制剤は、哺乳動物への r A A V - G R N 粒子の投与と同時に投与される。ある特定の実施形態では、免疫抑制剤は、哺乳動物への r A A V - G R N 粒子の投与後に投与される。

【 0 1 1 4 】

[0114]免疫抑制剤は、任意の好適な用量で投与されてもよい。ある特定の実施形態では、シクロスボリンは、1 日 1 回、2 回、又は 3 回 ~ 2 日に 1 回の頻度で、約 1 ~ 約 50 mg / kg、約 1 ~ 約 20 mg / kg、又は約 5 ~ 約 10 mg / kg の投与量で投与される。ある特定の実施形態では、シクロスボリンは、1 日 2 回、約 10 mg / kg で投与される。ある特定の実施形態では、シクロスボリンは、少なくとも約 1、約 2、約 3、約 4、又は約 5 カ月の期間、1 日 2 回、約 10 mg / kg で投与される。

40

【 0 1 1 5 】

[0115]ある特定の実施形態では、ミコフェノール酸又はその誘導体（例えば MMF）は、1 日 1 回、2 回、又は 3 回 ~ 2 日に 1 回の頻度で、約 1 ~ 約 100 mg / kg、約 1 ~ 約 50 mg / kg、約 1 ~ 約 25 mg / kg、又は約 5 ~ 約 20 mg / kg の投与量で投与される。ある特定の実施形態では、ミコフェノール酸又はその誘導体（例えば MMF）は、1 日 1 回、約 10 ~ 約 20 mg / kg で投与される。

【 0 1 1 6 】

[0116]r A A V 粒子及び / 又は免疫抑制剤は、特定の投与経路に好適な任意の好適な配

50

合で製剤化され得る。様々な薬学的に許容される製剤が市販されており、医師によって入手可能である。

【0117】

[0117] r A A V 粒子は任意の好適な経路により投与され得る。ある特定の実施形態では、方法又は使用は、r A A V - G R N 粒子を哺乳動物の中枢神経系（C N S）に投与するステップを含む。ある特定の実施形態では、中枢神経系は、脳、脊髄、及び脳脊髄液（C S F）を含む。ある特定の実施形態では、方法又は使用は、r A A V - G R N 粒子を哺乳動物の脳又は脊髄又は C S F に投与するステップを含む。ある特定の実施形態では、r A A V - G R N 粒子は脳又は脊髄の一部に投与される。

【0118】

[0118] ある特定の実施形態では、r A A V - G R N 粒子は、脳実質組織、クモ膜下腔、及び／又は髄腔内に投与される。ある特定の実施形態では、r A A V - G R N 粒子は、前記哺乳動物の大槽、脳室内腔、脳室、クモ膜下腔、及び／又は脳室上皮のうちの1つ又は複数に投与される。

【0119】

[0119]さらなる実施形態では、r A A V - G R N 粒子は、脳室系に投与される。さらに別の実施形態では、r A A V - G R N 粒子は、1つ又は複数の吻側側脳室；及び／又は尾側側脳室；及び／又は右側脳室；及び／又は左側脳室；及び／又は右吻側側脳室；及び／又は左吻側側脳室；及び／又は右尾側側脳室；及び／又は左尾側側脳室に投与される。

【0120】

[0120] ある特定の実施形態では、r A A V - G R N 粒子は、例えば細胞を r A A V - G R N 粒子と接触させることによって、哺乳動物の C S F に接触する1つ又は複数の細胞に投与される。C S F に接触する細胞の非限定的な例としては、脳室上皮細胞、軟膜の細胞、内皮細胞、及び／又は髄膜細胞が挙げられる。ある特定の実施形態では、r A A V - G R N 粒子は脳室上皮細胞に投与される。ある特定の実施形態では、r A A V - G R N 粒子は、例えば脳室上皮細胞を r A A V - G R N 粒子と接触させることによって、脳室上皮細胞に送達される。

【0121】

[0121] ある特定の実施形態では、r A A V - G R N 粒子は局所的に投与／送達される。「局所送達」は、哺乳動物内の標的部位への直接的な送達を指す（例えば、組織又は体液に直接的に）。例えば、r A A V - G R N 粒子は、器官、組織又は具体的な解剖学的な場所へ直接注射によって局所的に送達され得る。ある特定の実施形態では、r A A V - G R N 粒子は脳、脊髄、又はその組織若しくは体液へ直接注射によって送達又は投与される（例えば脳室上皮細胞、軟膜の細胞、内皮細胞、及び／又は髄膜細胞などの C S F）。例えば、r A A V - G R N 粒子は、直接注射によって、C S F、大槽、脳室内腔、脳室、クモ膜下腔、及び／又は髄腔内；及び／又は脳室上皮；及び／又は吻側側脳室；及び／又は尾側側脳室；及び／又は右側脳室；及び／又は左側脳室；及び／又は右吻側側脳室；及び／又は左吻側側脳室；及び／又は右尾側側脳室；及び／又は左尾側側脳室に直接送達され得る。

【0122】

[0122] ある特定の実施形態では、r A A V - G R N 粒子は、脳又は脊髄の組織若しくは体液への直接注射によって、脳又は脊髄の組織、体液若しくは細胞に送達される。ある特定の実施形態では、r A A V - G R N 粒子は、例えば静脈注射、皮下注射、若しくは筋肉内注射によって、又は点滴静注によって全身的に送達されない。ある特定の実施形態では、r A A V - G R N 粒子は、定位的注射によって脳又は脊髄の組織若しくは体液に送達される。

【0123】

[0123] ある特定の実施形態では、1つ又は複数の r A A V - G R N 粒子は、脳、脊髄、若しくはその部分、又はその組織若しくは体液（例えば脳室上皮細胞などの C S F）への直接注入により送達又は投与される。特定の態様では、r A A V - G R N 粒子は、脳室上

10

20

30

40

50

皮細胞、軟膜の細胞、内皮細胞、及び／又は髄膜細胞に形質導入する。

【0124】

[0124]ある特定の実施形態では、rAAV粒子を構成して哺乳動物の細胞に形質導入し、哺乳動物においてGRN活性を有するポリペプチドの発現を導く。ある特定の実施形態では、ポリペプチドが1つ又は複数の末梢器官（例えば、肝臓）で発現及び／又は検出される。

【0125】

[0125]ある特定の実施形態では、方法又は使用は、rAAV粒子を構成して哺乳動物の脳又は脊髄細胞に形質導入し、哺乳動物の脳又は脊髄においてGRN活性を有するポリペプチドの発現を導く、rAAV粒子を哺乳動物の脳又は脊髄、若しくはその一部に投与するステップを含む。ある特定の実施形態では、ポリペプチドが投与部位に遠位の中枢神経組織（例えば脳、例えば線条体、視床、髓質、小脳、後頭皮質、前頭前野皮質）において発現及び／又は検出される。ある特定の実施形態では、ポリペプチドは、中枢神経組織（例えば脳、例えば線条体、視床、髓質、小脳、後頭皮質、及び／又は前頭前野皮質）に広く存在し又は検出され、投与部位から離れた及び任意選択で中枢神経組織（例えば脳、例えば線条体、視床、髓質、小脳、後頭皮質、及び／又は前頭前野皮質）に渡る分布を示している。

10

【0126】

[0126]有効量のrAAV粒子、例えばrAAV - GRN粒子は、経験的に決定され得る。投与は、1つ又は複数の用量で、処置の過程に渡って連続的又は断続的に行われ得る。有効な用量の投与は、当業者によって決定され得、AAV血清型、ウイルス力価、及び処置される哺乳動物の体重、状態及び種によって異なり得る。単回及び多回投与（例えば1～5回又はそれ以上）が、処置する医師によって選択される用量レベル、標的、及びタイミングで行われ得る。例えば、十分な酵素活性を維持するために必要な場合、多回用量が投与され得る。

20

【0127】

[0127]ある特定の実施形態では、複数のrAAV - GRN粒子が投与される。ある特定の実施形態では、rAAV - GRN粒子は、約 $1 \sim 5 \text{ ml}$ 中約 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^{18} \text{ vg / ml}$ の用量で； $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^{16} \text{ vg / ml}$ の約 $1 \sim 3 \text{ ml}$ の用量で；又は $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^{15} \text{ vg / ml}$ の約 $1 \sim 2 \text{ ml}$ の用量で投与される。ある特定の実施形態では、rAAV - GRN粒子は、処置される哺乳動物の体重あたり約 $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^{15} \text{ vg / kg}$ の用量で投与される。

30

【0128】

[0128]ある特定の実施形態では、rAAV - GRN粒子は、約 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^{18} \text{ vg / kg}$ の用量で投与される。例えば、rAAV - GRN粒子は、 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^{16} \text{ vg / ml}$ の約 $0.1 \sim 5 \text{ ml}$ 、 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^{16} \text{ vg / ml}$ の約 $0.5 \sim 5 \text{ ml}$ 、 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^{16} \text{ vg / ml}$ の約 $1 \sim 5 \text{ ml}$ 、 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^{14} \text{ vg / ml}$ の約 $1 \sim 3 \text{ ml}$ の用量で、又は $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^{13} \text{ vg / ml}$ の約 $1 \sim 2 \text{ ml}$ の用量で投与され得る。

40

【0129】

[0129]ある特定の実施形態では、rAAV - GRN粒子は、処置される哺乳動物の体重あたり約 $1 \times 10^8 \text{ vg / kg}$ 、約 $5 \times 10^8 \text{ vg / kg}$ 、約 $1 \times 10^9 \text{ vg / kg}$ 、約 $5 \times 10^9 \text{ vg / kg}$ 、約 $1 \times 10^{10} \text{ vg / kg}$ 、約 $5 \times 10^{10} \text{ vg / kg}$ 、約 $1 \times 10^{11} \text{ vg / kg}$ 、約 $5 \times 10^{11} \text{ vg / kg}$ 、約 $1 \times 10^{12} \text{ vg / kg}$ 、約 $5 \times 10^{12} \text{ vg / kg}$ 、約 $1 \times 10^{13} \text{ vg / kg}$ 、約 $5 \times 10^{13} \text{ vg / kg}$ 、約 $1 \times 10^{14} \text{ vg / kg}$ 、約 $5 \times 10^{14} \text{ vg / kg}$ 、又は約 $1 \times 10^{15} \text{ vg / kg}$ の用量で投与される。

【0130】

[0130]本明細書で使用する場合、用語「薬学的に許容される」又は「生理学的に許容される」は、投与、in vivo送達又は接触のうちの1つ又は複数の経路に好適である、生物学的に許容される組成物、製剤、液体若しくは固体、又はそれらの混合物を意味す

50

る。「薬学的に許容される」又は「生理学的に許容される」組成物は、生物学的に又はその他の点で望ましくない材料ではなく、例えば、材料は実質的に望ましくない生物学的な効果を起こさずに対象に投与され得る。そのような組成物、「薬学的に許容される」及び「生理学的に許容される」製剤並びに組成物は無菌であり得る。そのような医薬製剤及び組成物は、例えば、r A A V - G R N 粒子を対象に投与するステップに使用され得る。

【0131】

[0131] そのような製剤及び組成物としては、溶剤（水性又は非水性）、溶液剤（水性又は非水性）、エマルション（例えば水中油型又は油中水型）、懸濁剤、シロップ剤、エリキシル剤、分散及び懸濁培地、コーティング剤、等張及び吸収促進剤又は遅延剤が挙げられ、薬学的な投与又は i n v i v o 接触若しくは送達に適応する。水性及び非水性溶剤、溶液剤、及び懸濁剤としては、懸濁化剤及び増粘剤が挙げられ得る。補足的な活性化合物（例えば、保存剤、抗菌剤、抗ウイルス剤、及び抗真菌剤）も、製剤及び組成物に組み込まれ得る。

【0132】

[0132] 医薬組成物は、典型的には薬学的に許容される賦形剤を含有する。そのような賦形剤は、組成物を受ける個人に有害な抗体の產生をそれ自体では誘導しない任意の医薬剤を含み、過度の毒性なく投与され得る。薬学的に許容される賦形剤としては、限定はされないが、ソルビトール、T w e e n 8 0 、並びに水、生理食塩水、グリセロール及びエタノールなどの液体が挙げられる。例えば、塩酸塩、臭化水素酸塩、リン酸塩、硫酸塩などの鉱酸塩；及び酢酸塩、プロピオン酸塩、マロン酸塩、安息香酸塩などの有機酸の塩など、薬学的に許容される塩が含まれ得る。さらに、界面活性剤、湿潤剤又は乳化剤、p H 緩衝物質などの補助物質がそのようなビヒクルに存在し得る。

【0133】

[0133] 医薬組成物は、本明細書に示されるように、又は当業者に公知のように、特定の投与又は送達の経路に適応するように製剤化され得る。したがって、医薬組成物は、様々な経路による投与又は送達に好適な担体、希釈剤、又は賦形剤を含む。

【0134】

[0134] r A A V - G R N 粒子などの r A A V 粒子の注射又は注入に好適な医薬剤形は、無菌注射可能若しくは注入可能な溶液又は分散液の即時調製に適し、任意選択でリポソームにカプセル化される無菌水溶液又は分散液を含み得る。全ての場合において、最終形態は無菌液体であり、製造、使用、及び保存の条件下で安定であるべきである。液体担体又はビヒクルは、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、液体ポリエチレングリコールなど）、植物油、非毒性グリセリルエステル、及びそれらの好適な混合物を含む溶媒又は液体分散培地であり得る。例えば、リポソームの形成によって、分散剤の場合に必要な粒径の維持によって、又は界面活性剤の使用によって適當な流動性が維持され得る。等張剤、例えば糖、緩衝剤又は塩（例えば塩化ナトリウム）が含まれ得る。注射可能な組成物の持続的吸収は、吸収を遅延する薬剤の組成物、例えばモノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンでの使用によってもたらされ得る。

【0135】

[0135] r A A V - G R N 粒子の溶液又は懸濁液は、以下の構成成分のうちの1つ又は複数を任意選択で含み得る；注射用水などの無菌希釈液、リン酸緩衝生理食塩水（P B S）などの生理食塩水溶液、人工的なC S F、界面活性剤、固定油、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、及び液体ポリエチレングリコールなど）、グリセリン、又は他の合成溶媒；パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸などの抗菌剤及び抗真菌剤；アスコルビン酸又は亜硫酸水素ナトリウムなどの抗酸化剤；エチレンジアミン四酢酸などのキレート剤；酢酸、クエン酸、又はリン酸などの緩衝剤並びに塩化ナトリウム又はデキストロースなどの浸透圧の調整剤。

【0136】

[0136] 本発明の組成物、方法及び使用に適切な医薬製剤、組成物及び送達系は、当技術分野で公知である（例えば、R e m i n g t o n : T h e S c i e n c e a n d P r

actice of Pharmacy(2003年)20版、Mack Publishing Co.、Easton、PA; Remington's Pharmaceutical Sciences(1990年)18版、Merck Publishing Co.、Easton、PA; The Merck Index(1996年)12版、Mack Publishing Group、Whitehouse、NJ; Pharmaceutical Principles of Solid Dosage Forms(1993年)、Technonic Publishing Co., Inc.、Lancaster、Pa.; Ansel and Stoklosa、Pharmaceutical Calculations(2001年)11版、Lippincott Williams & Wilkins、Baltimore、MD; 及びPoznanskyら、Drug Delivery Systems(1980年)、R.L.Juliano編、Oxford、N.Y.、253~315頁参照)。

【0137】

[0137]rAAV-GRN粒子などのrAAV粒子、及びそれらの組成物は、容易な投与及び均一な投与量のために単位剤形に製剤化され得る。本明細書で使用する場合、単位剤形は、処置される個体のための均一の投与量として適した物理的に別個の単位を指す;必要な医薬担体と関連して所望の治療効果をもたらすように算出された既定量の活性化合物を含有する各単位。単位剤形は、所望の効果(複数可)をもたらすのに必要だと考えられるrAAV粒子(例えば、rAAV-GRN粒子)の量による。必要な量は、単回用量で製剤化され得、又は多回投与量単位で製剤化され得る。用量は好適なrAAV粒子濃度に調整され、任意選択で抗炎症剤と組み合わされ、使用のためにパッケージングされ得る。

【0138】

[0138]一実施形態では、医薬組成物は十分な遺伝物質(rAAV粒子)を含み、治療有効量、すなわち問題の疾患状態の症状若しくは有害作用を低減若しくは改善するのに十分な量又は所望の利点を与えるのに十分な量を提供する。

【0139】

[0139]本明細書で使用する場合、「単位剤形」は、処置される対象のための均一の投与量として適した物理的に別個な単位を指す;任意選択で、1つ又は複数の用量で投与される場合、所望の効果(例えば予防又は治療効果)をもたらすように算出される医薬担体(賦形剤、希釈剤、ビヒクリル又は充填剤)と関連して、既定量を含有する各単位。単位剤形は、例えば、アンプル及びバイアル内であり、液体組成物、又はフリーズドライ若しくは凍結乾燥状態の組成物;例えば、in vivoでの投与又は送達の前に添加され得る無菌液体担体を含み得る。個々の単位剤形は、複数用量キット又は容器に含まれ得る。したがって、例えば、rAAV-GRN粒子、及びその医薬組成物は、容易な投与及び均一な投与量のため、单一又は複数の単位剤形にパッケージングされ得る。

【0140】

[0140]rAAV-GRN粒子を含有する製剤は、典型的には、有効量を含有し、有効量は当業者によって容易に決定される。rAAV-GRN粒子は、典型的には、約1%~約95%(w/w)の範囲の組成物であり、好適であればより高くもあり得る。投与される量は、処置を検討される哺乳動物又はヒト対象の年齢、体重及び健康状態などの因子による。用量応答曲線を確立する日常の試験を通して、有効投与量は当業者によって確立され得る。

【0141】

[0141]ある特定の実施形態では、方法は、本明細書に示されるように複数のrAAV-GRN粒子を哺乳動物に投与するステップを含み、プログラニュリンの発現又は機能の欠乏又は欠損(例えばFTD/FTLD)の1つ又は複数の症状の重症度、頻度、進行度、又は発症時間が減少、低減、予防、阻害、又は遅延される。ある特定の実施形態では、方法は、哺乳動物に複数のrAAV-GRN粒子を投与し、前頭側頭型認知症(FTD)又はバッテン病の症状又は有害作用を処置するステップを含む。ある特定の実施形態では、方法は、哺乳動物に複数のrAAV-GRN粒子を投与し、前頭側頭型認知症(FTD)

10

20

30

40

50

又はバッテン病の症状又は有害作用を安定化、悪化を遅延若しくは防止する、又は好転させるステップを含む。

【 0 1 4 2 】

[0142]ある特定の実施形態では、方法は、本明細書に示されるように複数の r A A V - G R N 粒子を哺乳動物の中脳神経系、又はその部分に投与するステップを含み、プログラニュリンの発現又は機能の欠乏又は欠損（例えば F T D / F T L D ）の 1 つ又は複数の症状の重症度、頻度、進行度、又は発症時間が減少、低減、予防、阻害、又は少なくとも約 5 ~ 約 10 、約 10 ~ 約 25 、約 25 ~ 約 50 、若しくは約 50 ~ 約 100 日間遅延される。

【 0 1 4 3 】

[0143]ある特定の実施形態では、症状又は有害作用は初期若しくは後期の症状；行動、人格、若しくは言語症状；及び／又は認知症状を含む。

【 0 1 4 4 】

[0144]本明細書の方法及び使用によって処置可能な F T D の初期の症状／有害作用の例は、うつ病及び引きこもり、時には強迫行動及び言語障害などの人格又は気分変動の進行又は悪化を改善又は減速又は予防することを含む。多くの F T D 対象は、それらの抑制を失い、反社会的及び／又は攻撃的行動を示す。そのような症状は、アパシー又は話す気が起こらないこと；うつ病などの人格及び気分の変化；抑制の欠如又は社会的分別の欠如；強迫的シェービング又はアイテムの収集などの強迫又は反復的行動；独特な言語、身体的、又は性的行動；並びに劇的な過食による体重増加を含む。F T D 対象は、衛生面を怠り、彼らに向けられる励ましに抵抗することがある。F T D 対象はまた、彼らの行動が変化していることへの気付き又は関心を欠如することがある。

【 0 1 4 5 】

[0145]何人かの F T D 対象は、言語及び社会的な機能障害を経験するが、並外れた視覚及び音楽の創造性を発達させる。脳細胞の喪失が、言語などの機能を調節する左前頭葉で主に起きた場合に、芸術的な才能が発達した。脳の右側は、より抽象的な論理を制御すると考えられる。

【 0 1 4 6 】

[0146]本明細書の方法及び使用によって処置可能な F T D の他の症状／有害作用の例は、一般的ではないが、記憶など他の思考プロセスが冒される前に初期の F T D で起こる言語問題の進行又は悪化を改善又は減速又は予防することを含む。F T D 対象は、対象物に名付ける時に、正確な言葉を話す又は見つけることに困難を経験することがある。読み書きの困難が、次いで発生する。疾患が進行すると、彼らが事実上口がきけなくなるまで、使用される言語がますます少なくなる。他の F T D 対象は、言葉を思い出す及び言葉の意味を理解することに重症な問題を有するが、他の点では正常に会話し続け得る。

【 0 1 4 7 】

[0147]本明細書の方法及び使用によって処置可能な F T D の他の症状／有害作用の例は、アルツハイマー病及び他の認知症により一般的な記憶及び他の機能など、認識／精神的能力を冒す F T D 進行の進行又は悪化を改善又は減速又は予防することを含む。アルツハイマー病では、最初の症状の 1 つは記憶の喪失である。F T D では、独特又は反社会的な行動並びに会話又は言語の喪失は通常最初の症状である。

【 0 1 4 8 】

[0148]本明細書の方法及び使用によって処置可能な F T D の後期の症状／有害作用の例は、不安定さ、硬直、遅さ、痙攣、筋力低下、又は嚥下困難などの運動障害の進行又は悪化を改善又は減速又は予防することを含む。何人かの患者は、ルー・ゲーリック病（Lou Gherig's disease）又は筋萎縮性側索硬化症（ALS）を発症する。F T D の最終段階である人々は、自分自身でケアすることができない。

【 0 1 4 9 】

[0149]F T D の診断には身体検査が必要である。特に、脳組織の喪失を検出できる方法は、画像検査などによる。例示的な非限定的検査としては、磁気共鳴画像法（MRI）が

10

20

30

40

50

挙げられ、脳の前方に位置する前頭葉及び側頭葉の特徴的な委縮を同定できる。他の検査としては、限定はされないが、ポジトロン断層撮影（P E T）、コンピュータ断層撮影（C T）、及び単光子放出コンピュータ断層撮影（S P E C T）が挙げられる。したがって、それらを使用して、プログラニュリンの発現又は機能の欠乏又は欠損（例えばF T D / F T L D）の1つ又は複数の症状の進行又は悪化を改善又は減速又は予防するなど、診断並びに処置効率を決定することができる。

【0150】

[0150]用語「ポリヌクレオチド」、「核酸」及び「導入遺伝子」は本明細書で交換可能に使用され、デオキシリボ核酸（D N A）及びリボ核酸（R N A）並びにそれらのポリマーを含む、核酸、オリゴヌクレオチドの全ての形態を指す。ポリヌクレオチドは、ゲノムD N A、c D N A及びアンチセンスD N A、並びにスプライス又は非スプライスm R N A、r R N A、t R N A及び抑制D N A又はR N A（R N A i、例えば小さい若しくは短いヘアピン（s h）R N A、マイクロR N A（m i R N A）、小さい若しくは短い干渉（s i）R N A、トランススプライシングR N A、又はアンチセンスR N A）を含む。ポリヌクレオチドは、天然に生じる、合成、及び意図的に改変又は変更されたポリヌクレオチド（例えば、変異体核酸）を含み得る。ポリヌクレオチドは、一本鎖、二本鎖、又は三本鎖、線状又は環状であってもよく、任意の好適な長さであってもよい。ポリヌクレオチドの議論において、特定のポリヌクレオチドの配列又は構造は、5'から3'方向で配列を提供する決まりに従って本明細書に記載され得る。10

【0151】

[0151]ポリペプチドをコードする核酸は、ポリペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含むことが多い。他に示さない限り、特定の核酸配列は縮重したコドン置換も含む。20

【0152】

[0152]核酸は、オープンリーディングフレームに作動可能に連結した1つ又は複数の発現調節又は制御エレメントを含み得、1つ又は複数の制御エレメントは、哺乳動物細胞においてオープンリーディングフレームによってコードされたポリペプチドの転写及び翻訳を導くように構成される。発現調節／制御エレメントの非限定的な例としては、転写開始配列（例えば、プロモーター、エンハンサー、T A T A ボックスなど）、翻訳開始配列、m R N A 安定性配列、ポリA配列、分泌配列などが挙げられる。発現調節／制御エレメントは任意の好適な生物のゲノムから得ることができる。30

【0153】

[0153]「プロモーター」は、ヌクレオチド配列、通常コード配列の上流（5'）を指示し、R N Aポリメラーゼの認識及び正確な転写に必要な他の因子を提供することによってコード配列の発現を導く及び／又は調節する。「プロモーター」は、T A T A ボックス、及び任意選択で転写開始の部位を特定するために働く他の配列から構成される短いD N A配列である最小のプロモーターを含み、発現の調節のために制御エレメントが添加される。

【0154】

[0154]「エンハンサー」は転写活性を刺激し得るD N A配列であり、発現のレベル又は組織特異性を増強するプロモーターの先天的エレメント又は異種エレメントであり得る。いいずれの方向（5' - > 3' 又は 3' - > 5'）でも操作することができ、プロモーターの上流又は下流のいずれかに位置する場合であっても機能することが可能であり得る。40

【0155】

[0155]プロモーター及び／又はエンハンサーは、その全体が天然の遺伝子から導出する、又は天然で見出された異なるエレメントに由来する異なるエレメントから構成され、又は合成D N Aセグメントから構成されもし得る。プロモーター又はエンハンサーは、刺激、生理学的又は発生的条件に応答する転写開始の有効性をモジュレート／調節するタンパク質因子の結合に関与するD N A配列を含み得る。

【0156】

[0156]非限定的な例としては、S V 4 0 初期プロモーター、マウス乳腺腫瘍ウイルスL

50

T R プロモーター；アデノウイルス主要後期プロモーター（A d M L P）；単純ヘルペスウイルス（H S V）プロモーター、C M V 最初期プロモーター領域（C M V I E）などのサイトメガロウイルス（C M V）プロモーター、ラウス肉腫ウイルス（R S V）プロモーター、p o l I I プロモーター、p o l I I I プロモーター、合成プロモーター、ハイブリッドプロモーターなどが挙げられる。さらに、マウスマタロチオネイン遺伝子などの非ウイルス遺伝子由来の配列も、本明細書での使用が見出される。例示的な構成プロモーターとしては、ある特定の構成又は「ハウスキーピング」機能をコードする以下の遺伝子のプロモーターが挙げられる：ヒポキサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ（H P R T）、ジヒドロ葉酸還元酵素（D H F R）、アデノシンデアミナーゼ、ホスホグリセロールキナーゼ（P G K）、ピルビン酸キナーゼ、ホスホグリセロールムターゼ、アクチングリオンドリソース（A G D S）、及び当業者に公知の他の構成プロモーター。さらに、多くのウイルスプロモーターが真核細胞内で構成的に機能する。これらは、他にも多くある中で、S V 4 0 の初期及び後期プロモーター；モロニー白血病ウイルス及び他のレトロウイルスの長い末端反復配列（L T R）；並びに単純ヘルペスウイルスのチミジンキナーゼプロモーターを含む。したがって、上で参照した構成プロモーターのいずれかを使用して、異種遺伝子インサートの転写を調節できる。

【0157】

[0157]誘導性プロモーターの調節下の導入遺伝子は、誘導剤の存在下でのみ又は多くは発現される（例えば、メタロチオネインプロモーターの調節下での転写は、ある特定の金属イオンの存在下で大幅に増加する）。誘導性プロモーターは、それらの誘導因子が結合される場合に転写を刺激する応答エレメント（R E）を含む。例えば、血清因子、ステロイドホルモン、レチノイン酸、及びサイクリックAMPのR Eがある。特定のR Eを含有するプロモーターは、誘導応答を得るために選択され得、いくつかの場合では、R E自体が異なるプロモーターに結合し、それにより誘導能を組換え遺伝子に付与することができる。したがって、好適なプロモーターを選択することにより（構成的対誘導性；強い対弱い）、遺伝子改変細胞におけるポリペプチドの発現の存在とレベルの両方を調節することが可能である。ポリペプチドをコードする遺伝子が、誘導性プロモーターの調節下にある場合、in situでのポリペプチドの送達は、in situで遺伝子改変細胞をポリペプチドの転写が可能な条件に曝露することによって、例えば、薬剤の転写を調節する誘導性プロモーターの特異的な誘導物質の腹腔内注射によって引き起こされる。例えば、メタロチオネインプロモーターの調節下で遺伝子によってコードされたポリペプチドの遺伝子改変細胞によるin situ発現は、遺伝子改変細胞をin situで適切な（すなわち、誘導性）金属イオンを含有する溶液と接触させることによって増強される。

【0158】

[0158]核酸／導入遺伝子は、別の核酸配列と機能性の関係に置かれた場合、「作動可能に連結される」。ポリペプチドをコードする核酸／導入遺伝子、又はG R Nポリペプチドの発現を導く核酸（例えばG R N活性を有するポリペプチド）は、コードされたポリペプチドの転写を調節する誘導性プロモーター又は組織特異的プロモーターを含み得る。

【0159】

[0159]ある特定の実施形態では、C N S特異的又は誘導性プロモーター、エンハンサーなどは、本明細書に記載の方法及び使用に用いられる。C N S特異的プロモーターの非限定的な例としては、ミエリン塩基性タンパク質（M B P）、グリア纖維酸性タンパク質（G F A P）、及びニューロン特異的エノラーゼ（N S E）由来の遺伝子から単離したものが挙げられる。誘導性プロモーターの非限定的な例としては、エクジソン、テトラサイクリン、低酸素及びI F NのD N A応答エレメントが挙げられる。

【0160】

[0160]ある特定の実施形態では、発現調節エレメントはC M Vエンハンサーを含む。ある特定の実施形態では、発現調節エレメントはベータアクチンプロモーターを含む。ある特定の実施形態では、発現調節エレメントはチキンベータアクチンプロモーターを含む。ある特定の実施形態では、発現調節エレメントは、C M Vエンハンサー及びチキンベータ

アクチンプロモーターを含む。

【0161】

[0161]ある特定の実施形態では、発現調節エレメントは、配列番号4に示されるC M Vエンハンサーと80%若しくはそれ以上の同一性を有する配列及び/又は配列番号3に示されるC A Gプロモーターと80%若しくはそれ以上の同一性を有する配列を含む。ある特定の実施形態では、発現調節エレメントは配列番号4を含む。ある特定の実施形態では、発現調節エレメントは配列番号3を含む。

【0162】

[0162]本明細書で使用する場合、用語「改变する」又は「変異体」及びそれらの文法的变化は、核酸、ポリペプチド、又はそれらのサブ配列が参照配列から外れることを意味する。したがって、改变及び変異体配列は、参照配列と実質的に同じ、より高い若しくはより低い発現、活性、又は機能を有するが、参照配列の部分的な活性又は機能は少なくとも保持し得る。変異体の特定の型は、突然変異タンパク質であり、突然変異、例えばG R Nのミスセンス又はナンセンス突然変異を有する遺伝子によってコードされたタンパク質を指す。

10

【0163】

[0163]「核酸」又は「ポリヌクレオチド」変異体は、野生型と比較して遺伝的に変更された改变配列を指す。配列は、コードされたタンパク質配列を変更することなく遺伝的に改变され得る。或いは、配列は変異体タンパク質、例えば変異体G R Nタンパク質をコードするように遺伝的に改变され得る。核酸又はポリヌクレオチド変異体は、野生型タンパク質配列などの参照配列と少なくとも部分的な配列同一性を依然として保持するタンパク質をコードするようにコドン改变された、及び変異体タンパク質をコードするようにコドン改变された組合せ配列も指すことができる。例えば、そのような核酸変異体のいくつかのコドンは、それらによってコードされるG R Nタンパク質のアミノ酸を変更することなく変えられ、核酸変異体のいくつかのコドンは、今度はそれらによってコードされるG R Nタンパク質のアミノ酸を変えて変えられる。

20

【0164】

[0164]用語「タンパク質」及び「ポリペプチド」は、本明細書において交換可能に使用される。本明細書に開示される「核酸」又は「ポリヌクレオチド」又は「導入遺伝子」によってコードされる「ポリペプチド」は、ポリペプチドがある程度のG R N活性を保持する限り、天然に生じる野生型及びその機能性多型タンパク質、機能性サブ配列（断片）、並びにその改变形態又は配列変異体と同様に、部分又は全長の天然のG R N配列を含む。したがって、本発明の方法及び使用において、核酸配列によってコードされたそのようなポリペプチドは、そうである必要はないが、欠陥があり、又はその活性、機能、若しくは発現が不十分であり、処置した哺乳動物で欠損又は不在の内在性G R Nタンパク質と同一であり得る。

30

【0165】

[0165]改变の非限定的な例としては、1つ又は複数のヌクレオチド又はアミノ酸置換が挙げられる（例えば、約1～約3、約3～約5、約5～約10、約10～約15、約15～約20、約20～約25、約25～約30、約30～約40、約40～約50、約50～約100、約100～約150、約150～約200、約200～約250、約250～約500、約500～約750、約750～約1000又はそれ以上のヌクレオチド又は残基）。核酸改变の1つの非限定的な例は、コドン最適化である。

40

【0166】

[0166]アミノ酸改变の例は、保存的なアミノ酸置換又は欠失である。特定の実施形態では、改变又は変異体配列（例えばG R N）は、非改变配列（例えば野生型G R N）の少なうとも一部の機能又は活性を保持する。

【0167】

[0167]アミノ酸改变の別の例は、A A V粒子のキャプシドタンパク質に導入される標的化ペプチドである。r A A Vベクターを、血管内皮細胞など、中枢神経系に標的化するペ

50

プチドが同定されている。したがって、例えば、脳の血管に沿う内皮細胞は、改変された r A A V 粒子によって標的化され得る。そのようなペプチドを含むように改変されたキャプシドタンパク質を有する r A A V - G R N 粒子は、本明細書に示されるように G R N を中枢神経系（例えば、脳、脊髄等）に導入するために使用され得る。

【0168】

[0168] そのように改変された r A A V は、別の型の組織（例えば肝臓組織）よりも 1 つの型の組織（例えば C N S 組織）に優先的に結合できる。ある特定の実施形態では、改変キャプシドタンパク質を有する r A A V は、相当する非改変キャプシドタンパク質よりも高いレベルで結合することによって脳血管内皮組織を「標的化」し得る。例えば、改変キャプシドタンパク質を有する r A A V は、非改変 r A A V よりも 50% ~ 100% 高いレベルで脳血管内皮組織に結合し得る。10

【0169】

[0169] 「核酸断片」は、所与の核酸分子の一部分である。大多数の生物のデオキシリボ核酸（D N A）は遺伝物質であるが、リボ核酸（R N A）は D N A に含有される情報のタンパク質への移行に関与する。開示されたヌクレオチド配列及びそれらにコードされるタンパク質又は部分長のタンパク質の断片及び変異体も本発明に包含される。「断片」又は「部分」は、ポリペプチド若しくはタンパク質をコードするヌクレオチド配列、又はポリペプチド若しくはタンパク質のアミノ酸配列の全長又は全長未満を意味する。ある特定の実施形態では、断片又は部分は生物学的に機能性である（すなわち、野生型 G R N の活性又は機能の 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、20 50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%、又は 100% を保持する）。

【0170】

[0170] 分子の「変異体」は、天然の分子の配列と実質的に類似の配列である。ヌクレオチド配列に関して、変異体は、遺伝コードの縮重のため、天然のタンパク質の同一のアミノ酸配列をコードするそれらの配列を含む。これらのような天然に生じる対立遺伝子変異体は、例えば、ポリメラーゼ連鎖反応（P C R）及びハイブリダイゼーション技術のように、分子生物学的技術を使用して同定され得る。変異体ヌクレオチド配列は、例えば、部位特異的変異誘発を使用して生成された天然のタンパク質をコードするもの、並びにアミノ酸置換を有するポリペプチドをコードするものなど、合成的に導出されたヌクレオチド配列も含む。通常、本発明のヌクレオチド配列変異体は、天然の（内在性の）ヌクレオチド配列と少なくとも 40%、50%、60%、~70%、例えば 71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、~79%、通常少なくとも 80%、例えば 81% ~ 84%、少なくとも 85%、例えば 86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、~98% の配列同一性を有する。ある特定の実施形態では、変異体は生物学的に機能性である（すなわち、野生型 G R N の活性又は機能の 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%、又は 100% を保持する）。30

【0171】

[0171] 特定の核酸配列の「保存変異」は、同一又は本質的に同一のアミノ酸配列をコードするそれらの核酸配列を指す。遺伝コードの縮重のため、多くの機能的に同一の核酸が任意の所与のポリペプチドをコードする。例えば、コドン C G T、C G C、C G A、C G G、A G A 及び A G G は全て、アミノ酸アルギニンをコードする。したがって、アルギニンがコドンによって特定される全ての位置で、コドンは、コードされるタンパク質を変更することなく記載した相当するコドンのいずれかに変更され得る。そのような核酸変異は、「保存的に改変された変異」の一種である「サイレント変異」である。ポリペプチドをコードする本明細書に記載の全ての核酸配列は、特に記載する場合以外は、全ての可能なサイレント変異も記載する。当業者は、核酸の各コドンは（通常メチオニンの唯一のコドンである A T G は除く）、標準的な技術によって機能的に同一の分子を產生するように改40

変され得ることを理解するであろう。したがって、ポリペプチドをコードする核酸の各「サイレント変異」は、各記載の配列に潜在している。

【0172】

[0172]ポリヌクレオチド配列の用語「実質的同一性」は、ポリヌクレオチドが、標準的なパラメーターを使用して記載したアライメントプログラムの1つを使用して参照配列と比較して少なくとも70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、若しくは79%、又は少なくとも80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、若しくは89%、又は少なくとも90%、91%、92%、93%、若しくは94%、又は少なくとも95%、96%、97%、98%、若しくは99%配列同一性を有する配列を含むことを意味する。当業者は、これらの値が、適切に調整され、コドンの縮重、アミノ酸類似性、リーディングフレーム位置などを考慮に入れて、2つのヌクレオチド配列によってコードされるタンパク質の相当する同一性を決定し得ることを理解するであろう。これらの目的のためのアミノ酸配列の実質的同一性は通常、少なくとも70%、少なくとも80%、90%、又は少なくとも95%の配列同一性を意味する。

【0173】

[0173]ポリペプチドの文脈において、用語「実質的同一性」は、ポリペプチドが、特定の比較ウインドウで参照配列と少なくとも70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、若しくは79%、又は80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、若しくは89%、又は少なくとも90%、91%、92%、93%、若しくは94%、又は95%、96%、97%、98%、若しくは99%の、配列同一性を有する配列を含むことを示す。2つのポリペプチド配列が実質的に同一であるという指標は、1つのポリペプチドが第2のポリペプチドに対して生じる抗体と免疫学的に反応性であることである。したがって、例えば、2つのペプチドが保存的な置換によってのみ異なる場合、ポリペプチドは第2のポリペプチドと実質的に同一である。

【0174】

[0174]本発明は、パッケージング材料及び1つ又は複数の構成要素を含むキットを提供する。キットは、典型的には、構成要素の記載又は構成要素の*in vitro*, *in vivo*, 若しくは*ex vivo*での使用の説明書を含む、ラベル又は添付文書を含む。キットは、そのような構成要素のコレクション、例えば、核酸、組換えベクター、rAAV - GRN粒子、及び任意選択で第2の活性な、例えば別の化合物、薬剤、薬物又は組成物を含有し得る。

【0175】

[0175]キットは、キットの1つ又は複数の構成要素を収容する物理的構造を指す。パッケージング材料は構成要素を無菌的に維持でき、そのような目的のために一般的に使用される材料で製造され得る（例えば、紙、波形纖維、ガラス、プラスチック、ホイル、アンプル、バイアル、チューブ等）。

【0176】

[0176]ラベル又は添付文書は、1つ又は複数の構成要素、用量、作用機序、薬物動態及び薬力学を含む活性成分（複数可）の臨床薬理学を同定する情報を含み得る。ラベル又は添付文書は、製造会社、ロット番号、製造場所及び日付、使用期限を同定する情報を含み得る。ラベル又は添付文書は、製造会社情報、ロット番号、製造場所及び日付を同定する情報を含み得る。ラベル又は添付文書は、キットの構成要素が使用され得る疾患の情報を含み得る。ラベル又は添付文書は、方法、使用、又は処置プロトコール若しくは治療レジメンにおける、キット構成要素の1つ又は複数を使用するための医師又は対象への説明書を含み得る。説明書は、投与量、頻度又は期間、及び本明細書に記載の方法、使用、処置プロトコール又は予防若しくは治療レジメンのいずれかを実施するための説明書を含み得る。

【0177】

10

20

30

40

50

[0177]ラベル又は添付文書は、予防又は治療効果など、構成要素が提供し得る任意の利点についての情報を含み得る。ラベル又は添付文書は、特定の組成物を使用することが適切ではないであろう場面に関して、対象又は医師に警告するなど、有害な副作用の可能性、合併症又は反応についての情報を含み得る。有害な副作用又は合併症は、対象が組成物と配合禁忌であり得る1つ又は複数の他の医薬品を摂取していた、摂取することになっている、若しくは現在摂取している、又は対象が組成物と配合禁忌であろう別の処置プロトコール若しくは治療レジメンを受けていた、受けることになっている、若しくは現在受けている場合にも生じ、したがって、説明書はそのような配合禁忌に関する情報を含み得る。

【0178】

[0178]ラベル又は添付文書は、例えば、紙若しくはボール紙、又は構成要素、キット、若しくは梱包材（例えば箱）と別に若しくはそれに添付される、又はキットの構成要素を含有するアンプル、チューブ、若しくはバイアルに添付される「印刷物」を含む。ラベル又は添付文書は、バーコード印刷したラベルなどのコンピュータ読み取り可能な媒体、ディスク、CD-、若しくはDVD-ROM/RAMなどの光ディスク、DVD、MP3、又はRAM及びROMなどの電子保存媒体、又は磁気／光保存媒体、FLASHメモリー、ハイブリッド及びメモリー型カードなどのこれらのハイブリッドをさらに含み得る。

【0179】

[0179]本明細書で使用する用語「約」は、参照値の10%以内（プラス又はマイナス）である値を指す。

【0180】

[0180]用語「処置する」及び「処置」は、治療処置及び予防的又は防止的措置の両方を指し、対象は疾患の発生、進行、又は悪化など、不要な生理学的变化又は障害を予防、阻害、低減又は減少される。本発明の目的のための、有益な又は所望の臨床結果としては、限定はされないが、症状の緩和、疾患の程度の減少、疾患の症状又は有害作用の安定化（すなわち、悪化又は進行なし）、疾患の進行の遅延又は減速、疾患状態の改善又は寛解、及び鎮静（部分的又は全体的のいずれか）、検出可能か検出可能ではないかが挙げられる。「処置」は、処置を受けない場合に予想される生存と比較して生存を延長することも意味し得る。処置を必要とする対象は、既に状態又は障害にある対象並びに罹患しやすい対象（例えば、遺伝的アッセイによって決定されるように）、例えば喪失若しくは低減したGRNの発現若しくは機能に関してホモ接合体（GRN^{-/-}）である、又は喪失若しくは低減したGRNの発現若しくは機能に関してヘテロ接合体（GRN^{+/-}）であることが同定された対象などを含む。

【0181】

[0181]用語「含む（comprising）」「有する（having）」「含む（including）」及び「含有する（containing）」は、特に記載しない限り、制約がない用語（すなわち、「含むが限定されない」を意味する）と解釈される。

【0182】

[0182]本明細書に記載の全ての方法及び使用は、本明細書に他に示さない、又は文脈によりはっきりと否定しない限り、任意の好適な順序で実施され得る。任意の及び全ての例、又は本明細書に記載する例示的な言語（例えば、「など（such as）」又は「例えば（for example）」）の使用は、単に本発明をより明らかにすることを意図し、他に請求しない限り、本発明の範囲を制限しない。本明細書の言語は、任意の非請求エレメントが本発明の実施に必須であると示していると解釈されるべきではない。

【0183】

[0183]本明細書に開示した全ての特徴は、任意の組合せで組み合わされ得る。本明細書に開示した各特徴は、同じ、等価な、又は類似の目的を果たす代わりの特徴によって置き換えられ得る。したがって、明示的に特に記載しない限り、開示した特徴（例えば、改变核酸、ベクター、プラスミド、組換えベクター（例えばrAAV）配列、ベクターゲノム、又はrAAV粒子）は、等価な又は類似の特徴の種類の例である。

【0184】

10

20

30

40

50

[0184]本明細書で使用する場合、形態「1つの(a)」「及び(and)」及び「その(the)」は、文脈が他にはっきりと示さない限り、単数及び複数の参照を含む。したがって、例えば、「核酸(a nucleic acid)」という言及は、複数のそのような核酸を含み、「ベクター(avector)」という言及は複数のそのようなベクターを含み、「ウイルス(avirus)」又は「AAV又はrAAV粒子(AAV or rAAV particle)」という言及は複数のそのようなビリオン/AAV又はrAAV粒子を含む。

【0185】

[0185]本明細書の値の範囲の列挙は、本明細書で他に示さない限り、範囲内にあるそれぞれ別々の値を個別に指す、簡単な方法として役に立つことを単に意図し、個別に本明細書に引用されたようにそれぞれ別々の値が本明細書に組み込まれる。

10

【0186】

[0186]したがって、全ての数値又は数値範囲は、文脈が他にはっきりと示さない限り、そのような範囲内の整数及び範囲内の値又は整数の分数を含む。したがって、例示のため、80%又はそれ以上の同一性という言及は、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%等、並びに81.1%、81.2%、81.3%、81.4%、81.5%等、82.1%、82.2%、82.3%、82.4%、82.5%等を含む。

【0187】

[0187]より多い(より大きい)又はより少ないを伴う整数の言及は、それぞれ参照数より多い又はより少ない任意の数を含む。したがって、例えば、100より少ないという言及は、99、98、97等、1番に至るまでの全てを含む；及び10より少ないという言及は、9、8、7等、1番に至るまでの全てを含む。

20

【0188】

[0188]本明細書で使用する場合、全ての数値又は数値範囲は、文脈が他にはっきりと示さない限り、そのような範囲内の値及び整数の分数、並びにそのような範囲内の整数の分数を含む。したがって、例示のため、1～10などの数値範囲の言及は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10並びに1.1、1.2、1.3、1.4、1.5等を含む。したがって、1～50の範囲という言及は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20等、最大50を含み、並びに1.1、1.2、1.3、1.4、1.5等、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5等を含む。

30

【0189】

[0189]一連の範囲の言及は、一連の範囲内の異なる範囲の境界の値を合わせる範囲を含む。したがって、例示のため、例えば1～10、10～20、20～30、30～40、40～50、50～60、60～75、75～100、100～150、150～200、200～250、250～300、300～400、400～500、500～750、750～1,000、1,000～1,500、1,500～2,000～2,500、2,500～3,000、3,000～4,000、4,000～5,000、5,000～7,500～2,500、2,500～3,000、3,000～3,500、3,500～4,000、4,000～4,500、4,500～5,000、5,000～6,000、6,000～7,000、7,000～8,000、又は8,000～9,000の一連の範囲の言及は、10～20、10～50、30～50、50～100、100～300、100～1,000、1,000～3,000、1,000～1,000、1,000～3,000等の範囲を含む。

40

【0190】

[0190]本発明は、通常肯定的な言語を使用して本明細書に開示され、多くの実施形態及び態様を記載する。本発明は、物質若しくは材料、方法ステップ及び条件、プロトコール、又は手順など、全体又は一部で特定の主題が除外される実施形態も特に含む。例えば、本発明のある特定の実施形態又は態様では、材料及び/又は方法ステップが除外される。したがって、本発明は通常、本発明が含まれないものに関しては本明細書に示されないが、本発明において明確に除外されない態様は、本明細書に開示される。

50

【 0 1 9 1 】

[0191]本発明のいくつかの実施形態が記載されている。本発明の精神及び範囲から逸脱することなく、当業者は、本発明の様々な変更及び改変を行い、様々な用途及び条件に適用することができる。したがって、以下の実施例は、例示を目的とするが、請求した本発明の範囲を制限しない。

【実施例】**【 0 1 9 2 】****実施例 1**

[0192]F T D は、65歳より若い個体の認知症の2番目に多い一般的な原因であり、プログラニュリン (G R N) をコードする遺伝子の突然変異は、F T D の一般的なメンデルの要因である。現在までに、F T D を引き起こす G R N の全ての突然変異 (50 > の異なる突然変異) が、ハプロ不全によることが示されており、大多数がナンセンス突然変異であり、病気に罹患した個体が正常な転写レベルの50%のみ発現するようになる。結果として、プログラニュリンの置き換えは、G R N 突然変異による F T D を改善、好転又は予防する治療を提供する。

【 0 1 9 3 】

[0193]A A V ウイルスベクターを使用して、前頭側頭型認知症 (F T D) の治療として中枢神経系 (C N S) にプログラニュリン遺伝子 (G R N) を発現する。ヒトプログラニュリンを送達できる複数の A A V ベクターが開発される。本明細書に開示したように、マウスを含む研究において、A A V ベクターは、実質組織内又は脳室内注射などの投与経路によって C N S に測定可能な量のプログラニュリンを送達できる。G R N 遺伝子を欠くマウスにおける一連の研究により、脳室への A A V - G R N の導入がこれらの動物における G R N 欠乏と関連する表現型を救出できることを確認する。

【 0 1 9 4 】

[0194]プログラニュリンは、アクログラニン、C L N 1 1 、G E P 、G P 8 8 、グラニュリン (Granulin) 、グラニュリン - エピセリン、グラニュリン (granulins) 、グラニュリン前駆体、G R N _ H U M A N 、P C 細胞由来増殖因子、P C D G F 、P E P I 、P G R N 、及びプロエピセリンとも呼ばれる。

【 0 1 9 5 】

[0195]例示的なヒトプログラニュリン (G R N) タンパク質 (配列番号 1) :

【化 1 】

```
MWTLVSWVALTAGLVAGTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTV
SGTSSCCPFPEAVACGDGHHCPCRGFHCSADGRSCFQRSGNNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCCCPMPQ
ASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPQAQRTNRAVALSSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGC
CPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPQDGTYTCCRLQSGAWGCCP
FTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGE
WGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGG
SWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQ
GWACCPYRQGVCCADRRHCCPACFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL
```

10

20

30

40

【 0 1 9 6 】

[0196]ヒト G R N タンパク質をコードする例示的な核酸 (配列番号 2) :

50

【化 2】

1 attctcaat cacatgatcc ctagaaatgg ggtgtgggc gagaggaagc agggaggaga
 61 gtgatttgag tagaaaagaa acacagcatt ccaggctgc cccacctcta tattgataag
 121 tagccaatgg gagcgggtag ccctgatccc tggccaatgg aaactgaggt aggccggtca
 181 tcgcgctggg gtctgttagtc tgagcgctac ccgggtgctg ctggccaagg accgcggagt
 241 cggacgcagg taggagagcg gccgcgcaga cctctcgccct gctcctgccc agggccgc
 301 cagggccatg tgagctttag gttccccctgg agtctcagcc ggagacaaca gaagaaccgc
 361 ttactgaaac tccctggggg ttctgataca ctagggggag ttttatggga aagaggaagc
 421 agtaattgca gtgacgcacc gttagaaggg gttttctacc tccccagcat tcccccaaag 10
 481 cagggaccac accattcttg acccagctcc acccctgtcg gtaggtgctg gttttttccc
 541 ctctccttgtt ggtgggtgggt ggttcccgcg gccgcctgga gccggagggg cgccgcaccc
 601 tgggctggga gtcggaggg cctgggaacg agacctgaga ccttggcttc tcgaaggtag
 661 tagggacttg ggagtggta ctgaacctgg tctggctcct cttacttcc tcttggcgc
 721 ggtggacga gctagcttcc gcctctccca gccactttt cctgctcatt tgcagctagg
 781 ttggctcccc ttttgggaat ttcccttccc cttggcactc ggagttgggg ggtgccaccc
 841 agtggaaagat aacggagcta gggcttcaa gaggctgctg tccctctgg ctgtttggc
 901 ggttagggt ggcatgagag actgcgactc gcctcctcat ccctgtttct gtatgcgagt
 961 gcttgtattc agtagaaagca tacactatac tccctcaatt tagggtaaac aggagggcc
 1021 acatgcacag gtaatttacc agggagccga acactctgtt gcaagacagac tcccccttccc
 1081 agcaagccat ggcageggac agctgttgcgaa gaacacccag gaagcaggcg gtgccagctg
 1141 caggtgtttt gcctgggagc tggggggctg aggagagggt ccactgttca ggaccagtga
 1201 acttcatct tatctgttca ggaggtggcc tcttggggat gctgagtttag gggaggggca
 1261 cttgaggaaa gccaggttga gcagagagga tgtgagttgc tgggtgggtg agatttcctg
 1321 cccctcccccc cgcaactggta tccacaccta gactcggtgg gtaactgagg cacagacaga
 1381 gagcaacttc tcaggccctc acagttggca attctaggat taggacccaa gtgcatttt
 1441 caggcagtcc ctgttccctg tttctgttgc acctgttgc ccattccca gcaactgc
 1501 tcgtgccact agtgatatga acccagggtcc aatacgctt gggccatca aagcctgacg
 1561 tcaccatgac ctgtatgttg acgtgttata ggtgtccctt ggtatcttca cggaactgg
 1621 tccaggaccc caaaatctgt gggtgcctaa gcccctgaga taaaatggtg taatatttgc

10

20

30

40

50

【化3】

1681 atataaccta tacatacattt aaatcatttc tagattactt atacctaata caatggaaat
 1741 gacatgtcggtt ctgggcgtgg tggctcatgc ctgtaatccc accactttgg gaggccgtgg
 1801 caggtggatc acctgagggtc tggagtttga gaccagcctg accaacatgg taaaaccccc
 1861 atctctacta aaaatacataaa aattagccag gtgtggtagc gcacacatata aatccccac
 1921 acttgggagg ctgaggcagg agaatttgctt gaacctggga ggcggagttc gcagtaagct
 1981 gagatcgcc cactgtacta cagcctgggt gacagagcag gactccatct caaaaaaaaa
 2041 agagaaaaaag aaaaagaaaat gccatgtaaa tagttgtat cctgaattgt ttagggaaa
 2101 ataagaaaaga actatctgtt gatgttcagt atagatgcac ccatacgtaag cctaaactaca
 2161 ttgtataact cagcaacatgtt gtaacatttt caggggtttt ttttgtttgt tttttgagac
 2221 agaatctcag tctactctg tcacccaggc tggagtatgt tggcgtgatc tctgctca
 2281 gcaacctcca ctcctgggc tcaagcgatt ctcctgcctc agecttttga gtagctggga
 2341 ttgcagggtgt ggcgttaccac gcatggctaa tttttgtatt ttaatagag atgggggttt
 2401 accacgttgg tcaggctggt cttgaactcc tgacccctggg atccggccac ctggccctcc
 2461 caaagtgcgtt ggattacagg cgtagccac cgccggccat atatttgtat ccctgggttgg
 2521 atatggaggg ctgactgtac ttaacatctc taagcttcag tttcttcctt taaaataaaag
 2581 gtgtggctgg gtgtgggtgt tcaagcctgt aatcccagca ctttagggagg ctgaggtggg
 2641 tggatcagct gaggttcagga gttcaagacc agectgacca atatggtaaa acccccttcc
 2701 tgctaaaaat acaaaaaattt gcccaggctgt gtggcgagcg cctgtgttcc cagctacttg
 2761 cttgaacttg ggaggcagag gttcagtgtt gctgagatcg tgccactgaa ctcgagcatg
 2821 ggcaacagag caagactgtc tcaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaag ggggtgagca gacgtgggtgg
 2881 cacgtccccca cagtccccaggc tacttagtag gaggccaagg ttggaggatt gttgatecc
 2941 aggagtctga gtccagccgtt ggcaacatgg caatacctca tctctaaaaaa taaaataaaa
 3001 gtaaaaggat taattactac tttggatggt ttttgcggaa aatatatataaaaataatgg
 3061 agagtcttgcgtt aactggctcc caagaggctc aacagacatt actgtttttt cttcttcatt
 3121 atgagttacc tctctggcca cccccactgaa ctagctggc tagctgagcc tgggagaaga
 3181 gttgttttagg aagttagggagg ctgtctcca cagagactca aggttcagtt cttctgggt
 3241 actcagatgg gcagcccaagt gggcacacgt ggtctcttc cacatgtggc ttagtttcac
 3301 ttccagaata gatggagagg caagggcagg gtttagcatg cttggagaaat ctcagaggcc
 3361 cctgggtgttgggggaccc tcagaacaca ggtgtctcaa gggctgaccc agttctgt
 3421 tcctttctc tgggtgagga ggggacattt atgggcagat ggtgacccctt ggggaaggca
 3481 gcccagactc cactggccac catatttctt ttttcacaac tttctccaccc ctgtggttt
 3541 ccatgtcatc atgtggccgc ttcccgcaag gccttagogg ggtgcaggta tgaacatagt
 3601 gtcaggcaag gaggcatctg gagggaaacc ctggcttttc ctggggggac tccctccctg
 3661 caccctagcc ctgtcttc ccatggctac ttagtgccttc ccctcaccac agaggtggcc
 3721 cacatctgca cagatcagac ccacaaaaat cacgtttcc ttagtgccttcat aagcctgccc
 3781 agtgaggccc aggcattagg ccatgtgtc gggactcaga cccacacata tacgtcatgt
 3841 agcattcatg cttacagggtc cgcacatgtt gggcaagtg tcacacacgg ggcgtgttag
 3901 gaagctgact ctcagccctt gcagattttt gcctgcctgg acagggaggt gttgagaagg

10

20

30

40

50

【化 4】

3961 ctcagggcagt cctgggccag gaccttggcc tggggctagg gtactgagtg accctagaat
 4021 caaggggtggc gtgggcattaa gcagttgcca gacgttccctt ggtactttgc aggcagacca
 4081 tgtggaccct ggtgagctgg gtggcattaa cagcagggtc ggtggctgga acgcgggtgc
 4141 cagatggtca gttctgcctt gtggcctgtc gcctggaccc cggaggagcc agctacagct
 4201 gctgccgtcc cttctggtg agtgccttc acgcattggca agagctggca gcctgggttt
 4261 tccccaaaggg tcatacttggta ttggccagag gaggacgcca ggcacaagtc tgtggtttat
 4321 cattttccct gtctttcttag gacaaatggc ccacaacact gaggcaggcat ctgggtggcc
 4381 cctgccaggt tgatgcccac tgctctgccc gcacactctg catcttacc gtctcaggga
 4441 cttccagtttgc ctgccttc ccagaggta gcgtgccttc agcccaagtgg aggggcttag
 4501 gtctgcattt atgctttcc tgcactctac cacctgcaga taaaaggcc ctgccaatgc
 4561 aggtttctct gtgttccaca ggcgtggca tgoggggatg gccatcaactg ctgcccacgg
 4621 ggcttccact gcagtgcaga cggcgatcc tgcttccaaa gatcagggtc agctgggtg
 4681 tgggtgcagg gcaggcagac gggcagcatg tggagtctgg aaccaggag cccagctggc
 4741 gggggcagcc ctgattccctg cccttgcgc ctcattcatg tggcatctgt actaagcaac
 4801 agccctgtc tggacagagg ggcagcaactg gggataggag ggtggggag aaagtgcac
 4861 actccaggc caggcggtt ggggtgggg agaggtcgag ctggccgggt ctaataccaa
 4921 cccatggtca gtgggtgccc ctccccatg ccattttgtc gagggaggga ctggattgt
 4981 aggagggtga gtttaggectg cctaggagat cactgagct tagtgtcacc ctcaaacc
 5041 agtagctggg ctgcaggcc ctgggtccac cagctccctt tggatgggg gactcac
 5101 ccctcgatgg gctggatggatggatggatggatggatggatggatggatggatggatggatgg
 5161 ccatccagtgc ccctgtatgt cagttcaat gcccggactt ctccacgtgc tggatggatgg
 5221 tcgatggcgc ctgggggtgc tgcccatgc cccaggatca aatctggggg agatggggg
 5281 atgtggaggg aagtggggc agatggggg gccaggggca ggggtgaag acggagtcag
 5341 gaccatcccc tctcaggctt cctgtgtca agacagggtg cactgtgtc cgcacgtgc
 5401 ctgcgcac cggatccaca cccgcgcac cacacccacg ggcacccaccc cccatggca
 5461 gaagctccct gcccagagga ctaacaggc aggtgaggag gtggagagc atcaggcc
 5521 gggctggggc gggccctcat tgactccaag tggatggaaa agtttccctcc atcctggct
 5581 cccctcacgt ttgtccctt tccagggtggcc ttgtccagct cggtcatgtc tccggac
 5641 cggccccgt gcccgtatgg ttctacccgtc tggatggctgc ccagggtggaa gtatggct
 5701 tgcccaatgc ccaacgcgag tgagggtgc gagccagctt ggctgtgtgc cccacggcc
 5761 ctggccctga cacgcaccctt acagggtgc tggatggcatgg ggctggctgg ctgttgc
 5821 ggaggctggc tgatgcagggtt ttcattgtac ccccttagtgg gggattgggg cagtgc
 5881 catcagccctg gctgtccct gtgtgtact gaggctggaa gtgacaaaga cccacccct
 5941 tccccactca ggcacccctgc tgctccgatc acctgcactg ctgcacccaa gacactgt
 6001 gtgacccatgc ccagatgttgc tgccttcac agggaaacgc taccacggac ctccctca
 6061 agctgcctgc gcacacagggtt accaggaggca ggggtgcagat acagggtgg gggccctt
 6121 cctccctttt aggccctggcc tttaggatcac tgcaagggtgg tgtaagcggtt accctcc
 6181 ttcaacacccctt ggttccagct gtggagccgg caaagggtt atacccctga gggcccc
 40

10

20

30

40

50

【化5】

6241 tgccacttct gacctgtct ctctgcttcc ctcacagtgg gggatgtgaa atgtgacatg
 6301 gaggtgagct gcccgatgg ctatacctgc tgccgtctac agtcggggc ctggggctgc
 6361 tgccctttta cccaggtaacc caggggtggc ggggtgggtgg gctgagcaca gtgtggcagg
 6421 cagccgggcc ccagtccccca cctgccccttc ttcatctgcc ctaggctgtg tgctgtgagg
 6481 accacataca ctgctgtccc gcccccttta cgtgtgacac gcagaagggt acctgtgaac
 6541 agggggccca ccaggtgccc tggatggaga aggccccage tcacctcage ctgccagacc
 6601 cacaagcctt gaagagagat gtccccctgtg ataatgtcag cagctgtccc tcctccgata
 6661 cctgctgcca actcacgtct ggggagtggg gctgctgtcc aatcccagag gtatatggga
 6721 ggggacagca tcttggctg ggcagggtggg tggccaaagct cctattgttt tctgcctcc
 6781 gcatagccccca taggtgatacc ccaagctctga cagattcgcc cccagctggaa ggtgctgtaa
 6841 gcaggagagg cgggctggag taggttagggg ctggcactg cgccccacat agtggctacc
 6901 tacaacgccc tttcctgccc accccccagg ctgtctgtc ctggaccac cagcactgt
 6961 gccccccagg ctacacgtgt gtagctgagg ggcagtgtaa gcgaggaagc gagatcgtgg
 7021 ctggacttggaa gaagatgcct gcccggggg ctcccttatacc cccacccaga gacatcggt
 7081 gtgaccagca caccagctgc ccgggtggggc agacctgtc cccgagccctg ggtggagct
 7141 gggctgtcg ccagttccccca catgtgagtg ctccctgtcc tggccctggaa tagggagct
 7201 aagccccagg aggggacagg aacataatgc cattctgtgc tcccttcccccc gccaggctgt
 7261 gtgctgcgag gatcgccagc actgctgtccc ggctggctac acctgcaacg tgaaggctcg
 7321 atccctgcgag aaggaagtgg tctctgccc gcctgcaccc ttccctggccc gtagccctca
 7381 cgtgggtgtg aaggacgtgg agtgtggggagg agacacttc tgccatgata accagacctg
 7441 ctggcgagac aaccgacagg gctgggcctg ctgtccctac cgccaggtca gtgccaaccc
 7501 ccattctggg gctgggtatg gccaggacc aggtcccacc tcgtccaacc ctctcgcccc
 7561 cctctgacca tccaggcggt ctgttgtct gatcgccgccc actgctgtcc tgctggcttc
 7621 cgctgcgcag ccaggggtac caagtgttttgcgcaggccccgcgtggacccct
 7681 ttgagggacc cacccttgag acagctgtc tgagggacag tactgaagac tctgcagcccc
 7741 tcgggacccc actcgagg tgcctctgc tcaggccctcc ctgcaccccccctaaacca
 7801 aattctccctt ggacccattt ctgagctccc catcaccatg ggaggtgggg cctcaatcta
 7861 aggccttccc tgtcagaagg gggttgtggc aaaagccaca ttacaagctg ccatcccctc
 7921 cccgtttcag tggaccctgt ggcaggtgc tttccctat ccacaggggt gtttgtgtgt
 7981 gtgcgcgtgt gctttcaat aaagttttaa cactttttaa a

10

20

30

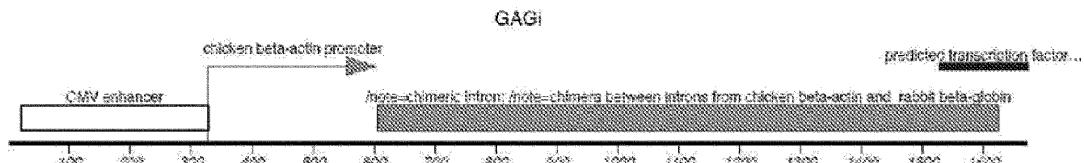
【0197】

[0197] 例示的な C A G プロモーター（配列番号 3）：

40

50

【化6】



Type	Start	End	Description
misc_feature	1	1672	/note=CAG promoter
regulatory	22	327	/note=CMV enhancer
promoter	328	605	/note=chicken beta-actin promoter
intron	607	1624	/note=chimeric intron /note=chimera between introns from chicken beta-actin and rabbit beta-globin
regulatory	1528	1672	/note=predicted transcription factor sites
regulatory	1575	1672	/note=iowa predicted transcription factor binding site

ATAGCCCATATATGGAGTTCCCGTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCTGGCTGACCGCCCCAACGACCCCCGC
 CCATTGACGTCAATAATGACGTATGTCCCAGTAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGTGGAGTA
 TTTACGGTAAACTGCCCACTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCTATTGACGTCAATGACC
 GTAAAATGGCCCGCTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTATGGACTTTCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTA
 GTCATCGCTATTACCATGGTCAGGTGAGCCCCACGTTCTGCTACTCTCCCCATCTCCCCCCCCCTCCCCACCCCC
 AATTGGTATTTATTATTTTAATTATTTGTGCAGCGATGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG
 GGGCGGGGGGGGGCGAGCCGG
 AAAGTTCCCTTATGGCGAGCCGGCGCCGGCGGGCCCTATAAAAGCGAAGCGCGCCGGGGGGGGAGTCGCTG
 CGACGCTGCCCTCGCCCCCTGCCCGCTCCGCCGCCCTCGCCGCCGCCGCCCTCGACTGACCGCGTTACT
 CCCACAGGTGAGCGGGGGGGACGCCCTCTCCCTCCGGCTGTAATTAGCGCTGGTTAATGACGGCTGTTCTT
 TTCTGTGGCTGCGTGAAAGCCTGAGGGCTCCGGGAGGGCCCTTGTGCGGGGGGAGCGCTCGGGGGGTGCGTGC
 GTGTGTGTGCGTGGCGACGCCCGCGTGCCTCCGCCTGCCGGCTGTGACCGCTGCCGGCGCGCGCG
 GCTTGCGCTCCGAGTGTGCGCGAGGGGAGCCGGCGCCGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG
 GGAACAAAGGCTGCGTGCGGGGTGTGCGTGGGGGGGTGAGCAGGGGTGTGGGCGCTCGGTGGCTGCAACCC
 CCCCTGCACCCCCCTCCCCAGTTGCTGAGCACGCCCGCTTCGGGTGCGGGCTCCGTACGGGCGTGGCGCG
 GCTCGCGTGCCTGG
 CGGGGGAGGGGGCGCGGGCCCCCGAGCGCCGGCGTGTGAGGCCGCCAGCCATTGCTTTATGG
 TAATCGTGCAGAGGGCCCAAGGGACTTCTTGTCCCAAATCTGTGCGGAGCCAAATCTGGGAGGCCTGCCGCAC
 CCCCTCTAGCGGGCGCGGGCGAAGCGGTGCGGCCGGCAGGAAGGAATGGCGGGAGGGCTCGTGCCTGCG
 CGCGCCGCCGCTCCCTCTCCCTCTCAGCCTGGGGCTGTCCGGGGGGACGGCTGCCCTGGGGGGACGGG
 AGGGCGGGGGTTCGGCTTCTGGCGTGTGACCGGGCGCTCTAGAGCCTCTGCTAACCATGTTCATGCTTCTT
 CCTACAGCTCTGGCAACGTGCTGGTTATTGTGCTGTCTCATATTGGCAA

【0198】

[0198] 例示的な CMV プロモーター（配列番号 4）：

【化7】

TAGTAATCAATTACGGGTCAATTAGTCATAGCCCATATATGGAGTTCCCGTACATAACTTACGGTAAATGGCCC
 GCCTGGCTGACGCCAACGACCCCCGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTCCCAGTAGAACGCCAATACCGA
 CTTTCCATTGACGTCAATGGTGGAGTATTACGGTAAACTGCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCA
 AGTACGCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCTGGCATTATGCCAGTACATGACCTTATGGACTT
 TCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTATGCGGTTTGGCAGTACATCAATGGC
 GTGGATAGGGTTGACTCACGGGATTTCCAAGTCTCCACCCATTGACGTCAATGGAGTTGGTACGGTACGGT
 AATCAACGGGACTTCCAAAATGTCGTAACAACCTCCGCCCCATTGACGCAAATGGCGGTAGGCGTGTACGGTGG
 GGTCTATATAACGAGCTGGTTAGTGAACCGTCAG

【0199】

実施例 2

10

20

30

40

50

[0199] E L I S A によって測定したように、非注射の同腹仔と比較して、5 E 1 0 v g の A A V 9 . C M V . h G R N . b G H p A の片側注射1カ月後の、G R N ヌルマウスの側方脳室周囲、第三脳室周囲、前頭皮質、線条体、脳幹、脊髄及び肝臓におけるヒトログラニュリン (h G R N) 過剰発現 (図 1)。点線は、E L I S A によって測定されたヒト前頭皮質における正常レベルの h G R N を示す。側方脳室周囲、前頭皮質、及び線条体については、左及び右は脳の半球を示し、全てのマウスは右尾側側脳室に注射された。

【0200】

実施例 3

[0200] E L I S A によって測定したように、非注射の G R N - ヌル全脳 (W B) と比較して、5 E 1 0 v g の A A V 9 . C M V . h G R N . b G H p A の片側注射3カ月後の、G R N ヌルマウスの側方脳室周囲、第三脳室周囲、前頭皮質、線条体、脳幹、及び脊髄における h G R N 過剰発現 (図 2)。点線は、E L I S A によって測定されたヒト前頭皮質における正常レベルの h G R N を示す。側方脳室周囲、前頭皮質、及び線条体については、左及び右は脳の半球を示し、全てのマウスは右尾側側脳室に注射された。

10

20

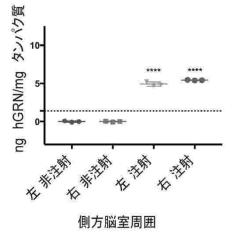
30

40

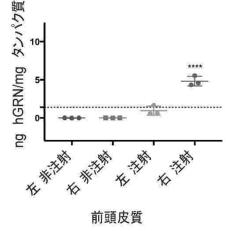
50

【図面】

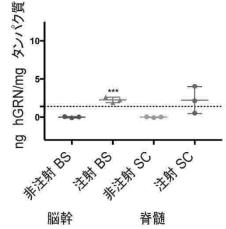
【図1】



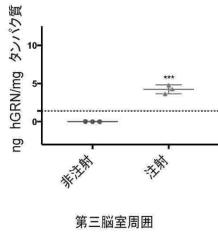
側方脳室周囲



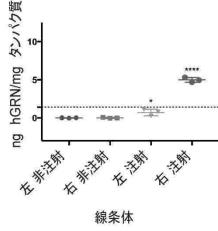
前頭皮質



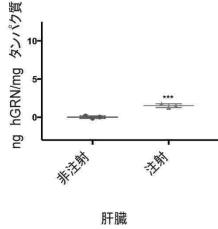
脳幹



第三脳室周囲

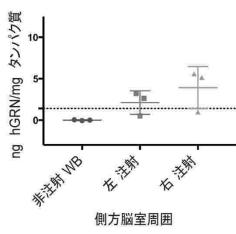


線条体

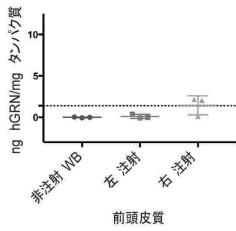


肝臓

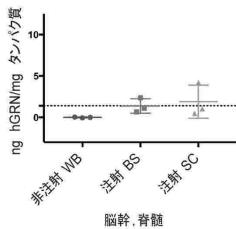
【図2】



側方脳室周囲



第三脳室周囲



線条体

【配列表】

0007436089000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

C 12 N	15/12 (2006.01)	F I	C 12 N	15/12
C 12 N	15/864 (2006.01)		C 12 N	15/864 100Z

早期審理対象出願

(73)特許権者 518311658

チェン プロトキン , アリス
 C H E N P L O T K I N , A l i c e
 アメリカ合衆国 , ペンシルベニア州 , フィラデルフィア , チェスナット ストリート 3160
 , スイート 200

(73)特許権者 518311669

アマード , ディフネ
 A M A D O , D e f n e
 アメリカ合衆国 , ペンシルベニア州 , フィラデルフィア , チェスナット ストリート 3160
 , スイート 200

(73)特許権者 518311670

リーダース , ジュリアン
 R E I D E R S , J u l i a n n e
 アメリカ合衆国 , ペンシルベニア州 , フィラデルフィア , シビック センター ブールバード
 3401

(74)代理人 100107456

弁理士 池田 成人

(74)代理人 100162352

弁理士 酒巻 順一郎

(74)代理人 100123995

弁理士 野田 雅一

(74)代理人 100215957

弁理士 田村 明照

(72)発明者 チェン プロトキン , アリス

アメリカ合衆国 , ペンシルベニア州 , フィラデルフィア , チェスナット ストリート 3160
 , スイート 200

(72)発明者 アマード , ディフネ

アメリカ合衆国 , ペンシルベニア州 , フィラデルフィア , チェスナット ストリート 3160
 , スイート 200

(72)発明者 リーダース , ジュリアン

アメリカ合衆国 , ペンシルベニア州 , フィラデルフィア , シビック センター ブールバード
 3401

(72)発明者 デビッドソン , ビヴァリー エル.

アメリカ合衆国 , ペンシルベニア州 , フィラデルフィア , シビック センター ブールバード
 3401

合議体

審判長 松波 由美子

審判官 斎藤 恵

審判官 富永 みどり

(56)参考文献 特表2009-539847 (JP, A)

Minami, S. S. et al., Programulin protects against amyloid deposition and toxicity in Alzheimer's disease mouse models, Nature medicine, 2014年, Vol. 20, No. 10, p. 1157-1164, doi: 10.1038/nm.3672

Van Kampen J.M. et al., Progranulin gene delivery protects dopaminergic neurons in a mouse model of Parkinson's disease, PLoS One, 2014年, Vol. 9, No. 5, e97032, doi:10.1371/journal.pone.0097032

Gholizadeh, S. et al., Transduction of the central nervous system after intracerebroventricular injection of adeno-associated viral vectors in neonatal and juvenile mice, Human Gene Therapy Methods, 2013年, Vol. 24, No. 4, p. 205-213, doi:10.1089/hgtb.2013.076

Katz, M.L. et al., AAV gene transfer delays disease onset in a TPP1-deficient canine model of the late infantile form of Batten disease, Science Translational Medicine, 2015年, Vol. 7, No. 313, 313ra180, doi:10.1126/scitranslmed.aac6191

Neverman, N.J. et al., Experimental therapies in the neuronal ceroid lipofuscinoses, Biochimica et Biophysica Acta, 2015年, Vol. 1852, p. 2292-2300, doi:10.1016/j.bbadi.2015.04.026

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

A61K48/00

A61K38/00-58

A61K35/00-768

A61K31/00-80

A61K45/00-08

P u b M e d