

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2024-539123
(P2024-539123A)

(43)公表日 令和6年10月28日(2024.10.28)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	45/06 (2006.01)	A 6 1 K	45/06	4 C 0 7 6	
A 6 1 K	35/76 (2015.01)	A 6 1 K	35/76	4 C 0 8 4	
A 6 1 P	25/28 (2006.01)	A 6 1 P	25/28	4 C 0 8 5	
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	48/00	4 C 0 8 6	
A 6 1 K	47/02 (2006.01)	A 6 1 K	47/02	4 C 0 8 7	
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全103頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-523575(P2024-523575)			(71)出願人	504389991
(86)(22)出願日	令和4年10月24日(2022.10.24)				ノバルティス アーゲー
(85)翻訳文提出日	令和6年5月31日(2024.5.31)				スイス国 バーゼル リヒトシュトラッセ
(86)国際出願番号	PCT/IB2022/060189				3 5
(87)国際公開番号	WO2023/073526			(74)代理人	100092783
(87)国際公開日	令和5年5月4日(2023.5.4)				弁理士 小林 浩
(31)優先権主張番号	63/271,487			(74)代理人	100095360
(32)優先日	令和3年10月25日(2021.10.25)				弁理士 片山 英二
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)			(74)代理人	100120134
(81)指定国・地域	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,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く			(74)代理人	弁理士 大森 規雄
				(74)代理人	100178685
					弁理士 田浦 弘達
				(72)発明者	マンズフィールド, キース
					アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0
					2 1 3 9, ケンブリッジ, マサチューセ
					最終頁に続く

(54)【発明の名称】 アデノ随伴ウイルス (A A V) 送達を改善する方法

(57)【要約】

中枢神経系への医薬組成物の送達の改善を必要とする対象の中枢神経系への医薬組成物の送達を改善する方法であって、医薬組成物と組み合わせて、グリンパティック流入を増強させる薬剤を対象に投与することを含む方法が本明細書で提供される。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

中枢神経系への医薬組成物の送達の改善を必要とする対象の中枢神経系への医薬組成物の送達を改善する方法であって、前記医薬組成物と組み合わせて、グリンパティック流入を増強させる薬剤を前記対象に投与することを含む方法。

【請求項 2】

前記薬剤は、前記医薬組成物と同時に又は連続的に投与される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記薬剤は、前記医薬組成物の投与前に投与される、請求項 2 に記載の方法。

10

【請求項 4】

前記薬剤は、前記医薬組成物の投与後に投与される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 5】

前記医薬組成物は、髄腔内（IT）、大槽内（ICM）及び／又は脳室内（ICV）投与によって投与される、請求項 1～4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記薬剤は、静脈内点滴、静脈内注射、吸入、腹腔内、経口、皮下又は筋肉内経路によって投与される、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記薬剤は、血液脳関門内で間質液循環を促進し、例えば、前記薬剤は、アクアポリン 4（AQP4）促進物質、例えば TGN-073 を含む、請求項 1～6 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 8】

前記薬剤は、AQP4 発現を上方制御する化合物（例えば、セボフルラン）又は AQP4 の細胞内局在を変化させる化合物を含む、請求項 1～6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記薬剤は、 α -2 アドレナリン作動性アゴニスト、例えばクロニジン、シザニジン又はデクスメトミジン（例えば、プレセデックス若しくはデクスドミトール）を含む、請求項 1～6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記薬剤は、グリンパティック流入を増強させる 1 つ以上の FDA 承認済みの麻酔薬を含む、請求項 1～6 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 11】

前記麻酔薬は、ケタミン、デクスメトミジン若しくはキシラジン又はそれらの組み合わせである、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記薬剤は、ケタミン及びデクスメトミジンの組み合わせを含む、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 13】

前記対象は、最初にケタミンを投与され、続いて前記医薬組成物を投与され、且つ続いてデクスメトミジンを投与される、請求項 12 に記載の方法。

40

【請求項 14】

ケタミンは、前記医薬組成物の前記投与の約 1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55 又は 60 分前、好ましくは約 10～15 分前に投与される、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

ケタミンは、約 100 mg/kg、約 90 mg/kg、約 80 mg/kg、約 70 mg/kg、約 60 mg/kg、約 50 mg/kg、約 40 mg/kg、約 30 mg/kg、約 20 mg/kg、約 10 mg/kg、約 9 mg/kg、約 8 mg/kg、約 7 mg/kg、約 6 mg/kg、約 5 mg/kg、約 4 mg/kg、約 3 mg/kg、約 2 mg/kg

50

、約 1 mg / kg、好ましくは約 10 mg / kg で投与される、請求項 12 ~ 14 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

デクスメトミジンは、約 1 mg / kg、約 0.9 mg / kg、約 0.8 mg / kg、約 0.7 mg / kg、約 0.6 mg / kg、約 0.5 mg / kg、約 0.4 mg / kg、約 0.3 mg / kg、約 0.2 mg / kg、約 0.1 mg / kg、約 0.09 mg / kg、約 0.08 mg / kg、約 0.07 mg / kg、約 0.06 mg / kg、約 0.05 mg / kg、約 0.04 mg / kg、約 0.03 mg / kg、約 0.02 mg / kg、約 0.01 mg / kg、約 0.009 mg / kg、約 0.008 mg / kg、約 0.007 mg / kg、約 0.006 mg / kg、約 0.005 mg / kg、好ましくは約 0.02 mg / kg で投与される、請求項 12 ~ 14 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 17】

前記対象は、セボルランをさらに投与され、続いてデクスメトミジンを投与される、請求項 12 ~ 16 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

セボルランは、吸入剤として投与される、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記薬剤は、血漿高浸透圧を誘導する、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 20】

前記薬剤は、高張食塩水（例えば、酢酸ナトリウムあり若しくはなしの塩化ナトリウム）又はマンニトールを含む、請求項 19 に記載の方法。

20

【請求項 21】

前記薬剤は、酢酸ナトリウムあり又はなしの高張食塩水を含む、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

前記高張食塩水は、2 % NaCl、3 % NaCl、5 % NaCl、7 % NaCl 又は 23 % NaCl、好ましくは 3 % NaCl である、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 23】

3 % NaCl は、約 2 ~ 3.5 ml / kg で投与される、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 24】

前記薬剤は、前記医薬組成物の投与の約 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20 分前又は後、好ましくは約 5 分前又は後に静脈内又は点滴注射によって投与され、任意選択的に、前記投与は、反復され得る、請求項 19 ~ 23 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 25】

前記薬剤は、徐波睡眠を増加させることによってグリンパティック流入を増強させる、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 26】

前記薬剤は、チアガビン、ガボキサドール、ガバペンチン、プレガバリン、GHB、リタンセリン、エプリバンセリン、ミルタザピン、オランザピン及びトラゾドン又はそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 25 に記載の方法。

40

【請求項 27】

前記薬剤は、VEGF-C を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 28】

前記対象は、前記医薬組成物の前記投与後、約 1 ~ 2 時間にわたり、後肢を高くした体位、例えばトレンデレンブルグ様体位に維持される、請求項 1 ~ 27 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 29】

前記医薬組成物は、ウイルスベクター、抗体、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はナノ粒子を含む、請求項 1 ~ 28 のいずれか一項に記載の方法。

50

【請求項 30】

前記医薬組成物は、アデノ随伴ウイルス（AAV）ウイルスベクターを含む、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

前記 AAV ウイルスベクターは、AAV1、AAV2、AAV2G9、AAV3、AAV3a、AAV3b、AAV3-3、AAV4、AAV4-4、AAV5、AAV6、AAV6.1、AAV6.2、AAV6.1.2、AAV7、AAV7.2、AAV8、AAV9、AAV9.11、AAV9.13、AAV9.16、AAV9.24、AAV9.45、AAV9.47、AAV9.61、AAV9.68、AAV9.84、AAV9.9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV16.3、AAV24.1、AAV27.3、AAV42.12、AAV42-1b、AAV42-2、AAV42-3a、AAV42-3b、AAV42-4、AAV42-5a、AAV42-5b、AAV42-6b、AAV42-8、AAV42-10、AAV42-11、AAV42-12、AAV42-13、AAV42-15、AAV42-aa、AAV43-1、AAV43-12、AAV43-20、AAV43-21、AAV43-23、AAV43-25、AAV43-5、AAV44.1、AAV44.2、AAV44.5、AAV223.1、AAV223.2、AAV223.4、AAV223.5、AAV223.6、AAV223.7、AAV1-7/rh.48、AAV1-8/rh.49、AAV2-15/rh.62、AAV2-3/rh.61、AAV2-4/rh.50、AAV2-5/rh.51、AAV3.1/hu.6、AAV3.1/hu.9、AAV3-9/rh.52、AAV3-11/rh.53、AAV4-8/rh.11.64、AAV4-9/rh.54、AAV4-19/rh.55、AAV5-3/rh.57、AAV5-22/rh.58、AAV7.3/hu.7、AAV16.8/hu.10、AAV16.12/hu.11、AAV29.3/bb.1、AAV29.5/bb.2、AAV106.1/hu.37、AAV114.3/hu.40、AAV127.2/hu.41、AAV127.5/hu.42、AAV128.3/hu.44、AAV130.4/hu.48、AAV145.1/hu.53、AAV145.5/hu.54、AAV145.6/hu.55、AAV161.10/hu.60、AAV161.6/hu.61、AAV33.12/hu.17、AAV33.4/hu.15、AAV33.8/hu.16、AAV52/hu.19、AAV52.1/hu.20、AAV58.2/hu.25、AAV A3.3、AAV A3.4、AAV A3.5、AAV A3.7、AAVC1、AAVC2、AAVC5、AAV-DJ、AAV-DJ8、AAVF3、AAVF5、AAVH2、AAVrh.72、AAVhu.8、AAVrh.68、AAVrh.70、AAVpi.1、AAVpi.3、AAVpi.2、AAVrh.60、AAVrh.44、AAVrh.65、AAVrh.55、AAVrh.47、AAVrh.69、AAVrh.45、AAVrh.59、AAVhu.12、AAVH6、AAVLK03、AAVH-1/hu.1、AAVH-5/hu.3、AAVLG-10/rh.40、AAVLG-4/rh.38、AAVLG-9/hu.39、AAVN721-8/rh.43、AAVCh.5、AAVCh.5R1、AAVcy.2、AAVcy.3、AAVcy.4、AAVcy.5、AAVCy.5R1、AAVCy.5R2、AAVCy.5R3、AAVCy.5R4、AAVcy.6、AAVhu.1、AAVhu.2、AAVhu.3、AAVhu.4、AAVhu.5、AAVhu.6、AAVhu.7、AAVhu.9、AAVhu.10、AAVhu.11、AAVhu.13、AAVhu.15、AAVhu.16、AAVhu.17、AAVhu.18、AAVhu.20、AAVhu.21、AAVhu.22、AAVhu.23.2、AAVhu.24、AAVhu.25、AAVhu.27、AAVhu.28、AAVhu.29、AAVhu.29R、AAVhu.31、AAVhu.32、AAVhu.34、AAVhu.35、AAVhu.37、AAVhu.39、AAVhu.40、AAVhu.41、AAVhu.42、AAVhu.43、AAVhu.44、AAVhu.44R1、AAVhu.44R2、AAVhu.44R3、AAVhu.45、AAVhu.46、AAVhu.47

、AAVhu. 48、AAVhu. 48R1、AAVhu. 48R2、AAVhu. 48R3、AAVhu. 49、AAVhu. 51、AAVhu. 52、AAVhu. 54、AAVhu. 55、AAVhu. 56、AAVhu. 57、AAVhu. 58、AAVhu. 60、AAVhu. 61、AAVhu. 63、AAVhu. 64、AAVhu. 66、AAVhu. 67、AAVhu. 14/9、AAVhu. t 19、AAVrh. 2、AAVrh. 2R、AAVrh. 8、AAVrh. 8R、AAVrh. 10、AAVrh. 12、AAVrh. 13、AAVrh. 13R、AAVrh. 14、AAVrh. 17、AAVrh. 18、AAVrh. 19、AAVrh. 20、AAVrh. 21、AAVrh. 22、AAVrh. 23、AAVrh. 24、AAVrh. 25、AAVrh. 31、AAVrh. 32、AAVrh. 33、AAVrh. 34、AAVrh. 35、AAVrh. 36、AAVrh. 37、AAVrh. 37R2、AAVrh. 38、AAVrh. 39、AAVrh. 40、AAVrh. 46、AAVrh. 48、AAVrh. 48. 1、AAVrh. 48. 1. 2、AAVrh. 48. 2、AAVrh. 49、AAVrh. 51、AAVrh. 52、AAVrh. 53、AAVrh. 54、AAVrh. 56、AAVrh. 57、AAVrh. 58、AAVrh. 61、AAVrh. 64、AAVrh. 64R1、AAVrh. 64R2、AAVrh. 67、AAVrh. 73、AAVrh. 74、AAVrh8R、AAVrh8R A586R突然変異体、AAVrh8R R533A突然変異体、AAAV、BAAV、ヤギAAV、ウシAAV、AAVhE1. 1、AAVhEr1. 5、AAVhEr1. 14、AAVhEr1. 8、AAVhEr1. 16、AAVhEr1. 18、AAVhEr1. 35、AAVhEr1. 7、AAVhEr1. 36、AAVhEr2. 29、AAVhEr2. 4、AAVhEr2. 16、AAVhEr2. 30、AAVhEr2. 31、AAVhEr2. 36、AAVhEr1. 23、AAVhEr3. 1、AAV2. 5T、AAV-PAEC、AAV-LK01、AAV-LK02、AAV-LK03、AAV-LK04、AAV-LK05、AAV-LK06、AAV-LK07、AAV-LK08、AAV-LK09、AAV-LK10、AAV-LK11、AAV-LK12、AAV-LK13、AAV-LK14、AAV-LK15、AAV-LK16、AAV-LK17、AAV-LK18、AAV-LK19、AAV-PAEC2、AAV-PAEC4、AAV-PAEC6、AAV-PAEC7、AAV-PAEC8、AAV-PAEC11、AAV-PAEC12、AAV-2-pre-miRNA-101、AAV-8h、AAV-8b、AAV-h、AAV-b、AAV SM 10-2、AAVシャッフル100-1、AAVシャッフル100-3、AAVシャッフル100-7、AAVシャッフル10-2、AAVシャッフル10-6、AAVシャッフル10-8、AAVシャッフル100-2、AAV SM 10-1、AAV SM 10-8、AAV SM 100-3、AAV SM 100-10、BNP61 AAV、BNP62 AAV、BNP63 AAV、AAVrh. 50、AAVrh. 43、AAVrh. 62、AAVrh. 48、AAVhu. 19、AAVhu. 11、AAVhu. 53、AAV4-8/rh. 64、AAVLG-9/hu. 39、AAV54. 5/hu. 23、AAV54. 2/hu. 22、AAV54. 7/hu. 24、AAV54. 1/hu. 21、AAV54. 4R/hu. 27、AAV46. 2/hu. 28、AAV46. 6/hu. 29、AAV128. 1/hu. 43、トゥルータイプAAV (ttAAV)、UPEN AAV10及び/又はジャパニーズAAV10血清型並びにそれらの変異体由来のキャプシドタンパク質を含む、請求項30に記載の方法。

【請求項32】

前記AAVウイルスベクターは、AAV9由来のキャプシドタンパク質を含む、請求項31に記載の方法。

【請求項33】

前記AAVウイルスベクターは、サバイバルモーターニューロン(SMN)タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む、請求項30～32のいずれか一項に記載の方法。

【請求項34】

前記AAVウイルスベクターは、メチル-CpG結合タンパク質2(MECP2)タン

10

20

30

40

50

パク質をコードするポリヌクレオチドを含む、請求項 30～32 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 35】

前記 AAV ウイルスベクターは、スーパーオキシドジスムターゼ 1 (SOD1) を標的とする低分子ヘアピン型 RNA (shRNA) をコードするポリヌクレオチドを含む、請求項 30～32 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 36】

前記 AAV ウイルスベクターは、2つの ITR (例えば、修飾 AAV2 ITR 及び未修飾 AAV2 ITR)、プロモーター (例えば、ニワトリベータアクチン (CB) プロモーター)、エンハンサー (例えば、サイトメガロウイルス (CMV) 前初期／初期エンハンサー)、イントロ (例えば、修飾 SV40 後期 16s イントロン)、ポリアデニル化シグナル (例えば、ウシ成長ホルモン (BGH) ポリアデニル化シグナル) を含む、請求項 30～35 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 37】

前記医薬組成物は、 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{15}$ 個のウイルスベクターゲノム、例えば 1×10^{12} 、 5×10^{12} 、 1×10^{13} 、 5×10^{13} 、 1×10^{14} 、 5×10^{14} 、 1×10^{15} 個のウイルスベクターゲノムを含む、請求項 30～36 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 38】

前記医薬組成物は、 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{15}$ 個のベクターゲノム／ミリリットル (vg/ml)、例えば 1×10^{12} 、 5×10^{12} 、 1×10^{13} 、 5×10^{13} 、 1×10^{14} 、 5×10^{14} 、 1×10^{15} 個のベクターゲノム／ミリリットル (vg/ml) を含む、請求項 30～36 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 39】

神経学的疾患を処置する方法であって、それを必要とする対象に医薬組成物を投与することを含み、前記医薬組成物は、前記神経学的疾患と関連する遺伝子をコードする AAV を含み、前記医薬組成物の前記投与は、睡眠周期中に CSF 流入と同時にされる、方法。

【請求項 40】

前記医薬組成物は、例えば、脳波 (EEG) モニタリングによって示される、前記対象が入眠するときに投与される、請求項 39 に記載の方法。

【請求項 41】

前記対象は、前記医薬の組み合わせと組み合わせて睡眠促進薬を投与される、請求項 39 又は 40 に記載の方法。

【請求項 42】

前記睡眠促進薬は、チアガビン、ガボキサドール、ガバペンチン、プレガバリン、GHB、リタンセリン、エプリバンセリン、ミルタザピン、オランザピン及びトラゾドン又はそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 41 に記載の方法。

【請求項 43】

脳における神経変性治療剤の形質導入効率及び／又は分布を改善する方法であって、それを必要とする対象において、グリンパティック流入を増強させる第 2 の薬剤と組み合わせて前記神経変性治療剤を投与して、それにより前記対象における前記神経変性治療剤の形質導入効率を改善することを含む方法。

【請求項 44】

前記神経変性治療剤は、CNS を標的とするウイルスベクター、抗体、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はナノ粒子である、請求項 43 に記載の方法。

【請求項 45】

前記第 2 の薬剤は、前記神経変性治療剤と同時に又は連続的に投与される、請求項 43 又は 44 に記載の方法。

【請求項 46】

10

20

30

40

50

前記第2の薬剤は、前記神経変性治療剤の前に投与される、請求項45に記載の方法。

【請求項47】

前記第2の薬剤は、前記神経変性治療剤の後に投与される、請求項45に記載の方法。

【請求項48】

前記神経変性治療剤は、髄腔内（IT）、大槽内（ICM）及び／又はICV投与により、ボーラス、スローボーラス及び／又は埋め込まれた髄腔内若しくは脳室内カテーテルを通した点滴によって投与される、請求項43～47のいずれか一項に記載の方法。

【請求項49】

前記第2の薬剤は、静脈内点滴、静脈内注射及び／又は吸入によって投与される、請求項43～48のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項50】

前記第2の薬剤は、AQP4促進物質、例えばTGN-073を含む、請求項43～49のいずれか一項に記載の方法。

【請求項51】

前記第2の薬剤は、AQP4を上方制御する化合物、例えばセボフルランを含む、請求項43～49のいずれか一項に記載の方法。

【請求項52】

前記第2の薬剤は、 α -2アドレナリン作動性アゴニスト、例えばクロニジン、シザニジン又はデクスメトミジン（例えば、プレセデックス若しくはデクスドミトール）を含む、請求項43～49のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項53】

前記第2の薬剤は、グリンパティック流入を増強させる1つ以上のFDA承認済みの麻酔薬を含む、請求項43～49のいずれか一項に記載の方法。

【請求項54】

前記麻酔薬は、ケタミン、デクスメトミジン若しくはキシラジン又はそれらの組み合わせである、請求項53に記載の方法。

【請求項55】

前記第2の薬剤は、ケタミン及びデクスメトミジンの組み合わせを含む、請求項53に記載の方法。

【請求項56】

ケタミンは、前記神経変性治療剤の前記投与の約1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55又は60分前、好ましくは約10～15分前に投与される、請求項55に記載の方法。

30

【請求項57】

ケタミンは、約100mg/kg、約90mg/kg、約80mg/kg、約70mg/kg、約60mg/kg、約50mg/kg、約40mg/kg、約30mg/kg、約20mg/kg、約10mg/kg、約9mg/kg、約8mg/kg、約7mg/kg、約6mg/kg、約5mg/kg、約4mg/kg、約3mg/kg、約2mg/kg、約1mg/kg、好ましくは約10mg/kgで投与される、請求項54～56のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項58】

デクスメトミジンは、約1mg/kg、約0.9mg/kg、約0.8mg/kg、約0.7mg/kg、約0.6mg/kg、約0.5mg/kg、約0.4mg/kg、約0.3mg/kg、約0.2mg/kg、約0.1mg/kg、約0.09mg/kg、約0.08mg/kg、約0.07mg/kg、約0.06mg/kg、約0.05mg/kg、約0.04mg/kg、約0.03mg/kg、約0.02mg/kg、約0.01mg/kg、約0.009mg/kg、約0.008mg/kg、約0.007mg/kg、約0.006mg/kg、約0.005mg/kg、好ましくは約0.02mg/kgで投与される、請求項54～56のいずれか一項に記載の方法。

【請求項59】

50

前記対象は、セボルランをさらに投与され、続いてデクスメドミジンを投与される、請求項 54～58 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 60】

セボルランは、吸入剤として投与される、請求項 59 に記載の方法。

【請求項 61】

前記第 2 の薬剤は、血漿高浸透圧を誘導する、請求項 43～49 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 62】

前記第 2 の薬剤は、高張食塩水（例えば、酢酸ナトリウムあり若しくはなしの塩化ナトリウム）又はマンニトールを含む、請求項 61 に記載の方法。

【請求項 63】

前記第 2 の薬剤は、酢酸ナトリウムあり又はなしの高張食塩水を含む、請求項 62 に記載の方法。

【請求項 64】

前記高張食塩水は、2% NaCl、3% NaCl、5% NaCl、7% NaCl 又は 23% NaCl、好ましくは 3% NaCl である、請求項 63 に記載の方法。

【請求項 65】

前記 3% NaCl は、約 2～3.5 ml/kg で投与される、請求項 64 に記載の方法。

【請求項 66】

前記薬剤は、前記医薬組成物の投与の約 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20 分前又は後、好ましくは約 5 分前又は後に静脈内又は点滴注射によって投与され、任意選択的に、前記投与は、反復され得る、請求項 61～65 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 67】

前記第 2 の薬剤は、徐波睡眠を増加させることによってグリンパティック流入を増強させる、請求項 43～49 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 68】

前記第 2 の薬剤は、チアガビン、ガボキサドール、ガバペンチン、プレガバリン、GHB、リタンセリン、エプリバンセリン、ミルタザピン、オランザピン及びトラゾドン又はそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 67 に記載の方法。

【請求項 69】

前記第 2 の薬剤は、VEGF-C を含む、請求項 43～49 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 70】

前記対象は、前記医薬組成物の前記投与後、約 1～2 時間にわたり、後肢を高くした体位、例えばトレンデレンブルグ様体位に維持される、請求項 43～69 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 71】

前記神経変性治療剤は、アデノ随伴ウイルス（AAV）ウイルスベクターである、請求項 43～70 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 72】

前記 AAV ウイルスベクターは、AAV1、AAV2、AAV2G9、AAV3、AAV3a、AAV3b、AAV3-3、AAV4、AAV4-4、AAV5、AAV6、AAV6.1、AAV6.2、AAV6.1.2、AAV7、AAV7.2、AAV8、AAV9、AAV9.11、AAV9.13、AAV9.16、AAV9.24、AAV9.45、AAV9.47、AAV9.61、AAV9.68、AAV9.84、AAV9.9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV16.3、AAV24.1、AAV27.3、AAV42.12、AAV42-1b、AAV42-2、AAV42-3a、AAV42-3b、AAV42-4、AAV42-5a、AAV42-5b、AAV42

10

20

30

40

50

- 6 b、AAV 42-8、AAV 42-10、AAV 42-11、AAV 42-12、AAV 42-13、AAV 42-15、AAV 42-aa、AAV 43-1、AAV 43-12、AAV 43-20、AAV 43-21、AAV 43-23、AAV 43-25、AAV 43-5、AAV 44.1、AAV 44.2、AAV 44.5、AAV 223.1、AAV 223.2、AAV 223.4、AAV 223.5、AAV 223.6、AAV 223.7、AAV 1-7/rh.48、AAV 1-8/rh.49、AAV 2-15/rh.62、AAV 2-3/rh.61、AAV 2-4/rh.50、AAV 2-5/rh.51、AAV 3.1/hu.6、AAV 3.1/hu.9、AAV 3-9/rh.52、AAV 3-11/rh.53、AAV 4-8/r.11.64、AAV 4-9/rh.54、AAV 4-19/rh.55、AAV 5-3/rh.57、AAV 5-22/rh.58、AAV 7.3/hu.7、AAV 16.8/hu.10、AAV 16.12/hu.11、AAV 29.3/bb.1、AAV 29.5/bb.2、AAV 106.1/hu.37、AAV 114.3/hu.40、AAV 127.2/hu.41、AAV 127.5/hu.42、AAV 128.3/hu.44、AAV 130.4/hu.48、AAV 145.1/hu.53、AAV 145.5/hu.54、AAV 145.6/hu.55、AAV 161.10/hu.60、AAV 161.6/hu.61、AAV 33.12/hu.17、AAV 33.4/hu.15、AAV 33.8/hu.16、AAV 52/hu.19、AAV 52.1/hu.20、AAV 58.2/hu.25、AAV A3.3、AAV A3.4、AAV A3.5、AAV A3.7、AAV C1、AAV C2、AAV C5、AAV-DJ、AAV-DJ8、AAV F3、AAV F5、AAV H2、AAV rh.72、AAV hu.8、AAV rh.68、AAV rh.70、AAV pi.1、AAV pi.3、AAV pi.2、AAV rh.60、AAV rh.44、AAV rh.65、AAV rh.55、AAV rh.47、AAV rh.69、AAV rh.45、AAV rh.59、AAV hu.12、AAV H6、AAV LK03、AAV H-1/hu.1、AAV H-5/hu.3、AAV LG-10/rh.40、AAV LG-4/rh.38、AAV LG-9/hu.39、AAV N721-8/rh.43、AAV Ch.5、AAV Ch.5R1、AAV cy.2、AAV cy.3、AAV cy.4、AAV cy.5、AAV Cy.5R1、AAV Cy.5R2、AAV Cy.5R3、AAV Cy.5R4、AAV cy.6、AAV hu.1、AAV hu.2、AAV hu.3、AAV hu.4、AAV hu.5、AAV hu.6、AAV hu.7、AAV hu.9、AAV hu.10、AAV hu.11、AAV hu.13、AAV hu.15、AAV hu.16、AAV hu.17、AAV hu.18、AAV hu.20、AAV hu.21、AAV hu.22、AAV hu.23.2、AAV hu.24、AAV hu.25、AAV hu.27、AAV hu.28、AAV hu.29、AAV hu.29R、AAV hu.31、AAV hu.32、AAV hu.34、AAV hu.35、AAV hu.37、AAV hu.39、AAV hu.40、AAV hu.41、AAV hu.42、AAV hu.43、AAV hu.44、AAV hu.44R1、AAV hu.44R2、AAV hu.44R3、AAV hu.45、AAV hu.46、AAV hu.47、AAV hu.48、AAV hu.48R1、AAV hu.48R2、AAV hu.48R3、AAV hu.49、AAV hu.51、AAV hu.52、AAV hu.54、AAV hu.55、AAV hu.56、AAV hu.57、AAV hu.58、AAV hu.60、AAV hu.61、AAV hu.63、AAV hu.64、AAV hu.66、AAV hu.67、AAV hu.14/9、AAV hu.t.19、AAV rh.2、AAV rh.2R、AAV rh.8、AAV rh.8R、AAV rh.10、AAV rh.12、AAV rh.13、AAV rh.13R、AAV rh.14、AAV rh.17、AAV rh.18、AAV rh.19、AAV rh.20、AAV rh.21、AAV rh.22、AAV rh.23、AAV rh.24、AAV rh.25、AAV rh.31、AAV rh.32、AAV rh.33、AAV rh.34、AAV rh.35、AAV rh.36、AAV rh.37、AAV rh.37R2、AAV rh.38、AAV rh.39、AAV rh.40、AAV rh.46、AAV rh.48、AAV rh.48.

1、AAVrh.48.1.2、AAVrh.48.2、AAVrh.49、AAVrh.51、AAVrh.52、AAVrh.53、AAVrh.54、AAVrh.56、AAVrh.57、AAVrh.58、AAVrh.61、AAVrh.64、AAVrh.64R1、AAVrh.64R2、AAVrh.67、AAVrh.73、AAVrh.74、AAVrh8R、AAVrh8R A586R突然変異体、AAVrh8R R533A突然変異体、AAAV、BAAV、ヤギAAV、ウシAAV、AAVhE1.1、AAVhEr1.5、AAVhEr1.14、AAVhEr1.8、AAVhEr1.16、AAVhEr1.18、AAVhEr1.35、AAVhEr1.7、AAVhEr1.36、AAVhEr2.29、AAVhEr2.4、AAVhEr2.16、AAVhEr2.30、AAVhEr2.31、AAVhEr2.36、AAVhEr1.23、AAVhEr3.1、AAV2.5T、AAV-PAEC、AAV-LK01、AAV-LK02、AAV-LK03、AAV-LK04、AAV-LK05、AAV-LK06、AAV-LK07、AAV-LK08、AAV-LK09、AAV-LK10、AAV-LK11、AAV-LK12、AAV-LK13、AAV-LK14、AAV-LK15、AAV-LK16、AAV-LK17、AAV-LK18、AAV-LK19、AAV-PAEC2、AAV-PAEC4、AAV-PAEC6、AAV-PAEC7、AAV-PAEC8、AAV-PAEC11、AAV-PAEC12、AAV-2-pre-miRNA-101、AAV-8h、AAV-8b、AAV-h、AAV-b、AAV SM 10-2、AAVシャッフル100-1、AAVシャッフル100-3、AAVシャッフル100-7、AAVシャッフル10-2、AAVシャッフル10-6、AAVシャッフル10-8、AAVシャッフル100-2、AAV SM 10-1、AAV SM 10-8、AAV SM 100-3、AAV SM 100-10、BNP61 AAV、BNP62 AAV、BNP63 AAV、AAVrh.50、AAVrh.43、AAVrh.62、AAVrh.48、AAVhu.19、AAVhu.11、AAVhu.53、AAV4-8/rh.64、AAV LG-9/hu.39、AAV54.5/hu.23、AAV54.2/hu.22、AAV54.7/hu.24、AAV54.1/hu.21、AAV54.4R/hu.27、AAV46.2/hu.28、AAV46.6/hu.29、AAV128.1/hu.43、トゥルータイプAAV(ttAAV)、UPEN AAV10及び/又はジャパニーズAAV10血清型並びにそれらの変異体由来のキャプシドタンパク質を含む、請求項71に記載の方法。

10

20

30

【請求項73】

前記AAVウイルスベクターは、AAV9由来のキャプシドタンパク質を含む、請求項72に記載の方法。

【請求項74】

前記AAVウイルスベクターは、サバイバルモーターニューロン(SMN)タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む、請求項71~73のいずれか一項に記載の方法。

【請求項75】

前記AAVウイルスベクターは、メチル-CpG結合タンパク質2(MECP2)タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む、請求項71~73のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項76】

前記AAVウイルスベクターは、スーパーオキシドジスムターゼ1(SOD1)を標的とする低分子ヘアピン型RNA(shRNA)をコードするポリヌクレオチドを含む、請求項71~73のいずれか一項に記載の方法。

【請求項77】

前記AAVウイルスベクターは、2つのITR(例えば、修飾AAV2 ITR及び未修飾AAV2 ITR)、プロモーター(例えば、ニワトリベータアクチン(CB)プロモーター)、エンハンサー(例えば、サイトメガロウイルス(CMV)前初期/初期エンハンサー)、イントロ(例えば、修飾SV40後期16sイントロン)、ポリアデニル化シグナル(例えば、ウシ成長ホルモン(BGH)ポリアデニル化シグナル)を含む、請求

50

項 7 1 ～ 7 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 8】

前記医薬組成物は、 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{15}$ 個のウイルスペクターゲノム、例えば 1×10^{12} 、 5×10^{12} 、 1×10^{13} 、 5×10^{13} 、 1×10^{14} 、 5×10^{14} 、 1×10^{15} 個のウイルスペクターゲノムを含む、請求項 7 1 ～ 7 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 9】

前記組成物は、 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{15}$ 個のペクターゲノム／ミリリットル (v g / m l)、例えば 1×10^{12} 、 5×10^{12} 、 1×10^{13} 、 5×10^{13} 、 1×10^{14} 、 5×10^{14} 、 1×10^{15} 個のペクターゲノム／ミリリットル (v g / m l) を含む、請求項 7 1 ～ 7 7 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 8 0】

髄腔内送達される医薬組成物の効果を向上させる方法であって、それを必要とする対象に、グリーンパティック流入を増強させる薬剤と組み合わせて前記医薬組成物を投与することを含む方法。

【請求項 8 1】

前記薬剤は、前記組成物と同時に又は連続的に投与される、請求項 8 0 に記載の方法。

【請求項 8 2】

前記薬剤は、前記組成物の前記投与前に投与される、請求項 8 1 に記載の方法。

【請求項 8 3】

前記薬剤は、前記組成物の前記投与後に投与される、請求項 8 1 に記載の方法。

20

【請求項 8 4】

前記薬剤は、静脈内点滴、静脈内注射及び／又は吸入によって投与される、請求項 8 0 ～ 8 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 5】

前記薬剤は、A Q P 4 促進物質、例えば T G N - 0 7 3 を含む、請求項 8 0 ～ 8 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 6】

前記薬剤は、A Q P 4 を上方制御する化合物、例えばセボフルランを含む、請求項 8 0 ～ 8 4 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 8 7】

前記薬剤は、 $\alpha - 2$ アドレナリン作動性アゴニスト、例えばクロニジン、シザニジン又はデクスedetミジン（例えば、プレセデックス若しくはデクスドミツール）を含む、請求項 8 0 ～ 8 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 8】

前記薬剤は、グリーンパティック流入を増強させる 1 つ以上の F D A 承認済みの麻酔薬を含む、請求項 8 0 ～ 8 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 9】

前記麻酔薬は、ケタミン、デクスedetミジン若しくはキシラジン又はそれらの組み合わせである、請求項 8 8 に記載の方法。

40

【請求項 9 0】

前記薬剤は、ケタミン及びデクスedetミジンの組み合わせを含む、請求項 8 8 に記載の方法。

【請求項 9 1】

前記対象は、最初にケタミンを投与され、続いて前記医薬組成物を投与され、且つ続いてデクスedetミジンを投与される、請求項 9 0 に記載の方法。

【請求項 9 2】

ケタミンは、前記医薬組成物の前記投与の約 1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55 又は 60 分前、好ましくは約 10 ～ 15 分前に投与される、請求項 9 1 に記載の方法。

50

【請求項 93】

ケタミンは、100mg/kg、約90mg/kg、約80mg/kg、約70mg/kg、約60mg/kg、約50mg/kg、約40mg/kg、約30mg/kg、約20mg/kg、約10mg/kg、約9mg/kg、約8mg/kg、約7mg/kg、約6mg/kg、約5mg/kg、約4mg/kg、約3mg/kg、約2mg/kg、約1mg/kg、好ましくは約10mg/kgで投与される、請求項90～92のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 94】

デクスメトミジンは、約1mg/kg、約0.9mg/kg、約0.8mg/kg、約0.7mg/kg、約0.6mg/kg、約0.5mg/kg、約0.4mg/kg、約0.3mg/kg、約0.2mg/kg、約0.1mg/kg、約0.09mg/kg、約0.08mg/kg、約0.07mg/kg、約0.06mg/kg、約0.05mg/kg、約0.04mg/kg、約0.03mg/kg、約0.02mg/kg、約0.01mg/kg、約0.009mg/kg、約0.008mg/kg、約0.007mg/kg、約0.006mg/kg、約0.005mg/kg、好ましくは約0.02mg/kgで投与される、請求項90～92のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 95】

前記対象は、セボルランをさらに投与され、続いてデクスメトミジンを投与される、請求項90～94のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 96】

セボルランは、吸入剤として投与される、請求項95に記載の方法。

【請求項 97】

前記薬剤は、血漿高浸透圧を誘導する、請求項80～85のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 98】

前記薬剤は、高張食塩水又はマンニトールを含む、請求項97に記載の方法。

【請求項 99】

前記薬剤は、高張食塩水を含む、請求項98に記載の方法。

【請求項 100】

前記高張食塩水は、3%NaClである、請求項99に記載の方法。

【請求項 101】

前記3%NaClは、約2～3.5ml/kgで投与される、請求項100に記載の方法。

【請求項 102】

前記薬剤は、前記医薬組成物の投与の約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20分前又は後、好ましくは約5分前又は後に静脈内又は点滴注射によって投与され、任意選択的に、前記投与は、反復され得る、請求項97～101のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 103】

前記薬剤は、徐波睡眠を増加させることによってグリンパティック流入を増強させる、請求項80～85のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 104】

前記薬剤は、チアガビン、ガボキサドール、ガバペンチン、プレガバリン、GHB、リタンセリン、エプリバンセリン、ミルタザピン、オランザピン及びトラゾドン又はそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項103に記載の方法。

【請求項 105】

前記薬剤は、VEGF-Cを含む、請求項80～85のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 106】

前記対象は、前記医薬組成物の前記投与後、約1～2時間にわたり、後肢を高くした体位、例えばトレンデレンブルグ様体位に維持される、請求項80～105のいずれか一項

10

20

30

40

50

に記載の方法。

【請求項 107】

前記医薬組成物は、ウイルスベクター、抗体、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はナノ粒子を含む、請求項 80～106 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 108】

前記医薬組成物は、アデノ随伴ウイルス（AAV）ウイルスベクターを含む、請求項 107 に記載の方法。

【請求項 109】

前記 AAV ウイルスベクターは、AAV1、AAV2、AAV2G9、AAV3、AAV3a、AAV3b、AAV3-3、AAV4、AAV4-4、AAV5、AAV6、AAV6.1、AAV6.2、AAV6.1.2、AAV7、AAV7.2、AAV8、AAV9、AAV9.11、AAV9.13、AAV9.16、AAV9.24、AAV9.45、AAV9.47、AAV9.61、AAV9.68、AAV9.84、AAV9.9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV16.3、AAV24.1、AAV27.3、AAV42.12、AAV42-1b、AAV42-2、AAV42-3a、AAV42-3b、AAV42-4、AAV42-5a、AAV42-5b、AAV42-6b、AAV42-8、AAV42-10、AAV42-11、AAV42-12、AAV42-13、AAV42-15、AAV42-aa、AAV43-1、AAV43-12、AAV43-20、AAV43-21、AAV43-23、AAV43-25、AAV43-5、AAV44.1、AAV44.2、AAV44.5、AAV223.1、AAV223.2、AAV223.4、AAV223.5、AAV223.6、AAV223.7、AAV1-7/rh.48、AAV1-8/rh.49、AAV2-15/rh.62、AAV2-3/rh.61、AAV2-4/rh.50、AAV2-5/rh.51、AAV3.1/hu.6、AAV3.1/hu.9、AAV3-9/rh.52、AAV3-11/rh.53、AAV4-8/rh.11.64、AAV4-9/rh.54、AAV4-19/rh.55、AAV5-3/rh.57、AAV5-22/rh.58、AAV7.3/hu.7、AAV16.8/hu.10、AAV16.12/hu.11、AAV29.3/bb.1、AAV29.5/bb.2、AAV106.1/hu.37、AAV114.3/hu.40、AAV127.2/hu.41、AAV127.5/hu.42、AAV128.3/hu.44、AAV130.4/hu.48、AAV145.1/hu.53、AAV145.5/hu.54、AAV145.6/hu.55、AAV161.10/hu.60、AAV161.6/hu.61、AAV33.12/hu.17、AAV33.4/hu.15、AAV33.8/hu.16、AAV52/hu.19、AAV52.1/hu.20、AAV58.2/hu.25、AAV A3.3、AAV A3.4、AAV A3.5、AAV A3.7、AAVC1、AAVC2、AAVC5、AAV-DJ、AAV-DJ8、AAVF3、AAVF5、AAVH2、AAVrh.72、AAVhu.8、AAVrh.68、AAVrh.70、AAVpi.1、AAVpi.3、AAVpi.2、AAVrh.60、AAVrh.44、AAVrh.65、AAVrh.55、AAVrh.47、AAVrh.69、AAVrh.45、AAVrh.59、AAVhu.12、AAVH6、AAVLK03、AAVH-1/hu.1、AAVH-5/hu.3、AAVLG-10/rh.40、AAVLG-4/rh.38、AAVLG-9/hu.39、AAVN721-8/rh.43、AAVCh.5、AAVCh.5R1、AAVcy.2、AAVcy.3、AAVcy.4、AAVcy.5、AAVCy.5R1、AAVCy.5R2、AAVCy.5R3、AAVCy.5R4、AAVcy.6、AAVhu.1、AAVhu.2、AAVhu.3、AAVhu.4、AAVhu.5、AAVhu.6、AAVhu.7、AAVhu.9、AAVhu.10、AAVhu.11、AAVhu.13、AAVhu.15、AAVhu.16、AAVhu.17、AAVhu.18、AAVhu.20、AAVhu.21、AAVhu.22、AAVhu.23.2、AAVhu.24、AAVhu.25、AAVhu.27、AAVhu.28、AAVhu.29、AAVhu.29

10

20

30

40

50

R、AAVhu. 31、AAVhu. 32、AAVhu. 34、AAVhu. 35、AAVhu. 37、AAVhu. 39、AAVhu. 40、AAVhu. 41、AAVhu. 42、AAVhu. 43、AAVhu. 44、AAVhu. 44R1、AAVhu. 44R2、AAVhu. 44R3、AAVhu. 45、AAVhu. 46、AAVhu. 47、AAVhu. 48、AAVhu. 48R1、AAVhu. 48R2、AAVhu. 48R3、AAVhu. 49、AAVhu. 51、AAVhu. 52、AAVhu. 54、AAVhu. 55、AAVhu. 56、AAVhu. 57、AAVhu. 58、AAVhu. 60、AAVhu. 61、AAVhu. 63、AAVhu. 64、AAVhu. 66、AAVhu. 67、AAVhu. 14/9、AAVhu. t 19、AAVrh. 2、AAVrh. 2R、AAVrh. 8、AAVrh. 8R、AAVrh. 10、AAVrh. 12、AAVrh. 13、AAVrh. 13R、AAVrh. 14、AAVrh. 17、AAVrh. 18、AAVrh. 19、AAVrh. 20、AAVrh. 21、AAVrh. 22、AAVrh. 23、AAVrh. 24、AAVrh. 25、AAVrh. 31、AAVrh. 32、AAVrh. 33、AAVrh. 34、AAVrh. 35、AAVrh. 36、AAVrh. 37、AAVrh. 37R2、AAVrh. 38、AAVrh. 39、AAVrh. 40、AAVrh. 46、AAVrh. 48、AAVrh. 48. 1、AAVrh. 48. 1. 2、AAVrh. 48. 2、AAVrh. 49、AAVrh. 51、AAVrh. 52、AAVrh. 53、AAVrh. 54、AAVrh. 56、AAVrh. 57、AAVrh. 58、AAVrh. 61、AAVrh. 64、AAVrh. 64R1、AAVrh. 64R2、AAVrh. 67、AAVrh. 73、AAVrh. 74、AAVrh8R、AAVrh8R A586R突然変異体、AAVrh8R R533A突然変異体、AAAV、BAAV、ヤギAAV、ウシAAV、AAVhE1. 1、AAVhEr1. 5、AAVhEr1. 14、AAVhEr1. 8、AAVhEr1. 16、AAVhEr1. 18、AAVhEr1. 35、AAVhEr1. 7、AAVhEr1. 36、AAVhEr2. 29、AAVhEr2. 4、AAVhEr2. 16、AAVhEr2. 30、AAVhEr2. 31、AAVhEr2. 36、AAVhEr1. 23、AAVhEr3. 1、AAV2. 5T、AAV-PAEC、AAV-LK01、AAV-LK02、AAV-LK03、AAV-LK04、AAV-LK05、AAV-LK06、AAV-LK07、AAV-LK08、AAV-LK09、AAV-LK10、AAV-LK11、AAV-LK12、AAV-LK13、AAV-LK14、AAV-LK15、AAV-LK16、AAV-LK17、AAV-LK18、AAV-LK19、AAV-PAEC2、AAV-PAEC4、AAV-PAEC6、AAV-PAEC7、AAV-PAEC8、AAV-PAEC11、AAV-PAEC12、AAV-2-pre-miRNA-101、AAV-8h、AAV-8b、AAV-h、AAV-b、AAV SM 10-2、AAVシャッフル100-1、AAVシャッフル100-3、AAVシャッフル100-7、AAVシャッフル10-2、AAVシャッフル10-6、AAVシャッフル10-8、AAVシャッフル100-2、AAV SM 10-1、AAV SM 10-8、AAV SM 100-3、AAV SM 100-10、BNP61 AAV、BNP62 AAV、BNP63 AAV、AAVrh. 50、AAVrh. 43、AAVrh. 62、AAVrh. 48、AAVhu. 19、AAVhu. 11、AAVhu. 53、AAV4-8/rh. 64、AAVLG-9/hu. 39、AAV54. 5/hu. 23、AAV54. 2/hu. 22、AAV54. 7/hu. 24、AAV54. 1/hu. 21、AAV54. 4R/hu. 27、AAV46. 2/hu. 28、AAV46. 6/hu. 29、AAV128. 1/hu. 43、トゥルータイプAAV (ttAAV)、UPEN AAV10及び/又はジャパニーズAAV10血清型並びにそれらの変異体由来のキャプシドタンパク質を含む、請求項108に記載の方法。

【請求項110】

前記AAVウイルスベクターは、AAV9由来のキャプシドタンパク質を含む、請求項109に記載の方法。

【請求項111】

前記 A A V ウイルスベクターは、サバイバルモーターニューロン (S M N) タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む、請求項 1 0 8 ~ 1 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 1 2】

前記 A A V ウイルスベクターは、メチル-C p G 結合タンパク質 2 (M E C P 2) タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む、請求項 1 0 8 ~ 1 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 1 3】

前記 A A V ウイルスベクターは、スーパーオキシドジスムターゼ 1 (S O D 1) を標的とする低分子ヘアピン型 R N A (s h R N A) をコードするポリヌクレオチドを含む、請求項 1 0 8 ~ 1 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 1 1 4】

前記 A A V ウイルスベクターは、2 つの I T R (例えば、修飾 A A V 2 I T R 及び未修飾 A A V 2 I T R)、プロモーター (例えば、ニフトリベータアクチン (C B) プロモーター)、エンハンサー (例えば、サイトメガロウイルス (C M V) 前初期 / 初期エンハンサー)、イントロ (例えば、修飾 S V 4 0 後期 1 6 s イントロン)、ポリアデニル化シグナル (例えば、ウシ成長ホルモン (B G H) ポリアデニル化シグナル) を含む、請求項 1 0 8 ~ 1 1 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 1 5】

前記医薬組成物は、 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{15}$ 個のウイルスベクターゲノム、例えば 1×10^{12} 、 5×10^{12} 、 1×10^{13} 、 5×10^{13} 、 1×10^{14} 、 5×10^{14} 、 1×10^{15} 個のウイルスベクターゲノムを含む、請求項 1 0 8 ~ 1 1 4 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 1 1 6】

前記組成物は、 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{15}$ 個のベクターゲノム / ミリリットル (v g / m l)、例えば 1×10^{12} 、 5×10^{12} 、 1×10^{13} 、 5×10^{13} 、 1×10^{14} 、 5×10^{14} 、 1×10^{15} 個のベクターゲノム / ミリリットル (v g / m l) を含む、請求項 1 0 8 ~ 1 1 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 1 7】

ウイルスベクターを含む医薬組成物で処置された患者集団の間での前記ウイルスベクターの脳分布のばらつきを低減する方法であって、前記医薬組成物と組み合わせて、グリンパティック流入を増強させる薬剤を前記対象に投与することを含む方法。

30

【請求項 1 1 8】

前記薬剤は、前記組成物と同時に又は連続的に投与される、請求項 1 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 1 9】

前記薬剤は、前記組成物の投与前に投与される、請求項 1 1 8 に記載の方法。

【請求項 1 2 0】

前記薬剤は、前記組成物の投与後に投与される、請求項 1 1 8 に記載の方法。

【請求項 1 2 1】

前記医薬組成物は、髄腔内 (I T) 投与及び / 又は大槽内 (I C M) によって投与される、請求項 1 1 7 ~ 1 2 0 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 1 2 2】

前記薬剤は、静脈内点滴、静脈内注射及び / 又は吸入によって投与される、請求項 1 1 7 ~ 1 2 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2 3】

前記薬剤は、A Q P 4 促進物質、例えば T G N - 0 7 3 を含む、請求項 1 1 7 ~ 1 2 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2 4】

前記薬剤は、A Q P 4 を上方制御する化合物、例えばセボフルランを含む、請求項 1 1

50

7～122のいずれか一項に記載の方法。

【請求項125】

前記薬剤は、 α -2アドレナリン作動性アゴニスト、例えばクロニジン、シザニジン又はデクスメトミジン（例えば、プレセデックス若しくはデクスドミトール）を含む、請求項117～122のいずれか一項に記載の方法。

【請求項126】

前記薬剤は、グリーンパティック流入を増強させる1つ以上のFDA承認済みの麻酔薬を含む、請求項117～122のいずれか一項に記載の方法。

【請求項127】

前記麻酔薬は、ケタミン、デクスメトミジン若しくはキシラジン又はそれらの組み合わせである、請求項126に記載の方法。

【請求項128】

前記薬剤は、ケタミン及びデクスメトミジンの組み合わせを含む、請求項126に記載の方法。

【請求項129】

前記対象は、最初にケタミンを投与され、続いて前記医薬組成物を投与され、且つ続いてデクスメトミジンを投与される、請求項128に記載の方法。

【請求項130】

ケタミンは、前記医薬組成物の前記投与の約1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55又は60分前、好ましくは約10～15分前に投与される、請求項129に記載の方法。

【請求項131】

ケタミンは、約100mg/kg、約90mg/kg、約80mg/kg、約70mg/kg、約60mg/kg、約50mg/kg、約40mg/kg、約30mg/kg、約20mg/kg、約10mg/kg、約9mg/kg、約8mg/kg、約7mg/kg、約6mg/kg、約5mg/kg、約4mg/kg、約3mg/kg、約2mg/kg、約1mg/kg、好ましくは約10mg/kgで投与される、請求項128～130のいずれか一項に記載の方法。

【請求項132】

デクスメトミジンは、約1mg/kg、約0.9mg/kg、約0.8mg/kg、約0.7mg/kg、約0.6mg/kg、約0.5mg/kg、約0.4mg/kg、約0.3mg/kg、約0.2mg/kg、約0.1mg/kg、約0.09mg/kg、約0.08mg/kg、約0.07mg/kg、約0.06mg/kg、約0.05mg/kg、約0.04mg/kg、約0.03mg/kg、約0.02mg/kg、約0.01mg/kg、約0.009mg/kg、約0.008mg/kg、約0.007mg/kg、約0.006mg/kg、約0.005mg/kg、好ましくは約0.02mg/kgで投与される、請求項128～130のいずれか一項に記載の方法。

【請求項133】

前記対象は、セボルランをさらに投与され、続いてデクスメトミジンを投与される、請求項128～132のいずれか一項に記載の方法。

【請求項134】

セボルランは、吸入剤として投与される、請求項133に記載の方法。

【請求項135】

前記薬剤は、血漿高浸透圧を誘導する、請求項117～122のいずれか一項に記載の方法。

【請求項136】

前記薬剤は、高張食塩水又はマンニトールを含む、請求項135に記載の方法。

【請求項137】

前記薬剤は、高張食塩水を含む、請求項136に記載の方法。

【請求項138】

10

20

30

40

50

前記高張食塩水は、2 % N a C l、3 % N a C l、5 % N a C l、7 % N a C l又は23 % N a C l、好ましくは3 % N a C lである、請求項137に記載の方法。

【請求項139】

前記3 % N a C lは、約2 ~ 3 . 5 m l / k gで投与される、請求項138に記載の方法。

【請求項140】

前記薬剤は、前記医薬組成物の投与の約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20分前又は後、好ましくは約5分前又は後に静脈内又は点滴注射によって投与され、任意選択的に、前記投与は、反復され得る、請求項135 ~ 139のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項141】

前記薬剤は、徐波睡眠を増加させることによってグリンパティック流入を増強させる、請求項117 ~ 122のいずれか一項に記載の方法。

【請求項142】

前記薬剤は、チアガビン、ガボキサドール、ガバペンチン、プレガバリン、G H B、リタンセリン、エプリバンセリン、ミルタザピン、オランザピン及びトラゾドン又はそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項141に記載の方法。

【請求項143】

前記薬剤は、V E G F - Cを含む、請求項117 ~ 122のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項144】

前記対象は、前記医薬組成物の前記投与後、約1 ~ 2時間にわたり、後肢を高くした体位、例えばトレンデレンブルグ様体位に維持される、請求項117 ~ 143のいずれか一項に記載の方法。

【請求項145】

前記医薬組成物は、アデノ随伴ウイルス (A A V) ウイルスペクターを含む、請求項117 ~ 144のいずれか一項に記載の方法。

【請求項146】

前記A A V ウイルスペクターは、A A V 1、A A V 2、A A V 2 G 9、A A V 3、A A V 3 a、A A V 3 b、A A V 3 - 3、A A V 4、A A V 4 - 4、A A V 5、A A V 6、A A V 6 . 1、A A V 6 . 2、A A V 6 . 1 . 2、A A V 7、A A V 7 . 2、A A V 8、A A V 9、A A V 9 . 11、A A V 9 . 13、A A V 9 . 16、A A V 9 . 24、A A V 9 . 45、A A V 9 . 47、A A V 9 . 61、A A V 9 . 68、A A V 9 . 84、A A V 9 . 9、A A V 10、A A V 11、A A V 12、A A V 16 . 3、A A V 24 . 1、A A V 27 . 3、A A V 42 . 12、A A V 42 - 1 b、A A V 42 - 2、A A V 42 - 3 a、A A V 42 - 3 b、A A V 42 - 4、A A V 42 - 5 a、A A V 42 - 5 b、A A V 42 - 6 b、A A V 42 - 8、A A V 42 - 10、A A V 42 - 11、A A V 42 - 12、A A V 42 - 13、A A V 42 - 15、A A V 42 - a a、A A V 43 - 1、A A V 43 - 12、A A V 43 - 20、A A V 43 - 21、A A V 43 - 23、A A V 43 - 25、A A V 43 - 5、A A V 44 . 1、A A V 44 . 2、A A V 44 . 5、A A V 223 . 1、A A V 223 . 2、A A V 223 . 4、A A V 223 . 5、A A V 223 . 6、A A V 223 . 7、A A V 1 - 7 / r h . 48、A A V 1 - 8 / r h . 49、A A V 2 - 15 / r h . 62、A A V 2 - 3 / r h . 61、A A V 2 - 4 / r h . 50、A A V 2 - 5 / r h . 51、A A V 3 . 1 / h u . 6、A A V 3 . 1 / h u . 9、A A V 3 - 9 / r h . 52、A A V 3 - 11 / r h . 53、A A V 4 - 8 / r h . 64、A A V 4 - 9 / r h . 54、A A V 4 - 19 / r h . 55、A A V 5 - 3 / r h . 57、A A V 5 - 22 / r h . 58、A A V 7 . 3 / h u . 7、A A V 16 . 8 / h u . 10、A A V 16 . 12 / h u . 11、A A V 29 . 3 / b b . 1、A A V 29 . 5 / b b . 2、A A V 106 . 1 / h u . 37、A A V 114 . 3 / h u . 40、A A V 127 . 2 / h u . 41、A A V 127 . 5 / h u . 42、A A V 128 . 3 / h u . 44、A A V 130 . 4 / h u . 48

30

40

50

、AAV145.1/hu.53、AAV145.5/hu.54、AAV145.6/hu.55、AAV161.10/hu.60、AAV161.6/hu.61、AAV33.12/hu.17、AAV33.4/hu.15、AAV33.8/hu.16、AAV52/hu.19、AAV52.1/hu.20、AAV58.2/hu.25、AAV A3.3、AAV A3.4、AAV A3.5、AAV A3.7、AAVC1、AAVC2、AAVC5、AAV-DJ、AAV-DJ8、AAVF3、AAVF5、AAVH2、AAVrh.72、AAVhu.8、AAVrh.68、AAVrh.70、AAVpi.1、AAVpi.3、AAVpi.2、AAVrh.60、AAVrh.44、AAVrh.65、AAVrh.55、AAVrh.47、AAVrh.69、AAVrh.45、AAVrh.59、AAVhu.12、AAVH6、AAVLK03、AAVH-1/hu.1、AAVH-5/hu.3、AAVLG-10/rh.40、AAVLG-4/rh.38、AAVLG-9/hu.39、AAVN721-8/rh.43、AAVCh.5、AAVCh.5R1、AAVcy.2、AAVcy.3、AAVcy.4、AAVcy.5、AAVCy.5R1、AAVCy.5R2、AAVCy.5R3、AAVCy.5R4、AAVcy.6、AAVhu.1、AAVhu.2、AAVhu.3、AAVhu.4、AAVhu.5、AAVhu.6、AAVhu.7、AAVhu.9、AAVhu.10、AAVhu.11、AAVhu.13、AAVhu.15、AAVhu.16、AAVhu.17、AAVhu.18、AAVhu.20、AAVhu.21、AAVhu.22、AAVhu.23.2、AAVhu.24、AAVhu.25、AAVhu.27、AAVhu.28、AAVhu.29、AAVhu.29R、AAVhu.31、AAVhu.32、AAVhu.34、AAVhu.35、AAVhu.37、AAVhu.39、AAVhu.40、AAVhu.41、AAVhu.42、AAVhu.43、AAVhu.44、AAVhu.44R1、AAVhu.44R2、AAVhu.44R3、AAVhu.45、AAVhu.46、AAVhu.47、AAVhu.48、AAVhu.48R1、AAVhu.48R2、AAVhu.48R3、AAVhu.49、AAVhu.51、AAVhu.52、AAVhu.54、AAVhu.55、AAVhu.56、AAVhu.57、AAVhu.58、AAVhu.60、AAVhu.61、AAVhu.63、AAVhu.64、AAVhu.66、AAVhu.67、AAVhu.14/9、AAVhu.t 19、AAVrh.2、AAVrh.2R、AAVrh.8、AAVrh.8R、AAVrh.10、AAVrh.12、AAVrh.13、AAVrh.13R、AAVrh.14、AAVrh.17、AAVrh.18、AAVrh.19、AAVrh.20、AAVrh.21、AAVrh.22、AAVrh.23、AAVrh.24、AAVrh.25、AAVrh.31、AAVrh.32、AAVrh.33、AAVrh.34、AAVrh.35、AAVrh.36、AAVrh.37、AAVrh.37R2、AAVrh.38、AAVrh.39、AAVrh.40、AAVrh.46、AAVrh.48、AAVrh.48.1、AAVrh.48.1.2、AAVrh.48.2、AAVrh.49、AAVrh.51、AAVrh.52、AAVrh.53、AAVrh.54、AAVrh.56、AAVrh.57、AAVrh.58、AAVrh.61、AAVrh.64、AAVrh.64R1、AAVrh.64R2、AAVrh.67、AAVrh.73、AAVrh.74、AAVrh8R、AAVrh8R A586R突然変異体、AAVrh8R R533A突然変異体、AAAV、BAAV、ヤギAAV、ウシAAV、AAVhE1.1、AAVhEr1.5、AAVhER1.14、AAVhEr1.8、AAVhEr1.16、AAVhEr1.18、AAVhEr1.35、AAVhEr1.7、AAVhEr1.36、AAVhEr2.29、AAVhEr2.4、AAVhEr2.16、AAVhEr2.30、AAVhEr2.31、AAVhEr2.36、AAVhER1.23、AAVhEr3.1、AAV2.5T、AAV-PAEC、AAV-LK01、AAV-LK02、AAV-LK03、AAV-LK04、AAV-LK05、AAV-LK06、AAV-LK07、AAV-LK08、AAV-LK09、AAV-LK10、AAV-LK11、AAV-LK12、AAV-LK13、AAV-LK14、AAV-

10

20

30

40

50

L K 1 5、A A V-L K 1 6、A A V-L K 1 7、A A V-L K 1 8、A A V-L K 1 9、A A V-P A E C 2、A A V-P A E C 4、A A V-P A E C 6、A A V-P A E C 7、A A V-P A E C 8、A A V-P A E C 1 1、A A V-P A E C 1 2、A A V-2-p r e-m i R N A-1 0 1、A A V-8 h、A A V-8 b、A A V-h、A A V-b、A A V S M 1 0-2、A A V シャッフル 1 0 0-1、A A V シャッフル 1 0 0-3、A A V シャッフル 1 0 0-7、A A V シャッフル 1 0-2、A A V シャッフル 1 0-6、A A V シャッフル 1 0-8、A A V シャッフル 1 0 0-2、A A V S M 1 0-1、A A V S M 1 0-8、A A V S M 1 0 0-3、A A V S M 1 0 0-1 0、B N P 6 1 A A V、B N P 6 2 A A V、B N P 6 3 A A V、A A V r h. 5 0、A A V r h. 4 3、A A V r h. 6 2、A A V r h. 4 8、A A V h u. 1 9、A A V h u. 1 1、A A V h u. 5 3、A A V 4-8 / r h. 6 4、A A V L G-9 / h u. 3 9、A A V 5 4. 5 / h u. 2 3、A A V 5 4. 2 / h u. 2 2、A A V 5 4. 7 / h u. 2 4、A A V 5 4. 1 / h u. 2 1、A A V 5 4. 4 R / h u. 2 7、A A V 4 6. 2 / h u. 2 8、A A V 4 6. 6 / h u. 2 9、A A V 1 2 8. 1 / h u. 4 3、トゥルータイプ A A V (t t A A V)、U P E N A A V 1 0 及び／又はジャパニーズ A A V 1 0 血清型並びにそれらの変異体由来のキャプシドタンパク質を含む、請求項 1 4 5 に記載の方法。

10

【請求項 1 4 7】

前記 A A V ウイルスベクターは、A A V 9 由来のキャプシドタンパク質を含む、請求項 1 4 6 に記載の方法。

【請求項 1 4 8】

前記 A A V ウイルスベクターは、サバイバルモーターニューロン (S M N) タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む、請求項 1 4 5 ~ 1 4 7 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 1 4 9】

前記 A A V ウイルスベクターは、メチル-C p G 結合タンパク質 2 (M E C P 2) タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む、請求項 1 4 5 ~ 1 4 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5 0】

前記 A A V ウイルスベクターは、スーパーオキシドジスムターゼ 1 (S O D 1) を標的とする低分子ヘアピン型 R N A (s h R N A) をコードするポリヌクレオチドを含む、請求項 1 4 5 ~ 1 4 7 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 1 5 1】

前記 A A V ウイルスベクターは、2 つの I T R (例えば、修飾 A A V 2 I T R 及び未修飾 A A V 2 I T R)、プロモーター (例えば、ニフトリベータアクチン (C B) プロモーター)、エンハンサー (例えば、サイトメガロウイルス (C M V) 前初期／初期エンハンサー)、イントロ (例えば、修飾 S V 4 0 後期 1 6 s イントロン)、ポリアデニル化シグナル (例えば、ウシ成長ホルモン (B G H) ポリアデニル化シグナル) を含む、請求項 1 4 5 ~ 1 4 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5 2】

前記医薬組成物は、 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{15}$ 個のウイルスベクターゲノム、例えば 1×10^{12} 、 5×10^{12} 、 1×10^{13} 、 5×10^{13} 、 1×10^{14} 、 5×10^{14} 、 1×10^{15} 個のウイルスベクターゲノムを含む、請求項 1 4 5 ~ 1 5 1 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 1 5 3】

前記組成物は、 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{15}$ 個のベクターゲノム／ミリリットル (v g / m l)、例えば 1×10^{12} 、 5×10^{12} 、 1×10^{13} 、 5×10^{13} 、 1×10^{14} 、 5×10^{14} 、 1×10^{15} 個のベクターゲノム／ミリリットル (v g / m l) を含む、請求項 1 4 5 ~ 1 5 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5 4】

対象における肝臓及び／又は D R G 毒性を低減させるために、C N S を標的とする医薬

50

組成物の全身曝露の低減を必要とする前記対象の CNS を標的とする医薬組成物の全身曝露を低減させる方法であって、前記医薬組成物と組み合わせて、グリンパティック流入を増強させる薬剤を前記対象に投与することを含む方法。

【請求項 155】

前記薬剤は、前記組成物と同時に又は連続的に投与される、請求項 154 に記載の方法。

【請求項 156】

前記薬剤は、前記組成物の投与前に投与される、請求項 155 に記載の方法。

【請求項 157】

前記薬剤は、前記組成物の投与後に投与される、請求項 155 に記載の方法。

10

【請求項 158】

前記医薬組成物は、髄腔内（IT）投与及び／又は大槽内（ICM）によって投与される、請求項 154～157 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 159】

前記薬剤は、静脈内点滴、静脈内注射及び／又は吸入によって投与される、請求項 154～158 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 160】

前記薬剤は、AQP4 促進物質、例えば TGN-073 を含む、請求項 154～159 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 161】

前記薬剤は、AQP4 を上方制御する化合物、例えばセボフルランを含む、請求項 154～159 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 162】

前記薬剤は、 α -2 アドレナリン作動性アゴニスト、例えばクロニジン、シザニジン又はデクスメトミジン（例えば、プレセデックス若しくはデクスドミトール）を含む、請求項 154～159 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 163】

前記薬剤は、グリンパティック流入を増強させる 1 つ以上の FDA 承認済みの麻酔薬を含む、請求項 154～159 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 164】

前記麻酔薬は、ケタミン、デクスメトミジン若しくはキシラジン又はそれらの組み合わせである、請求項 163 に記載の方法。

30

【請求項 165】

前記薬剤は、ケタミン及びデクスメトミジンの組み合わせを含む、請求項 163 に記載の方法。

【請求項 166】

前記対象は、最初にケタミンを投与され、続いて前記医薬組成物を投与され、且つ続いてデクスメトミジンを投与される、請求項 165 に記載の方法。

【請求項 167】

ケタミンは、前記医薬組成物の前記投与の約 1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55 又は 60 分前、好ましくは約 10～15 分前に投与される、請求項 166 に記載の方法。

40

【請求項 168】

ケタミンは、約 100 mg/kg、約 90 mg/kg、約 80 mg/kg、約 70 mg/kg、約 60 mg/kg、約 50 mg/kg、約 40 mg/kg、約 30 mg/kg、約 20 mg/kg、約 10 mg/kg、約 9 mg/kg、約 8 mg/kg、約 7 mg/kg、約 6 mg/kg、約 5 mg/kg、約 4 mg/kg、約 3 mg/kg、約 2 mg/kg、約 1 mg/kg、好ましくは約 10 mg/kg で投与される、請求項 165～167 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 169】

50

デクスメトミジンは、約 1 mg/kg 、約 0.9 mg/kg 、約 0.8 mg/kg 、約 0.7 mg/kg 、約 0.6 mg/kg 、約 0.5 mg/kg 、約 0.4 mg/kg 、約 0.3 mg/kg 、約 0.2 mg/kg 、約 0.1 mg/kg 、約 0.09 mg/kg 、約 0.08 mg/kg 、約 0.07 mg/kg 、約 0.06 mg/kg 、約 0.05 mg/kg 、約 0.04 mg/kg 、約 0.03 mg/kg 、約 0.02 mg/kg 、約 0.01 mg/kg 、約 0.009 mg/kg 、約 0.008 mg/kg 、約 0.007 mg/kg 、約 0.006 mg/kg 、約 0.005 mg/kg 、好ましくは約 0.02 mg/kg で投与される、請求項 165～167 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 170】

前記対象は、セボルランをさらに投与され、続いてデクスメトミジンを投与される、請求項 165～169 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 171】

セボルランは、吸入剤として投与される、請求項 170 に記載の方法。

【請求項 172】

前記薬剤は、血漿高浸透圧を誘導する、請求項 154～159 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 173】

前記薬剤は、高張食塩水（例えば、酢酸ナトリウムあり若しくはなしの塩化ナトリウム）又はマンニトールを含む、請求項 172 に記載の方法。

【請求項 174】

前記薬剤は、酢酸ナトリウムあり又はなしの高張食塩水を含む、請求項 173 に記載の方法。

20

【請求項 175】

前記高張食塩水は、 $2\% \text{ NaCl}$ 、 $3\% \text{ NaCl}$ 、 $5\% \text{ NaCl}$ 、 $7\% \text{ NaCl}$ 又は $23\% \text{ NaCl}$ 、好ましくは $3\% \text{ NaCl}$ である、請求項 174 に記載の方法。

【請求項 176】

前記 $3\% \text{ NaCl}$ は、約 $2\sim 3.5\text{ ml/kg}$ で投与される、請求項 175 に記載の方法。

【請求項 177】

前記薬剤は、前記医薬組成物の投与の約 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20 分前又は後、好ましくは約 5 分前又は後に静脈内又は点滴注射によって投与され、任意選択的に、前記投与は、反復され得る、請求項 172～176 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 178】

前記薬剤は、徐波睡眠を増加させることによってグリンパティック流入を増強させる、請求項 154～159 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 179】

前記薬剤は、チアガビン、ガボキサドール、ガバペンチン、プレガバリン、GHB、リタンセリン、エプリバンセリン、ミルタザピン、オランザピン及びトラゾドン又はそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 178 に記載の方法。

40

【請求項 180】

前記薬剤は、VEGF-Cを含む、請求項 154～159 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 181】

前記対象は、前記医薬組成物の前記投与後、約 1～2 時間にわたり、後肢を高くした体位、例えばトレンデレンブルグ様体位に維持される、請求項 154～180 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 182】

前記医薬組成物は、ウイルスベクター、抗体、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はナノ粒子を含む、請求項 154～181 のいずれか一項に記載の方法。

50

【請求項 183】

前記医薬組成物は、アデノ随伴ウイルス（AAV）ウイルスベクターを含む、請求項 182 に記載の方法。

【請求項 184】

前記 AAV ウイルスベクターは、AAV1、AAV2、AAV2G9、AAV3、AAV3a、AAV3b、AAV3-3、AAV4、AAV4-4、AAV5、AAV6、AAV6.1、AAV6.2、AAV6.1.2、AAV7、AAV7.2、AAV8、AAV9、AAV9.11、AAV9.13、AAV9.16、AAV9.24、AAV9.45、AAV9.47、AAV9.61、AAV9.68、AAV9.84、AAV9.9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV16.3、AAV24.1、AAV27.3、AAV42.12、AAV42-1b、AAV42-2、AAV42-3a、AAV42-3b、AAV42-4、AAV42-5a、AAV42-5b、AAV42-6b、AAV42-8、AAV42-10、AAV42-11、AAV42-12、AAV42-13、AAV42-15、AAV42-aa、AAV43-1、AAV43-12、AAV43-20、AAV43-21、AAV43-23、AAV43-25、AAV43-5、AAV44.1、AAV44.2、AAV44.5、AAV223.1、AAV223.2、AAV223.4、AAV223.5、AAV223.6、AAV223.7、AAV1-7/rh.48、AAV1-8/rh.49、AAV2-15/rh.62、AAV2-3/rh.61、AAV2-4/rh.50、AAV2-5/rh.51、AAV3.1/hu.6、AAV3.1/hu.9、AAV3-9/rh.52、AAV3-11/rh.53、AAV4-8/rh.11.64、AAV4-9/rh.54、AAV4-19/rh.55、AAV5-3/rh.57、AAV5-22/rh.58、AAV7.3/hu.7、AAV16.8/hu.10、AAV16.12/hu.11、AAV29.3/bb.1、AAV29.5/bb.2、AAV106.1/hu.37、AAV114.3/hu.40、AAV127.2/hu.41、AAV127.5/hu.42、AAV128.3/hu.44、AAV130.4/hu.48、AAV145.1/hu.53、AAV145.5/hu.54、AAV145.6/hu.55、AAV161.10/hu.60、AAV161.6/hu.61、AAV33.12/hu.17、AAV33.4/hu.15、AAV33.8/hu.16、AAV52/hu.19、AAV52.1/hu.20、AAV58.2/hu.25、AAV A3.3、AAV A3.4、AAV A3.5、AAV A3.7、AAVC1、AAVC2、AAVC5、AAV-DJ、AAV-DJ8、AAVF3、AAVF5、AAVH2、AAVrh.72、AAVhu.8、AAVrh.68、AAVrh.70、AAVpi.1、AAVpi.3、AAVpi.2、AAVrh.60、AAVrh.44、AAVrh.65、AAVrh.55、AAVrh.47、AAVrh.69、AAVrh.45、AAVrh.59、AAVhu.12、AAVH6、AAVLK03、AAVH-1/hu.1、AAVH-5/hu.3、AAVLG-10/rh.40、AAVLG-4/rh.38、AAVLG-9/hu.39、AAVN721-8/rh.43、AAVCh.5、AAVCh.5R1、AAVcy.2、AAVcy.3、AAVcy.4、AAVcy.5、AAVCy.5R1、AAVCy.5R2、AAVCy.5R3、AAVCy.5R4、AAVcy.6、AAVhu.1、AAVhu.2、AAVhu.3、AAVhu.4、AAVhu.5、AAVhu.6、AAVhu.7、AAVhu.9、AAVhu.10、AAVhu.11、AAVhu.13、AAVhu.15、AAVhu.16、AAVhu.17、AAVhu.18、AAVhu.20、AAVhu.21、AAVhu.22、AAVhu.23.2、AAVhu.24、AAVhu.25、AAVhu.27、AAVhu.28、AAVhu.29、AAVhu.29R、AAVhu.31、AAVhu.32、AAVhu.34、AAVhu.35、AAVhu.37、AAVhu.39、AAVhu.40、AAVhu.41、AAVhu.42、AAVhu.43、AAVhu.44、AAVhu.44R1、AAVhu.44R2、AAVhu.44R3、AAVhu.45、AAVhu.46、AAVhu.47

10

20

30

40

50

、AAVhu. 48、AAVhu. 48R1、AAVhu. 48R2、AAVhu. 48R3、AAVhu. 49、AAVhu. 51、AAVhu. 52、AAVhu. 54、AAVhu. 55、AAVhu. 56、AAVhu. 57、AAVhu. 58、AAVhu. 60、AAVhu. 61、AAVhu. 63、AAVhu. 64、AAVhu. 66、AAVhu. 67、AAVhu. 14/9、AAVhu. t 19、AAVrh. 2、AAVrh. 2R、AAVrh. 8、AAVrh. 8R、AAVrh. 10、AAVrh. 12、AAVrh. 13、AAVrh. 13R、AAVrh. 14、AAVrh. 17、AAVrh. 18、AAVrh. 19、AAVrh. 20、AAVrh. 21、AAVrh. 22、AAVrh. 23、AAVrh. 24、AAVrh. 25、AAVrh. 31、AAVrh. 32、AAVrh. 33、AAVrh. 34、AAVrh. 35、AAVrh. 36、AAVrh. 37、AAVrh. 37R2、AAVrh. 38、AAVrh. 39、AAVrh. 40、AAVrh. 46、AAVrh. 48、AAVrh. 48. 1、AAVrh. 48. 1. 2、AAVrh. 48. 2、AAVrh. 49、AAVrh. 51、AAVrh. 52、AAVrh. 53、AAVrh. 54、AAVrh. 56、AAVrh. 57、AAVrh. 58、AAVrh. 61、AAVrh. 64、AAVrh. 64R1、AAVrh. 64R2、AAVrh. 67、AAVrh. 73、AAVrh. 74、AAVrh8R、AAVrh8R A586R突然変異体、AAVrh8R R533A突然変異体、AAAV、BAAV、ヤギAAV、ウシAAV、AAVhE1. 1、AAVhEr1. 5、AAVhEr1. 14、AAVhEr1. 8、AAVhEr1. 16、AAVhEr1. 18、AAVhEr1. 35、AAVhEr1. 7、AAVhEr1. 36、AAVhEr2. 29、AAVhEr2. 4、AAVhEr2. 16、AAVhEr2. 30、AAVhEr2. 31、AAVhEr2. 36、AAVhEr1. 23、AAVhEr3. 1、AAV2. 5T、AAV-PAEC、AAV-LK01、AAV-LK02、AAV-LK03、AAV-LK04、AAV-LK05、AAV-LK06、AAV-LK07、AAV-LK08、AAV-LK09、AAV-LK10、AAV-LK11、AAV-LK12、AAV-LK13、AAV-LK14、AAV-LK15、AAV-LK16、AAV-LK17、AAV-LK18、AAV-LK19、AAV-PAEC2、AAV-PAEC4、AAV-PAEC6、AAV-PAEC7、AAV-PAEC8、AAV-PAEC11、AAV-PAEC12、AAV-2-pre-miRNA-101、AAV-8h、AAV-8b、AAV-h、AAV-b、AAV SM 10-2、AAVシャッフル100-1、AAVシャッフル100-3、AAVシャッフル100-7、AAVシャッフル10-2、AAVシャッフル10-6、AAVシャッフル10-8、AAVシャッフル100-2、AAV SM 10-1、AAV SM 10-8、AAV SM 100-3、AAV SM 100-10、BNP61 AAV、BNP62 AAV、BNP63 AAV、AAVrh. 50、AAVrh. 43、AAVrh. 62、AAVrh. 48、AAVhu. 19、AAVhu. 11、AAVhu. 53、AAV4-8/rh. 64、AAVLG-9/hu. 39、AAV54. 5/hu. 23、AAV54. 2/hu. 22、AAV54. 7/hu. 24、AAV54. 1/hu. 21、AAV54. 4R/hu. 27、AAV46. 2/hu. 28、AAV46. 6/hu. 29、AAV128. 1/hu. 43、トゥルータイプAAV (ttAAV)、UPEN AAV10及び/又はジャパニーズAAV10血清型並びにそれらの変異体由来のキャプシドタンパク質を含む、請求項183に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項185】

前記AAVウイルスベクターは、AAV9由来のキャプシドタンパク質を含む、請求項184に記載の方法。

【請求項186】

前記AAVウイルスベクターは、サバイバルモーターニューロン(SMN)タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む、請求項183~185のいずれか一項に記載の方法。

【請求項187】

前記 AAV ウイルスベクターは、メチル-CpG 結合タンパク質 2 (MECP2) タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む、請求項 183~185 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 188】

前記 AAV ウイルスベクターは、スーパーオキシドジスムターゼ 1 (SOD1) を標的とする低分子ヘアピン型 RNA (shRNA) をコードするポリヌクレオチドを含む、請求項 183~185 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 189】

ベクターは、2つの ITR (例えば、修飾 AAV2 ITR 及び未修飾 AAV2 ITR)、プロモーター (例えば、ニワトリベータアクチン (CB) プロモーター)、エンハンサー (例えば、サイトメガロウイルス (CMV) 前初期/初期エンハンサー)、イントロ (例えば、修飾 SV40 後期 16s イントロン)、ポリアデニル化シグナル (例えば、ウシ成長ホルモン (BGH) ポリアデニル化シグナル) を含む、請求項 183~185 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 190】

前記医薬組成物は、 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{15}$ 個のウイルスベクターゲノム、例えば 1×10^{12} 、 5×10^{12} 、 1×10^{13} 、 5×10^{13} 、 1×10^{14} 、 5×10^{14} 、 1×10^{15} 個のウイルスベクターゲノムを含む、請求項 183~189 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 191】

前記組成物は、 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{15}$ 個のベクターゲノム/ミリリットル (vg/ml)、例えば 1×10^{12} 、 5×10^{12} 、 1×10^{13} 、 5×10^{13} 、 1×10^{14} 、 5×10^{14} 、 1×10^{15} 個のベクターゲノム/ミリリットル (vg/ml) を含む、請求項 183~189 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本開示は、グリンパティック流入を調整することにより、組織、例えば中枢神経系を標的とするための医薬組成物の送達を改善することを対象とする。

【背景技術】

【0002】

中枢神経系 (CNS) 疾患を処置するために様々な治療剤が開発されている。しかし、脳への治療剤送達は、ほとんど透過性がない血液脳関門 (BBB) 及び脳への治療剤の浸透不良によって大きく制限される。AAV ベクターは、遺伝学的に判定される多様な疾患を処置するための有望なアプローチとして浮上してきたが、有効性を達成し、不要な毒性を回避するために、特異的な組織及び細胞型への送達並びに特異的な組織及び細胞型における導入遺伝子発現が必要とされる。この過程は、第一に、ベクターへの意図した組織の曝露、続いて意図した標的細胞型に対するベクター指向性を必要とする。中枢神経系の形質導入を必要とする疾患に対して、全身的な血管内投与並びに髄腔内及び脳室内腔への直接注射を含むいくつかの送達経路が十分な組織曝露を達成するために試みられてきた。血管内投与後、ベクターは、血液脳関門を横断しなければならないが、血液脳関門は、多くの AAV 血清型に対して脳実質への曝露を制限すると思われる。髄腔内及び脳室内腔への直接注射は、血液脳関門を迂回するが、ベクターが脳脊髄液から脳実質に分布する機序は、不明のままである。

【0003】

AAV ベクターの髄腔内投与後の分布機序をさらに明らかにするために、カニクイザルにおける非ヒト霊長類研究が行われた。この結果から、脳において AAV 形質導入が低レベルであることが示唆される。CSF と間質腔との間の流体交換を促す血管周囲腔のネットワークであるグリンパティック系は、CSF から実質への薬物送達を増強するために利用され得る。グリンパティックの流れは、睡眠及び徐波睡眠様の状態を誘導する麻酔レジ

10

20

30

40

50

メン中に最大となる。(Lilius TO, et al. Dexmedetomidine enhances glymphatic brain delivery of intrathecally administered drugs. J Control Release. 2019 Jun 28; 304: 29-38)。したがって、グリンパティックの流れを調整することによって脳へのAAV送達を改善することが必要とされている。

【発明の概要】

【0004】

本開示は、グリンパティック流入を調整することにより、中枢神経系などの標的組織への医薬組成物の送達を改善する方法を提供する。グリンパティックは、CSFが、対応する細静脈周囲腔において脳を出る前に間質液と交流し得る血管隣接星状細胞によって形成される動脈周囲腔に沿ってCSFが脳のより深部領域に引き込まれる、最近認識された系である。この系は、流体の動き及び脳実質からの巨大分子の除去において主要な役割を果たすと考えられている。AAVベクターと同等のサイズであるリポタンパク質などのより大きい粒子は、グリンパティック系を通して動く。脳におけるAAV分布パターンは、脳表面及び裏打ちする膜を横断するベクターの拡散が制限され、及びベクター侵入が主にグリンパティック流入を通して起こることと一致していることが発見された。グリンパティック流入を調整することにより、脳へのAAV送達が改善され得ることが予想外にも発見された。グリンパティック流入の増強により、ウイルスベクターを含む医薬組成物で処置された患者の集団の間でのウイルスベクターの脳分布のばらつきも低減され得、且つAAV遺伝子治療に付随する肝臓及び／又はDRG毒性が低減され得る。

【0005】

一態様では、本開示は、中枢神経系への医薬組成物の送達の改善を必要とする対象の中枢神経系への医薬組成物の送達を改善する方法を提供し、この方法は、医薬組成物と組み合わせ、グリンパティック流入を増強させる薬剤を対象に投与することを含む。

【0006】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、医薬組成物と同時に又は連続的に投与される。いくつかの実施形態では、本薬剤は、医薬組成物の投与前に投与される。いくつかの実施形態では、本薬剤は、医薬組成物の投与後に投与される。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、髄腔内(IT)、大槽内(ICM)及び／又は脳室内(ICV)投与によって投与される。いくつかの実施形態では、本薬剤は、静脈内点滴、静脈内注射、吸入、腹腔内、経口、皮下又は筋肉内経路によって投与される。

【0007】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、血液脳関門内での間質液循環を促進し、例えば、この薬剤は、アクアポリン4(AQP4)促進物質、例えばTGN-073を含む。いくつかの実施形態では、本薬剤は、AQP4発現を上方制御する化合物(例えば、セボフルラン)又はAQP4の細胞内局在を変化させる化合物を含む。

【0008】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、 α -2アドレナリン作動性アゴニスト、例えばクロニジン、シザニジン又はデクスメドミジン(例えば、プレセデックス若しくはデクスドミトール)を含む。いくつかの実施形態では、本薬剤は、グリンパティック流入を増強させる1つ以上のFDA承認済みの麻酔薬を含む。いくつかの実施形態では、麻酔薬は、ケタミン、デクスメドミジン若しくはキシラジン又はそれらの組み合わせである。好ましい実施形態では、本薬剤は、ケタミン及びデクスメドミジンの組み合わせを含む。

【0009】

いくつかの実施形態では、対象は、最初にケタミンを投与され、続いて医薬組成物を投与され、且つ続いてデクスメドミジンを投与される。

【0010】

いくつかの実施形態では、対象は、最初にケタミンを投与され、続いて医薬組成物を投与され、続いてデクスメドミジンを投与され、且つ続いてセボフルランを投与される。

【0011】

いくつかの実施形態では、ケタミンは、医薬組成物の投与の約1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55又は60分前、好ましくは約10～15分前に投与される。

【0012】

いくつかの実施形態では、ケタミンは、約100mg/kg、約90mg/kg、約80mg/kg、約70mg/kg、約60mg/kg、約50mg/kg、約40mg/kg、約30mg/kg、約20mg/kg、約10mg/kg、約9mg/kg、約8mg/kg、約7mg/kg、約6mg/kg、約5mg/kg、約4mg/kg、約3mg/kg、約2mg/kg、約1mg/kg、好ましくは約10mg/kgで投与される。

10

【0013】

いくつかの実施形態では、デクスメデトミジンは、約1mg/kg、約0.9mg/kg、約0.8mg/kg、約0.7mg/kg、約0.6mg/kg、約0.5mg/kg、約0.4mg/kg、約0.3mg/kg、約0.2mg/kg、約0.1mg/kg、約0.09mg/kg、約0.08mg/kg、約0.07mg/kg、約0.06mg/kg、約0.05mg/kg、約0.04mg/kg、約0.03mg/kg、約0.02mg/kg、約0.01mg/kg、約0.009mg/kg、約0.008mg/kg、約0.007mg/kg、約0.006mg/kg、約0.005mg/kg、好ましくは約0.02mg/kgで投与される。

20

【0014】

いくつかの実施形態では、対象は、セボルランをさらに投与され、続いてデクスメデトミジンを投与される。

【0015】

いくつかの実施形態では、セボルランは、吸入剤として投与される。

【0016】

いくつかの好ましい実施形態では、対象は、投薬10～15前にケタミン(10mg/kg)を投与され、続いてデクスメデトミジン(0.02mg/kg)を投与される。対象は、次に、ケタミン及びデクスメデトミジンの投与完了後、10～15分間にわたり、後肢を高くした背殿位(トレンデレンブルグ様体位)に維持される。対象は、アチパメゾール(0.2mg/kg IM)をさらに投与され、投薬は、標準時8～10AMで行われる。

30

【0017】

いくつかの好ましい実施形態では、対象は、投薬の10～15分前にケタミン(10mg/kg)を投与され、続いてデクスメデトミジン(0.02mg/kg)を投与され、続いてセボフルラン吸入麻酔を投与される。

【0018】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、血漿高浸透圧を誘導する。いくつかの実施形態では、本薬剤は、高張食塩水(例えば、酢酸ナトリウムあり若しくはなしの塩化ナトリウム)又はマンニトールを含む。好ましい実施形態では、本薬剤は、酢酸ナトリウムあり又はなしの高張食塩水を含む。いくつかの実施形態では、高張食塩水は、2%NaCl、3%NaCl、5%NaCl、7%NaCl又は23%NaCl、好ましくは3%NaClである。いくつかの実施形態では、3%NaClは、約2～3.5ml/kgで投与される。

40

【0019】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、医薬組成物の投与の約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20分前又は後、好ましくは約5分前又は後に静脈内又は点滴注射によって投与され、任意選択的に、この投与は、反復され得る。

【0020】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、徐波睡眠を増加させることによってグリンパティ

50

ック流入を増強させる。いくつかの実施形態では、本薬剤は、チアガビン、ガボキサドール、ガバペンチン、プレガバリン、GHB、リタンセリン、エプリバンセリン、ミルタザピン、オランザピン及びトラゾドン又はそれらの組み合わせからなる群から選択される。

【0021】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、VEGF、例えばVEGF-Cを含む。いくつかの実施形態では、VEGF-Cは、(i)表1で提供される配列のいずれか1つのアミノ酸配列又はそれと少なくとも95%配列同一性がある配列（任意選択的に、この配列は、リンカー（例えば、グリシン-セリンリンカー）及び／又はhisタグを含むか又は含まない）；及び／又は(ii)配列番号1に従って付番されるC137Aのアミノ酸置換を含む。

10

【0022】

いくつかの実施形態では、対象は、医薬組成物の投与後、約1～2時間にわたり、後肢を高くした体位、例えばトレンデレンブルグ様体位に維持される。

【0023】

いくつかの実施形態では、医薬組成物は、ウイルスベクター、抗体、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はナノ粒子を含む。

【0024】

いくつかの実施形態では、医薬組成物は、アデノ随伴ウイルス(AAV)ウイルスベクターを含む。

【0025】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、AAV1、AAV2、AAV2G9、AAV3、AAV3a、AAV3b、AAV3-3、AAV4、AAV4-4、AAV5、AAV6、AAV6.1、AAV6.2、AAV6.1.2、AAV7、AAV7.2、AAV8、AAV9、AAV9.11、AAV9.13、AAV9.16、AAV9.24、AAV9.45、AAV9.47、AAV9.61、AAV9.68、AAV9.84、AAV9.9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV16.3、AAV24.1、AAV27.3、AAV42.12、AAV42-1b、AAV42-2、AAV42-3a、AAV42-3b、AAV42-4、AAV42-5a、AAV42-5b、AAV42-6b、AAV42-8、AAV42-10、AAV42-11、AAV42-12、AAV42-13、AAV42-15、AAV42-a、AAV43-1、AAV43-12、AAV43-20、AAV43-21、AAV43-23、AAV43-25、AAV43-5、AAV44.1、AAV44.2、AAV44.5、AAV223.1、AAV223.2、AAV223.4、AAV223.5、AAV223.6、AAV223.7、AAV1-7/rh.48、AAV1-8/rh.49、AAV2-15/rh.62、AAV2-3/rh.61、AAV2-4/rh.50、AAV2-5/rh.51、AAV3.1/hu.6、AAV3.1/hu.9、AAV3-9/rh.52、AAV3-11/rh.53、AAV4-8/rh.11.64、AAV4-9/rh.54、AAV4-19/rh.55、AAV5-3/rh.57、AAV5-22/rh.58、AAV7.3/hu.7、AAV16.8/hu.10、AAV16.12/hu.11、AAV29.3/bb.1、AAV29.5/bb.2、AAV106.1/hu.37、AAV114.3/hu.40、AAV127.2/hu.41、AAV127.5/hu.42、AAV128.3/hu.44、AAV130.4/hu.48、AAV145.1/hu.53、AAV145.5/hu.54、AAV145.6/hu.55、AAV161.10/hu.60、AAV161.6/hu.61、AAV33.12/hu.17、AAV33.4/hu.15、AAV33.8/hu.16、AAV52/hu.19、AAV52.1/hu.20、AAV58.2/hu.25、AAV A3.3、AAV A3.4、AAV A3.5、AAV A3.7、AAVC1、AAVC2、AAVC5、AAV-DJ、AAV-DJ8、AAVF3、AAVF5、AAVH2、AAVrh.72、AAVhu.8、AAVrh.68、AAVrh.70、AAVpi.1、AAVpi.3、AAVpi.2、AAVrh

20

30

40

50

. 60、AAVrh. 44、AAVrh. 65、AAVrh. 55、AAVrh. 47、
AAVrh. 69、AAVrh. 45、AAVrh. 59、AAVhu. 12、AAVH
6、AAVLK03、AAVH-1/hu. 1、AAVH-5/hu. 3、AAVLG-
10/rh. 40、AAVLG-4/rh. 38、AAVLG-9/hu. 39、AAV
N721-8/rh. 43、AAVCh. 5、AAVCh. 5R1、AAVcy. 2、A
AVcy. 3、AAVcy. 4、AAVcy. 5、AAVCy. 5R1、AAVCy. 5
R2、AAVCy. 5R3、AAVCy. 5R4、AAVcy. 6、AAVhu. 1、A
AVhu. 2、AAVhu. 3、AAVhu. 4、AAVhu. 5、AAVhu. 6、A
AVhu. 7、AAVhu. 9、AAVhu. 10、AAVhu. 11、AAVhu. 1
3、AAVhu. 15、AAVhu. 16、AAVhu. 17、AAVhu. 18、AA
Vhu. 20、AAVhu. 21、AAVhu. 22、AAVhu. 23. 2、AAVh
u. 24、AAVhu. 25、AAVhu. 27、AAVhu. 28、AAVhu. 29
、AAVhu. 29R、AAVhu. 31、AAVhu. 32、AAVhu. 34、AA
Vhu. 35、AAVhu. 37、AAVhu. 39、AAVhu. 40、AAVhu.
41、AAVhu. 42、AAVhu. 43、AAVhu. 44、AAVhu. 44R1
、AAVhu. 44R2、AAVhu. 44R3、AAVhu. 45、AAVhu. 46
、AAVhu. 47、AAVhu. 48、AAVhu. 48R1、AAVhu. 48R2
、AAVhu. 48R3、AAVhu. 49、AAVhu. 51、AAVhu. 52、A
AVhu. 54、AAVhu. 55、AAVhu. 56、AAVhu. 57、AAVhu
. 58、AAVhu. 60、AAVhu. 61、AAVhu. 63、AAVhu. 64、
AAVhu. 66、AAVhu. 67、AAVhu. 14/9、AAVhu. t 19、
AAVrh. 2、AAVrh. 2R、AAVrh. 8、AAVrh. 8R、AAVrh.
10、AAVrh. 12、AAVrh. 13、AAVrh. 13R、AAVrh. 14、
AAVrh. 17、AAVrh. 18、AAVrh. 19、AAVrh. 20、AAVr
h. 21、AAVrh. 22、AAVrh. 23、AAVrh. 24、AAVrh. 25
、AAVrh. 31、AAVrh. 32、AAVrh. 33、AAVrh. 34、AAV
rh. 35、AAVrh. 36、AAVrh. 37、AAVrh. 37R2、AAVrh
. 38、AAVrh. 39、AAVrh. 40、AAVrh. 46、AAVrh. 48、
AAVrh. 48. 1、AAVrh. 48. 1. 2、AAVrh. 48. 2、AAVrh
. 49、AAVrh. 51、AAVrh. 52、AAVrh. 53、AAVrh. 54、
AAVrh. 56、AAVrh. 57、AAVrh. 58、AAVrh. 61、AAVr
h. 64、AAVrh. 64R1、AAVrh. 64R2、AAVrh. 67、AAVr
h. 73、AAVrh. 74、AAVrh8R、AAVrh8R A586R突然変異体
、AAVrh8R R533A突然変異体、AAAV、BAAV、ヤギAAV、ウシAA
V、AAVhE1. 1、AAVhEr1. 5、AAVhER1. 14、AAVhEr1.
8、AAVhEr1. 16、AAVhEr1. 18、AAVhEr1. 35、AAVhE
r1. 7、AAVhEr1. 36、AAVhEr2. 29、AAVhEr2. 4、AAV
hEr2. 16、AAVhEr2. 30、AAVhEr2. 31、AAVhEr2. 36
、AAVhER1. 23、AAVhEr3. 1、AAV2. 5T、AAV-PAEC、A
AV-LK01、AAV-LK02、AAV-LK03、AAV-LK04、AAV-L
K05、AAV-LK06、AAV-LK07、AAV-LK08、AAV-LK09、
AAV-LK10、AAV-LK11、AAV-LK12、AAV-LK13、AAV-L
K14、AAV-LK15、AAV-LK16、AAV-LK17、AAV-LK18
、AAV-LK19、AAV-PAEC2、AAV-PAEC4、AAV-PAEC6、
AAV-PAEC7、AAV-PAEC8、AAV-PAEC11、AAV-PAEC1
2、AAV-2-pre-miRNA-101、AAV-8h、AAV-8b、AAV-
h、AAV-b、AAV SM 10-2、AAVシャッフル100-1、AAVシャッ
フル100-3、AAVシャッフル100-7、AAVシャッフル10-2、AAVシャ
ッフル10-6、AAVシャッフル10-8、AAVシャッフル100-2、AAV S
M 10-1、AAV SM 10-8、AAV SM 100-3、AAV SM 10

10

20

30

40

50

0-10、BNP61 AAV、BNP62 AAV、BNP63 AAV、AAVrh.50、AAVrh.43、AAVrh.62、AAVrh.48、AAVhu.19、AAVhu.11、AAVhu.53、AAV4-8/rh.64、AAVLG-9/hu.39、AAV54.5/hu.23、AAV54.2/hu.22、AAV54.7/hu.24、AAV54.1/hu.21、AAV54.4R/hu.27、AAV46.2/hu.28、AAV46.6/hu.29、AAV128.1/hu.43、トウルタイプAAV (ttAAV)、UPEN AAV10及び又はジャパニーズAAV10血清型並びにそれらの変異体由来のキャプシドタンパク質を含む。

【0026】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、AAV9由来のキャプシドタンパク質を含む。

10

【0027】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、サバイバルモーターニューロン (SMN) タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む。

【0028】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、メチル-CpG結合タンパク質2 (MECP2) タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む。

【0029】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、スーパーオキシドジスムターゼ1 (SOD1) を標的とする低分子ヘアピン型RNA (shRNA) をコードするポリヌクレオチドを含む。

20

【0030】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、2つのITR (例えば、修飾AAV2 ITR及び未修飾AAV2 ITR)、プロモーター (例えば、ニワトリベータアクチン (CB) プロモーター)、エンハンサー (例えば、サイトメガロウイルス (CMV) 前初期/初期エンハンサー)、イントロ (例えば、修飾SV40後期16sイントロン)、ポリアデニル化シグナル (例えば、ウシ成長ホルモン (BGH) ポリアデニル化シグナル) を含む。

【0031】

いくつかの実施形態では、医薬組成物は、 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{15}$ 個のウイルスベクターゲノム、例えば 1×10^{12} 、 5×10^{12} 、 1×10^{13} 、 5×10^{13} 、 1×10^{14} 、 5×10^{14} 、 1×10^{15} 個のウイルスベクターゲノムを含む。

30

【0032】

いくつかの実施形態では、組成物は、 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{15}$ 個のベクターゲノム/ミリリットル (vg/ml)、例えば 1×10^{12} 、 5×10^{12} 、 1×10^{13} 、 5×10^{13} 、 1×10^{14} 、 5×10^{14} 、 1×10^{15} 個のベクターゲノム/ミリリットル (vg/ml) を含む。

【0033】

別の態様では、本開示は、神経学的疾患の処置を必要とする対象に、先行する実施形態のいずれか1つに従う医薬組成物を投与することを含む、神経学的疾患を処置する方法を提供し、この医薬組成物は、神経学的疾患に関連する遺伝子をコードするAAVを含み、この医薬組成物の投与は、睡眠周期中にCSF流入と同時にされる。

40

【0034】

いくつかの実施形態では、医薬組成物は、例えば、脳波 (EEG) モニタリングによって示される、対象が入眠するときに投与される。

【0035】

いくつかの実施形態では、対象は、医薬の組み合わせと組み合わせて睡眠促進薬を投与される。

【0036】

いくつかの実施形態では、睡眠促進薬は、チアガビン、ガボキサドール、ガバペンチン

50

、プレガバリン、GHB、リタンセリン、エプリバンセリン、ミルタザピン、オランザピン及びトラゾドン又はそれらの組み合わせからなる群から選択される。

【0037】

別の態様では、本開示は、脳への神経変性治療剤の形質導入効率及び／又は分布を改善する方法を提供し、この方法は、グリンパティック流入を増強させる第2の薬剤と組み合わせて、それを必要とする対象において神経変性治療剤を投与して、それにより対象における神経変性治療剤の形質導入効率を改善することを含む。

【0038】

いくつかの実施形態では、神経変性治療剤は、ウイルスベクター、抗体、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はCNSを標的とするナノ粒子である。

【0039】

いくつかの実施形態では、第2の薬剤は、神経変性治療剤と同時に又は連続的に投与される。いくつかの実施形態では、第2の薬剤は、神経変性治療剤の前に投与される。いくつかの実施形態では、第2の薬剤は、神経変性治療剤の後に投与される。

【0040】

いくつかの実施形態では、神経変性治療剤は、髄腔内(IT)、大槽内(ICM)及び／又はICV投与により、ボラス、スローボラス及び／又は埋め込まれた髄腔内若しくは脳室内カテーテルを通じた点滴によって投与される。

【0041】

いくつかの実施形態では、第2の薬剤は、静脈内点滴、静脈内注射及び／又は吸入によって投与される。

【0042】

いくつかの実施形態では、第2の薬剤は、AQP4促進物質、例えばTGN-073を含む。いくつかの実施形態では、第2の薬剤は、AQP4を上方制御する化合物、例えばセボフルランを含む。

【0043】

いくつかの実施形態では、第2の薬剤は、 α -2アドレナリン作動性アゴニスト、例えばクロニジン、シザニジン又はデクスメドミジン(例えば、プレセデックス若しくはデクスドミトル)を含む。

【0044】

いくつかの実施形態では、第2の薬剤は、グリンパティック流入を増強させる1つ以上のFDA承認済みの麻酔薬を含む。いくつかの実施形態では、麻酔薬は、ケタミン、デクスメドミジン若しくはキシラジン又はそれらの組み合わせである。

【0045】

好ましい実施形態では、第2の薬剤は、ケタミン及びデクスメドミジンの組み合わせを含む。

【0046】

いくつかの実施形態では、ケタミンは、神経変性治療剤の投与の約1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55又は60分前、好ましくは約10～15分前に投与される。

【0047】

いくつかの実施形態では、ケタミンは、約100mg/kg、約90mg/kg、約80mg/kg、約70mg/kg、約60mg/kg、約50mg/kg、約40mg/kg、約30mg/kg、約20mg/kg、約10mg/kg、約9mg/kg、約8mg/kg、約7mg/kg、約6mg/kg、約5mg/kg、約4mg/kg、約3mg/kg、約2mg/kg、約1mg/kg、好ましくは約10mg/kgで投与される。

【0048】

いくつかの実施形態では、デクスメドミジンは、約1mg/kg、約0.9mg/kg、約0.8mg/kg、約0.7mg/kg、約0.6mg/kg、約0.5mg/kg

10

20

30

40

50

、約 0.4 mg/kg、約 0.3 mg/kg、約 0.2 mg/kg、約 0.1 mg/kg、約 0.09 mg/kg、約 0.08 mg/kg、約 0.07 mg/kg、約 0.06 mg/kg、約 0.05 mg/kg、約 0.04 mg/kg、約 0.03 mg/kg、約 0.02 mg/kg、約 0.01 mg/kg、約 0.009 mg/kg、約 0.008 mg/kg、約 0.007 mg/kg、約 0.006 mg/kg、約 0.005 mg/kg、好ましくは約 0.02 mg/kg で投与される。

【0049】

いくつかの実施形態では、対象は、セボルランをさらに投与され、続いてデクスメドミジンを投与される。いくつかの実施形態では、セボルランは、吸入剤として投与される。

10

【0050】

いくつかの好ましい実施形態では、対象は、投薬の 10～15 分前にケタミン (10 mg/kg) を投与され、続いてデクスメドミジン (0.02 mg/kg) を投与される。対象は、次に、ケタミン及びデクスメドミジンの投与完了後、10～15 分間にわたり、後肢を高くした背殿位 (トレンデレンブルグ様体位) に維持される。対象は、アチパメゾール (0.2 mg/kg IM) をさらに投与され、投薬は、標準時 8～10 AM に行われる。

【0051】

いくつかの好ましい実施形態では、対象は、投薬の 10～15 分前にケタミン (10 mg/kg) を投与され、続いてデクスメドミジン (0.02 mg/kg) を投与され、続いてセボフルラン吸入麻酔を投与される。

20

【0052】

いくつかの実施形態では、第 2 の薬剤は、血漿高浸透圧を誘導する。いくつかの実施形態では、第 2 の薬剤は、高張食塩水 (例えば、酢酸ナトリウムあり若しくはなしの塩化ナトリウム) 又はマンニトールを含む。いくつかの実施形態では、第 2 の薬剤は、酢酸ナトリウムあり又はなしの高張食塩水を含む。いくつかの実施形態では、高張食塩水は、2% NaCl、3% NaCl、5% NaCl、7% NaCl 又は 23% NaCl、好ましくは 3% NaCl である。いくつかの実施形態では、3% NaCl は、約 2～3.5 ml/kg で投与される。

【0053】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、医薬組成物の投与の約 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20 分前又は後、好ましくは約 5 分前又は後に静脈内又は点滴注射によって投与され、任意選択的に、この投与は、反復され得る。

30

【0054】

いくつかの実施形態では、第 2 の薬剤は、徐波睡眠を増加させることによってグリンパティック流入を増強させる。いくつかの実施形態では、第 2 の薬剤は、チアガピン、ガボキサドール、ガバペンチン、プレガバリン、GHB、リタンセリン、エプリバンセリン、ミルタザピン、オランザピン及びトラゾドン又はそれらの組み合わせからなる群から選択される。

【0055】

いくつかの実施形態では、第 2 の薬剤は、VEGF、例えば VEGF-C を含む。いくつかの実施形態では、VEGF-C は、(i) 表 1 で提供される配列のいずれか 1 つのアミノ酸配列又はそれと少なくとも 95% 配列同一性がある配列 (任意選択的に、この配列は、リンカー (例えば、グリシン-セリンリンカー) 及び/又は his タグを含むか又は含まない) ; 及び/又は (ii) 配列番号 1 に従って付番される C137A のアミノ酸置換を含む。

40

【0056】

いくつかの実施形態では、対象は、医薬組成物の投与後、約 1～2 時間にわたり、後肢を高くした体位、例えばトレンデレンブルグ様体位に維持される。

【0057】

50

いくつかの実施形態では、神経変性治療剤は、アデノ随伴ウイルス（AAV）ウイルスベクターである。

【0058】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、AAV1、AAV2、AAV2 G9、AAV3、AAV3a、AAV3b、AAV3-3、AAV4、AAV4-4、AAV5、AAV6、AAV6.1、AAV6.2、AAV6.1.2、AAV7、AAV7.2、AAV8、AAV9、AAV9.11、AAV9.13、AAV9.16、AAV9.24、AAV9.45、AAV9.47、AAV9.61、AAV9.68、AAV9.84、AAV9.9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV16.3、AAV24.1、AAV27.3、AAV42.12、AAV42-1b、AAV42-2、AAV42-3a、AAV42-3b、AAV42-4、AAV42-5a、AAV42-5b、AAV42-6b、AAV42-8、AAV42-10、AAV42-11、AAV42-12、AAV42-13、AAV42-15、AAV42-aa、AAV43-1、AAV43-12、AAV43-20、AAV43-21、AAV43-23、AAV43-25、AAV43-5、AAV44.1、AAV44.2、AAV44.5、AAV223.1、AAV223.2、AAV223.4、AAV223.5、AAV223.6、AAV223.7、AAV1-7/rh.48、AAV1-8/rh.49、AAV2-15/rh.62、AAV2-3/rh.61、AAV2-4/rh.50、AAV2-5/rh.51、AAV3.1/hu.6、AAV3.1/hu.9、AAV3-9/rh.52、AAV3-11/rh.53、AAV4-8/rh.11.64、AAV4-9/rh.54、AAV4-19/rh.55、AAV5-3/rh.57、AAV5-22/rh.58、AAV7.3/hu.7、AAV16.8/hu.10、AAV16.12/hu.11、AAV29.3/bb.1、AAV29.5/bb.2、AAV106.1/hu.37、AAV114.3/hu.40、AAV127.2/hu.41、AAV127.5/hu.42、AAV128.3/hu.44、AAV130.4/hu.48、AAV145.1/hu.53、AAV145.5/hu.54、AAV145.6/hu.55、AAV161.10/hu.60、AAV161.6/hu.61、AAV33.12/hu.17、AAV33.4/hu.15、AAV33.8/hu.16、AAV52/hu.19、AAV52.1/hu.20、AAV58.2/hu.25、AAV A3.3、AAV A3.4、AAV A3.5、AAV A3.7、AAVC1、AAVC2、AAVC5、AAV-DJ、AAV-DJ8、AAVF3、AAVF5、AAVH2、AAVrh.72、AAVhu.8、AAVrh.68、AAVrh.70、AAVpi.1、AAVpi.3、AAVpi.2、AAVrh.60、AAVrh.44、AAVrh.65、AAVrh.55、AAVrh.47、AAVrh.69、AAVrh.45、AAVrh.59、AAVhu.12、AAVH6、AAVLK03、AAVH-1/hu.1、AAVH-5/hu.3、AAVLG-10/rh.40、AAVLG-4/rh.38、AAVLG-9/hu.39、AAVN721-8/rh.43、AAVCh.5、AAVCh.5R1、AAVcy.2、AAVcy.3、AAVcy.4、AAVcy.5、AAVCy.5R1、AAVCy.5R2、AAVCy.5R3、AAVCy.5R4、AAVcy.6、AAVhu.1、AAVhu.2、AAVhu.3、AAVhu.4、AAVhu.5、AAVhu.6、AAVhu.7、AAVhu.9、AAVhu.10、AAVhu.11、AAVhu.13、AAVhu.15、AAVhu.16、AAVhu.17、AAVhu.18、AAVhu.20、AAVhu.21、AAVhu.22、AAVhu.23.2、AAVhu.24、AAVhu.25、AAVhu.27、AAVhu.28、AAVhu.29、AAVhu.29R、AAVhu.31、AAVhu.32、AAVhu.34、AAVhu.35、AAVhu.37、AAVhu.39、AAVhu.40、AAVhu.41、AAVhu.42、AAVhu.43、AAVhu.44、AAVhu.44R1、AAVhu.44R2、AAVhu.44R3、AAVhu.45、AAVhu.46、AAVhu.47、AAVhu.48、AAVhu.48R1、AAVhu.48R2

10

20

30

40

50

、AAVhu. 48R3、AAVhu. 49、AAVhu. 51、AAVhu. 52、AAVhu. 54、AAVhu. 55、AAVhu. 56、AAVhu. 57、AAVhu. 58、AAVhu. 60、AAVhu. 61、AAVhu. 63、AAVhu. 64、AAVhu. 66、AAVhu. 67、AAVhu. 14/9、AAVhu. t 19、AAVrh. 2、AAVrh. 2R、AAVrh. 8、AAVrh. 8R、AAVrh. 10、AAVrh. 12、AAVrh. 13、AAVrh. 13R、AAVrh. 14、AAVrh. 17、AAVrh. 18、AAVrh. 19、AAVrh. 20、AAVrh. 21、AAVrh. 22、AAVrh. 23、AAVrh. 24、AAVrh. 25、AAVrh. 31、AAVrh. 32、AAVrh. 33、AAVrh. 34、AAVrh. 35、AAVrh. 36、AAVrh. 37、AAVrh. 37R2、AAVrh. 38、AAVrh. 39、AAVrh. 40、AAVrh. 46、AAVrh. 48、AAVrh. 48. 1、AAVrh. 48. 1. 2、AAVrh. 48. 2、AAVrh. 49、AAVrh. 51、AAVrh. 52、AAVrh. 53、AAVrh. 54、AAVrh. 56、AAVrh. 57、AAVrh. 58、AAVrh. 61、AAVrh. 64、AAVrh. 64R1、AAVrh. 64R2、AAVrh. 67、AAVrh. 73、AAVrh. 74、AAVrh8R、AAVrh8R A586R突然変異体、AAVrh8R R533A突然変異体、AAAV、BAAV、ヤギAAV、ウシAAV、AAVhE1. 1、AAVhEr1. 5、AAVhER1. 14、AAVhEr1. 8、AAVhEr1. 16、AAVhEr1. 18、AAVhEr1. 35、AAVhEr1. 7、AAVhEr1. 36、AAVhEr2. 29、AAVhEr2. 4、AAVhEr2. 16、AAVhEr2. 30、AAVhEr2. 31、AAVhEr2. 36、AAVhER1. 23、AAVhEr3. 1、AAV2. 5T、AAV-PAEC、AAV-LK01、AAV-LK02、AAV-LK03、AAV-LK04、AAV-LK05、AAV-LK06、AAV-LK07、AAV-LK08、AAV-LK09、AAV-LK10、AAV-LK11、AAV-LK12、AAV-LK13、AAV-LK14、AAV-LK15、AAV-LK16、AAV-LK17、AAV-LK18、AAV-LK19、AAV-PAEC2、AAV-PAEC4、AAV-PAEC6、AAV-PAEC7、AAV-PAEC8、AAV-PAEC11、AAV-PAEC12、AAV-2-pre-miRNA-101、AAV-8h、AAV-8b、AAV-h、AAV-b、AAV SM 10-2、AAVシャッフル100-1、AAVシャッフル100-3、AAVシャッフル100-7、AAVシャッフル10-2、AAVシャッフル10-6、AAVシャッフル10-8、AAVシャッフル100-2、AAV SM 10-1、AAV SM 10-8、AAV SM 100-3、AAV SM 100-10、BNP61 AAV、BNP62 AAV、BNP63 AAV、AAVrh. 50、AAVrh. 43、AAVrh. 62、AAVrh. 48、AAVhu. 19、AAVhu. 11、AAVhu. 53、AAV4-8/rh. 64、AAVLG-9/hu. 39、AAV54. 5/hu. 23、AAV54. 2/hu. 22、AAV54. 7/hu. 24、AAV54. 1/hu. 21、AAV54. 4R/hu. 27、AAV46. 2/hu. 28、AAV46. 6/hu. 29、AAV128. 1/hu. 43、トゥルタイプAAV (ttAAV)、UPEN AAV10及び/又はジャパニーズAAV10血清型並びにそれらの変異体由来のキャプシドタンパク質を含む。

【0059】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、AAV9由来のキャプシドタンパク質を含む。

【0060】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、サバイバルモーターニューロン(SMN)タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む。

【0061】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、メチル-CpG結合タンパク質2(MECP2)タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む。

10

20

30

40

50

【0062】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、スーパーオキシドジスムターゼ1 (SOD1) を標的とする低分子ヘアピン型RNA (shRNA) をコードするポリヌクレオチドを含む。

【0063】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、2つのITR (例えば、修飾AAV2 ITR及び未修飾AAV2 ITR)、プロモーター (例えば、ニワトリベータアクチン (CB) プロモーター)、エンハンサー (例えば、サイトメガロウイルス (CMV) 前初期／初期エンハンサー)、イントロ (例えば、修飾SV40後期16sイントロン)、ポリアデニル化シグナル (例えば、ウシ成長ホルモン (BGH) ポリアデニル化シグナル) を含む。

10

【0064】

いくつかの実施形態では、医薬組成物は、 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{15}$ 個のウイルスベクターゲノム、例えば 1×10^{12} 、 5×10^{12} 、 1×10^{13} 、 5×10^{13} 、 1×10^{14} 、 5×10^{14} 、 1×10^{15} 個のウイルスベクターゲノムを含む。

【0065】

いくつかの実施形態では、組成物は、 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{15}$ 個のウイルスベクターゲノム／ミリリットル (vg/ml)、例えば 1×10^{12} 、 5×10^{12} 、 1×10^{13} 、 5×10^{13} 、 1×10^{14} 、 5×10^{14} 、 1×10^{15} 個のウイルスベクターゲノム／ミリリットル (vg/ml) を含む。

20

【0066】

別の態様では、本開示は、髄腔内に送達される医薬組成物の効果を向上させる方法を提供し、この方法は、それを必要とする対象に、グリンパティック流入を増強させる薬剤と組み合わせて医薬組成物を投与することを含む。

【0067】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、組成物と同時に又は連続的に投与される。いくつかの実施形態では、本薬剤は、組成物の投与前に投与される。いくつかの実施形態では、本薬剤は、組成物の投与後に投与される。いくつかの実施形態では、本薬剤は、静脈内点滴、静脈内注射及び／又は吸入によって投与される。

【0068】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、AQP4促進物質、例えばTGN-073を含む。

30

【0069】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、AQP4を上方制御する化合物、例えばセボフルランを含む。

【0070】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、 $\alpha-2$ アドレナリン作動性アゴニスト、例えばクロニジン、シザニジン又はデクスメデトミジン (例えば、プレセデックス若しくはデクスドミトール) を含む。

【0071】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、グリンパティック流入を増強させる1つ以上のFDA承認済みの麻酔薬を含む。いくつかの実施形態では、麻酔薬は、ケタミン、デクスドミジン若しくはキシラジン又はそれらの組み合わせである。

40

【0072】

好ましい実施形態では、本薬剤は、ケタミン及びデクスドミジンの組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、対象は、最初にケタミンを投与され、続いて医薬組成物を投与され、且つ続いてデクスドミジンを投与される。いくつかの実施形態では、対象は、最初にケタミンを投与され、続いて医薬組成物を投与され、続いてデクスドミジンを投与され、且つ続いてセボフルランを投与される。

【0073】

50

いくつかの実施形態では、ケタミンは、医薬組成物の投与の約1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55又は60分前、好ましくは約10～15分前に投与される。いくつかの実施形態では、ケタミンは、100mg/kg、約90mg/kg、約80mg/kg、約70mg/kg、約60mg/kg、約50mg/kg、約40mg/kg、約30mg/kg、約20mg/kg、約10mg/kg、約9mg/kg、約8mg/kg、約7mg/kg、約6mg/kg、約5mg/kg、約4mg/kg、約3mg/kg、約2mg/kg、約1mg/kg、好ましくは約10mg/kgで投与される。いくつかの実施形態では、請求項90～92のいずれか一項に記載の方法であり、デクスメドミジンは、約1mg/kg、約0.9mg/kg、約0.8mg/kg、約0.7mg/kg、約0.6mg/kg、約0.5mg/kg、約0.4mg/kg、約0.3mg/kg、約0.2mg/kg、約0.1mg/kg、約0.09mg/kg、約0.08mg/kg、約0.07mg/kg、約0.06mg/kg、約0.05mg/kg、約0.04mg/kg、約0.03mg/kg、約0.02mg/kg、約0.01mg/kg、約0.009mg/kg、約0.008mg/kg、約0.007mg/kg、約0.006mg/kg、約0.005mg/kg、好ましくは約0.02mg/kgで投与される。いくつかの実施形態では、対象は、セボルランをさらに投与され、続いてデクスメドミジンを投与される。いくつかの実施形態では、セボルランは、吸入剤として投与される。

10

【0074】

いくつかの好ましい実施形態では、対象は、投薬の10～15分前にケタミン（10mg/kg）を投与され、続いてデクスメドミジン（0.02mg/kg）を投与される。対象は、次に、ケタミン及びデクスメドミジンの投与完了後、10～15分間にわたり、後肢を高くした背殿位（トレンデレンブルグ様体位）に維持される。対象は、アチパメゾール（0.2mg/kg IM）をさらに投与され、投薬は、標準時8～10AMに行われる。

20

【0075】

いくつかの好ましい実施形態では、対象は、投薬の10～15分前にケタミン（10mg/kg）を投与され、続いてデクスメドミジン（0.02mg/kg）を投与され、続いてセボフルラン吸入麻酔を投与される。

【0076】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、血漿高浸透圧を誘導する。いくつかの実施形態では、本薬剤は、高張食塩水又はマンニトールを含む。いくつかの実施形態では、本薬剤は、高張食塩水を含む。いくつかの実施形態では、高張食塩水は、3% NaClである。いくつかの実施形態では、3% NaClは、約2～3.5ml/kgで投与される。

30

【0077】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、医薬組成物の投与の約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20分前又は後、好ましくは約5分前又は後に静脈内又は点滴注射によって投与され、任意選択的に、この投与は、反復され得る。

【0078】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、徐波睡眠を増加させることによってグリンパティック流入を増強させる。いくつかの実施形態では、本薬剤は、チアガピン、ガボキサドール、ガバペンチン、プレガバリン、GHB、リタンセリン、エプリバンセリン、ミルタザピン、オランザピン及びトラゾドン又はそれらの組み合わせからなる群から選択される。

40

【0079】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、VEGF、例えばVEGF-Cを含む。いくつかの実施形態では、VEGF-Cは、(i)表1で提供される配列のいずれか1つのアミノ酸配列又はそれと少なくとも95%配列同一性がある配列（任意選択的に、この配列は、リンカー（例えば、グリシン-セリンリンカー）及び／又はhisタグを含むか又は含まない）；及び／又は(ii)配列番号1に従って付番されるC137Aのアミノ酸置換を含む。

50

【0080】

いくつかの実施形態では、対象は、医薬組成物の投与後、約1～2時間にわたり、後肢を高くした体位、例えばトレンデレンブルグ様体位に維持される。

【0081】

いくつかの実施形態では、医薬組成物は、ウイルスベクター、抗体、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はナノ粒子を含む。

【0082】

いくつかの実施形態では、医薬組成物は、アデノ随伴ウイルス（AAV）ウイルスベクターを含む。

【0083】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、AAV1、AAV2、AAV2G9、AAV3、AAV3a、AAV3b、AAV3-3、AAV4、AAV4-4、AAV5、AAV6、AAV6.1、AAV6.2、AAV6.1.2、AAV7、AAV7.2、AAV8、AAV9、AAV9.11、AAV9.13、AAV9.16、AAV9.24、AAV9.45、AAV9.47、AAV9.61、AAV9.68、AAV9.84、AAV9.9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV16.3、AAV24.1、AAV27.3、AAV42.12、AAV42-1b、AAV42-2、AAV42-3a、AAV42-3b、AAV42-4、AAV42-5a、AAV42-5b、AAV42-6b、AAV42-8、AAV42-10、AAV42-11、AAV42-12、AAV42-13、AAV42-15、AAV42-a a、AAV43-1、AAV43-12、AAV43-20、AAV43-21、AAV43-23、AAV43-25、AAV43-5、AAV44.1、AAV44.2、AAV44.5、AAV223.1、AAV223.2、AAV223.4、AAV223.5、AAV223.6、AAV223.7、AAV1-7/rh.48、AAV1-8/rh.49、AAV2-15/rh.62、AAV2-3/rh.61、AAV2-4/rh.50、AAV2-5/rh.51、AAV3.1/hu.6、AAV3.1/hu.9、AAV3-9/rh.52、AAV3-11/rh.53、AAV4-8/r11.64、AAV4-9/rh.54、AAV4-19/rh.55、AAV5-3/rh.57、AAV5-22/rh.58、AAV7.3/hu.7、AAV16.8/hu.10、AAV16.12/hu.11、AAV29.3/bb.1、AAV29.5/bb.2、AAV106.1/hu.37、AAV114.3/hu.40、AAV127.2/hu.41、AAV127.5/hu.42、AAV128.3/hu.44、AAV130.4/hu.48、AAV145.1/hu.53、AAV145.5/hu.54、AAV145.6/hu.55、AAV161.10/hu.60、AAV161.6/hu.61、AAV33.12/hu.17、AAV33.4/hu.15、AAV33.8/hu.16、AAV52/hu.19、AAV52.1/hu.20、AAV58.2/hu.25、AAV A3.3、AAV A3.4、AAV A3.5、AAV A3.7、AAVC1、AAVC2、AAVC5、AAV-DJ、AAV-DJ8、AAVF3、AAVF5、AAVH2、AAVrh.72、AAVhu.8、AAVrh.68、AAVrh.70、AAVpi.1、AAVpi.3、AAVpi.2、AAVrh.60、AAVrh.44、AAVrh.65、AAVrh.55、AAVrh.47、AAVrh.69、AAVrh.45、AAVrh.59、AAVhu.12、AAVH6、AAVLK03、AAVH-1/hu.1、AAVH-5/hu.3、AAVLG-10/rh.40、AAVLG-4/rh.38、AAVLG-9/hu.39、AAVN721-8/rh.43、AAVCh.5、AAVCh.5R1、AAVcy.2、AAVcy.3、AAVcy.4、AAVcy.5、AAVCy.5R1、AAVCy.5R2、AAVCy.5R3、AAVCy.5R4、AAVcy.6、AAVhu.1、AAVhu.2、AAVhu.3、AAVhu.4、AAVhu.5、AAVhu.6、AAVhu.7、AAVhu.9、AAVhu.10、AAVhu.11、AAVhu.13、AAVhu.15、AAVhu.16、AAVhu.17、AAVhu.18、AA

10

20

30

40

50

Vhu. 20、AAVhu. 21、AAVhu. 22、AAVhu. 23. 2、AAVhu. 24、AAVhu. 25、AAVhu. 27、AAVhu. 28、AAVhu. 29、AAVhu. 29R、AAVhu. 31、AAVhu. 32、AAVhu. 34、AAVhu. 35、AAVhu. 37、AAVhu. 39、AAVhu. 40、AAVhu. 41、AAVhu. 42、AAVhu. 43、AAVhu. 44、AAVhu. 44R1、AAVhu. 44R2、AAVhu. 44R3、AAVhu. 45、AAVhu. 46、AAVhu. 47、AAVhu. 48、AAVhu. 48R1、AAVhu. 48R2、AAVhu. 48R3、AAVhu. 49、AAVhu. 51、AAVhu. 52、AAVhu. 54、AAVhu. 55、AAVhu. 56、AAVhu. 57、AAVhu. 58、AAVhu. 60、AAVhu. 61、AAVhu. 63、AAVhu. 64、AAVhu. 66、AAVhu. 67、AAVhu. 14/9、AAVhu. t19、AAVrh. 2、AAVrh. 2R、AAVrh. 8、AAVrh. 8R、AAVrh. 10、AAVrh. 12、AAVrh. 13、AAVrh. 13R、AAVrh. 14、AAVrh. 17、AAVrh. 18、AAVrh. 19、AAVrh. 20、AAVrh. 21、AAVrh. 22、AAVrh. 23、AAVrh. 24、AAVrh. 25、AAVrh. 31、AAVrh. 32、AAVrh. 33、AAVrh. 34、AAVrh. 35、AAVrh. 36、AAVrh. 37、AAVrh. 37R2、AAVrh. 38、AAVrh. 39、AAVrh. 40、AAVrh. 46、AAVrh. 48、AAVrh. 48. 1、AAVrh. 48. 1. 2、AAVrh. 48. 2、AAVrh. 49、AAVrh. 51、AAVrh. 52、AAVrh. 53、AAVrh. 54、AAVrh. 56、AAVrh. 57、AAVrh. 58、AAVrh. 61、AAVrh. 64、AAVrh. 64R1、AAVrh. 64R2、AAVrh. 67、AAVrh. 73、AAVrh. 74、AAVrh8R、AAVrh8R A586R突然変異体、AAVrh8R R533A突然変異体、AAAV、BAAV、ヤギAAV、ウシAAV、AAVhE1. 1、AAVhEr1. 5、AAVhER1. 14、AAVhEr1. 8、AAVhEr1. 16、AAVhEr1. 18、AAVhEr1. 35、AAVhEr1. 7、AAVhEr1. 36、AAVhEr2. 29、AAVhEr2. 4、AAVhEr2. 16、AAVhEr2. 30、AAVhEr2. 31、AAVhEr2. 36、AAVhER1. 23、AAVhEr3. 1、AAV2. 5T、AAV-PAEC、AAV-LK01、AAV-LK02、AAV-LK03、AAV-LK04、AAV-LK05、AAV-LK06、AAV-LK07、AAV-LK08、AAV-LK09、AAV-LK10、AAV-LK11、AAV-LK12、AAV-LK13、AAV-LK14、AAV-LK15、AAV-LK16、AAV-LK17、AAV-LK18、AAV-LK19、AAV-PAEC2、AAV-PAEC4、AAV-PAEC6、AAV-PAEC7、AAV-PAEC8、AAV-PAEC11、AAV-PAEC12、AAV-2-pre-miRNA-101、AAV-8h、AAV-8b、AAV-h、AAV-b、AAV SM 10-2、AAVシャッフル100-1、AAVシャッフル100-3、AAVシャッフル100-7、AAVシャッフル10-2、AAVシャッフル10-6、AAVシャッフル10-8、AAVシャッフル100-2、AAV SM 10-1、AAV SM 10-8、AAV SM 100-3、AAV SM 100-10、BNP61 AAV、BNP62 AAV、BNP63 AAV、AAVrh. 50、AAVrh. 43、AAVrh. 62、AAVrh. 48、AAVhu. 19、AAVhu. 11、AAVhu. 53、AAV4-8/rh. 64、AAVLG-9/hu. 39、AAV54. 5/hu. 23、AAV54. 2/hu. 22、AAV54. 7/hu. 24、AAV54. 1/hu. 21、AAV54. 4R/hu. 27、AAV46. 2/hu. 28、AAV46. 6/hu. 29、AAV128. 1/hu. 43、ツールタイプAAV (ttAAV)、UPEN AAV10及び/又はジャパニーズAAV10血清型並びにそれらの変異体由来のキャプシドタンパク質を含む。
 【0084】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、AAV9由来のキャプシドタン

パク質を含む。

【0085】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、サバイバルモーターニューロン(SMN)タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む。

【0086】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、メチル-CpG結合タンパク質2(MECP2)タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む。

【0087】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、スーパーオキシドジスムターゼ1(SOD1)を標的とする低分子ヘアピン型RNA(shRNA)をコードするポリヌクレオチドを含む。

10

【0088】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、2つのITR(例えば、修飾AAV2 ITR及び未修飾AAV2 ITR)、プロモーター(例えば、ニワトリベータアクチン(CB)プロモーター)、エンハンサー(例えば、サイトメガロウイルス(CMV)前初期/初期エンハンサー)、イントロ(例えば、修飾SV40後期16sイントロン)、ポリアデニル化シグナル(例えば、ウシ成長ホルモン(BGH)ポリアデニル化シグナル)を含む。

【0089】

いくつかの実施形態では、医薬組成物は、 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{15}$ 個のウイルスベクターゲノム、例えば 1×10^{12} 、 5×10^{12} 、 1×10^{13} 、 5×10^{13} 、 1×10^{14} 、 5×10^{14} 、 1×10^{15} 個のウイルスベクターゲノムを含む。

20

【0090】

いくつかの実施形態では、組成物は、 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{15}$ 個のウイルスベクターゲノム/ミリリットル(vg/ml)、例えば 1×10^{12} 、 5×10^{12} 、 1×10^{13} 、 5×10^{13} 、 1×10^{14} 、 5×10^{14} 、 1×10^{15} 個のベクターゲノム/ミリリットル(vg/ml)を含む。

【0091】

別の態様では、本開示は、ウイルスベクターを含む医薬組成物で処置された患者の集団の間でのウイルスベクターの脳分布のばらつきを低減する方法を提供し、この方法は、医薬組成物と組み合わせて、グリンパティック流入を増強させる薬剤を対象に投与することを含む。

30

【0092】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、組成物と同時に又は連続的に投与される。いくつかの実施形態では、本薬剤は、組成物の投与前に投与される。いくつかの実施形態では、本薬剤は、組成物の投与後に投与される。

【0093】

いくつかの実施形態では、医薬組成物は、髄腔内(IT)投与及び/又は大槽内(ICM)によって投与される。いくつかの実施形態では、本薬剤は、静脈内点滴、静脈内注射及び/又は吸入によって投与される。

40

【0094】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、AQP4促進物質、例えばTGN-073を含む。

【0095】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、AQP4を上方制御する化合物、例えばセボフルランを含む。

【0096】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、 $\alpha-2$ アドレナリン作動性アゴニスト、例えばクロニジン、シザニジン又はデクスメトミジン(例えば、プレセデックス若しくはデクストミトル)を含む。

50

【0097】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、グリーンパティック流入を増強させる1つ以上のFDA承認済みの麻酔薬を含む。いくつかの実施形態では、麻酔薬は、ケタミン、デクスメデトミジン若しくはキシラジン又はそれらの組み合わせである。

【0098】

好ましい実施形態では、本薬剤は、ケタミン及びデクスメデトミジンの組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、対象は、最初にケタミンを投与され、続いて医薬組成物を投与され、且つ続いてデクスメデトミジンを投与される。いくつかの実施形態では、対象は、最初にケタミンを投与され、続いて医薬組成物を投与され、続いてデクスメデトミジンを投与され、且つ続いてセボフルランを投与される。

10

【0099】

いくつかの実施形態では、ケタミンは、医薬組成物の投与の約1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55又は60分前に、好ましくは約10～15分前に投与される。いくつかの実施形態では、ケタミンは、約100mg/kg、約90mg/kg、約80mg/kg、約70mg/kg、約60mg/kg、約50mg/kg、約40mg/kg、約30mg/kg、約20mg/kg、約10mg/kg、約9mg/kg、約8mg/kg、約7mg/kg、約6mg/kg、約5mg/kg、約4mg/kg、約3mg/kg、約2mg/kg、約1mg/kg、好ましくは約10mg/kgで投与される。いくつかの実施形態では、デクスメデトミジンは、約1mg/kg、約0.9mg/kg、約0.8mg/kg、約0.7mg/kg、約0.6mg/kg、約0.5mg/kg、約0.4mg/kg、約0.3mg/kg、約0.2mg/kg、約0.1mg/kg、約0.09mg/kg、約0.08mg/kg、約0.07mg/kg、約0.06mg/kg、約0.05mg/kg、約0.04mg/kg、約0.03mg/kg、約0.02mg/kg、約0.01mg/kg、約0.009mg/kg、約0.008mg/kg、約0.007mg/kg、約0.006mg/kg、約0.005mg/kg、好ましくは約0.02mg/kgで投与される。いくつかの実施形態では、対象は、セボフルランをさらに投与され、続いてデクスメデトミジンを投与される。いくつかの実施形態では、セボフルランは、吸入剤として投与される。

20

【0100】

いくつかの好ましい実施形態では、対象は、投薬の10～15分前にケタミン（10mg/kg）を投与され、続いてデクスメデトミジン（0.02mg/kg）を投与される。対象は、次に、ケタミン及びデクスメデトミジンの投与完了後、10～15分間にわたり、後肢を高くした背殿位（トレンデレンブルグ様体位）に維持される。対象は、アチパメゾール（0.2mg/kg IM）をさらに投与され、投薬は、標準時8～10AMに行われる。

30

【0101】

いくつかの好ましい実施形態では、対象は、投薬の10～15分前にケタミン（10mg/kg）を投与され、続いてデクスメデトミジン（0.02mg/kg）を投与され、続いてセボフルラン吸入麻酔を投与される。

【0102】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、血漿高浸透圧を誘導する。いくつかの実施形態では、本薬剤は、高張食塩水又はマンニトールを含む。いくつかの実施形態では、本薬剤は、高張食塩水を含む。いくつかの実施形態では、高張食塩水は、2% NaCl、3% NaCl、5% NaCl、7% NaCl又は23% NaCl、好ましくは3% NaClである。いくつかの実施形態では、3% NaClは、約2～3.5ml/kgで投与される。

40

【0103】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、医薬組成物の投与の約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20分前又は後、好ましくは約5分前又は後に静脈内又は点滴注射によって投与され、任意選択的に、この投与は、反復され得る。

【0104】

50

いくつかの実施形態では、本薬剤は、徐波睡眠を増加させることによってグリンパティック流入を増強させる。いくつかの実施形態では、本薬剤は、チアガビン、ガボキサドール、ガバペンチン、プレガバリン、GHB、リタンセリン、エプリバンセリン、ミルタザピン、オランザピン及びトラゾドン又はそれらの組み合わせからなる群から選択される。

【0105】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、VEGF、例えばVEGF-Cを含む。いくつかの実施形態では、VEGF-Cは、(i)表1で提供される配列のいずれか1つのアミノ酸配列又はそれと少なくとも95%配列同一性がある配列（任意選択的に、この配列は、リンカー（例えば、グリシン-セリンリンカー）及び／又はhisタグを含むか又は含まない）；及び／又は(ii)配列番号1に従って付番されるC137Aのアミノ酸置換を含む。

10

【0106】

いくつかの実施形態では、対象は、医薬組成物の投与後、約1～2時間にわたり、後肢を高くした体位、例えばトレンドレンプルグ様体位に維持される。

【0107】

いくつかの実施形態では、本医薬組成物は、アデノ随伴ウイルス(AAV)ウイルスベクターを含む。

【0108】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、AAV1、AAV2、AAV2G9、AAV3、AAV3a、AAV3b、AAV3-3、AAV4、AAV4-4、AAV5、AAV6、AAV6.1、AAV6.2、AAV6.1.2、AAV7、AAV7.2、AAV8、AAV9、AAV9.11、AAV9.13、AAV9.16、AAV9.24、AAV9.45、AAV9.47、AAV9.61、AAV9.68、AAV9.84、AAV9.9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV16.3、AAV24.1、AAV27.3、AAV42.12、AAV42-1b、AAV42-2、AAV42-3a、AAV42-3b、AAV42-4、AAV42-5a、AAV42-5b、AAV42-6b、AAV42-8、AAV42-10、AAV42-11、AAV42-12、AAV42-13、AAV42-15、AAV42-aa、AAV43-1、AAV43-12、AAV43-20、AAV43-21、AAV43-23、AAV43-25、AAV43-5、AAV44.1、AAV44.2、AAV44.5、AAV223.1、AAV223.2、AAV223.4、AAV223.5、AAV223.6、AAV223.7、AAV1-7/rh.48、AAV1-8/rh.49、AAV2-15/rh.62、AAV2-3/rh.61、AAV2-4/rh.50、AAV2-5/rh.51、AAV3.1/hu.6、AAV3.1/hu.9、AAV3-9/rh.52、AAV3-11/rh.53、AAV4-8/rh.11.64、AAV4-9/rh.54、AAV4-19/rh.55、AAV5-3/rh.57、AAV5-22/rh.58、AAV7.3/hu.7、AAV16.8/hu.10、AAV16.12/hu.11、AAV29.3/bb.1、AAV29.5/bb.2、AAV106.1/hu.37、AAV114.3/hu.40、AAV127.2/hu.41、AAV127.5/hu.42、AAV128.3/hu.44、AAV130.4/hu.48、AAV145.1/hu.53、AAV145.5/hu.54、AAV145.6/hu.55、AAV161.10/hu.60、AAV161.6/hu.61、AAV33.12/hu.17、AAV33.4/hu.15、AAV33.8/hu.16、AAV52/hu.19、AAV52.1/hu.20、AAV58.2/hu.25、AAV A3.3、AAV A3.4、AAV A3.5、AAV A3.7、AAVC1、AAVC2、AAVC5、AAV-DJ、AAV-DJ8、AAVF3、AAVF5、AAVH2、AAVrh.72、AAVhu.8、AAVrh.68、AAVrh.70、AAVpi.1、AAVpi.3、AAVpi.2、AAVrh.60、AAVrh.44、AAVrh.65、AAVrh.55、AAVrh.47、AAVrh.69、AAVrh.45、AAVrh.59、AAVhu.12、AAVH

20

30

40

50

6、AAVLK03、AAVH-1/hu. 1、AAVH-5/hu. 3、AAVLG-10/rh. 40、AAVLG-4/rh. 38、AAVLG-9/hu. 39、AAVN721-8/rh. 43、AAVCh. 5、AAVCh. 5R1、AAVcy. 2、AAVcy. 3、AAVcy. 4、AAVcy. 5、AAVCy. 5R1、AAVCy. 5R2、AAVCy. 5R3、AAVCy. 5R4、AAVcy. 6、AAVhu. 1、AAVhu. 2、AAVhu. 3、AAVhu. 4、AAVhu. 5、AAVhu. 6、AAVhu. 7、AAVhu. 9、AAVhu. 10、AAVhu. 11、AAVhu. 13、AAVhu. 15、AAVhu. 16、AAVhu. 17、AAVhu. 18、AAVhu. 20、AAVhu. 21、AAVhu. 22、AAVhu. 23. 2、AAVhu. 24、AAVhu. 25、AAVhu. 27、AAVhu. 28、AAVhu. 29、AAVhu. 29R、AAVhu. 31、AAVhu. 32、AAVhu. 34、AAVhu. 35、AAVhu. 37、AAVhu. 39、AAVhu. 40、AAVhu. 41、AAVhu. 42、AAVhu. 43、AAVhu. 44、AAVhu. 44R1、AAVhu. 44R2、AAVhu. 44R3、AAVhu. 45、AAVhu. 46、AAVhu. 47、AAVhu. 48、AAVhu. 48R1、AAVhu. 48R2、AAVhu. 48R3、AAVhu. 49、AAVhu. 51、AAVhu. 52、AAVhu. 54、AAVhu. 55、AAVhu. 56、AAVhu. 57、AAVhu. 58、AAVhu. 60、AAVhu. 61、AAVhu. 63、AAVhu. 64、AAVhu. 66、AAVhu. 67、AAVhu. 14/9、AAVhu. t19、AAVrh. 2、AAVrh. 2R、AAVrh. 8、AAVrh. 8R、AAVrh. 10、AAVrh. 12、AAVrh. 13、AAVrh. 13R、AAVrh. 14、AAVrh. 17、AAVrh. 18、AAVrh. 19、AAVrh. 20、AAVrh. 21、AAVrh. 22、AAVrh. 23、AAVrh. 24、AAVrh. 25、AAVrh. 31、AAVrh. 32、AAVrh. 33、AAVrh. 34、AAVrh. 35、AAVrh. 36、AAVrh. 37、AAVrh. 37R2、AAVrh. 38、AAVrh. 39、AAVrh. 40、AAVrh. 46、AAVrh. 48、AAVrh. 48. 1、AAVrh. 48. 1. 2、AAVrh. 48. 2、AAVrh. 49、AAVrh. 51、AAVrh. 52、AAVrh. 53、AAVrh. 54、AAVrh. 56、AAVrh. 57、AAVrh. 58、AAVrh. 61、AAVrh. 64、AAVrh. 64R1、AAVrh. 64R2、AAVrh. 67、AAVrh. 73、AAVrh. 74、AAVrh8R、AAVrh8R A586R突然変異体、AAVrh8R R533A突然変異体、AAAV、BAAV、ヤギAAV、ウシAAV、AAVhE1. 1、AAVhEr1. 5、AAVhER1. 14、AAVhEr1. 8、AAVhEr1. 16、AAVhEr1. 18、AAVhEr1. 35、AAVhEr1. 7、AAVhEr1. 36、AAVhEr2. 29、AAVhEr2. 4、AAVhEr2. 16、AAVhEr2. 30、AAVhEr2. 31、AAVhEr2. 36、AAVhER1. 23、AAVhEr3. 1、AAV2. 5T、AAV-PAEC、AAV-LK01、AAV-LK02、AAV-LK03、AAV-LK04、AAV-LK05、AAV-LK06、AAV-LK07、AAV-LK08、AAV-LK09、AAV-LK10、AAV-LK11、AAV-LK12、AAV-LK13、AAV-LK14、AAV-LK15、AAV-LK16、AAV-LK17、AAV-LK18、AAV-LK19、AAV-PAEC2、AAV-PAEC4、AAV-PAEC6、AAV-PAEC7、AAV-PAEC8、AAV-PAEC11、AAV-PAEC12、AAV-2-pre-miRNA-101、AAV-8h、AAV-8b、AAV-h、AAV-b、AAV SM 10-2、AAVシャッフル100-1、AAVシャッフル100-3、AAVシャッフル100-7、AAVシャッフル10-2、AAVシャッフル10-6、AAVシャッフル10-8、AAVシャッフル100-2、AAV SM 10-1、AAV SM 10-8、AAV SM 100-3、AAV SM 100-10、BNP61 AAV、BNP62 AAV、BNP63 AAV、AAVrh. 50、AAVrh. 43、AAVrh. 62、AAVrh. 48、AAVhu. 19、A

AAVhu.11、AAVhu.53、AAV4-8/rh.64、AAV LG-9/hu.39、AAV54.5/hu.23、AAV54.2/hu.22、AAV54.7/hu.24、AAV54.1/hu.21、AAV54.4R/hu.27、AAV46.2/hu.28、AAV46.6/hu.29、AAV128.1/hu.43、トウルタイプAAV(ttAAV)、UPEN AAV10及び／又はジャパニーズAAV10血清型並びにそれらの変異体由来のキャプシドタンパク質を含む。

【0109】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、AAV9由来のキャプシドタンパク質を含む。

【0110】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、サバイバルモーターニューロン(SMN)タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む。

【0111】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、メチル-CpG結合タンパク質2(MECP2)タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む。

【0112】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、スーパーオキシドジスムターゼ1(SOD1)を標的とする低分子ヘアピン型RNA(shRNA)をコードするポリヌクレオチドを含む。

【0113】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、2つのITR(例えば、修飾AAV2 ITR及び未修飾AAV2 ITR)、プロモーター(例えば、ニワトリベータアクチン(CB)プロモーター)、エンハンサー(例えば、サイトメガロウイルス(CMV)前初期/初期エンハンサー)、イントロ(例えば、修飾SV40後期16sイントロン)、ポリアデニル化シグナル(例えば、ウシ成長ホルモン(BGH)ポリアデニル化シグナル)を含む。

【0114】

いくつかの実施形態では、医薬組成物は、 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{15}$ 個のウイルスベクターゲノム、例えば 1×10^{12} 、 5×10^{12} 、 1×10^{13} 、 5×10^{13} 、 1×10^{14} 、 5×10^{14} 、 1×10^{15} 個のウイルスベクターゲノムを含む。

【0115】

いくつかの実施形態では、組成物は、 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{15}$ 個のベクターゲノム/ミリリットル(vg/ml)、例えば 1×10^{12} 、 5×10^{12} 、 1×10^{13} 、 5×10^{13} 、 1×10^{14} 、 5×10^{14} 、 1×10^{15} 個のベクターゲノム/ミリリットル(vg/ml)を含む。

【0116】

別の態様では、本開示は、対象において肝臓及び／又はDRG毒性を低減させるために、CNSを標的とする医薬組成物の全身曝露の低減を必要とする対象のCNSを標的とする医薬組成物の全身曝露を低減させる方法を提供し、この方法は、医薬組成物と組み合わせ、グリンパティック流入を増強させる薬剤を対象に投与することを含む。

【0117】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、組成物と同時に又は連続的に投与される。いくつかの実施形態では、本薬剤は、組成物の投与前に投与される。いくつかの実施形態では、この薬剤は、組成物の投与後に投与される。

【0118】

いくつかの実施形態では、医薬組成物は、髄腔内(IT)投与及び／又は大槽内(ICM)によって投与される。

【0119】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、静脈内点滴、静脈内注射及び／又は吸入によって投与される。

10

20

30

40

50

【0120】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、AQP4促進物質、例えばTGN-073を含む。

【0121】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、AQP4を上方制御する化合物、例えばセボフルランを含む。

【0122】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、 α -2アドレナリン作動性アゴニスト、例えばクロニジン、シザニジン又はデクスedetミジン（例えば、プレセデックス若しくはデクスドミトール）を含む。

【0123】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、グリンパティック流入を増強させる1つ以上のFDA承認済みの麻酔薬を含む。いくつかの実施形態では、麻酔薬は、ケタミン、デクスedetミジン若しくはキシラジン又はそれらの組み合わせである。

【0124】

好ましい実施形態では、本薬剤は、ケタミン及びデクスedetミジンの組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、対象は、最初にケタミンを投与され、続いて医薬組成物を投与され、且つ続いてデクスedetミジンを投与される。いくつかの実施形態では、対象は、最初にケタミンを投与され、続いて医薬組成物を投与され、続いてデクスedetミジンを投与され、且つ続いてセボフルランを投与される。

【0125】

いくつかの実施形態では、ケタミンは、医薬組成物の投与の約1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55又は60分前、好ましくは約10～15分前に投与される。いくつかの実施形態では、ケタミンは、約100mg/kg、約90mg/kg、約80mg/kg、約70mg/kg、約60mg/kg、約50mg/kg、約40mg/kg、約30mg/kg、約20mg/kg、約10mg/kg、約9mg/kg、約8mg/kg、約7mg/kg、約6mg/kg、約5mg/kg、約4mg/kg、約3mg/kg、約2mg/kg、約1mg/kg、好ましくは約10mg/kgで投与される。いくつかの実施形態では、デクスedetミジンは、約1mg/kg、約0.9mg/kg、約0.8mg/kg、約0.7mg/kg、約0.6mg/kg、約0.5mg/kg、約0.4mg/kg、約0.3mg/kg、約0.2mg/kg、約0.1mg/kg、約0.09mg/kg、約0.08mg/kg、約0.07mg/kg、約0.06mg/kg、約0.05mg/kg、約0.04mg/kg、約0.03mg/kg、約0.02mg/kg、約0.01mg/kg、約0.009mg/kg、約0.008mg/kg、約0.007mg/kg、約0.006mg/kg、約0.005mg/kg、好ましくは約0.02mg/kgで投与される。いくつかの実施形態では、対象は、セボフルランをさらに投与され、続いてデクスedetミジンを投与される。いくつかの実施形態では、セボフルランは、吸入剤として投与される。

【0126】

いくつかの好ましい実施形態では、対象は、投薬の10～15分前にケタミン（10mg/kg）を投与され、続いてデクスedetミジン（0.02mg/kg）を投与される。対象は、次に、ケタミン及びデクスedetミジンの投与完了後、10～15分間にわたり、後肢を高くした背殿位（トレンドレンプルグ様体位）に維持される。対象は、アチパメゾール（0.2mg/kg IM）をさらに投与され、投薬は、標準時8～10AMに行われる。

【0127】

いくつかの好ましい実施形態では、対象は、投薬の10～15分前にケタミン（10mg/kg）を投与され、続いてデクスedetミジン（0.02mg/kg）を投与され、続いてセボフルラン吸入麻酔を投与される。

【0128】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、血漿高浸透圧を誘導する。いくつかの実施形態では、本薬剤は、高張食塩水（例えば、酢酸ナトリウムあり若しくはなしの塩化ナトリウム）又はマンニトールを含む。いくつかの実施形態では、本薬剤は、酢酸ナトリウムあり又はなしの高張食塩水を含む。いくつかの実施形態では、高張食塩水は、2% NaCl、3% NaCl、5% NaCl、7% NaCl又は23% NaCl、好ましくは3% NaClである。いくつかの実施形態では、3% NaClは、約2~3.5 ml/kgで投与される。

【0129】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、医薬組成物の投与の約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20分前又は後、好ましくは約5分前又は後に、静脈内又は点滴注射によって投与され、任意選択的に、この投与は、反復され得る。

10

【0130】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、徐波睡眠を増加させることによってグリンパティック流入を増強させる。いくつかの実施形態では、本薬剤は、チアガビン、ガボキサドール、ガバペンチン、プレガバリン、GHB、リタンセリン、エプリバンセリン、ミルタザピン、オランザピン及びトラゾドン又はそれらの組み合わせからなる群から選択される。

【0131】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、VEGF、例えばVEGF-Cを含む。いくつかの実施形態では、VEGF-Cは、(i)表1で提供される配列のいずれか1つのアミノ酸配列又はそれと少なくとも95%配列同一性がある配列（任意選択的に、この配列は、リンカー（例えば、グリシン-セリンリンカー）及び／又はhisタグを含むか又は含まない）；及び／又は(ii)配列番号1に従って付番されるC137Aのアミノ酸置換を含む。

20

【0132】

いくつかの実施形態では、対象は、医薬組成物の投与後、約1~2時間にわたり、後肢を高くした体位、例えばトレンデレンブルグ様体位に維持される。

【0133】

いくつかの実施形態では、医薬組成物は、ウイルスベクター、抗体、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はナノ粒子を含む。

【0134】

いくつかの実施形態では、医薬組成物は、アデノ随伴ウイルス(AAV)ウイルスベクターを含む。

30

【0135】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、AAV1、AAV2、AAV2G9、AAV3、AAV3a、AAV3b、AAV3-3、AAV4、AAV4-4、AAV5、AAV6、AAV6.1、AAV6.2、AAV6.1.2、AAV7、AAV7.2、AAV8、AAV9、AAV9.11、AAV9.13、AAV9.16、AAV9.24、AAV9.45、AAV9.47、AAV9.61、AAV9.68、AAV9.84、AAV9.9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV16.3、AAV24.1、AAV27.3、AAV42.12、AAV42-1b、AAV42-2、AAV42-3a、AAV42-3b、AAV42-4、AAV42-5a、AAV42-5b、AAV42-6b、AAV42-8、AAV42-10、AAV42-11、AAV42-12、AAV42-13、AAV42-15、AAV42-aa、AAV43-1、AAV43-12、AAV43-20、AAV43-21、AAV43-23、AAV43-25、AAV43-5、AAV44.1、AAV44.2、AAV44.5、AAV223.1、AAV223.2、AAV223.4、AAV223.5、AAV223.6、AAV223.7、AAV1-7/rh.48、AAV1-8/rh.49、AAV2-15/rh.62、AAV2-3/rh.61、AAV2-4/rh.50、AAV2-5/rh.51、AAV3.1/hu.6、AAV3.1/hu.9、AAV3-9/rh.52、AAV3-11/rh.53、AAV4-8/rh.11.64、

40

50

AAV4-9/rh. 54、AAV4-19/rh. 55、AAV5-3/rh. 57、
AAV5-22/rh. 58、AAV7. 3/hu. 7、AAV16. 8/hu. 10、
AAV16. 12/hu. 11、AAV29. 3/bb. 1、AAV29. 5/bb. 2
、AAV106. 1/hu. 37、AAV114. 3/hu. 40、AAV127. 2/
hu. 41、AAV127. 5/hu. 42、AAV128. 3/hu. 44、AAV1
30. 4/hu. 48、AAV145. 1/hu. 53、AAV145. 5/hu. 54
、AAV145. 6/hu. 55、AAV161. 10/hu. 60、AAV161. 6
/hu. 61、AAV33. 12/hu. 17、AAV33. 4/hu. 15、AAV3
3. 8/hu. 16、AAV52/hu. 19、AAV52. 1/hu. 20、AAV5
8. 2/hu. 25、AAV A3. 3、AAV A3. 4、AAV A3. 5、AAV
A3. 7、AAVC1、AAVC2、AAVC5、AAV-DJ、AAV-DJ8、AA
VF3、AAVF5、AAVH2、AAVrh. 72、AAVhu. 8、AAVrh. 6
8、AAVrh. 70、AAVpi. 1、AAVpi. 3、AAVpi. 2、AAVrh
. 60、AAVrh. 44、AAVrh. 65、AAVrh. 55、AAVrh. 47、
AAVrh. 69、AAVrh. 45、AAVrh. 59、AAVhu. 12、AAVH
6、AAVLK03、AAVH-1/hu. 1、AAVH-5/hu. 3、AAVLG-
10/rh. 40、AAVLG-4/rh. 38、AAVLG-9/hu. 39、AAV
N721-8/rh. 43、AAVCh. 5、AAVCh. 5R1、AAVcy. 2、A
AVcy. 3、AAVcy. 4、AAVcy. 5、AAVCy. 5R1、AAVCy. 5
R2、AAVCy. 5R3、AAVCy. 5R4、AAVcy. 6、AAVhu. 1、A
AVhu. 2、AAVhu. 3、AAVhu. 4、AAVhu. 5、AAVhu. 6、A
AVhu. 7、AAVhu. 9、AAVhu. 10、AAVhu. 11、AAVhu. 1
3、AAVhu. 15、AAVhu. 16、AAVhu. 17、AAVhu. 18、AA
Vhu. 20、AAVhu. 21、AAVhu. 22、AAVhu. 23. 2、AAVh
u. 24、AAVhu. 25、AAVhu. 27、AAVhu. 28、AAVhu. 29
、AAVhu. 29R、AAVhu. 31、AAVhu. 32、AAVhu. 34、AA
Vhu. 35、AAVhu. 37、AAVhu. 39、AAVhu. 40、AAVhu.
41、AAVhu. 42、AAVhu. 43、AAVhu. 44、AAVhu. 44R1
、AAVhu. 44R2、AAVhu. 44R3、AAVhu. 45、AAVhu. 46
、AAVhu. 47、AAVhu. 48、AAVhu. 48R1、AAVhu. 48R2
、AAVhu. 48R3、AAVhu. 49、AAVhu. 51、AAVhu. 52、A
AVhu. 54、AAVhu. 55、AAVhu. 56、AAVhu. 57、AAVhu
. 58、AAVhu. 60、AAVhu. 61、AAVhu. 63、AAVhu. 64、
AAVhu. 66、AAVhu. 67、AAVhu. 14/9、AAVhu. t 19、
AAVrh. 2、AAVrh. 2R、AAVrh. 8、AAVrh. 8R、AAVrh.
10、AAVrh. 12、AAVrh. 13、AAVrh. 13R、AAVrh. 14、
AAVrh. 17、AAVrh. 18、AAVrh. 19、AAVrh. 20、AAVr
h. 21、AAVrh. 22、AAVrh. 23、AAVrh. 24、AAVrh. 25
、AAVrh. 31、AAVrh. 32、AAVrh. 33、AAVrh. 34、AAV
rh. 35、AAVrh. 36、AAVrh. 37、AAVrh. 37R2、AAVrh
. 38、AAVrh. 39、AAVrh. 40、AAVrh. 46、AAVrh. 48、
AAVrh. 48. 1、AAVrh. 48. 1. 2、AAVrh. 48. 2、AAVrh
. 49、AAVrh. 51、AAVrh. 52、AAVrh. 53、AAVrh. 54、
AAVrh. 56、AAVrh. 57、AAVrh. 58、AAVrh. 61、AAVr
h. 64、AAVrh. 64R1、AAVrh. 64R2、AAVrh. 67、AAVr
h. 73、AAVrh. 74、AAVrh8R、AAVrh8R A586R突然変異体
、AAVrh8R R533A突然変異体、AAAV、BAAV、ヤギAAV、ウシAA
V、AAVhE1. 1、AAVhEr1. 5、AAVhER1. 14、AAVhEr1.
8、AAVhEr1. 16、AAVhEr1. 18、AAVhEr1. 35、AAVhE
r1. 7、AAVhEr1. 36、AAVhEr2. 29、AAVhEr2. 4、AAV

10

20

30

40

50

hEr2.16、AAVhEr2.30、AAVhEr2.31、AAVhEr2.36、AAVhEr1.23、AAVhEr3.1、AAV2.5T、AAV-PAEC、AAV-LK01、AAV-LK02、AAV-LK03、AAV-LK04、AAV-LK05、AAV-LK06、AAV-LK07、AAV-LK08、AAV-LK09、AAV-LK10、AAV-LK11、AAV-LK12、AAV-LK13、AAV-LK14、AAV-LK15、AAV-LK16、AAV-LK17、AAV-LK18、AAV-LK19、AAV-PAEC2、AAV-PAEC4、AAV-PAEC6、AAV-PAEC7、AAV-PAEC8、AAV-PAEC11、AAV-PAEC12、AAV-2-pre-miRNA-101、AAV-8h、AAV-8b、AAV-h、AAV-b、AAV SM 10-2、AAVシャッフル100-1、AAVシャッフル100-3、AAVシャッフル100-7、AAVシャッフル10-2、AAVシャッフル10-6、AAVシャッフル10-8、AAVシャッフル100-2、AAV SM 10-1、AAV SM 10-8、AAV SM 100-3、AAV SM 100-10、BNP61 AAV、BNP62 AAV、BNP63 AAV、AAVrh.50、AAVrh.43、AAVrh.62、AAVrh.48、AAVhu.19、AAVhu.11、AAVhu.53、AAV4-8/rh.64、AAV LG-9/hu.39、AAV54.5/hu.23、AAV54.2/hu.22、AAV54.7/hu.24、AAV54.1/hu.21、AAV54.4R/hu.27、AAV46.2/hu.28、AAV46.6/hu.29、AAV128.1/hu.43、トウルタイプAAV (ttAAV)、UPEN AAV10及び/又はジャパニーズAAV10血清型並びにそれらの変異体由来のキャプシドタンパク質を含む。

10

20

【0136】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、AAV9由来のキャプシドタンパク質を含む。

【0137】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、サバイバルモーターニューロン (SMN) タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む。

【0138】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、メチル-CpG結合タンパク質2 (MECP2) タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む。

30

【0139】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、スーパーオキシドジスムターゼ1 (SOD1) を標的とする低分子ヘアピン型RNA (shRNA) をコードするポリヌクレオチドを含む。

【0140】

いくつかの実施形態では、ベクターは、2つのITR (例えば、修飾AAV2 ITR及び未修飾AAV2 ITR)、プロモーター (例えば、ニワトリベータアクチン (CB) プロモーター)、エンハンサー (例えば、サイトメガロウイルス (CMV) 前初期/初期エンハンサー)、イントロ (例えば、修飾SV40後期16sイントロン)、ポリアデニル化シグナル (例えば、ウシ成長ホルモン (BGH) ポリアデニル化シグナル) を含む。

40

【0141】

いくつかの実施形態では、医薬組成物は、 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{15}$ 個のウイルスベクターゲノム、例えば 1×10^{12} 、 5×10^{12} 、 1×10^{13} 、 5×10^{13} 、 1×10^{14} 、 5×10^{14} 、 1×10^{15} 個のウイルスベクターゲノムを含む。

【0142】

いくつかの実施形態では、組成物は、 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{15}$ 個のベクターゲノム/ミリリットル (vg/ml)、例えば 1×10^{12} 、 5×10^{12} 、 1×10^{13} 、 5×10^{13} 、 1×10^{14} 、 5×10^{14} 、 1×10^{15} 個のベクターゲノム/ミリリットル (vg/ml) を含む。

50

【0143】

本発明のさらなる実施形態は、以下のセクションで提供される。

【図面の簡単な説明】

【0144】

【図1-1】図1：図1A～Gは、1カ月でのscAAV9-CB-GFPの3.0×10¹³vgの腰椎穿刺による髄腔内投薬後の脳におけるGFPタンパク質発現に対する免疫組織化学を示す画像である。図1Aは、動物P0304ブロック44の画像である。図1Bは、動物P0303ブロック46の画像である。図1Cは、動物P0304ブロック44の画像である。図1Dは、動物P0302ブロック47の画像である。図1Eは、動物P0503ブロック47の画像である。図1Fは、動物P0303ブロック47の画像である。図1Gは、動物P0301ブロック51の画像である。a、b、c、d及びeの表示は、弱拡大顕微鏡写真において囲まれた領域を拡大したものに相当する。

10

【図1-2】（上記の通り。）

【図1-3】（上記の通り。）

【図1-4】（上記の通り。）

【図1-5】（上記の通り。）

【図1-6】（上記の通り。）

【図1-7】（上記の通り。）

【図2】共局在を示すグリア線維酸性タンパク質（GFAP）及びGFPに対する免疫組織化学を示す画像である。GFP陽性細胞は、星状細胞と形態学的に一致し（GFP-DAB、左）、GFAPと共局在する（GFAP-青及びGFP-黄色、右）。

20

【図3-1】図3：図3A及び3Bは、それぞれパーセントDAB陽性ピクセルとして表される、脊髄、後根神経節及び脳領域におけるGFP発現の定量的画像分析を示す画像及び散布図である。脳の複数領域で最小及び変動性の発現が検出される一方、脊髄の下位運動ニューロン及び後根神経節のニューロンにおいて中程度～高度な発現が検出される。

【図3-2】（上記の通り。）

【図4】小脳及び脳幹の切片上でのGFPタンパク質に対する免疫組織化学を示す画像である。プルキンエ細胞ニューロン及び深部小脳核内のニューロンの最小限の形質導入が観察される。GFPシグナルは、主にバグマングリアとともに存在する。

【図5】GFPタンパク質に対する免疫組織化学を示す画像である。脳室周囲GFPタンパク質発現が星状細胞において観察される。この脳室周囲発現は、個々の動物でばらつきがあり、周囲のニューロピルの隣接する500～1000umに限定された。

30

【図6】後頭葉皮質の切片上でのGFPタンパク質に対する免疫組織化学を示す画像である。多巢性のタンパク質発現が血管周囲の星状細胞内に存在する。a、b及びcのラベルは、弱拡大顕微鏡写真において囲まれた領域を拡大したものに相当する。

【図7】後頭葉皮質上でのGFPタンパク質に対する免疫組織化学を示す画像である。グリnpパティック流入を通したベクターへの曝露と一致して、後頭葉皮質での穿通動脈に隣接する血管周囲の星状細胞における発現が観察される。

【図8】後頭葉皮質における、免疫組織化学及び定量的画像分析を用いたGFPタンパク質の検出を示す画像である。グリnpパティック流入を通したベクターへの曝露と一致して、動脈血管供給に隣接する星状細胞発現の線状のパターンが観察される。

40

【図9】シノモルグス・マカク（*cynomolgus macaque*）におけるAAVの髄腔内投薬後の中枢神経系及び全身組織に対するベクター分布のモデルを示す画像である。CSFの急激なターンオーバーのため、ベクターのほとんどは、くも膜顆粒及び神経根を通して髄腔内腔から流れ出し、全身組織に分布する。限られたベクターがグリnpパティック流入及び脳室周囲拡散を通して脳組織に到達する。髄腔内投与された用量のおよそ0.01%が30日の時点で脳組織に存在し、それと比較して肝臓では1.3%が存在する。

【発明を実施するための形態】

【0145】

50

詳細な説明の全体を通して、本開示がより容易に理解され得るように特定の用語が定義される。別段の定義がない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本開示が属する技術分野の当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。

【0146】

開示される組成物及び方法は、本開示の一部を形成する添付の図面に関連して行われる以下の詳細な説明を参照することによってより容易に理解され得る。

【0147】

本明細書全体を通して、記載は、組成物及び組成物を使用する方法に言及する。本開示が、組成物に関連する特徴又は実施形態を開示又は主張する場合、そのような特徴又は実施形態は、組成物を使用する方法又は使用に等しく適用可能である。同様に、本開示が、組成物を使用する方法に関連する特徴又は実施形態を開示又は主張する場合、そのような特徴又は実施形態は、組成物に等しく適用可能である。値の範囲が表現される場合、それは、範囲内の任意の特定の値を使用する実施形態を含む。さらに、範囲に記載されている値への参照には、その範囲内の全ての各値が含まれる。全ての範囲は、その端点を含み、組み合わせることができる。値が近似値として表される場合、先行詞「約」を使用することにより、特定の値が別の実施形態を形成することが理解されるであろう。特定の数値への参照には、文脈で明確に別段の指示がない限り、少なくともその特定の値が含まれる。

「又は」の使用は、その使用の特定の文脈で別段の指示がない限り、「及び／又は」を意味する。本明細書で引用されている全ての参考文献は、任意の目的のために参照により組み込まれる。参考文献と本明細書とが矛盾する場合、本明細書が優先される。明確性のために、別個の実施形態に関連して本明細書に開示される、開示される組成物及び方法の特定の特徵も単一の実施形態で組み合わせて提供され得ることが理解されるべきである。逆に、簡潔にするために、単一の実施形態に関連して開示される、開示される組成物及び方法の様々な特徴は、別個に又は任意の部分的組み合わせでも提供され得る。

【0148】

定義

別段述べられない限り、本明細書で使用される場合、以下の用語及び句は、以下の意味を有するものとする。

【0149】

本明細書で使用される場合、単数形「1つの(a)」、「1つの(an)」及び「その」は、文脈で明らかに別段の指示がない限り、複数形を含む。数値及び範囲の文脈で使用される場合、「約」又は「およそ」という用語は、当業者にとって本明細書に含まれる教示から明らかであるように、実施形態が意図した通りに機能し得るように、記載される値又は範囲に近似するか又はそれに近い値又は範囲を指す。いくつかの実施形態では、約は、数値のプラス又はマイナス10%を意味する。

【0150】

本明細書で使用される場合、「およそ」又は「約」という用語は、目的の1つ以上の値に適用される場合、述べられる参照値と同様である値を指す。特定の実施形態では、「およそ」又は「約」という用語は、別段述べられない限り又は内容から別段明らかでない限り、述べられる参照値のいずれかの方向（それより大きい又はそれより小さい）で25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%又はそれ未満内に入る値の範囲を指す（このような数が可能な値の100%を超えることを除く）。

【0151】

本明細書で使用される場合、「グリンパティック」又は「グリアリンパ」、「グリンパティック系」又は「グリンパティック経路」という用語は、血管周囲脳脊髄液(CSF)の流れの経路を介した中枢神経系(CNS)のための脳老廃物クリアランス経路を指す。グリンパティック系は、老廃物がCSFに移され、脳から輸送されることを可能にするCSF及び間質液(ISF)の相互交換に依存する。

【0152】

本明細書で使用される場合、「医薬組成物」という用語は、有効成分の生物学的活性が治療効果を有する組成物を意味し、したがってこの組成物は、治療目的のために、対象、例えばヒトにおいて投与され得る。「薬学的に許容可能な」という句は、本明細書では、論理的なベネフィット／リスク比と釣り合い、過剰な毒性、刺激、アレルギー反応又は他の問題若しくは合併症なく、ヒト及び動物の組織との接触における使用に適切な、健全な医学的判断の範囲内にある、化合物、材料、組成物及び／又は剤形を指すために使用される。

【0153】

本明細書で使用される場合、「治療剤」という用語は、所望の効果を達成する投与可能な、何らかの薬理学的に活性のある物質を指す。

10

【0154】

本明細書で使用される場合、「神経変性障害」又は「神経変性疾患」は、神経系の1つ以上の領域におけるニューロン死及び影響を受ける一団のその後の機能的な障害を特徴とする中枢神経系（CNS）障害を指す。いくつかの実施形態では、神経障害は、アルツハイマー病（AD）；筋萎縮性側索硬化症（ALS）；クロイツフェルトヤコブ病；ハンチントン病（HD）；フリーライヒ運動失調症（FA）；パーキンソン病（PD）；多系統萎縮症（MSA）；脊髄筋萎縮症（SMA）、多巣性硬化症（MS）；原発性進行性失語症；進行性核上まひ；認知症；脳の癌、変性神経疾患、脳炎、てんかん、神経変性を引き起こす遺伝性脳障害、網膜色素変性症（RP）、頭部及び脳形成異常、水頭症、卒中発作、プリオン病、小児性神経セロイドリポフスチン沈着症（INCL）（リソソーム酵素パルミトイルタンパク質チオエステラーゼ-1（PPT1）の欠乏により引き起こされる小児の神経変性疾患）などを含むが、限定されない神経変性障害であり得る。

20

【0155】

本明細書で使用される場合、「処置」（及び「処置する」又は「処置すること」などの文法的なその変形物）は、処置されている個体の自然な経過を変化させようと試みることに於ける臨床介入を指し、予防のため又は一連の臨床病理中のいずれかで行われ得る。処置の所望の効果には、疾患の発症又は再発の防止、症状の緩和、疾患の何らかの直接的又は間接的な病理学的結果の低減、転移の防止、疾患進行速度の低下、疾患状態の回復又は寛解及び軽快又は予後の改善が含まれるが、限定されない。いくつかの実施形態では、本開示の抗体は、疾患の発症を遅延させるか又は疾患の進行を緩徐にするために使用される。

30

【0156】

薬剤、例えば製剤処方物の「有効量」は、所望の治療又は予防結果を達成するための、投与量での及び必要な時間での、有効な量を指す。

【0157】

「個体」又は「対象」は、哺乳動物である。哺乳動物としては、家畜（例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ及びウマ）、霊長類（例えばヒト及び非ヒト霊長類、例えばサルなど）、ウサギ及びげっ歯類（例えばマウス及びラット）が挙げられるが、限定されない。特定の実施形態では、個体又は対象はヒトである。

【0158】

本明細書で使用される場合、「髄腔内（IT）投与」又は「髄腔内（IT）注射」という用語は、脊柱管（脊髄を取り囲む髄腔内の空間）への注射を指す。バーホール又は大槽又は腰椎穿刺などを通した脳室側面注射を含むが、限定されない様々な技術が使用され得る。いくつかの実施形態では、本開示による「髄腔内投与」又は「髄腔内送達」は、腰部又は腰部領域を介したIT投与又は送達、即ち腰部IT投与又は送達を指す。本明細書で使用される場合、「腰部領域」又は「腰部」という用語は、第3腰椎と第4腰椎との間の領域（腰背部）の椎骨、より包括的には脊椎のL2-S領域を指す。

40

【0159】

本明細書で使用される場合、「大槽内（ICM）投与」又は「大槽内（ICM）注射」という用語は、頭蓋と脊椎の一番上との間の開口部を介した小脳の周囲及び小脳の下の空

50

間への注射を指す。

【0160】

本明細書で使用される場合、「脳室内（ICV）投与」又は「脳室内（ICV）注射」という用語は、脊髄の中心管と連続する脳における腔への注射を指す。

【0161】

本明細書で使用される場合、「AQP4」又は「アクアポリン4」という用語は、中枢神経系において水輸送体として機能する膜タンパク質を指す。これは、血管を取り囲み、血液脳関門の完全性を維持するアストログリア細胞の血管周囲エンドフィートにおいて濃縮され、脳の水のバランスの制御において重要な役割を有する。

【0162】

本明細書で使用される場合、「 α -2アドレナリン作動性アゴニスト」という用語は、 α -2アドレナリン作動性受容体において作用するか又はそれに結合し、治療効果をもたらすために有効である、化合物、イオン、複合体などの化学実体を指す。

【0163】

本明細書で使用される場合、「高浸透圧」及び「低浸透圧」は、例えば、生理学的な浸透圧の関係における相対的な用語であるが、中枢神経系間質、脳間質及び／又は脊髄間質へのグリンパティック流の流入を増強させるために、2つの区画（血漿及び中枢神経系間質など）間で浸透圧の差又は勾配の最終的な目的が達成される限り、これと異なり得る。したがって、「高浸透圧溶液」は、高張食塩水又は糖溶液を含む、生理学的浸透圧に関して高浸透圧である、何らかの生理学的及び／又は薬学的に許容可能な溶液を指す。本明細書で言及されるように、本開示で好ましい高浸透圧溶液は、好ましくは、BBB破壊を引き起こさない。

【0164】

本明細書で使用される場合、「徐波睡眠」という用語は、第3相睡眠又は深い睡眠を指し、これは、非急速眼球運動（NREM）睡眠の最深相であり、デルタ波（EEGにより測定）を特徴とする。

【0165】

本明細書で使用される場合、「VEGF-C」という用語は、血管内皮増殖因子Cを指し、これは、血小板由来増殖因子／血内皮増殖因子ファミリーのメンバーである。VEGF-Cは、全てその全体において参照により本明細書に組み込まれる、国際公開第98／33917号パンフレット、Joukov et al., J. Biol. Chem., 273(12):6599-6602(1998); 及びJoukov et al., EMBO J., 16(13):3898-3911(1997)で詳述されている。

【0166】

本明細書で使用される場合、「抗体」という用語は、非共有結合により、可逆的に及び特異的に対応する抗原に結合可能である免疫グロブリンファミリーのポリペプチドを指す。例えば、天然のIgG抗体は、ジスルフィド結合により相互連結される少なくとも2本の重（H）鎖及び2本の軽（L）鎖を含む四量体である。各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書ではVHと略称）及び重鎖定常領域から構成される。重鎖定常領域は、3つのドメイン、CH1、CH2及びCH3から構成される。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書ではVLと略称）及び軽鎖定常領域から構成される。軽鎖定常領域は、1つのドメイン、CLから構成される。VH及びVL領域は、相補性決定領域（CDR）と呼ばれる超可変性の領域にさらに細かく分割され得、フレームワーク領域（FR）と呼ばれるより保存性が高い領域が散在する。各VH及びVLは、アミノ末端からカルボキシ末端に以下の順序で並ぶ3つのCDR及び4つのFRから構成される：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及びFR4。重鎖及び軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含有する。抗体の定常領域は、免疫系の様々な細胞（例えばエフェクター細胞）及び古典的補体系の第1の構成成分（C1q）を含む、宿主組織又は因子への免疫グロブリンの結合に介在し得る。

【0167】

10

20

30

40

50

「抗体」という用語は、モノクローナル抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、ラクダ化抗体、キメラ抗体及び抗イディオタイプ（抗 I d）抗体（例えば本開示の抗体に対する抗 I d 抗体を含む）を含むが、限定されない。抗体は、あらゆるアイソタイプ／クラス（例えば、I g G、I g E、I g M、I g D、I g A 及び I g Y）又はサブクラス（例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1 及び I g A 2）であり得る。

【0168】

「アンチセンスオリゴヌクレオチド」という用語は、長さに関係なく、核酸配列のコード鎖又は mRNA に相補的である核酸配列を指す。アンチセンス RNA は、個々の細胞、組織又はオルガナノイドに導入され得る。アンチセンス核酸は、修飾された骨格、例えば、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート又は当技術分野で公知の他の修飾された骨格を含有し得るか、又は非天然のヌクレオシド間連結を含有し得る。

10

【0169】

本明細書で使用される場合、「s i RNA」という用語は、転写後の特異的な遺伝子（単数又は複数）の発現に干渉する 2 本鎖 RNA 分子を意図する。いくつかの実施形態では、s i RNA は、RNA 干渉経路を使用して、遺伝子発現に干渉するか又はそれを阻害するように機能する。同様の干渉又は阻害効果は、低分子ヘアピン型 RNA（s h RNA）、マイクロ RNA（m RNA）及び／又は 1 つ以上の修飾された核酸残基—例えばペプチド核酸（P NA）、ロックド核酸（L NA）、アンロックド核酸（U NA）又はトリアゾール連結 DNA を含む核酸（s i RNA、s h RNA 又は m i RNA など）の 1 つ以上を用いて達成され得る。最適には、s i RNA は、18、19、20、21、22、23 又は 24 ヌクレオチド長であり、その 3' 末端に 2 塩基のオーバーハングを有する。これらの d s RNA は、個々の細胞又は培養系に導入され得る。このような s i RNA は、m RNA レベル又はプロモーター活性を下方制御するために使用される。

20

【0170】

本明細書で使用される場合、「ナノ粒子」という用語は、直径が 1000 ナノメートル（nm）未満であるあらゆる粒子を指す。いくつかの実施形態では、ナノ粒子の直径は、National Science Foundation によって定義される場合、300 nm 未満である。いくつかの実施形態では、ナノ粒子の直径は、National Institutes of Health によって定義される場合、100 nm 未満である。「ナノ粒子」という用語は、ナノ粒子サイズのリポソーム及び脂質粒子をさらに含む。

30

【0171】

「ポリアデニル化（p o l y A）シグナル配列」及び「ポリアデニル化配列」という用語は、転写終結のためのシグナルを提供する制御エレメントを指し、RNA 転写物の 3' 末端へのアデノシンホモポリマー鎖の付加を指す。ポリアデニル化シグナルは、終結シグナル（例えば、A A U A A A 配列又は他の非カノニカル配列）及び任意選択的にフランキング補助エレメント（例えば、G U—リッチエレメント）及び／又は効率的な切断及びポリアデニル化と関連する他のエレメントを含み得る。ポリアデニル化配列は、m RNA の 3' 末端へのポリアデニル化により連結される一連のアデノシンを含み得る。特異的なポリ A シグナル配列は、配列番号 22 又は配列番号 89 のポリ（A）シグナルを含み得る。いくつかの実施形態では、DNA 調節配列又は制御エレメントは、組織特異的な調節配列である。

40

【0172】

「転写後調節エレメント」（「P R E」）という用語は、m RNA に転写されたときに m RNA 転写物のレベルで遺伝子発現を調節する 1 つ以上の調節エレメントを指す。このような転写後調節エレメントの例は、マイクロ RNA 結合部位、RNA 結合タンパク質結合部位などをコードする配列を含み得る。本明細書で開示される核酸分子及びベクターとともに使用され得る転写後調節エレメントの例としては、ウッドチャック肝炎転写後調節エレメント（W P R E）、肝炎転写後調節エレメント（H P R E）が挙げられる。

【0173】

50

「ポリヌクレオチド」及び「核酸」という用語は、本明細書では互換可能に使用され、任意の長さのヌクレオチドのポリマー形態を指す。それらは、1つ以上のリボヌクレオチド又はデオキシリボヌクレオチドを含み得る。したがって、この用語には、一本鎖、二本鎖又は複数鎖のDNA又はRNA、ゲノムDNA、cDNA、DNA-RNAハイブリッド又はプリン及びピリミジン塩基又は他の天然、化学的若しくは生化学的に改変された、非天然の又は誘導体化されたヌクレオチド塩基、例えばロックド核酸(LNA)、ペプチド核酸(PNA)が含まれるが、これらに限定されない。

【0174】

「ペプチド」、「ポリペプチド」及び「タンパク質」という用語は互換可能に使用され、ペプチド結合によって共有結合されたアミノ酸残基から構成される化合物を指す。タンパク質又はペプチドは、典型的には、少なくとも2つのアミノ酸又はアミノ酸変異体を含み、タンパク質又はペプチドの配列を構成できるアミノ酸の最大数に制限はない。ポリペプチドには、ペプチド結合によって互いに結合された2つ以上のアミノ酸又は変異体を含む任意のペプチド又はタンパク質が含まれる。これらの用語には、例えば、とりわけ生物学的に活性なフラグメント、実質的に相同なポリペプチド、オリゴペプチド、ホモ二量体、ヘテロ二量体、ポリペプチドの変異体、改変ポリペプチド、誘導体、類似体、融合タンパク質などが含まれる。ポリペプチドには、天然ペプチド、組換えペプチド又はそれらの組み合わせが含まれる。

【0175】

「配列同一性」及び「配列相同性」という用語は、本明細書では互換可能に使用され、ポリヌクレオチド又はポリペプチドに関連して使用されるとき、ポリペプチドのポリヌクレオチドの2つの配列を比較又はアラインする場合、同一であり、同じ相対位置にある塩基又はアミノ酸のパーセンテージを指す。配列同一性は、いくつかの異なる方法で決定することができる。例えば、配列は、様々な方法及びコンピュータープログラム(例えば、BLAST、TCOFFEE、MUSCLE、MAFFTなど)を使用してアラインされ得る。例えば、Altschulet al., (1990) J. Mol. Biol., 215: 403-10を参照されたい。

【0176】

本明細書で論じられる核酸又はタンパク質に関して「単離された」という用語は、自然環境においてそれに関連して通常見出される1つ以上の成分から分離された核酸又はタンパク質を指す。分離は、より大きい核酸から(例えば、遺伝子又は染色体から)又は通常、核酸若しくはタンパク質と接触している他のタンパク質若しくは分子からの除去を含み得る。この用語は、完全な単離を包含するが、完全な単離であることを必要としない。

【0177】

本明細書で使用される場合、「異種核酸配列」を含む単離された核酸は、天然の状況において、単離された核酸の1つ以上の他の成分に作動可能に連結されていることが通常見出されない部分(すなわち異種核酸部分)を含む、単離された核酸を指す。例えば、異種核酸は、単離された核酸の他の成分(例えば、プロモーター)が天然に由来するか、又は単離された核酸の他の成分(例えば、プロモーター)が、細胞、細菌細胞、ウイルス又は生物において異種核酸と作動可能に連結されて天然に見出されない、細胞、細菌細胞、ウイルス又は生物に元々見られなかった核酸配列を含み得る。いくつかの実施形態では、異種核酸は、導入遺伝子を含む。本明細書で使用される場合、「導入遺伝子」は、本来は核酸分子の1つ以上の成分と関連していない目的の分子(例えば、治療用タンパク質、レポータータンパク質又は治療用RNA分子)をコードする核酸配列である。いくつかの実施形態では、異種核酸配列は、ヒトタンパク質をコードする。いくつかの実施形態では、異種核酸配列は、RNA配列、例えばshRNAをコードする。

【0178】

特定のRNAを「コード化」するDNA配列又はDNAポリヌクレオチド配列は、RNAに転写されることが可能なDNAの配列である。DNAポリヌクレオチドは、タンパク質に翻訳されるRNA(mRNA)をコードし得るか、又はDNAポリヌクレオチドは、

タンパク質に翻訳されないRNA（例えば、tRNA、rRNA又はガイドRNA；「非コード」RNA又は「ncRNA」とも呼ばれる）をコードし得る。DNA配列又はDNAポリヌクレオチド配列は、特定のポリペプチド又はタンパク質配列も「コード化」し得、例えば、DNAは、ポリペプチド又はタンパク質配列に翻訳され得るmRNAを直接コード化する。「タンパク質コード配列」又は特定のタンパク質又はポリペプチドをコードする配列は、適切な調節配列の制御下に置かれた場合、インビトロ又はインビボでmRNAに転写され（DNAの場合）、ポリペプチドに翻訳される（mRNAの場合）ことができる核酸配列である。コード配列の境界は、5'末端（N末端）の開始コドン及び3'末端（C末端）の翻訳終止ナンセンスコドンによって決定され得る。コード配列には、原核生物又は真核生物のmRNAからのcDNA、原核生物又は真核生物のDNAからのゲノムDNA配列及び合成核酸が含まれ得るが、これらに限定されない。転写終結配列は、通常、コード配列の3'側に位置する。

10

【0179】

本明細書で使用される場合、「プロモーター」又は「プロモーター配列」という用語は、例えば、RNAポリメラーゼの結合を介した、例えば下流（3'方向）のコーディング又は非コーディング配列の、作動可能に連結されたコーディング又は非コーディング配列の転写を促進することができる（例えば、検出可能なレベルの転写を引き起こすことができ、且つ／又はプロモーターの非存在下で提供されるレベルを超えて検出可能なレベルの転写を増加させることができる）DNA調節配列である。いくつかの実施形態では、プロモーター配列は、その3'末端で転写開始部位によって結合され、上流（5'方向）に伸びて、バックグラウンドを超えて検出可能なレベルで転写を開始するための最小数の塩基又はエレメントを含む。いくつかの実施形態では、プロモーター配列は、転写開始部位並びにRNAポリメラーゼの結合に関与するタンパク質結合ドメインを含み得る。転写を開始するのに十分な配列に加えて、プロモーターは、転写の調節に関与する他の調節エレメントの配列（例えば、エンハンサー、コザック配列及びイントロン）も含み得る。誘導性プロモーター及び構成的プロモーターを含む様々なプロモーターを使用して、本明細書に開示されるベクターを駆動し得る。いくつかの実施形態、例えば本明細書に開示されるウイルスベクターにおいて使用され得る当技術分野で公知のプロモーターの例には、CMVプロモーター、CBAプロモーター、smCBAプロモーター及び免疫グロブリン遺伝子、SV40又は他の組織特異的遺伝子に由来するプロモーター（例えば、RLBP1、RPE、VMD2）が含まれる。さらに、既知の調節エレメントを混合及び適合させることによって機能的プロモーターを作製するための標準的な技術が当技術分野で公知である。プロモーターのフラグメント、例えばバックグラウンドを超えて検出可能なレベルで転写を開始するために少なくとも最小数の塩基又はエレメントを保持するものも使用され得る。

20

30

【0180】

本明細書で互換可能に使用される「DNA調節配列」、「制御エレメント」及び「調節エレメント」という用語は、非コード配列（例えば、短いヘアピンRNA）又はコード配列（例えば、PGRN）の転写を提供及び／又は調節し、且つ／又はコードされたポリペプチドの翻訳を調節する、プロモーター、エンハンサー、サイレンサー、ポリアデニル化シグナル、ターミネーター、タンパク質分解シグナルなどの転写及び翻訳制御配列を指す。

40

【0181】

本明細書で使用される場合、「インビトロ」で実行されるプロセスは、通常の生物学的環境の外で実施されるプロセス、例えば試験管、フラスコ、ペトリ皿、人工培地で実施される研究を指す。「インビボ」で実行されるプロセスは、生物又は細胞内で実施されるプロセス、例えば細胞培養物又はマウスで実施される研究を指す。「エクスビボ」で実施される研究は、外部環境の生物からの組織内又は組織上で行われ、例えば天然条件の変更を最小限とし、例えばインビボ実験で可能であり得るよりも制御された条件下で生物の細胞又は組織の操作を可能にする、研究を指す。

【0182】

50

例えば、核酸、ポリペプチド、細胞又は生物に適用される、本明細書で使用される「天然に存在する」又は「未改変」という用語は、天然に見出されるものである。例えば、生物（ウイルスなど）に存在するポリペプチド又はポリヌクレオチド配列は、その生物に存在するか又は生物の1つ以上の成分から単離されるかにかかわらず、天然に存在する。

【0183】

いくつかの実施形態では、「ベクター」は、宿主細胞、例えばプラスミド、ファージ、トランスポゾン、コスミド、染色体、ウイルス、ピリオンなどの細胞、組織及び／又は生物への送達に適したより大きい核酸配列又は構造内の目的の核酸で発現することができる、目的の核酸（例えば、導入遺伝子）を含む、任意の遺伝的エレメント（例えば、DNA、RNA又はそれらの混合物）である。例えば、ベクターは、挿入物（例えば、発現される遺伝子又はその遺伝子のオープンリーディングフレームをコードする導入遺伝子を含む異種核酸）及び1つ以上のさらなるエレメント及び／又は挿入物を送達するか若しくはその発現を制御するのに適したエレメントを含み得る。ベクターは、例えば、適切な制御エレメントと関連している場合、複製及び／又は発現が可能であり得、そしてそれは、細胞間で遺伝情報を伝達することが可能であり得る。いくつかの実施形態では、ベクターは、宿主細胞における発現に適したベクター、例えばAAVベクターであり得る。いくつかの実施形態では、ベクターは、例えば、細胞又はバイオリクターにおける、発現及び／又は複製に適したプラスミドであり得る。いくつかの実施形態では、標的細胞における異種核酸配列、例えば目的のタンパク質、shRNAなどをコードする導入遺伝子の発現のために特異的に設計されたベクターは、発現ベクターと呼ばれ得、一般に導入遺伝子の発現を駆動するプロモーター配列を有する。他の実施形態では、ベクター、例えば転写ベクターは、転写されることが可能であるが、翻訳されない可能性がある。それらは、標的細胞において複製され得るが、発現されない。転写ベクターを使用してその挿入物を増幅し得る。

【0184】

「プラスミド」という用語は、プラスミドが宿主細胞内で複製されるような無傷の「レプリコン」を含む非染色体（及び典型的には二本鎖）のDNA配列を指す。プラスミドは、環状核酸であり得る。プラスミドが単細胞生物内に配置されると、プラスミドのDNAの結果として、その生物の特性が変化又は変換される。例えば、テトラサイクリン耐性（TcR）の遺伝子を保有するプラスミドは、以前はテトラサイクリンに感受性だった細胞を、テトラサイクリンに耐性のある細胞に変換する。

【0185】

本明細書で使用される場合、「組換えウイルス」という用語は、導入遺伝子又は他の異種核酸を含む非野生型及び／又は人工的に産生された組換えウイルス（例えば、パルボウイルス、アデノウイルス、レンチウイルス又はアデノ随伴ウイルスなど）を指す。組換えウイルスは、ウイルス（例えば、AAV）キャプシド内にパッケージングされた組換えウイルスゲノムを含み得る。特定の種類の組換えウイルスは、「組換えアデノ随伴ウイルス」又は「rAAV」であり得る。ウイルスキャプシドにパッケージングされた組換えウイルスゲノムは、ウイルスベクターであり得る。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される組換えウイルスは、ウイルスベクターを含む。ウイルスベクターの例には、アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクター、キメラAAVベクター、アデノウイルスベクター、レトロウイルスベクター、レンチウイルスベクター、DNAウイルスベクター、単純ヘルペスウイルスベクター、バキュロウイルスベクター又はその変異体若しくは誘導体が含まれるが、これらに限定されない。

【0186】

別の実施形態では、「トランスフェクション」という用語は、外因性DNAが細胞膜内に導入されると細胞が「トランスフェクト」されるような、細胞による外来DNAの取り込みを指すために使用される。例えば、Graham et al., (1973) Virology, 52:456; Sambrook et al., (1989) Molecular Cloning, a laboratory manual, Cold S

10

20

30

40

50

pring Harbor Laboratories, New York; Davis et al., (1986) Basic Methods in Molecular Biology, Elsevier; Chu et al., (1981) Gene, 13:197を参照されたい。このような技術を使用して、1つ以上の外因性DNA部分を適切な宿主細胞に導入することができる。いくつかの実施形態では、「形質導入」という用語は、細胞による外来DNAの取り込みを指すために使用され、外来DNAは、ウイルス又はウイルスベクターによって提供される。その結果、外因性DNAが細胞膜内に導入されると、細胞は「形質転換」される。いくつかの実施形態では、「形質転換」という用語は、細菌細胞による外来DNAの取り込みを指すために使用される。

【0187】

本明細書で使用される場合、「細胞株」という用語は、インビトロでの連続的な又は長期の成長及び分裂が可能な細胞の集団を指す。特定の状況では、そのようなクローン集団の保存又は導入中に核型に自発的变化又は誘発された変化が発生し得る。したがって、言及される細胞株に由来する細胞は、祖先の細胞又は培養物と正確に同一ではない可能性があり、言及される細胞株は、そのような変異体を含む。

【0188】

「作動可能に連結された」という用語は、2つ以上のポリヌクレオチド（例えば、DNA）セグメント間の機能的関係を指す。典型的には、この用語は、転写調節配列と転写される配列との機能的関係を指す。例えば、プロモーター又はエンハンサー配列は、例えば、それが適切な宿主細胞又は他の発現系におけるコード配列の転写を刺激又は調節する場合、コード配列に作動可能に連結される。一般に、配列に作動可能に連結されたプロモーター転写調節配列は、その配列に隣接しているか又は短いスペーサー配列によって分離されており、すなわち、それらは、シス作用性である。しかし、エンハンサーなどの一部の転写調節配列は、物理的に隣接している必要はなく、転写が増強されるコード配列に近接して配置されている必要もない。

【0189】

本明細書で使用される場合、「AAVベクター」という用語は、AAV-1、AAV-2、AAV-3、AAV-4、AAV-5、AAV-6、AAV-7、AAV-8又はAAV-9ウイルスベクターを含むが、これらに限定されない、アデノ随伴ウイルス血清型に由来する1つ以上の核酸配列に由来するか又はそれを含むベクターを指す。AAVベクターは、例えば、機能的隣接末端逆位反復（「ITR」）配列を保持しながら、全体又は一部、例えばrep及び／又はcap遺伝子が欠失した、1つ以上のAAV野生型遺伝子を有し得る。いくつかの実施形態では、AAVベクターは、例えば、1つ以上のAAVキャプシドタンパク質を含む、タンパク質シェル又はキャプシドにパッケージングされ得、これは、標的細胞の核へのベクター核酸の送達のための媒体を提供し得る。いくつかの実施形態では、AAVベクターは、1つ以上のAAV ITR配列（例えば、AAV2 ITR配列）を含む。いくつかの実施形態では、AAVベクターは、1つ以上のAAV ITR配列（例えば、AAV2 ITR配列）を含むが、追加のウイルス核酸配列を含まない。いくつかの実施形態では、AAVベクター成分（例えば、ITR）は、rAAVキャプシドと異なる血清型ウイルスに由来する（例えば、AAVベクターは、AAV2に由来するITRを含み得、AAVベクターは、AAV9キャプシドにパッケージングされ得る）。これらのベクター構築物の実施形態は、例えば、国際公開第2019/094253号パンフレット（PCT/US2018/058744号）に提供され、これは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0190】

いくつかの実施形態では、「scAAV」は、自己相補的アデノ随伴ウイルス（scAAV）である。scAAVのベクターの少なくとも一部（例えば、コード領域の少なくとも一部）が分子内二本鎖DNAを形成するため、scAAVは「自己相補的」と呼ばれる。いくつかの実施形態では、rAAVはscAAVである。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは、天然に存在するアデノ随伴ウイルス（AAV）から操作されて、遺伝

10

20

30

40

50

子治療における使用のための s c A A V を提供する。これらのベクター構築物の実施形態並びにそれらを調製及び精製する方法は、例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる国際公開第 2 0 1 9 / 0 9 4 2 5 3 号パンフレット (P C T / U S 2 0 1 8 / 0 5 8 7 4 4 号) に提供される。

【 0 1 9 1 】

いくつかの実施形態では、「 s s A A V 」は一本鎖アデノ随伴ウイルス (s s A A V) である。 s s A A V のベクターの少なくとも一部 (例えば、コード領域の少なくとも一部) が一本鎖 DNA であるため、 s s A A V は「一本鎖」と呼ばれる。いくつかの実施形態では、 r A A V は s s A A V である。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは、天然に存在するアデノ随伴ウイルス (A A V) から操作されて、遺伝子治療における使用のための s s A A V を提供する。

10

【 0 1 9 2 】

本明細書で使用される場合、「ウイルス」又は「ビリオン」は、ウイルスベクターを例えば単独で又は 1 つ以上のウイルスキャプシドなどの 1 つ以上のさらなる成分と組み合わせるウイルス粒子を示す。例えば、 A A V ウイルスは、例えば、 A A V キャプシドタンパク質コートに関連する直鎖状の一本鎖 A A V 核酸ゲノムを含み得る。

【 0 1 9 3 】

いくつかの実施形態では、「ウイルス」、「ビリオン」、「 A A V ウイルス」、「組換え A A V ビリオン」、「 r A A V ビリオン」、「 A A V ベクター粒子」、「完全キャプシド」、「完全粒子」などの用語は、感染性の複製欠損ウイルス、例えば、例えば片側又は両側に A A V I T R が隣接するウイルスベクターにおいて、目的の異種ヌクレオチド配列をキャプシド形成する A A V タンパク質シェルを含むものを指す。 r A A V ビリオンは、配列、例えば A A V ベクターを特定する 1 つ以上のプラスミドを単独で又は (例えば、同じ又は追加のプラスミド上の) A A V ヘルパー機能及びアクセサリ機能 (キャップ遺伝子など) をコードする核酸と組み合わせる、適切な宿主細胞において産生され得る。いくつかの実施形態では、宿主細胞は、その後の遺伝子送達のために、 A A V ベクター (目的の組換えヌクレオチド配列を含む) を感染性組換えビリオン粒子にパッケージングすることを提供する A A V ポリペプチドをコードすることができるようになる。

20

【 0 1 9 4 】

「末端逆位反復」又は「 I T R 」という用語は、例えば、アデノ随伴ウイルス (A A V) 及び / 又は組換えアデノ随伴ウイルスベクター (r A A V) において、 T 型パリンドローム構造を形成することができる一連のヌクレオチド配列を指す。 M u z y c z k a e t a l . , (2 0 0 1) F i e l d s V i r o l o g y , C h a p t e r 2 9 , L i p p i n c o t t W i l l i a m s & W i l k i n s . 組換え A A V ベクターでは、これらの配列は、ゲノムパッケージング及び第 2 鎖合成において機能的な役割を果たし得る。

30

【 0 1 9 5 】

「宿主細胞」という用語は、目的の外因性核酸、例えば 1 つ以上の微生物、酵母細胞、昆虫細胞又は哺乳動物細胞を含む細胞を意味する。例えば、宿主細胞は、 A A V ヘルパー構築物、 A A V ベクタープラスミド、アクセサリ機能ベクター及び / 又は他のトランスファー DNA を含み得る。この用語には、トランスフェクトされた元の細胞の子孫が含まれる。単一の親細胞の子孫は、自然、偶発的又は意図的な変異のために、形態又はゲノム又は全 DNA 補体が元の親と必ずしも完全に同一であるとは限らない。

40

【 0 1 9 6 】

「 A A V ヘルパー機能」という用語は、 A A V 遺伝子産物 (例えば、生産的な A A V 複製のためにトランスで機能するもの) を提供するために発現され得る A A V 由来のコード配列を指す。例えば、 A A V ヘルパー機能には、主要な A A V オープンリーディングフレーム (O R F) 、 r e p 及び c a p の両方が含まれ得る。 R e p 発現産物は、とりわけ、 DNA 複製の A A V 起点の認識、結合及びニッキング ; DNA ヘリカーゼ活性 ; 及び A A V (又は他の異種) プロモーターからの転写の調節を含む、多くの機能を有することが示

50

されている。Cap発現産物は、必要なパッケージング機能を提供する。本明細書では、AAVヘルパー機能を使用して、AAVベクターから欠落しているトランスのAAV機能が補完され得る。

【0197】

「AAVヘルパー構築物」という用語は、一般に、AAVベクターから欠失されたAAV機能を提供するタンパク質又は核酸を提供又はコードするヌクレオチド配列を含む核酸分子、例えば標的細胞又は組織への目的のヌクレオチド配列の送達のためのベクターを指す。AAVヘルパー構築物は、AAV複製のために欠落しているAAV機能を補完するためにAAV rep及び／又はcap遺伝子の一過性発現を提供するために一般的に使用される。典型的には、ヘルパー構築物はAAV ITRを欠き、自身の複製もパッケージ化もできない。AAVヘルパー構築物は、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り得る。Rep及びCap発現産物の両方をコードする一般的に使用されるプラスミドpAAV/Ad及びpLM29+45など、多くのAAVヘルパー構築物が開示されている。例えば、Samulski et al., (1989) J. Virol., 63:3822-3828; McCarty et al., (1991) J. Virol., 65:2936-2945を参照されたい。Rep及び／又はCap発現産物をコードする他の多くのベクターが開示されている。例えば、米国特許第5,139,941号明細書及び第6,376,237号明細書を参照されたい。これらのベクター構築物の実施形態並びにそれらを調製及び精製する方法は、例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる国際公開第2019/094253号パンフレット(PCT/US2018/058744号)に提供される。

10

20

【0198】

グリーンパティック流

一態様では、本開示は、グリーンパティック流入を調整することにより、標的組織、例えば脳への薬剤のAAV送達を改善する方法を提供する。グリーンパティックは、血管に隣接する星状細胞によって形成される動脈周囲腔沿いの脳のより深い領域にCSFが引き込まれる、最近認識された系であり、CSFは、対応する細静脈周囲空間において脳を出る前に間質液と交流し得る。この系は、脳実質からの流体の動き及び巨大分子除去において主要な役割を果たすと考えられる。AAVベクターと同等なサイズのリポタンパク質などのより大きい粒子は、グリーンパティック系を通して動く。AAV分布パターンは、脳表面を裏打ちする膜を横断するベクターの限定的な拡散及びベクター侵入が主にグリーンパティック流入を通して起こることと一致することが発見されている。グリーンパティック流入を増強させることによって中枢神経系間質、脳間質及び／又は脊髄間質へのAAV送達が達成されることが予想外にも発見された。具体的に、本開示は、i)それを必要とする対象の中枢神経系への医薬組成物の送達の改善；ii)神経学的疾患の処置を必要とする対象に対して神経学的疾患を処置する方法であって、医薬組成物は、神経学的疾患に関連する遺伝子をコードするAAVを含む、方法；iii)脳における形質導入効率及び／又は神経変性治療剤の分布を改善する方法；iv)髄腔内送達された医薬組成物の効果を向上させる方法；v)ウイルスベクターを含む医薬組成物で処置された患者の集団の間でのウイルスベクターの脳分布のばらつきを低減する方法；及びvi)対象における肝臓及び／又はDRG毒性を低減させるために、CNSを標的とする医薬組成物の全身曝露の低減を必要とする対象のCNSを標的とする医薬組成物の全身曝露を低減させる方法のためにグリーンパティック流入の促進が使用され得ることを提供する。

30

40

【0199】

グリーンパティック流入は、多くの方法を介して増強され得る。いくつかの実施形態では、グリーンパティック流入は、睡眠周期中にCSF流入と同時に起こるようするためのベクター投与のタイミングにより促進され得る。いくつかの実施形態では、グリーンパティック流入は、AQP4促進物、例えばTGN-073を投与することによって増強され得る。いくつかの実施形態では、グリーンパティック流入は、AQP4上方制御により、例えばセボフルラン麻酔により、増強され得る。いくつかの実施形態では、グリーンパティック流

50

入は、 α -2 アドレナリン作動性アゴニスト、例えばデクスメドミジン（プレセデックス又はデクスドミトール）によって増強され得る。いくつかの実施形態では、グリンパティック流入は、ケタミン及びキシラジンの組み合わせによって増強され得る。いくつかの実施形態では、グリンパティック流入は、高張食塩水又はマンニトールを用いた血漿高浸透圧の誘導によって増強され得る。

【0200】

AQP4

アクアポリン4（AQP4）、水チャンネルサブタイプは、脳で非常に高く発現される。CSF及びISFの置き換えは、脳の脈管構造を包む星状細胞エンドフィートにおけるアクアポリン4（AQP4）水チャンネルに依存する。残りの細胞と比較してエンドフィートにおけるAQP4の異なる分布を示す、AQP4発現又は極性化の変化は、グリンパティック機能の攪乱と関連する。グリンパティック系がアミロイド β を除去し得るという観察と一致して、アルツハイマー病の動物モデルにおけるAqp4遺伝子の欠失により引き起こされるグリンパティック機能の低下は、アミロイド β 2及び τ の蓄積向上につながる。16個のAQP4極性化の異常はアルツハイマー患者でも見られ、これは、ヒトにおけるアルツハイマー病でもグリンパティック機能が重要な役割を果たし得るとい

10

【0201】

いくつかの実施形態では、グリンパティック流入は、血液脳関門内の間質液循環を増強する薬剤によって増強され、例えば薬剤は、アクアポリン4（AQP4）促進物質、例えばTGN-073（N-（3-ベンジルオキシピリジン-2-イル）-ベンゼン-スルホンアミド）を含む。いくつかの実施形態では、この薬剤は、AQP4発現を上方制御する化合物（例えば、セボフルラン）又はAQP4の細胞内局在を変化させる化合物を含む。別の実施形態では、本薬剤は、JNJ-17299425又はJNJ-17306861など、AQP4脱分極又はAQP4極性の喪失を防ぐ薬剤であり得る。

20

【0202】

α -2 アドレナリン作動性アゴニスト及び麻酔薬

グリンパティック経路は、徐波の周期的変動を促進する睡眠又は麻酔中に主に活性がある。深いNREM睡眠の重要な特性であるCNSノルアドレナリン作動性トーンの低下は、間質腔体積を拡大することによって間質液の流れに対する抵抗性を低下させるため、高いグリンパティック流入と関連付けられている。 α 2-アドレナリン作動性アゴニストは、既知の鎮静剤であり、脳波（EEG）における徐波デルタ周期変動上昇に関連してステージII～IIIのNREM睡眠と同様の鎮静状態を誘導し、ノルアドレナリン作動性トーンを劇的に低下させる。試験から、デクスメドミジン、選択的 α 2-アドレナリン作動性アゴニストが、グリンパティック流の調整により、EEG徐波活性を増強し、マウス及びラットにおいて髄腔内投与された薬物の脳及び脊髄薬物曝露を増大させることが示されている。T. O. Lilius et al., Journal of Controlled Release, 304: 29-38 (2019). Glymphatic system activity increases during sleep or ketamine/xylazine (K/X) anesthesia in mice, and is correlated with high EEG delta power and low heart rate. Hablitz et al., Sci Adv. 5 (2): eaav5447 (2019).

30

40

【0203】

一実施形態では、本薬剤は、アルファ2-アドレナリン作動性受容体（ α 2-AR）アゴニストである。一実施形態では、 α 2-ARアゴニストは、デクスメドミジンである。例えば、その全体において参照により組み込まれるLilius TO, et al. Dexmedetomidine enhances glymphatic brai

50

n delivery of intrathecally administered drugs. J Control Release. 2019 Jun 28;304:29-38を参照されたい。いくつかの実施形態では、本薬剤は、クロニジン、シザニジン及びデクスメトミジン（例えば、プレセデックス又はデクスドミトール）からなる群から選択される α -2アドレナリン作動性アゴニストを含む。

【0204】

一実施形態では、本薬剤は、グリンパティック流を増強させる。一実施形態では、本薬剤は、グリンパティック流入を増強させる。一実施形態では、本薬剤は、麻酔薬、例えば一般的な麻酔薬である。一実施形態では、麻酔は、プロポフォール、フォスプロポフォール、ケタミン、バルビツレート（例えば、チオペンタール、チオペントン及びメトヘキシタール）、ベンゾジアゼピン（例えばミダゾラム）、エトミダート、イソフルラン、デスフルラン及びセボフルランからなる群から選択される。例えば、その全体において参照により組み込まれるHablit LM, et al. Increased glymphatic influx is correlated with high EEG delta power and low heart rate in mice under anesthesia. Sci Adv. 2019 Feb 27;5(2):eaav5447を参照されたい。

【0205】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、グリンパティック流入を増強させる1つ以上のFDA承認済みの麻酔薬を含む。いくつかの実施形態では、麻酔薬は、ケタミン、デクスメトミジン若しくはキシラジン又はそれらの組み合わせである。好ましい実施形態では、本薬剤は、ケタミン及びデクスメトミジンの組み合わせを含む。

【0206】

いくつかの実施形態では、対象は、最初にケタミンを投与され、続いて医薬組成物を投与され、且つ続いてデクスメトミジンを投与される。

【0207】

いくつかの実施形態では、ケタミンは、医薬組成物の投与の約1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55又は60分前及び好ましくは約10～15分前に投与される。

【0208】

いくつかの実施形態では、ケタミンは、約100mg/kg、約90mg/kg、約80mg/kg、約70mg/kg、約60mg/kg、約50mg/kg、約40mg/kg、約30mg/kg、約20mg/kg、約10mg/kg、約9mg/kg、約8mg/kg、約7mg/kg、約6mg/kg、約5mg/kg、約4mg/kg、約3mg/kg、約2mg/kg、約1mg/kg、好ましくは約10mg/kgで投与される。

【0209】

いくつかの実施形態では、デクスメトミジンは、約1mg/kg、約0.9mg/kg、約0.8mg/kg、約0.7mg/kg、約0.6mg/kg、約0.5mg/kg、約0.4mg/kg、約0.3mg/kg、約0.2mg/kg、約0.1mg/kg、約0.09mg/kg、約0.08mg/kg、約0.07mg/kg、約0.06mg/kg、約0.05mg/kg、約0.04mg/kg、約0.03mg/kg、約0.02mg/kg、約0.01mg/kg、約0.009mg/kg、約0.008mg/kg、約0.007mg/kg、約0.006mg/kg、約0.005mg/kg、好ましくは約0.02mg/kgで投与される。

【0210】

いくつかの実施形態では、対象は、セボルランをさらに投与され、続いてデクスメトミジンを投与される。

【0211】

いくつかの実施形態では、セボルランは、吸入剤として投与される。

【0212】

血漿高浸透圧の誘導

別の態様では、グリーンパティック流入の増強は、血漿高浸透圧を誘導することによって達成され得る。本明細書で使用される場合、「高浸透圧」及び「低浸透圧」は、例えば、生理学的な浸透圧の関係における相対的な用語であるが、中枢神経系間質、脳間質及び／又は脊髄間質へのグリーンパティック流の流入を促進するために、2つの区画（血漿及び中枢神経系間質）間で浸透圧の差又は勾配の最終的な目標が達成される限り、これと異なり得る。したがって、「高浸透圧溶液」は、高張食塩水又は糖溶液を含む、生理学的浸透圧に関して高浸透圧である、何らかの生理学的及び／又は薬学的に許容可能な溶液を指す。本明細書で言及されるように、本開示で好ましい高浸透圧溶液は、BBB破壊を引き起こさない。

10

【0213】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、高張食塩水（例えば、酢酸ナトリウムあり若しくはなしの塩化ナトリウム）又はマンニトールを含む。好ましい実施形態では、本薬剤は、酢酸ナトリウムあり又はなしの高張食塩水を含む。いくつかの実施形態では、高張食塩水は、2% NaCl、3% NaCl、5% NaCl、7% NaCl又は23% NaCl、好ましくは3% NaClである。いくつかの実施形態では、3% NaClは、約2～3.5 ml/kgで投与される。

【0214】

いくつかの実施形態では、本薬剤は、医薬組成物の投与の約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20分前又は後、好ましくは約5分前又は後に静脈内又は点滴注射によって投与され、任意選択的に、この投与は、反復され得る。

20

【0215】

睡眠

試験から、グリーンパティック機能が睡眠中に向上し、睡眠障害によって害されることが示された。Xie et al., Science 342:373-377 (2013)。睡眠欠乏は、AQP4発現の変化につながる。Kylkilahti et al., Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism 0():1-13 (2021)。

【0216】

一実施形態では、本薬剤は、徐波睡眠を増加させる非麻酔剤である。一実施形態では、本薬剤は、GAT-1阻害剤、選択的シナプス外GABA Aアゴニスト、電位開口型カルシウムイオンチャネルにおける $\alpha 2-\delta$ 部位、GABAB/GHBアゴニスト、部分的に選択的な5HT_{2A}受容体アンタゴニスト及びセロトニン_{2A}受容体のアンタゴニスト（ASTAR）からなる群から選択される。一実施形態では、本薬剤は、チアガビン、ガボキサドール、ガバペンチン、プレガバリン、GHB、リタンセリン、エプリバンセリン、ミルタザピン、オランザピン及びトラゾドンからなる群から選択される。徐波睡眠を増加させるさらなる薬剤は、その全体において参照により組み込まれるWalsh, J. K. Enhancement of Slow Wave Sleep: Implications for Insomnia. Journal of Clinical Sleep Medicine. 2009, 5(2):S27-S32に記載されている。

30

【0217】

VEGF-Cの増強

試験から、血内皮増殖因子C（VEGF-C）がリンパ内皮細胞において受容体に結合し、内皮にも影響することが示される。Joukov et al. EMBO J. 15(2):290-298 (1996)。マウスにおけるVEGF-Cの発現は、リンパ管の成長につながる。Da Mesquita et al., Nature 560(7717):185-191 (2018)。

【0218】

いくつかの実施形態では、グリーンパティック流入を増強させる薬剤は、VEGF-Cを

50

含む。いくつかの実施形態では、VEGF-Cは、(i)表1で提供される配列のいずれか1つのアミノ酸配列又はそれと少なくとも95%配列同一性がある配列(任意選択的に、この配列は、リンカー(例えば、グリシン-セリンリンカー)及び/又はhisタグを含むか又は含まない);及び/又は(ii)配列番号1に従って付番されるC137Aのアミノ酸置換を含む。

【0219】

表1 VEGF-C及びその変異体

以下の配列は、単量体に対応する。二量体が形成される場合、2つの同じ配列がシステイン架橋を介して一緒に編成される。hisタグは実験目的のために使用されるが、全ての実施形態では必要とされない可能性があることに留意されたい。

【0220】

10

20

30

40

50

【表 1】

配列番号:	説明	配列	解説
1	>sp P49767 VEGFC ヒト血内皮増殖因子C OS=ホモサピエンス (Homo sapiens) OX=9606 GN=VEGFC PE=1 SV=1	MHL LGFFSVACSL LAAALLPGPREAPAAAAAFE SGLDLSDAEPDAGEATAYASKDLEEQLRSVSS VDELM TVLYPEYWKMYKCQLRKGGWQH N REQANLSNRTEETIKFAAAHYNTEILKSIDNEW RKTQCM PREVCIDVGKEFGVATNTFFKPPCVSV YRCGCCNSEGLQCMNTSTSYLSKTLFEITVPLS QGPKPVTISFANHTSCRCMSKLDVYRQVHSIIRR SLPATLPQCAANKTCPTNYMWN NHICRCLAQ EDFMFSSDAGDDSTDGFHDICGPNKELDEETCQ CVCRAGLRPASCGPHKELDRNSCQCVCCKNKLFP SQCGANREFDENTCQCVCCKRTCPRNQPLNPGK CACECTESPOKCLLKGGKFHHQTCSCYRRPCTN RQKACEPGFSYSEEVCRVCPSYWKRPQMS	下線: 切断された残基 太字:プロペプチド
2	>1 未熟ペプチド (32-227)- VEGFC_His	FESGLDLSDAEPDAGEATAYASKDLEEQLRSVS SVDELMTVLYPEYWKMYKCQLRKGGWQH NRE QANLSNRTEETIKFAAAHYNTEILKSIDNEW RKT QCM PREVCIDVGKEFGVATNTFFKPPCVSVYRC GGCCNSEGLQCMNTSTSYLSKTLFEITVPLSQGP KPV TISFANHTSCRCMSKLDVYRQVHSIIRRGSH HHHHH	下線: プロペプチド 二重下線: GSリンカー 太字:hisタグ
3	>1 未熟ペプチド (32-227)-VEGFC	FESGLDLSDAEPDAGEATAYASKDLEEQLRSVS SVDELMTVLYPEYWKMYKCQLRKGGWQH NRE QANLSNRTEETIKFAAAHYNTEILKSIDNEW RKT QCM PREVCIDVGKEFGVATNTFFKPPCVSVYRC GGCCNSEGLQCMNTSTSYLSKTLFEITVPLSQGP KPV TISFANHTSCRCMSKLDVYRQVHSIIRR	下線: プロペプチド
4	>2 主要な成熟 (112-227)- VEGFC_His	AHYNTEILKSIDNEW RKTQCM PREVCIDVGKEF GVATNTFFKPPCVSVYRCGGCCNSEGLQCMNT STSYLSKTLFEITVPLSQGP KPV TISFANHTSCRC MSKLDVYRQVHSIIRRGSHHHHHH	二重下線: GSリンカー 太字:hisタグ
5	>2 主要な成熟 (112-227)-VEGFC	AHYNTEILKSIDNEW RKTQCM PREVCIDVGKEF GVATNTFFKPPCVSVYRCGGCCNSEGLQCMNT STSYLSKTLFEITVPLSQGP KPV TISFANHTSCRC MSKLDVYRQVHSIIRR	
6	>7 非主要な成熟 (103-227)- VEGFC_His	TEETIKFAAAhynteilksidnewrktqcm prevcidvgkefgvat ntffkppcvsvyrcggccnseglqcmntstsy lsktlfeitvplsqqgpkpv tisfanhtscrcmskldvyrqvhsiirrgshhhhhh	大文字:プロペプチド のフラグメント 二重下線: GSリンカー 太字:hisタグ
7	>7 非主要な成熟 (103-227)-VEGFC	TEETIKFAAAhynteilksidnewrktqcm prevcidvgkefgvat ntffkppcvsvyrcggccnseglqcmntstsy lsktlfeitvplsqqgpkpv tisfanhtscrcmskldvyrqvhsiirr	大文字:プロペプチド のフラグメント
8	>8 突然変異がある 非主要な成熟 (103-227)- VEGFC_C137A_His	TEETIKFAAAhynteilksidnewrktqcm prevAidvgkefgva ntffkppcvsvyrcggccnseglqcmntstsy lsktlfeitvplsqqgpkp vtisfanhtscrcmskldvyrqvhsiirrgshhhhhh	大文字:プロペプチド のフラグメント

10

20

30

40

【0221】

【表 2】

			大文字、太字A: CからAへの 突然変異 <u>二重下線</u> : GSリンカー 太字:hisタグ
9	>8 突然変異がある 非主要な成熟 (103-227)- VEGFC_C137A	TEETIKFAAahynteilksidnewrktqcmprevAidvgkefgva tntffkppcvsvyreggcenseglqcmntstyslskltfeitvplsqqgpkp vtisfanhtscrcmskldvyrqvhsiirr	大文字:プロペプチド のフラグメント 大文字、太字A: CからAへの突然変異
10	>9 突然変異が ある主要な成熟 (112-227)- VEGFC_C137A_His	ahynteilksidnewrktqcmprevAidvgkefgvatntffkppcvsv yreggcenseglqcmntstyslskltfeitvplsqqgpkpvtisfanhtscrc mskldvyrqvhsiirrgshhhhhh	大文字、太字A:C からAへの突然変異 <u>二重下線</u> : GSリンカー 太字:hisタグ
11	>9 突然変異がある 主要な成熟 (112-227)- VEGFC_C137A	ahynteilksidnewrktqcmprevAidvgkefgvatntffkppcvsv yreggcenseglqcmntstyslskltfeitvplsqqgpkpvtisfanhtscrc mskldvyrqvhsiirr	大文字、太字A: CからAへの 突然変異
12	プロペプチド	FESGLDLSDAEPDAGEATAYASKDLEEQLRSVS SVDELMTVLYPEYWKMVKCQLRKGGWQHNRE QANLNSRTEETIKFAA	
13	プロペプチドの フラグメント	TEETIKFAA	
14	VEGF-Cコンセンサス	ahynteilksidnewrktqcmprevXidvgkefgvatntffkppcvsv yreggcenseglqcmntstyslskltfeitvplsqqgpkpvtisfanhtscrc mskldvyrqvhsiirr	この配列中で、 XはC又はA
15	VEGF-C	ahynteilksidnewrktqcmprevcidvgkefgvatntffkppcvsv reggcenseglqcmntstyslskltfeitvplsqqgpkpvtisfanhtscrc mskldvyrqvhsiirr	
16	突然変異がある VEGF-C	ahynteilksidnewrktqcmprevAidvgkefgvatntffkppcvsv yreggcenseglqcmntstyslskltfeitvplsqqgpkpvtisfanhtscrc mskldvyrqvhsiirr	大文字、太字A: CからAへの突然変異

【0222】

試験から、成体マカクに対して、リクライニングテーブル上で身体を仰臥位にして頭部を足のおよそ30°下にして、トレンドレンブルグ体位で5分又は10分置くことにより、AAV9の髄腔内点滴後に腰髄と比較して頸部の伝達が増加することが示される。これにより、重力がベクター分布に影響を及ぼすこと及び頭部を足よりも下に置くことにより脳への送達を改善し得ることが示唆される。Castle et al., Sci Adv 4(11): eaa9859(2018)。

【0223】

いくつかの実施形態では、医薬組成物の投与後、約5～10分間、約10～30分間、約30分～1時間、約1～2時間、約2～3時間又は約3～4時間にわたり、後肢を高くした体位、例えばトレンドレンブルグ様体位に対象を維持する。好ましい実施形態では、医薬組成物の投与後、約1～2時間にわたり、後肢を高くした体位、例えばトレンドレンブルグ様体位に対象を維持する。

【0224】

一態様では、本開示は、中枢神経系への医薬組成物の送達を改善する方法を提供する。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、ウイルスベクター、抗体、アンチセンスオリゴヌクレオチド又はナノ粒子を含む。

【0225】

いくつかの実施形態では、ベクターは、ウイルスベクターである。いくつかの実施形態では、ベクターは、導入遺伝子配列を神経細胞又は組織に送達するために使用されるウイルスベクターである。ベクターに使用されるウイルスの例には、レトロウイルス、アデノウイルス、レンチウイルス、アデノ随伴ウイルス及び他のハイブリッドウイルスが含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは、アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクター、キメラAAVベクター、アデノウイルスベクター、レトロウイルスベクター、レンチウイルスベクター、DNAウイルスベクター、単純ヘルペスウイルスベクター、バキュロウイルスベクター又はそれらの任意の変異体若しくは誘導体である。

【0226】

理論に拘束されるものではないが、本明細書に開示されるウイルスベクターは、それらが感染する宿主細胞にそれらのゲノムを挿入して、その核酸配列を宿主に送達し得る。挿入されたウイルスゲノムは、エピソームであるか、又はランダムであるか又は標的化され得る部位で宿主細胞の染色体に組み込まれ得る。一実施形態では、ベクターは、導入遺伝子配列を細胞に送達するために使用されるウイルスベクターである。ベクターに使用されるウイルスの例には、レトロウイルス、アデノウイルス、レンチウイルス、アデノ随伴ウイルス及び他のハイブリッドウイルスが含まれるが、これらに限定されない。Warnock et al., (2011) Methods Mol. Biol., 737:1-25。レンチウイルスは、有意な量のウイルスDNAを宿主細胞に組み込むことができるレトロウイルスの属であり、遺伝子送達の効率的な方法となる。一方、アデノウイルスは、宿主細胞の染色体に組み込まれていない遺伝物質を導入するため、宿主細胞を破壊するリスクが減少する。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは、アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクター、キメラAAVベクター、アデノウイルスベクター、レトロウイルスベクター、レンチウイルスベクター、DNAウイルスベクター、単純ヘルペスウイルスベクター、バキュロウイルスベクター又はそれらの任意の変異体若しくは誘導体である。

【0227】

いくつかの実施形態では、導入遺伝子を含むベクターは、アデノ随伴ウイルス（AAV）であるか又はそれに由来する。いくつかの実施形態では、ベクターは、組換えアデノ随伴ウイルスベクター（rAAV）である。rAAVゲノムは、ポリペプチド（hPGRNポリペプチドを含むが、これらに限定されない）をコードするか、又は変異タンパク質若しくはそれらの遺伝子の制御配列に向けられたsiRNA、shRNA、アンチセンス及び／又はmiRNAをコードする導入遺伝子配列に隣接する1つ以上のAAV ITRを含み得る。導入遺伝子配列は、作動可能に連結されており、1つ以上のプロテアーゼ切断部位をコードする配列又は1つ以上の自己切断ペプチドをコードする配列又はそれらの組み合わせによって連結され得る。実施形態では、ベクターは、本明細書に開示されるものなどの他の転写制御エレメント、例えば導入遺伝子配列の発現を駆動するために標的細胞において機能的であるプロモーター、エンハンサー、PRE及び／又はポリA配列をさらに含む。導入遺伝子配列は、哺乳動物細胞で発現される場合にRNA転写物のプロセッシングを容易にするイントロン配列も含み得る。

【0228】

様々な実施形態では、AAVベクター、例えばrAAVベクターは、自己相補的AAVベクター（scAAV）である。本明細書で使用される場合、「自己相補的」とは、コード領域が、例えば、1つ以上の末端逆位反復（ITR）において、分子内二本鎖テンプレートを形成するように設計されていることを意味する。理論に拘束されるものではないが、典型的なAAVゲノムは一本鎖DNAテンプレートであるため、AAVゲノムの律速段

階には第2鎖合成が関与することが多い。Ferrari et al, (1996) J. Virology, 70 (5) : 3227-34; Fisher et al, (1996) J. Virology, 70 (1) : 520-32。しかし、scAAVゲノムの場合、感染すると、scAAVの2つの相補的な半分が会合して、第2の鎖の細胞媒介性合成を待つのではなく複製及び転写の準備ができて1つの二本鎖DNA (dsDNA) 単位を形成し得る。いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるrAAVベクターは、scAAVベクターであり、より速い且つ／又は増加した発現を提供する。

【0229】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるrAAVベクターは、1つ以上（例えば、全て）のAAV rep及び／又はcap遺伝子を欠いている。AAVベクターは、任意の適切なAAV血清型からの核酸配列（例えば、DNA）を（例えば、そのITRに）含み得る。適切なAAV血清型には、AAV血清型AAV-1、AAV-2、AAV-3、AAV-4、AAV-5、AAV-6、AAV-7、AAV-8、AAV-9、AAV-10、AAV-11、AAV-12、AAVrh8、AAVrh10、AAV.Anc80、AAV.Anc80L65、AAV-DJ及びAAV-DJ／8、AAVrh37、AAV-DJ、AAV-DJ／8、AAV-PHP.B、AAV-PHP.B2、AAV-PHP.B3、AAV-PHP.A、AAV-PHP.eB及びAAV-PHP.Sが含まれるが、これらに限定されない。例えば、AAVベクター、例えばscAAVベクターは、AAV2からの核酸配列、例えばAAV2からのITR配列を含み得る。AAVベクター、例えばscAAVベクターは、複数の血清型からの核酸も含み得る。AAV血清型のゲノムのヌクレオチド配列は、当技術分野で公知である。例えば、AAV1の全ゲノムはGenBankアクセッション番号NC_002077で提供され；AAV2の全ゲノムはGenBankアクセッション番号NC_001401及びSrivastava et al., Virology, 45:555-564 {1983} で提供され；AAV3の全ゲノムはGenBankアクセッション番号NC_1829で提供され；AAV4の全ゲノムはGenBankアクセッション番号NC_001829で提供され；AAV5ゲノムはGenBankアクセッション番号AF085716で提供され；AAV-6の全ゲノムはGenBankアクセッション番号NC_001862で提供され；AAV7及びAAV8ゲノムの少なくとも一部は、それぞれGenBankアクセッション番号AX753246及びAX753249で提供され；AAV9ゲノムはGao et al., J. Virol., 78:6381-6388 (2004) で提供され；AAV10ゲノムはWilliams, (2006) Mol. Ther., 13(1):67-76で提供され；AAV11ゲノムはMori et al., (2004) Virology, 330(2):375-383で提供される。

【0230】

いくつかの実施形態では、機能的末端逆位反復 (ITR) 配列は、例えば、AAVピリオンのレスキュー、複製及びパッケージングをサポートするために使用され得る。したがって、本明細書に開示されるAAVベクターは、シスでウイルスの複製及びパッケージング（例えば、機能的ITR）を提供する配列を含み得る。ITRは、野生型ヌクレオチド配列であり得るが、そうである必要はなく、配列が機能的レスキュー、複製及びパッケージングを提供する限り、例えばヌクレオチドの挿入、欠失又は置換によって変更され得る。ITRは、AAV血清型AAV-1、AAV-2、AAV-3、AAV-4、AAV-5、AAV-6、AAV-7、AAV-8、AAV-9、AAV-10及びAAV-11を含むが、これらに限定されない、組換えウイルスが誘導され得る任意のAAV血清型からのものであり得る。AAV血清型のゲノムのヌクレオチド配列は、当技術分野で公知である。例えば、AAV-1の全ゲノムは、GenBankアクセッション番号NC_002077で提供され；AAV-2の全ゲノムは、GenBankアクセッション番号NC_001401及びSrivastava et al., Virology, 45:555-564 {1983} で提供され；AAV-3の全ゲノムは、GenBankアクセッション番号NC_1829で提供され；AAV-4の全ゲノムは、GenBankアクセシ

ョン番号 NC__001829 で提供され；AAV-5 ゲノムは、GenBank アクセション番号 AF085716 で提供され；AAV-6 の全ゲノムは、GenBank アクセション番号 NC__001862 で提供され；AAV-7 及び AAV-8 ゲノムの少なくとも一部は、それぞれ GenBank アクセション番号 AX753246 及び AX753249 で提供され；AAV-9 ゲノムは、Gao et al., (2004) J. Virol., 78:6381-6388 で提供され；AAV-10 ゲノムは、Williams, (2006) Mol. Ther., 13(1):67-76 で提供され；AAV-11 ゲノムは、Mori et al., (2004) Virology, 330(2):375-383 で提供される。一実施形態では、ベクターは、AAV-2 由来の ITR を有する AAV-9 ベクターである。

10

【0231】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される rAAV ベクターは、1つ以上の ITR、例えば2つの ITR を含み、1つは導入遺伝子及び／又は上で論じた他の核酸エレメントの上流にあり、もう1つは下流にある。いくつかの実施形態では、例えば scAAV ベクターにおいて、本明細書に開示される核酸は、プロモーター、導入遺伝子、転写後調節エレメント及び／又はポリA に対して5' に配置された第1の ITR 及び3' に配置された第2の ITR を含み、例えば、ITR は、独立して、もう1つのエレメントの1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、50、100、150、200、250 ヌクレオチド5' 及び／又は3' 側にある。ITR 配列は、野生型であり得るか、又は例えばそれが野生型 ITR の1つ以上の機能を保持する限り、1つ以上の変異を含み得る。いくつかの実施形態では、野生型 ITR は、末端分解部位の欠失を含むように改変され得る。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される scAAV は、2つの ITR 配列を含み得、ここで、両方は、野生型、変異体又は改変された AAV ITR 配列である。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの ITR 配列は、野生型、変異体又は改変された AAV ITR 配列である。いくつかの実施形態では、2つの ITR 配列は両方、野生型、変異体又は改変された AAV ITR 配列である。いくつかの実施形態では、「左」又は5'-ITR は、自己相補的ゲノムの産生を可能にする改変された AAV ITR 配列であり、「右」又は3'-ITR は、野生型 AAV ITR 配列である。いくつかの実施形態では、「右」又は3'-ITR は、自己相補的ゲノムの産生を可能にする改変された AAV ITR 配列であり、「左」又は5'-ITR は、野生型 AAV ITR 配列である。いくつかの実施形態では、ITR 配列は、野生型、変異体又は改変された AAV2 ITR 配列である。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの ITR 配列は、野生型、変異体又は改変された AAV2 ITR 配列である。いくつかの実施形態では、2つの ITR 配列は両方、野生型、変異体又は改変された AAV2 ITR 配列である。いくつかの実施形態では、「左」又は5'-ITR は、自己相補的ゲノムの産生を可能にする改変された AAV2 ITR 配列であり、「右」又は3'-ITR は、野生型 AAV2 ITR 配列である。いくつかの実施形態では、「右」又は3'-ITR は、自己相補的ゲノムの産生を可能にする改変された AAV2 ITR 配列であり、「左」又は5'-ITR は、野生型 AAV2 ITR 配列である。1つ以上の ITR に使用され得る例示的な配列を本明細書に記載する。いくつかの実施形態では、AAV ベクターは、配列番号12 及び配列番号23 を含む。いくつかの実施形態では、AAV ベクターは、配列番号85 及び配列番号90 を含む。国際公開第2019/094253 号パンフレット (PCT/US2018/058744 号) で提供される AAV ITR の実施形態は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれ、本明細書で開示される任意の AAV ITR にも使用され得る。

20

30

40

【0232】

いくつかの実施形態では、rAAV ベクターは、1つ以上の（例えば、全ての）AAV rep 及び／又は cap 遺伝子を欠いている。AAV ベクターは、任意の適切な AAV 血清型からの核酸配列（例えば、DNA）を（例えば、その ITR に）含み得る。適切な AAV 血清型には、AAV 血清型 AAV-1、AAV-2、AAV-3、AAV-4、AA

50

V-5、AAV-6、AAV-7、AAV-8、AAV-9、AAV-10及びAAV-11が含まれるが、これらに限定されない。例えば、AAVベクター、例えばscAAVベクターは、AAV-2からの核酸配列、例えばAAV-2からのITR配列を含み得る。AAVベクター、例えばscAAVベクターは、複数の血清型からの核酸も含み得る。GenBankアクセッション番号NC_001401及びSrivastava et al., Virol., 45:555-564 {1983}; GenBankアクセッション番号NC_1829; GenBankアクセッション番号NC_001829; GenBankアクセッション番号AF085716; GenBankアクセッション番号NC_001862; GenBankアクセッション番号AX753246及びAX753249; Gao et al., J. Virol., 78:6381-6388 (2004); Williams, (2006) Mol. Ther., 13(1):67-76; 及びMori et al., (2004) Virology, 330(2):375-383。

10

【0233】

いくつかの実施形態では、導入遺伝子を含むウイルスベクターにおける機能的末端逆位反復(ITR)配列は、例えば、AAVビリオンのレスキュー、複製及びパッケージングをサポートするために使用され得る。したがって、本明細書に開示されるAAVベクターは、シスでウイルスの複製及びパッケージング(例えば、機能的ITR)を提供する配列を含み得る。ITRは、野生型ヌクレオチド配列である必要はなく、配列が機能的レスキュー、複製及びパッケージングを提供する限り、例えばヌクレオチドの挿入、欠失又は置換によって変更され得る。ITRは、AAV血清型AAV-1、AAV-2、AAV-3、AAV-4、AAV-5、AAV-6、AAV-7、AAV-8、AAV-9、AAV-10及びAAV-11を含むが、これらに限定されない、組換えウイルスが誘導され得る任意のAAV血清型からのものであり得る。GenBankアクセッション番号NC_002077; GenBankアクセッション番号NC_001401及びSrivastava et al., Virol., 45:555-564 {1983}; GenBankアクセッション番号NC_1829; GenBankアクセッション番号NC_001829; GenBankアクセッション番号AF085716; GenBankアクセッション番号NC_001862; それぞれGenBankアクセッション番号AX753246及びAX753249; Gao et al., (2004) J. Virol., 78:6381-6388; Williams, (2006) Mol. Ther., 13(1):67-76; 及びMori et al., (2004) Virology, 330(2):375-383。一実施形態では、ベクターは、AAV-2由来のITRを有するAAV-9ベクターである。

20

30

【0234】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、AAV1、AAV2、AAV2G9、AAV3、AAV3a、AAV3b、AAV3-3、AAV4、AAV4-4、AAV5、AAV6、AAV6.1、AAV6.2、AAV6.1.2、AAV7、AAV7.2、AAV8、AAV9、AAV9.11、AAV9.13、AAV9.16、AAV9.24、AAV9.45、AAV9.47、AAV9.61、AAV9.68、AAV9.84、AAV9.9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV16.3、AAV24.1、AAV27.3、AAV42.12、AAV42-1b、AAV42-2、AAV42-3a、AAV42-3b、AAV42-4、AAV42-5a、AAV42-5b、AAV42-6b、AAV42-8、AAV42-10、AAV42-11、AAV42-12、AAV42-13、AAV42-15、AAV42-aa、AAV43-1、AAV43-12、AAV43-20、AAV43-21、AAV43-23、AAV43-25、AAV43-5、AAV44.1、AAV44.2、AAV44.5、AAV223.1、AAV223.2、AAV223.4、AAV223.5、AAV223.6、AAV223.7、AAV1-7/rh.48、AAV1-8/rh.49、AAV2-15/rh.62、AAV2-3/rh.61、AAV2-4/rh.50

40

50

、AAV2-5/rh. 51、AAV3. 1/hu. 6、AAV3. 1/hu. 9、AAV3-9/rh. 52、AAV3-11/rh. 53、AAV4-8/r 11. 64、
 AAV4-9/rh. 54、AAV4-19/rh. 55、AAV5-3/rh. 57、
 AAV5-22/rh. 58、AAV7. 3/hu. 7、AAV16. 8/hu. 10、
 AAV16. 12/hu. 11、AAV29. 3/bb. 1、AAV29. 5/bb. 2
 、AAV106. 1/hu. 37、AAV114. 3/hu. 40、AAV127. 2/
 hu. 41、AAV127. 5/hu. 42、AAV128. 3/hu. 44、AAV1
 30. 4/hu. 48、AAV145. 1/hu. 53、AAV145. 5/hu. 54
 、AAV145. 6/hu. 55、AAV161. 10/hu. 60、AAV161. 6
 /hu. 61、AAV33. 12/hu. 17、AAV33. 4/hu. 15、AAV3 10
 3. 8/hu. 16、AAV52/hu. 19、AAV52. 1/hu. 20、AAV5
 8. 2/hu. 25、AAV A3. 3、AAV A3. 4、AAV A3. 5、AAV
 A3. 7、AAVC1、AAVC2、AAVC5、AAV-DJ、AAV-DJ8、AA
 VF3、AAVF5、AAVH2、AAVrh. 72、AAVhu. 8、AAVrh. 6
 8、AAVrh. 70、AAVpi. 1、AAVpi. 3、AAVpi. 2、AAVrh
 . 60、AAVrh. 44、AAVrh. 65、AAVrh. 55、AAVrh. 47、
 AAVrh. 69、AAVrh. 45、AAVrh. 59、AAVhu. 12、AAVH
 6、AAVLK03、AAVH-1/hu. 1、AAVH-5/hu. 3、AAVLG-
 10/rh. 40、AAVLG-4/rh. 38、AAVLG-9/hu. 39、AAV 20
 N721-8/rh. 43、AAVCh. 5、AAVCh. 5R1、AAVcy. 2、A
 AVcy. 3、AAVcy. 4、AAVcy. 5、AAVCy. 5R1、AAVCy. 5
 R2、AAVCy. 5R3、AAVCy. 5R4、AAVcy. 6、AAVhu. 1、A
 AVhu. 2、AAVhu. 3、AAVhu. 4、AAVhu. 5、AAVhu. 6、A
 AVhu. 7、AAVhu. 9、AAVhu. 10、AAVhu. 11、AAVhu. 1
 3、AAVhu. 15、AAVhu. 16、AAVhu. 17、AAVhu. 18、AA
 Vhu. 20、AAVhu. 21、AAVhu. 22、AAVhu. 23. 2、AAVh
 u. 24、AAVhu. 25、AAVhu. 27、AAVhu. 28、AAVhu. 29
 、AAVhu. 29R、AAVhu. 31、AAVhu. 32、AAVhu. 34、AA
 Vhu. 35、AAVhu. 37、AAVhu. 39、AAVhu. 40、AAVhu.
 41、AAVhu. 42、AAVhu. 43、AAVhu. 44、AAVhu. 44R1 30
 、AAVhu. 44R2、AAVhu. 44R3、AAVhu. 45、AAVhu. 46
 、AAVhu. 47、AAVhu. 48、AAVhu. 48R1、AAVhu. 48R2
 、AAVhu. 48R3、AAVhu. 49、AAVhu. 51、AAVhu. 52、A
 AVhu. 54、AAVhu. 55、AAVhu. 56、AAVhu. 57、AAVhu
 . 58、AAVhu. 60、AAVhu. 61、AAVhu. 63、AAVhu. 64、
 AAVhu. 66、AAVhu. 67、AAVhu. 14/9、AAVhu. t 19、
 AAVrh. 2、AAVrh. 2R、AAVrh. 8、AAVrh. 8R、AAVrh.
 10、AAVrh. 12、AAVrh. 13、AAVrh. 13R、AAVrh. 14、
 AAVrh. 17、AAVrh. 18、AAVrh. 19、AAVrh. 20、AAVr
 h. 21、AAVrh. 22、AAVrh. 23、AAVrh. 24、AAVrh. 25 40
 、AAVrh. 31、AAVrh. 32、AAVrh. 33、AAVrh. 34、AAV
 rh. 35、AAVrh. 36、AAVrh. 37、AAVrh. 37R2、AAVrh
 . 38、AAVrh. 39、AAVrh. 40、AAVrh. 46、AAVrh. 48、
 AAVrh. 48. 1、AAVrh. 48. 1. 2、AAVrh. 48. 2、AAVrh
 . 49、AAVrh. 51、AAVrh. 52、AAVrh. 53、AAVrh. 54、
 AAVrh. 56、AAVrh. 57、AAVrh. 58、AAVrh. 61、AAVr
 h. 64、AAVrh. 64R1、AAVrh. 64R2、AAVrh. 67、AAVr
 h. 73、AAVrh. 74、AAVrh8R、AAVrh8R A586R突然変異体
 、AAVrh8R R533A突然変異体、AAAV、BAAV、ヤギAAV、ウシAA
 V、AAVhE1. 1、AAVhEr1. 5、AAVhER1. 14、AAVhEr1. 50

8、AAVhEr1.16、AAVhEr1.18、AAVhEr1.35、AAVhEr1.7、AAVhEr1.36、AAVhEr2.29、AAVhEr2.4、AAVhEr2.16、AAVhEr2.30、AAVhEr2.31、AAVhEr2.36、AAVhEr1.23、AAVhEr3.1、AAV2.5T、AAV-PAEC、AAV-LK01、AAV-LK02、AAV-LK03、AAV-LK04、AAV-LK05、AAV-LK06、AAV-LK07、AAV-LK08、AAV-LK09、AAV-LK10、AAV-LK11、AAV-LK12、AAV-LK13、AAV-LK14、AAV-LK15、AAV-LK16、AAV-LK17、AAV-LK18、AAV-LK19、AAV-PAEC2、AAV-PAEC4、AAV-PAEC6、AAV-PAEC7、AAV-PAEC8、AAV-PAEC11、AAV-PAEC12、AAV-2-pre-miRNA-101、AAV-8h、AAV-8b、AAV-h、AAV-b、AAV SM 10-2、AAVシャッフル100-1、AAVシャッフル100-3、AAVシャッフル100-7、AAVシャッフル10-2、AAVシャッフル10-6、AAVシャッフル10-8、AAVシャッフル100-2、AAV SM 10-1、AAV SM 10-8、AAV SM 100-3、AAV SM 100-10、BNP61 AAV、BNP62 AAV、BNP63 AAV、AAVrh.50、AAVrh.43、AAVrh.62、AAVrh.48、AAVhu.19、AAVhu.11、AAVhu.53、AAV4-8/rh.64、AAVLG-9/hu.39、AAV54.5/hu.23、AAV54.2/hu.22、AAV54.7/hu.24、AAV54.1/hu.21、AAV54.4R/hu.27、AAV46.2/hu.28、AAV46.6/hu.29、AAV128.1/hu.43、トウルタイプAAV (ttAAV)、UPEN AAV10及び/又はジャパニーズAAV10血清型並びにそれらの変異体由来のキャプシドタンパク質を含む。

10

20

30

40

50

【0235】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、AAV9由来のキャプシドタンパク質を含む。

【0236】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、サバイバルモーターニューロン (SMN) タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む。

【0237】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、メチル-CpG結合タンパク質2 (MECP2) タンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む。

【0238】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、スーパーオキシドジスムターゼ1 (SOD1) を標的とする低分子ヘアピン型RNA (shRNA) をコードするポリヌクレオチドを含む。

【0239】

いくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、2つのITR (例えば、修飾AAV2 ITR及び未修飾AAV2 ITR)、プロモーター (例えば、ニワトリベータアクチン (CB) プロモーター)、エンハンサー (例えば、サイトメガロウイルス (CMV) 前初期/初期エンハンサー)、イントロ (例えば、修飾SV40後期16sイントロン)、ポリアデニル化シグナル (例えば、ウシ成長ホルモン (BGH) ポリアデニル化シグナル) を含む。

【0240】

いくつかの実施形態では、医薬組成物は、 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{15}$ 個のウイルスベクターゲノム、例えば 1×10^{12} 、 5×10^{12} 、 1×10^{13} 、 5×10^{13} 、 1×10^{14} 、 5×10^{14} 、 1×10^{15} 個のウイルスベクターゲノムを含む。

【0241】

いくつかの実施形態では、医薬組成物は、 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{15}$ 個のウイルスベクターゲノム/ミリリットル (vg/ml)、例えば 1×10^{12} 、 5×10^{12} 、 $1 \times$

10^{13} 、 5×10^{13} 、 1×10^{14} 、 5×10^{14} 、 1×10^{15} 個のウイルスベクターゲノム／ミリリットル (vg/ml) を含む。

【0242】

様々な実施形態では、本明細書で論じられる核酸及びベクターは、組換えウイルス粒子などの1つ以上のウイルス粒子中に存在し得る。組換えウイルスは、組換え手段によって生成されたウイルスである。様々な異なるウイルスタイプ、例えばレトロウイルス、アデノウイルス、レンチウイルス、AAV、マウス白血病ウイルスなどが使用され得る。理論に拘束されるものではないが、レンチウイルスなどのレトロウイルスから送達されるベクターは、それらが導入遺伝子の長期の安定した組み込み及び娘細胞への伝播を可能にするため、長期遺伝子導入を提供し得、また低い免疫原性を提供し得る。他の適切なレトロウイルスには、ガンマレトロウイルスが含まれる。例示的なガンマレトロウイルスベクターは、マウス白血病ウイルス (MLV)、脾臓局巣形成ウイルス (SFV) 及び骨髓増殖性肉腫ウイルス (MPSV) 並びにそれら由来のベクターを含む。他のガンマレトロウイルスベクターは、例えば、Tobias Maetzig et al., "Gamma retroviral Vectors: Biology, Technology and Application" Viruses. 2011 Jun; 3 (6): 677-713 に記載される。いくつかの実施形態では、ウイルスは、本明細書に開示される核酸又はベクターを含む組換えアデノウイルスである。いくつかの実施形態では、ウイルスは、本明細書に開示される核酸又はベクターを含む組換えAAVである。

【0243】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される核酸又はベクターは、組換えウイルスの製造における使用のためのものである。いくつかの実施形態では、本明細書に開示される核酸又はベクターは、rAAVの製造における使用のためのものである。したがって、様々な実施形態では、ウイルス組成物（ビリオンとも呼ばれる）、例えば上記で開示されるウイルスベクター又は核酸を含むrAAVウイルス組成物も本明細書で開示される。いくつかの実施形態では、組換えウイルスは、アデノ随伴ウイルス (AAV) 又はその任意の変異体若しくは誘導体である。いくつかの実施形態では、組換えウイルスは、キメラAAV又はその任意の変異体若しくは誘導体である。いくつかの実施形態では、組換えウイルスは、アデノウイルス又はその任意の変異体若しくは誘導体である。いくつかの実施形態では、組換えウイルスは、レトロウイルス又はその任意の変異体若しくは誘導体である。いくつかの実施形態では、組換えウイルスは、レンチウイルス又はその任意の変異体若しくは誘導体である。いくつかの実施形態では、組換えウイルスは、DNAウイルス又はその任意の変異体若しくは誘導体である。いくつかの実施形態では、組換えウイルスは、単純ヘルペスウイルス又はその任意の変異体若しくは誘導体である。いくつかの実施形態では、組換えウイルスは、バキュロウイルス又はその任意の変異体若しくは誘導体である。

【0244】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるAAVは、1つ以上のAAVキャプシドタンパク質を含み得る。AAVキャプシドタンパク質は、AAV血清型AAV-1、AAV-2、AAV-3、AAV-4、AAV-5、AAV-6、AAV-7、AAV-8、AAV-9、AAV-10、AAV-11、AAV-12、AAVrh8、AAVfh10、AAV-DJ、AAV-DJ/8、AAV-PHP.B、AAV-PHP.B2、AAV-PHP.B3、AAV-PHP.A、AAV-PHP.eB及びAAV-PHP.Sを含むが、これらに限定されない、組換えウイルスが誘導され得る任意のAAV血清型からのものであり得る。いくつかの実施形態では、AAV中の1つ以上のキャプシドタンパク質は、AAV-9からのものである。理論に拘束されるものではないが、典型的にはAAVにおいて、3つのキャプシドタンパク質、VP1、VP2及びVP3が多量体化してキャプシドを形成する。キャプシドタンパク質のポリペプチド配列は当技術分野で公知であり、またAAVのゲノムに由来し得る。これらは、本明細書に開示されるAAVウイルス組成物における例示的なキャプシドとして使用することができる。例えば、AAV

ー1の全ゲノムはGenBankアクセッション番号NC_002077で提供され；AAV-2の全ゲノムはGenBankアクセッション番号NC_001401及びSrivastava et al., Virol., 45:555-564 {1983}で提供され；AAV-3の全ゲノムはGenBankアクセッション番号NC_1829で提供され；AAV-4の全ゲノムはGenBankアクセッション番号NC_001829で提供され；AAV-5ゲノムはGenBankアクセッション番号AF085716で提供され；AAV-6の全ゲノムはGenBankアクセッション番号NC_001862で提供され；AAV-7及びAAV-8ゲノムの少なくとも一部は、それぞれGenBankアクセッション番号AX753246及びAX753249で提供され；AAV-9ゲノムはGao et al., J. Virol., 78:6381-6388 (2004)で提供され；AAV-10ゲノムはWilliams, (2006) Mol. Ther., 13(1):67-76で提供され；AAV-11ゲノムはMori et al., (2004) Virology, 330(2):375-383で提供される。キャプシドタンパク質AAV-PHP.B、AAV-PHP.B2、AAV-PHP.B3、AAV-PHP.A、AAV-PHP.eB又はAAV-PHP.Sは、Deverman et al., (2016) Nat. Biotech., 34:204-209及びChan et al., (2017) Nat. Neurosci., 20:1172-1179に提供される。いくつかの実施形態では、組換えウイルスは、1つ以上のAAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10及びAAV11、AAV12、AAVrh8、AAVrh10、AAV-DJ、AAV-DJ/8、AAV-PHP.B、AAV-PHP.B2、AAV-PHP.B3、AAV-PHP.A、AAV-PHP.eB若しくはAAV-PHP.Sキャプシド血清型又はその機能的変異体を含むAAVである。いくつかの実施形態では、組換えウイルスは、複数のAAV血清型からのキャプシドの組み合わせを含むAAVである。

10

20

【0245】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるAAV組成物は、ウイルスDNA複製(rep)、キャプシド形成／パッケージング及び宿主細胞染色体組み込みを指示する1つ以上のシス作用性配列を含み、ITR内に含まれる。いくつかの実施形態では、これらの配列の1つ以上は、シスではなくトランスで、例えば宿主細胞でのウイルス製造プロセス中に別個のプラスミド上にも存在し得る。典型的には、3つのAAVプロモーター（その相対的マップ位置でp5、p19及びp40と名付けられている）は、野生型ウイルスのrep及びcap遺伝子をコードする2つのAAV内部オープンリーディングフレームの発現を駆動する。いくつかの実施形態では、これらのプロモーター及び／又はオープンリーディングフレームの1つ以上は、本明細書に開示されるAAVベクター及び／又はAAVビリオンにおいてシスで存在するか、又はAAVウイルス製造プロセス中、例えばウイルスを産生する宿主細胞において、別個のプラスミド上に存在する。2つのrepプロモーター（p5及びp19）は、単一のAAVイントロン（ヌクレオチド2107及び2227）の特異的スプライシングと相まって、rep遺伝子から4つのrepタンパク質（rep78、rep68、rep52及びrep40）の産生を生じ得る。repタンパク質は、ウイルスゲノムの複製に最終的に関与する複数の酵素特性を有する。cap遺伝子は、典型的には、p40プロモーターから発現され、3つのキャプシドタンパク質VP1、VP2及びVP3をコードする。選択的スプライシング及び非コンセンサス翻訳開始部位は、3つの関連するキャプシドタンパク質の産生に関与している。単一のコンセンサスポリアデニル化部位は、AAVゲノムのマップ位置95に存在する。AAVのライフサイクル及び遺伝学は、Muzyczka, (1992) Curr. Topics Microbiol. Imm., 158:97-129で概説されている。

30

40

【0246】

いくつかの実施形態では、本明細書で開示されるAAV組成物は、ヒトCNS又はPNSへの指向性が増強された改変キャプシドを含む。突然変異方法、DNAバーコーディン

50

グ、定向進化、ランダムペプチド挿入及びキャプシドシャッフリング及び／又はキメラを含むが、限定されない、キャプシドタンパク質を改変するための様々な方法が使用される。

【0247】

AAVを標的組織に方向付けるために合理的改変及び突然変異法が使用されてきた。合理的設計において、構造－機能関係を使用して、キャプシド配列への変化がなされ得る領域を決定する。非限定例として、表面ループ構造、受容体結合部位及び／又はヘパリン結合部位は、標的組織への標的化を促進するための組換えAAVキャプシドの合理的設計のために突然変異させられ得るか又はそうでなければ変化させられ得る。合理的設計の一例において、ユビキチン化を逃れ、プロテアソーム分解を減少させ、AAV粒子及びウイルスゲノム発現の上昇を可能にするために、表面露出チロシンのフェニルアラニンへの突然変異により、AAVキャプシドを修飾した（それぞれの内容がそれらの全体において参照により組み込まれるLochrie M A, et al, J Virol. 2006 January; 80 (2): 821-34; Santiago-Ortiz J L and Schaffer D V, J Control Release, 2016 Oct. 28; 240: 287-301）。合理的設計は、親AAVキャプシド配列への標的指向性ペプチドの付加も包含し、標的指向性ペプチドは、標的組織内の目的の受容体に対する親和性を有し得る。

10

【0248】

特定の実施形態では、合理的改変及び／又は突然変異方法は、標的組織（例えばCNS又はPNS）の形質導入を促進したAAVキャプシド及び／又は標的指向性ペプチドを同定するために使用される。

20

【0249】

キャプシドシャッフリング及び／又はキメラは、新しい組換えキャプシドタンパク質を作製するために少なくとも2つの親AAVキャプシドのフラグメントが組み合わせられる方法を述べ、使用される親AAVキャプシドの数は、2～20又は20超であり得る。

【0250】

特定の実施形態では、キャプシドシャッフリングは、標的組織（例えばCNS又はPNS）の形質導入を促進したAAVキャプシド及び／又は標的指向性ペプチドを同定するために使用される。

30

【0251】

定向進化は、様々な突然変異誘発技術のいずれかによるAAVキャプシドライブラリ（ $\sim 10^4 - 10^8$ ）の作製及び目的の特性（例えば指向性）による選択圧に対する反応に基づくリード候補の選択を含む。AAVキャプシドの定向進化により、突然変異体ライブラリの大規模な事前の特徴評価を必要としない、多様な突然変異体のプールからの陽性選択が可能になる。定向進化ライブラリは、当技術分野で公知のいずれかの分子生物学的技術によって作製され得、DNAシャッフリング、ランダム点突然変異誘発、挿入突然変異誘発（例えば標的指向性ペプチド）、ランダムペプチド挿入又は祖先配列再構成を含み得る。AAVキャプシドライブラリは、さらなる最適化のために定向進化を使用した複数ラウンドの選択に供され得る。定向進化法は、最も一般的には、標的組織の形質導入が促進されたAAVキャプシドタンパク質を同定するために使用される。ヒト気道上皮、神経幹細胞、ヒト多能性幹細胞、網膜細胞及び他のインビトロ及びインビボ細胞を標的とするために、標的組織の形質導入が促進されたキャプシドを同定した。

40

【0252】

特定の実施形態では、定向進化方法は、標的組織（例えばCNS又はPNS）の形質導入を促進したAAVキャプシド及び／又は標的指向性ペプチドを同定するために使用される。

【0253】

多数のAAV血清型の表現型のハイスループット特徴評価について記載される1つの方法は、AAVバーコードSeq（内容がそれらの全体において参照により本明細書に組

50

み込まれる Adachi K et al, Nature Communications 5:3075 (2014)) として知られる。この次世代配列 (NGS) に基づく方法において、DNA バーコードタグを含んで AAV ライブラリが作製され、これは multiplexed Illumina バーコードシーケンシングにより評価され得る。この方法は、野生型又は非変異体配列と比較した場合に受容体結合、指向性、中和及び又は血液クリアランスが変化した AAV 変異体を同定するために使用され得る。これらの機能に対して重要である AAV キャプシドのアミノ酸もこのように同定され得る。

【0254】

Adachi et al 2014 に記載されるように、AAV キャプシドライブラリを作製したが、ここで、各突然変異体は、野生型 AAV2 rep 遺伝子及び一連の変異体又は突然変異体に由来する AAV cap 遺伝子及び AAV2 ポリアデニル化シグナル (pA) の下流に左右 12-ヌクレオチド長の DNA バーコードの対を保有した。このように、7 個の異なる DNA バーコード AAV キャプシドライブラリを作製した。次に、キャプシドライブラリをマウスに提供した。予め設定した時間点で、試料を回収し、DNA 抽出を行い、PCR プライマーに連結される AAV-クローン特異的なウイルスバーコード及び試料特異的なバーコードを用いて PCR 増幅を行った。ウイルスバーコード PCR アンプリコン全てを Illumina でシーケンシングし、計算アルゴリズムによって生配列リード数データに変換した。バーコード-Seq アプローチのコアは、上記の DNA バーコード (左及び右)、3 つの PCR プライマー結合部位及び 2 つの制限酵素部位を含む 96-ヌクレオチドカセットである。見本として、AAV rep-cap ゲノムを使用したが、この系は、rep 及び cap 遺伝子を欠くものを含む、あらゆる AAV ウイルスゲノムに適用され得る。バーコード Seq 法の利点は、一群の大きいデータセット及び数個のみの複写物がある所望の表現型に対する及び短時間での相関である。

【0255】

DNA バーコード Seq 法は、同様に RNA に適用され得る。

【0256】

特定の実施形態では、バーコード Seq 法は、標的組織 (例えば CNS 又は PNS) の形質導入を促進した AAV キャプシド及び／又は標的指向性ペプチドを同定するために使用される。

【0257】

いくつかの実施形態では、親 AAV キャプシド配列への標的指向性ペプチドの挿入は、CNS 又は PNS 組織への標的化を促進するために使用され得る。標的組織 (例えば CNS 又は PNS の細胞) の形質導入の促進又は改善のための、標的指向性ペプチド及び 1 つ以上の標的指向性ペプチド挿入物を伴うキャプシドタンパク質を含む関連 AAV 粒子が本明細書で開示される。

【0258】

特定の実施形態では、標的指向性ペプチドは、CNS の細胞又は組織に AAV 粒子を方向付け得る。CNS の細胞は、ニューロン (例えば、興奮性、阻害性、運動性、感覚、自律神経性、交感神経性、副交感神経性、ブルキンエ、ベッツなど)、グリア細胞 (例えば、ミクログリア、星状細胞、オリゴデンドロサイト) 及び／又は脳の支持細胞、例えば免疫細胞 (例えば T 細胞) などであり得るが、限定されない。CNS の組織は、皮質 (例えば、前頭、頭頂葉、後頭葉、側頭)、視床、視床下部、線条体、被殻、尾状核、海馬、嗅内皮質、基底核又は深部小脳核であり得るが、限定されない。

【0259】

本開示の標的指向性ペプチドは、当技術分野で公知のいずれかの方法によって同定及び／又は設計され得る。非限定例として、各内容がそれらの全体において本明細書に参照により組み込まれる Deverman et al. (Nature Biotechnology 34 (2): 204-209 (2016)) 並びに国際公開第 2015038958 号パンフレット及び同第 2017100671 号パンフレットに記載されるような CREATE 系は、非ヒト霊長類のいずれかなどであるが、限定されないマウス又は他の

研究用動物において標的指向性ペプチドを同定する手段として使用され得る。

【0260】

CNS又はPNS組織への標的化が促進された改変AAVの非限定例は、それらの全体において参照により本明細書に組み込まれる米国特許出願公開第20180021364号明細書、同第20210207167号明細書、同第20210214749号明細書、同第20210230632号明細書及び同第20210277418号明細書で見出され得る。

【0261】

疾患の処置

様々な実施形態では、「処置すること」という用語は、それを必要とする動物（ヒトを含む）に本明細書で開示されるような核酸、ベクター、組換えウイルス又は医薬組成物を含む組成物の有効な用量又は有効な複数回投与を投与する段階を含む。用量が障害／疾患の発症の前に投与される場合、投与は予防的である。用量が障害／疾患の発症の後に投与される場合、投与は治療的である。実施形態では、有効用量は、処置されている障害／疾患状態と関連する少なくとも1つの症状を検出できるほどに緩和する（除去するか又は減弱させるかのいずれか）、障害／疾患状態への進行を緩徐化又は予防する、障害／疾患状態の進行を緩徐化又は予防する、疾患の程度を低下させる、その結果、（部分的又は全体的に）疾患を寛解させる及び／又は生存を延長させる用量である。この用語は、完全処置（即ち治癒）及び／又は予防を包含するが必要としない。いくつかの実施形態では、有効用量は、本明細書で開示されるような $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{15}$ 個のベクターゲノム／ミリリットル（vg/ml）のウイルスを含む。いくつかの実施形態では、有効用量は、本明細書で開示されるような $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^{10}$ プラーク形成単位／ミリリットル（pfu/ml）のウイルスのプラークを含む。いくつかの実施形態では、有効用量は、本明細書で開示されるような $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^9$ 形質導入単位／ミリリットル（TU/ml）のウイルスを含む。処置のために企図される疾患状態の例が本明細書に記載される。

【0262】

いくつかの実施形態では、処置する方法は、それを必要とする対象に治療的有效量の本明細書で開示される核酸を送達することを含む。いくつかの実施形態では、処置する方法は、それを必要とする対象に治療的有效量の本明細書で開示されるベクターを送達することを含む。いくつかの実施形態では、処置する方法は、それを必要とする対象に治療的有效量の本明細書で開示される組換えウイルスを送達することを含む。いくつかの実施形態では、処置する方法は、それを必要とする対象に治療的有效量の本明細書で開示される医薬組成物を送達することを含む。いくつかの実施形態では、本明細書で開示される核酸、ベクター、組換えウイルス又は医薬組成物は、処置を必要とする対象を処置するための薬剤の製造において使用される。

【0263】

様々な実施形態では、本明細書で開示される核酸、ベクター、組換えウイルス又は医薬組成物は、静脈内投与、直接的な脳投与（例えば、髄腔内、脳内及び／又は脳室内投与）、鼻腔内投与、耳内投与又は眼内経路投与又はいずれかのそれらの組み合わせにより、それを必要とする対象に送達され得る。いくつかの実施形態では、本核酸、ベクター、組換えウイルス又は医薬組成物は、髄腔内投与によって送達される。いくつかの実施形態では、本核酸、ベクター、組換えウイルス又は医薬組成物は、脳内又は脳室内投与経路によって送達される。いくつかの実施形態では、投与される核酸、ベクター、組換えウイルス又は医薬組成物は最終的に、別個の組織又は体液、例えば血液への投与後、直接的に又は移動によるかのいずれかで、脳、脊髄、末梢神経系及び／又はCNSに送達される。

【0264】

一態様では、本方法及び材料は、神経系疾患又は神経変性疾患、例えばレット症候群、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病の処置又は脊髄及び脳の外傷損傷を含む神経系損傷、卒中発作及び脳の癌の処置に適応される。一実施形態では、本方法及び

材料の使用は、脊髄筋萎縮症（SMA）の処置に適応される。

【0265】

4つのタイプのSMAがあり、これらは、従来から発症年齢及び達成される最大運動機能によって分類される。SMAの全ての形態は、常染色体劣性遺伝であり、サバイバルモーターニューロン1（SMN1）遺伝子の突然変異により引き起こされる。ヒトは、SMN2と呼ばれるSMN遺伝子の第2のほぼ同一であるコピーも保有する。Lefebvre et al. “Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene.” *Cell*, 80 (1) : 155-65. Monani et al. “Spinal muscular atrophy: a deficiency in a ubiquitous protein; a motor-neuron specific disease” *Neuron*, 48 (6) : 885-896. SMN1及びSMN2遺伝子の両方がSMNタンパク質を発現するが、SMN2は、エクソン7に翻訳的にサイレントな突然変異を含有し、その結果、SMN2転写物においてエクソン7の無効な包含が起こる。したがって、SMN2は、全長SMNタンパク質及びエクソン7を欠くSMNの短縮型の両方を産生し、短縮型が主な形態として産生される。結果として、SMN2により産生される機能的な全長タンパク質の量は、SMNにより産生される量よりかなり（70～90%）少ない。Lorson et al. “A single nucleotide in the SMN gene regulates splicing and is responsible for spinal muscular atrophy.” *PNAS*, 96 (11) 6307-6311. Monani et al. “A single nucleotide difference that alters splicing patterns distinguishes the SMA gene SMN1 from the copy gene SMN2.” *Hum Mol Genet* 8 (7) : 177-83. SMN2がSMN1遺伝子の喪失について完全に補填し得ないものの、より軽度のSMAの患者は、一般に、より高いSMN2コピー数を有する。Lefebvre et al. “Correlation between severity and SMN protein level in spinal muscular atrophy” *Nat Genet* 6 (3) : 265-269. Park et al. “Spinal muscular atrophy: new and emerging insights from model mice.” *Curr Neurol Neurosci Rep* 10 (2) : 108-117. 注意事項は、SMN2コピー数が唯一の表現型修飾因子ではないことである。特に、SMN2遺伝子のエクソン7におけるc859GC変異体が陽性疾患修飾因子として報告されている。この特定の突然変異がある患者の疾患表現型はそれほど重篤ではない。Prior et al. “A positive modifier of spinal muscular atrophy in the SMN2 gene.” *Am J Hum Genet* 85 (3) : 408-413.

【0266】

I型SMA（乳児発症又はウェルドニツヒーホフマン病とも呼ばれる）は、SMA症状が出生時に又は6カ月齢までに存在する場合である。このタイプでは、乳児は、一般的に、筋緊張が低く（筋緊張低下）、泣き声が弱く、呼吸窮迫がある。これらの乳児は、嚥下及び吸乳が困難であることが多く、補助なしで座ることが可能であるという発達のマイルストーンに到達しない。これらの乳児は、運動技能における筋緊張低下遅延、頭部制御の乏しさ、肩を丸めた姿勢及び関節の過可動性から選択されるSMA症状の1つ以上を示すことが多い。一般的に、これらの乳児は、2コピーのSMN2遺伝子を有し、それぞれ第5番染色体上に1つある。全ての新しいSMA症例の半分超がSMA型である。

【0267】

II型又は中間SMAは、SMAが7カ月及び小児が独立して起立するか又は歩くことができる前までの間にその発症がある場合である。2型SMAの小児は、一般に、少なく

とも3つのSMN2遺伝子を有する。遅発性SMA（III型及びIV型SMA、軽度SMA、成人発症型SMA及びクーゲルベルク・ヴェランダー病としても知られる）では、脱力レベルにばらつきがある。III型SMAは、18カ月後に発症し、これらの小児は独立に起立し、歩くことができるが、補助を必要とし得る。IV型SMAの発症は成人期であり、成人の期間中は歩くことができる。III型又はIV型SMAがある者は、一般に、4～8個のSMN2遺伝子を有し、これらの遺伝子から、かなりの量の全長SMNタンパク質が産生され得る。

【0268】

一実施形態では、「処置」という用語は、有効用量又は有効な複数回投与の、本明細書で開示されるようなrAAVを含む組成物を、それを必要とする動物（ヒトを含む）に静脈内に又は髄腔内経路を介して投与する段階を含む。用量が障害／疾患の発症の前に投与される場合、投与は予防的である。用量が障害／疾患の発症の後に投与される場合、投与は治療的である。実施形態では、有効用量は、処置されている障害／疾患状態と関連する少なくとも1つの症状を緩和する（除去するか又は減弱させるかのいずれか）、障害／疾患状態への進行を緩徐化又は予防する、障害／疾患状態の進行を緩徐化又は予防する、疾患の程度を低下させる、その結果、（部分的又は全体的に）疾患を寛解させる及び／又は生存を延長させる用量である。処置に対して企図される疾患状態の例は本明細書で提示される。

10

【0269】

一実施形態では、本開示のrAAVを含む組成物は、SMA型を有するそれを必要とする患者に静脈内投与される。別の実施形態では、本開示のrAAVを含む組成物は、SMA II、III又はIV型を有するそれを必要とする患者に髄腔内投与される。

20

【0270】

髄腔内又は静脈内経路を介してAAV9ウイルスベクターを投与することにより、1型SMAの処置を必要とする患者において1型SMAを処置する方法が本明細書で開示される。いくつかの実施形態では、患者は0～9カ月齢である。いくつかの他の実施形態では、患者は0～6カ月齢である。いくつかの実施形態では、患者においてSMA型を処置するためにウイルスベクターが使用される場合、患者の体重が決定される。いくつかの実施形態では、患者の体重は8.5kg未満である。いくつかの実施形態では、患者の体重は2.6kg超である。いくつかの実施形態では、患者の体重は2.6～8.5kgである。

30

【0271】

いくつかの実施形態では、患者は、1コピーのSMN1遺伝子において突然変異、例えばヌル突然変異を有する（コードされるSM1非機能性を付与するあらゆる突然変異を含む）。いくつかの実施形態では、患者は、2コピーのSMN1遺伝子において突然変異、例えばヌル突然変異を有する。いくつかの実施形態では、患者は、SMN1遺伝子の全コピーにおいて突然変異、例えばヌル突然変異を有する。いくつかの実施形態では、患者は、1コピーのSMN1遺伝子において欠失を有する。いくつかの実施形態では、患者は、2コピーのSMN1遺伝子において欠失を有する。いくつかの実施形態では、患者は両アレル性SMN1突然変異を有し、即ち、染色体の両アレルにおけるSMN1の欠失又は置換のいずれかである。いくつかの実施形態では、患者は、SMN2遺伝子の少なくとも1つの機能的コピーを有する。いくつかの実施形態では、患者は、SMN2遺伝子の少なくとも2つの機能的コピーを有する。いくつかの実施形態では、患者は、SMN2遺伝子の少なくとも2つの機能的コピーを有する。いくつかの実施形態では、患者は、SMN2遺伝子の少なくとも3つの機能的コピーを有する。いくつかの実施形態では、患者は、SMN2遺伝子の少なくとも4つの機能的コピーを有する。いくつかの実施形態では、患者は、SMN2遺伝子の少なくとも5つの機能的コピーを有する。いくつかの実施形態では、患者は、SMN2遺伝子の少なくとも1つのコピーのエクソン7においてc.859G>C置換を持たない。いくつかの実施形態では、SMN1又はSMN2遺伝子の遺伝子配列は、完全ゲノムシーケンシングにより決定され得る。他の実施形態では、SMN1又

40

50

は S M N 2 遺伝子の遺伝子配列及びコピー数は、ハイスループットシーケンシングによって決定され得る。いくつかの実施形態では、S M N 1 又は S M N 2 遺伝子の遺伝子配列及びコピー数は、マイクロアレイ分析によって決定され得る。いくつかの実施形態では、S M N 1 又は S M N 2 遺伝子の遺伝子配列及びコピー数は、サンガーシーケンシングによって決定され得る。いくつかの実施形態では、S M N 1 又は S M N 2 遺伝子のコピー数は、蛍光インシトゥハイブリダイゼーション (F I S H) により決定され得る。

【0272】

いくつかの実施形態では、患者は、1つ以上の S M A 症状を示す。S M A 症状は、筋緊張低下、運動技能の遅れ、頭部制御の乏しさ、肩を丸めた姿勢及び関節の過可動性を含み得る。いくつかの実施形態では、頭部制御不良は、患者の肩（前及び後ろ）を補助して座位で輪の中に置くことによって判定される。頭部制御は、患者が頭部をまっすぐに保持する能力によって評価される。いくつかの実施形態では、患者が仰臥位であるときに自発運動を観察し、運動技能は、患者の肘、膝、手及び足を表面から持ち上げる能力によって評価される。いくつかの実施形態では、患者の握力は、患者の掌に指を置き、患者の肩が表面から離れるまで患者を持ち上げることによって測定される。筋緊張低下及び握力は、どの程度直ちに／長く患者が握り続けるかによって測定される。いくつかの実施形態では、頭部制御は、患者の頭部を最大利用可能回転に置き、患者が頭部を正中線に引き返して元に戻す能力を測定することによって評価される。いくつかの実施形態では、肩の姿勢は、頭部及び胴体を支えて患者を座らせて、腕の長さで肩レベルに置かれる刺激に対して到達するために患者が肘又は肩を曲げるか否かを観察することによって評価され得る。いくつかの実施形態では、肩の姿勢は、患者を側臥位にさせて、腕の長さで肩レベルに置かれる刺激に対して到達するために患者が肘又は肩を曲げるか否かを観察することによっても評価され得る。いくつかの実施形態では、運動技能は、足をなでられるか、くすぐられるか又はつねられたときに患者がその腰部又は膝を曲げるか否かを観察することによって評価される。いくつかの実施形態では、肩の屈曲、肘の屈曲、腰部内転、頸部屈曲、頭部伸展、頸部伸展及び／又は脊柱屈曲は、公知の臨床的尺度、例えば C H O P I N T E N D により評価され得る。他の S M A 症状は、公知の臨床的尺度、例えば、C H O P I N T E N D に従い評価され得る。

【0273】

いくつかの実施形態では、患者は、本明細書に記載の検査の1つを使用して判定した場合に I 型 S M A の症状（例えば1つ以上の症状）を示した後に処置される。いくつかの実施形態では、患者は、I 型 S M A の症状を示す前に処置される。いくつかの実施形態では、患者は、症状を示す前に遺伝学的検査に基づいて I 型 S M A と診断され、組み合わせ療法も本明細書で企図される。組み合わせ療法は、本明細書で使用される場合、同時処置又は連続的処置のいずれかを含む。方法の組み合わせは、新規治療との組み合わせである場合、ある特定の標準的な医学的処置（例えば A L S におけるリルゾール）の付加を含み得る。例えば、S M A に対する他の治療は、プレ m R N A への結合を変化させ、それらのスプライシングパターンを変化させるアンチセンスオリゴヌクレオチド (A S O) を含む。Singh et al., "A multi-exon-skipping detection assay reveals surprising diversity of splice isoforms of spinal muscular atrophy genes." P o s O n e, 7 (11): e49595. 一実施形態では、ヌシネルセン（参照により本明細書に組み込まれる米国特許第 8, 361, 977 号明細書及び同第 8, 980, 853 号明細書）が使用され得る。S M 2 プレ m R N A のイントロン 6、エクソン 7 又はイントロン 7 を標的とするヌシネルセン、承認済みの A S O は、S M N 2 のスプライシングを調整して、全長 S M N タンパク質をより高い効率で産生させる。いくつかの実施形態では、A A V 9 ウイルスベクターを含む処置の方法は、筋肉エンハンサーと組み合わせて施行される。いくつかの実施形態では、A A V 9 ウイルスベクターを含む処置の方法は、神経保護剤と組み合わせて施行される。いくつかの実施形態では、A A V 9 ウイルスベクターを含む処置の方法は、S M N を標的とするアンチセン

スオリゴヌクレオチドに基づく薬物と組み合わせて施行される。いくつかの実施形態では、AAV9ウイルスベクターを含む処置の方法は、ヌシネルセンと組み合わせて施行される。いくつかの実施形態では、AAV9ウイルスベクターを含む処置の方法は、ミオスタチン阻害薬と組み合わせて施行される。いくつかの実施形態では、AAV9ウイルスベクターを含む処置の方法は、スタムルマブと組み合わせて施行される。

【0274】

出生後に送達を必要とする個体への送達が企図される一方、胎児への子宮内送達も企図される。

【0275】

ウイルスベクターを含む医薬組成物を使用してI型SMA患者を処置する方法が企図される。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは、約 $1 \sim 8 \times 10^{13}$ 個のAAV9ウイルスベクターゲノム/mL (vg/mL) の濃度で処方される。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは、約 $1.7 \sim 2.3 \times 10^{13}$ vg/mL の濃度で処方される。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは、約 $1.9 \sim 2.1 \times 10^{13}$ vg/mL の濃度で処方される。いくつかの実施形態では、ウイルスベクターは、約 2.0×10^{13} vg/mL の濃度で処方される。

【0276】

患者においてI型SMAを処置するためにウイルスベクターが使用されるいくつかの実施形態では、AAVウイルスベクター（例えばAAV SMN）は、約 $1.0 \sim 2.5 \times 10^{14}$ vg/kg の用量で患者に投与される。患者においてI型SMAを処置するためにウイルスベクターが使用されるいくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、約 1.014 vg/kg の用量で患者に投与される。患者においてI型SMAを処置するためにウイルスベクターが使用されるいくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、約45～70分にわたり患者に点滴される。患者においてI型SMAを処置するためにウイルスベクターが使用されるいくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、約60分にわたり患者に点滴される。患者においてI型SMAを処置するためにウイルスベクターが使用されるいくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、輸液ポンプ、ペリスタポンプ又は当技術分野で公知の何らかの他の器具を使用して患者に点滴される。患者においてI型SMAを処置するためにウイルスベクターが使用されるいくつかの実施形態では、AAVウイルスベクターは、シリンジポンプを使用して患者に点滴される。

【0277】

一実施形態では、本明細書に記載の方法及び材料は、レット症候群などの神経発達障害の処置のために使用され得る。レット症候群は、症例の90～95%において、X染色体上のMECP2遺伝子における突然変異の結果により起こる、乳児期に最初に認識される稀少な神経障害である。Ruthie et al., "Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl-CpG-binding protein 2." Nature Genetics, 23:185-188. X染色体のコピーが1つのみある男児は、一般的に、生後直ちに死亡する一方、X染色体の2コピーを有する女児は、通常、その遺伝子の機能的コピーを1つ有する。患者は、6～18カ月齢で症状が出現し始め、手もみ又は絞るような動き、手を叩く、手を擦る、手を洗う又は口に手を入れる運動のような特徴的な症状がある。疾患は進行性であり、自閉症様の挙動、不規則な呼吸、摂食及び嚥下困難、発達遅滞及びてんかん発作を含み得る顕著な障害がある。MECP2遺伝子の200種類の既知の突然変異があり、X不活性化のレベル及び遺伝子量補正に依存して、疾患重症度は患者ごとに大きく変動する。マウス試験から、MECP2突然変異がニューロン死を引き起こさないことが示され、このことから、神経変性性の障害ではないことが示唆される。Guy et al. "Reversal of Neurological Defects in a Mouse Model of Rett Syndrome." Science, 315(5815):1143-1147.

10

20

30

40

50

【0278】

レット症候群に関する実施形態について、rAAV（例えばrAAV9）ゲノムは、例えば、メチルシトシン結合タンパク質2（MeCP2）をコードし得る。MeCP2をコードするポリヌクレオチドを含む、代表的なAAV、例えばscAAV9、コンストラクトが、その内容がそれらの全体において本明細書により組み込まれる米国特許第9,415,121号明細書で提供される。いくつかの実施形態では、MeCP2をコードするポリヌクレオチドを含むAAVコンストラクトは、本明細書で開示される方法を使用して調製され得る。いくつかの実施形態では、これらのAAVコンストラクトは、レット症候群を処置するために使用され得る。いくつかの実施形態では、MeCP2 AAVは、10%未満、例えば7%、5%、4%、3%、2%又は1%未満の空のキャプシドを示す。いくつかの実施形態では、MeCP2 AAVは、少量、例えばAAVベクターの調製及び精製のための本明細書で論じられるレベルの残留宿主細胞タンパク質、宿主細胞DNA、プラスミドDNA及び／又は内毒素を示す。

10

【0279】

一実施形態では、本明細書に記載の方法及び材料は、ALSの処置のために使用され得る。ALSは、結果として脳及び脊髄における運動ニューロンの進行性の喪失を引き起こす神経変性疾患であり、症状には、発話、摂食、移動及び最終的には呼吸する能力の喪失が含まれる。この疾患の結果、一般的には診断の3～5年以内に死亡する。ALSの90～95%の原因が不明である一方、ALSの一部は、スーパーオキシドジスムターゼ1（SOD1）遺伝子における遺伝子突然変異によって引き起こされ、突然変異により、毒性の顕性機能獲得が起こる。マウス試験から、SOD1ノックアウトの結果、疾患が起こらないことが示され、故に突然変異体SOD1のレベルをノックダウンする治療により、疾患症状が緩和されると考えられる。

20

【0280】

いくつかの実施形態では、AAVベクターは、ALSのためのSOD1を標的とするshRNAをコードする。SOD1に対するshRNAをコードする代表的なAAV、例えばscAAV9、コンストラクトは、その内容がそれらの全体において本明細書に組み込まれる国際公開第2015031392号パンフレット及び米国特許出願公開第2016272976号明細書で提供される。いくつかの実施形態では、SOD1に対するshRNAをコードするAAVコンストラクトは、本明細書で開示される方法を使用して調製され得る。いくつかの実施形態では、これらのAAVコンストラクトは、ALSを処置するために使用され得る。いくつかの実施形態では、SOD1 AAVは、10%未満、例えば7%、5%、4%、3%、2%又は1%未満の空キャプシドを示す。いくつかの実施形態では、SOD1 AAVは、例えば、AAVベクターの調製及び精製に対して本明細書で論じられるレベルの、少量の残留宿主細胞タンパク質、宿主細胞DNA、プラスミドDNA及び／又は内毒素を示す。

30

【0281】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法及び材料は、神経変性及び／又は神経発達障害の処置のために使用され得、表2で示されるような臨床試験を向上させる。

【0282】

40

【表 3】

表2 神経変性障害に対する遺伝子治療

遺伝子治療	送達経路	識別番号	相	患者	主要評価項目	期間
AAV2-NGF	IP(前脳基底部)	NCT00087789	1	軽度から中度のAD	安全性及び忍容性	2004-2010
AAV2-NGF	IP(前脳基底部)	NCT00876863	2	軽度から中度のAD	認知	2008-2015
AAVrh.10-hAPOE2	IC	NCT03634007	1	MCI又は軽度から重度のAD、APOE4ホモ接合体、年齢≥50歳	安全性	
AAV-hTERT	IV+IT	NCT04138454	1	AD又は初期認知症、年齢≥40歳	安全性及び忍容性	

10

【0283】

20

30

40

50

【表 4】

≥40 years						
ASO-MAPT	IT	NCT03186989	1/2	軽度AD、年齢50-74歳	安全性及び忍容性	
AAV2-GAD	IP(視床下核)	NCT00195143	1	特発性PD、疾患持続期間が>5年	安全性	2003-2005
AAV2-GAD	IP(視床下核)	NCT00664389	2	特発性PD、疾患持続期間が>5年	疾患重症度及び進行	2008-2010
Lentivirus-TH/AADC/CH1	IP(線条体)	NCT00662758	1/2	両側性特発性PD、年齢48-65歳、疾患持続期間が>5年	安全性	2008-2012
Lentivirus-TH/AADC/CH1	IP(線条体)	NCT01856439	1/2	NCT00627588より	長期安全性及び忍容性	2011-2022
AAV2-AADC	IP(線条体)	NCT00229736	1	中期-後期PD、年齢≤75歳	安全性及び忍容性	2004-2013
AAV2-AADC	IP(線条体)	NCT01973543	1	特発性PD、疾患持続期間が>5年	安全性及び忍容性	2013-2020
AAV2-AADC	IP(被殻)	NCT02418598	1/2	特発性PD、年齢≤75歳	安全性	
AAV2-AADC	IP(線条体)	NCT03065192	1	特発性PD、疾患持続期間が>5年	安全性及び自殺リスク	
AAV2-AADC	IP(線条体)	NCT03562494	2	PD、年齢40-75歳、疾患持続期間が>4年	問題のあるジスキネジアがないオン時間の変化	2018-2022
AAV2-NTN	IP(被殻)	NCT00252350	1	両側性特発性PD、年齢35-75歳、疾患持続期間が>5年	安全性及び忍容性	2005-2007
AAV2-NTN	IP(被殻)	NCT00400634	2	両側性特発性PD、年齢35-75歳、疾患持続期間が>5年	疾患重症度及び進行	2006-2008
AAV2-NTN	IP(黒質+被殻)	NCT00985517	1/2	特発性PD、年齢35-75歳	疾患重症度及び進行	2009-2017
AAV2-GDNF	IP(被殻)	NCT01621581	1	特発性PD、疾患持続期間が>5年	安全性及び忍容性	2013-2022
AAV2-GDNF	IP(被殻)	NCT04167540	1	PD、年齢35-75歳	安全性及び忍容性	
AAV9-GCase	IC	NCT04127578	1/2	中度-重度PD、少なくとも1つの病原性GBA1 突然変異	安全性及び免疫原性	
ASO-HTT	IT	NCT02519035	1/2	早期顕性HD、年齢25-65歳	安全性及び忍容性	2015-2017
ASO-HTT	IT	NCT03342053	2	NCT02519036から	安全性及び忍容性	2017-2019
ASO-HTT	IT	NCT04000594	1	顕性HD、年齢25-65歳	薬物動態及び薬力学	2019-2021
ASO-HTT	IT	NCT03761849	3	顕性HD、年齢25-65歳	疾患進行及び総合的な機能的能力	2019-2022
ASO-HTT	IT	NCT03842969	3	以前のrG6042(ASO-HTT)試験に参加した患者	長期安全性及び忍容性、自殺リスク、認知	2019-2024

【 0 2 8 4 】

10

20

30

40

50

【表 5】

AAV5-miHTT	IP(線条体)	NCT04120493	1/2	早期顕性HD、HTTにおける>40のCAGリピート	安全性	2019-2026
ASO-mHTT	IT	NCT03225833	1/2	早期顕性HD、標的化SNP rs362307を遂行、年齢25-65歳	安全性及び忍容性	2017-2020
ASO-mHTT	IT	NCT03225846	1/2	早期顕性HD、標的化SNP rs362331を遂行、年齢25-65歳	安全性及び忍容性	2017-2020
AAV9-SMN	IV	NCT02122952	1	1型SMA、<6又は9カ月齢	安全性	2014-2019
遺伝子治療	送達経路	識別番号	相	患者	主要評価項目	Duration
AAV9-SMN	IV	NCT03306277	3	1型SMA、≤6カ月齢	一人座り、生存	2017-2019
AAV9-SMN	IT	NCT03381729	1	3コピーのSMN2があるSMA(<12カ月齢で発症)、6-60カ月齢	安全性及び忍容性	2017-2021
AAV9-SMN	IV	NCT03461289	3	1型SMA、<6カ月齢	補助なしで座る	2018-2020
AAV9-SMN	IV	NCT03505099	3	2又は3コピーのSMN2がある発症前のSMA、≤6週齢	一人座り、補助なしで起立	2018-2021
AAV9-SMN	IV	NCT03837184	3	1型SMA、<6カ月齢	補助なしで座る	2019-2021
ASO-SMN2	IT	NCT01494701	1	年齢2-14歳	安全性、忍容性及び薬物動態	2011-2013
ASO-SMN2	IT	NCT01703988	1/2	年齢2-15歳	安全性及び忍容性	2012-2015
ASO-SMN2	IT	NCT01780246	1	NCT01494701から	安全性及び忍容性	2013-2014
ASO-SMN2	IT	NCT01839656	2	年齢≤210日齢、21-180日齢で疾患発症	運動のマイルストーン	2013-2017
ASO-SMN2	IT	NCT02052791	1	NCT01703988、NCT01780246から	安全性及び忍容性	2014-2017
ASO-SMN2	IT	NCT02292537	3	>6カ月齢で疾患発症、年齢2-12歳	運動機能	2014-2017
ASO-SMN2	IT	NCT02386553	2	2又は3コピーのSMN2があるSMA、≤6週齢	呼吸の介入治療、生存	2015-2025
ASO-SMN2	IT	NCT02594124	3	NCT02193074、NCT02292537、NCT02052791、NCT01839656、NCT02462759から	長期安全性及び忍容性	2015-2023
ASO-SMN2	IT	NCT04050852	1	年齢5-21歳	肺機能	2019-2022
ASO-SMN2	IT	NCT04089566	2/3	小児、成人、高齢成人	高用量での安全性及び忍容性、神経筋機能	2020-2023

【 0 2 8 5 】

10

20

30

40

50

【表 6】

ASO-SOD1	IT	NCT01041222	1	SOD1突然変異がある家族性ALS 年齢≥18歳	安全性、 忍容性及び 薬物動態	2010– 2012
ASO-SOD1	IT	NCT02623699	3	SOD1突然変異がある家族性ALS、 年齢≥18歳	安全性、 忍容性、 薬物動態及び 能力障害の進行	2016– 2021
ASO-SOD1	IT	NCT03070319	3	NCT02623699から	長期安全性及び 忍容性	2017– 2023
ASO-SOD1	IT	NCT03764488	1	年齢18-65歳	CNSにおける 薬物分布	2018– 2021
ASO-C9orf72	IT	NCT03626012	1	C9orf72突然変異があるALS、年齢≥18歳	安全性及び 忍容性	2018– 2021
ASO-C9orf72	IT	NCT04288856	1	NCT03626012から	長期安全性 及び忍容性	2020– 2023

10

20

【0286】

AAV毒性

AAV9ベクターが全身送達後のCNSへの送達に対して顕著な可能性を示し、その結果、脊髄筋萎縮症1型の小児患者において臨床的に成功した一方、高用量のAAVベクターの全身的な注射は、形質導入された細胞2を排除し得るT細胞反応の誘導につながり得る。サルにおいて、高い全身用量のAAV9様ベクターにより、毒性が生じ、動物が全身的な炎症により死亡したという報告が1件ある。Hinderer et al., Hum. Gene. Ther. 29(3):285–298(2018)。高用量が必要とされる理由は、ベクターゲノムコピーあたりでAAVが相当数の標的細胞において適正な導入遺伝子発現を提供するための効率が比較的低いからである。本明細書で開示されるように、AAVの低効率は、グリンパティック流入を増強させることによって修正され得る。したがって、本開示に記載の方法により、より低用量でより効率的な形質導入が可能になり、その結果、免疫毒性などの安全性の問題を低減すると同時に、治療効力がより良好になる。一態様では、本開示は、対象において肝臓及び／又は後根神経節(DRG)毒性を低減するために、CNSを標的とする医薬組成物の全身曝露の低減を必要とする対象のCNSを標的とする医薬組成物の全身曝露を低減させる方法を提供し、この方法は、本医薬組成物と組み合わせて、グリンパティック流入を増強させる薬剤を対象に投与することを含む。

30

【0287】

脳分布のばらつきの低減

本明細書に記載のように、GFPをコードするAAV9を投与された動物におけるGFP発現に対する免疫組織化学から、脳の切片における発現レベルのばらつきが示される。髄腔内投薬時にグリンパティック流入を増強させることにより、間質液中でより高いベクターレベルが達成され、その結果、標的とされる細胞タイプの、改善されたか又はより均一な形質導入が得られる。

40

【0288】

一態様では、本開示は、ウイルスベクターを含む医薬組成物で処置された患者の集団の間でのウイルスベクターの脳分布のばらつきを低減する方法を提供し、この方法は、グリンパティック流入を増強させる薬剤を医薬組成物と組み合わせて対象に投与することを含む。

50

む。

【0289】

医薬組成物

様々な実施形態では、医薬組成物が開示される。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、本明細書に開示される1つ以上の核酸、ベクター及び／又はウイルスを含む。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、薬学的に許容される担体を含む。

【0290】

本開示による核酸、ベクター及び／又は組換えウイルス（例えば、ウイルス粒子）は、薬学的に有用な組成物を調製するために製剤化することができる。例示的な製剤には、例えば、参照によりその全体が組み込まれる米国特許第9,051,542号明細書及び米国特許第6,703,237号明細書に開示されているものが含まれる。本開示の組成物は、哺乳動物対象、例えばヒトへの投与のために製剤化することができる。いくつかの実施形態では、送達系は、筋肉内、皮内、粘膜、皮下、静脈内、髄腔内、注射可能なデポ型デバイス又は局所投与のために製剤化され得る。

【0291】

いくつかの実施形態では、送達系が溶液又は懸濁液として製剤化される場合、送達系は、許容される担体、例えば水性担体中にある。様々な水性担体、例えば水、緩衝水、0.8%生理食塩水、0.3%グリシン、ヒアルロン酸などが使用され得る。これらの組成物は、滅菌及び／又は滅菌濾過され得る。得られた水溶液は、そのまま使用するためにパッケージ化され得るか又は凍結乾燥され得る。いくつかの実施形態では、凍結乾燥調製物は、投与前に滅菌溶液と組み合わせられる。

【0292】

いくつかの実施形態では、組成物、例えば医薬組成物は、pH調整剤及び緩衝剤、張性調整剤、湿潤剤など、例えば酢酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、モノラウリン酸ソルビタン、オレイン酸トリエタノールアミン等など、生理的条件に近似させるための薬学的に許容される補助物質を含み得る。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、保存剤を含む。他のいくつかの実施形態では、医薬組成物は、保存剤を含まない。

【0293】

本開示の1つ以上の実施形態の詳細は、上の添付の記載に示されている。本明細書に記載のものと同様の又は均等なあらゆる方法及び材料を本開示の実施又は試験で使用し得るものの、好ましい方法及び材料をここで記載する。本開示の他の特性、目標及び利点は、この記載及び特許請求の範囲から明らかになるであろう。本明細書及び添付の特許請求の範囲では、単数形は、文脈から別段明らかに示されない限り、複数の参照物を含む。別段定められない限り、本明細書で使用される全ての技術及び科学用語は、本開示が属する技術分野の当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書で引用される全ての特許及び刊行物は、別段示されない限り、適用可能な場合に参照により組み込まれる。以下の実施例は、本開示の好ましい実施形態をより詳細に示すために与えられる。これらの実施例は、開示される主題の範囲を限定するものとして何ら解釈されるべきではなく、この範囲は、添付の特許請求の範囲によって定義される。

【実施例】

【0294】

実施例1：非ヒト霊長類におけるAAV生体内分布

方法

評価される試料

腰椎穿刺（LP）又は頭蓋内マグナム（ICM）投与を通して髄腔内（IT）経路により 3.0×10^{13} v g の scAAV9-CB-GFP が投与されたシノモルグス・マカク（*Cynomolgus macaque*）から組織を回収し、ビヒクル対照動物と比較した。投薬のために、ケタミン／デクスメトミジンでの麻酔下に動物を置き、トレンデレンブルグ体位で10分間維持し、続いてアチパメゾール（ α -2アドレナリン作動性

アンタゴニス)を拮抗剤として投与した。剖検時に組織を回収し、ホルマリン中で固定し、その後、組織学的評価及び分子局在試験のためにパラフィンへの日常的処理を行った。

【0295】

免疫組織化学

標準的なVentana Discovery XT試薬(Ventana, Indianapolis, IN)を使用して、Ventana Discovery XT自動染色装置上で脱パラフィン及び抗原回復段階を含むGFPに対する免疫組織化学染色を行った。スライドに対して脱パラフィン処理を行い、次いで標準的なVentana回復プロトコルに従いCell Conditioning 1(CC1/pH8)溶液でそれらを被覆することによって熱誘導性抗原回復に供した。1時間にわたり表3で示されるように、一次抗体(0.372ug/mLのウサギモノクローナル抗GFP抗体クローンEPR14104-89)又は非免疫アイソタイプ一致対照(0.372ug/mLのウサギモノクローナルIgGクローンDA1E)とともにスライドをインキュベートした。下で示されるような適切なVentana Discovery OmniMap HRP試薬と、続いてVentana Discovery ChromoMap 3,3'-ジアミノベンジジン(DAB)とのインキュベーションによって可視化を行った。Ventana Hematoxylin及びVentana Bluing試薬を使用してそれぞれ4分間、対比染色を行った。スライドを脱水し、透徹し、合成封入液を用いてカバースリップを載せた。免疫組織化学スライドを調べ、それぞれ染色なし、染色面積が<1%、染色組織が1~10%、染色組織が11~50%又は染色組織が50%超に基づいて、陰性、微小、中度又は強度反応スコアを割り当てた。

【0296】

【表7】

表3 免疫組織化学抗体

抗体供給業者 /コード		クローン	希釈 /濃度
Abcam/ab183735		EPR14104-8	0.372 ug/ml
		9	
Cell signaling Technology/3900s		DA1E	0.372 ug/ml

【0297】

GFP免疫組織化学染色の画像分析

Indica Labs(v3.0.311.149)によってHALOプラットフォームを使用して、Aperio AT2スキャナ(Leica Biosystems)においてスキャンした20×画像上で画像分析を行った。組織に手作業でアノテートし、非特異的なバックグラウンド染色を除去した。ピクセルに基づく逆重畳積分を使用したArea Quantificationアルゴリズムv2.1.3を陽性GFP免疫組織化学シグナルに対して最適化し、アノテートした画像上で操作した。結果は、総組織面積に対して正規化された陽性シグナルに基づき、その結果、%陽性シグナル/総面積を得た。GraphPad Prismバージョン8.1.2において分析及びグラフ作成を行った。ITとICM群との間のパーセントピクセル陽性面積の差は、群解析の多重マン・ホイットニー検定を使用して比較した。

【0298】

ベクター配列に対するインシトゥハイブリダイゼーション

Advanced Cellにより供給されるDiagnostics(ACD)(Hayward, CA)及びVentana Medical Systems(Rochester, Tucson AZ)によって供給される試薬及び装置を使用して選択ブロックにお

いて、AAVベクター並びにマカカ・ファスシキュラリス（*Macaca fascicularis*）（Mf）-PPIB（AS）（陽性対照及び組織品質管理）及びDapB（AS）（陰性対照）遺伝子においてコードされるGFPアンチセンス（AS）及びセンス（S）配列を検出するためのインシトゥハイブリダイゼーションを行った。インシトゥハイブリダイゼーションRNA Scope（登録商標）プローブはACDにより設計された。プローブのリストを表4で与える。mRNAの品質及び特異性をそれぞれ保証するために、陽性PPIB及び陰性DAPB対照プローブセットが含まれた。ハイブリダイゼーション法は、Ventana mRNA Red chromogensを使用してACD及びVentana systemsにより確立されたプロトコールに従った。簡潔に述べると、5 μm切片を60℃で60分間焼き、ハイブリダイゼーションのために使用した。Sakura Tissue-Tek DR5染色装置を使用して、以下の段階によって脱パラフィン及び再水和プロトコールを行った：キシレンで各5分間3回；100%アルコールで2分間、2回；5分間風乾。98～104℃で15分間、1×回復緩衝液中でのオフラインの手作業での前処理。最初にPPIB及びDAPBハイブリダイゼーションシグナルによって評価し、続いて全スライドに対して同じ条件を使用することによって最適化を行った。前処理後、プロテアーゼ前処理を含むISH手順を完了するためにスライドをVentana Ultra自動染色装置に移し；43℃で2時間のハイブリダイゼーションを行い、続いて増幅を行い；HRP及びヘマトキシリン対比染色により検出した。

【0299】

【表8】

表4 インシトゥハイブリダイゼーションプローブ

プローブ	名称	ベンダー	カタログ#	コメント
DapB	ジヒドロジピコリン酸レダクターゼ	ACD	312039	陰性対照プローブ
	マカカ・ファスシキュラリス (<i>Macaca fascicularis</i>)ペプチジルプロリルイソメラーゼB			陽性対照ハウスキープینگ遺伝子プローブ
	Mfa-PPIB			
GFP-アンチセンス	緑色蛍光タンパク質	ACD	400289	ベクターアンチセンスプローブ
GFP-センス	緑色蛍光タンパク質	ACD	409978	ベクターセンスプローブ

【0300】

結果

脳、脊髄、腰部後根神経節（DRG）及び全身的な組織の選択ブロック上でGFPタンパク質発現に対する免疫組織化学を行い、GFP免疫組織化学染色の度合いについてスコア化した（表5）。対照組織の染色ではシグナルは生じず、ウサギIgG対照抗体DA1Eでシグナル及び非特異的なシグナルは観察されなかった。DRG及び脊髄と比較して、全体的なより低く、よりばらつきが大きい発現レベルが、scAAV9-CB-GFPが投与された全評価動物からの脳切片において検出された（図1A～G）。GFPタンパク質検出は、分布が多巣性であり、脳実質のかなりの領域が発現を示さなかった。いくつかの領域において、軟膜において強い発現が観察されたが、下部のニューロピルにはなかった。肝臓及び骨格筋などの全身組織においてロバストなGFP発現が観察された。髄腔内経路を通した直接的なCSFへのベクターの投与にもかかわらず、これらの知見は、標的

とされる細胞型の表面上でグリカン及びタンパク質受容体とベクターが相互作用し得る前に必要とされる段階での脳実質の間質液へのベクターの分布に対する著しい障壁と一致する。

【0301】

形態学的に、GFPタンパク質を発現する細胞の大部分が星状細胞と一致していると思われた。この解釈を検証するために、星状細胞マーカーGFAP及びGFPレポーターについて二重標識免疫組織化学実験を行った（図2）。これらの結果から形態学的な解釈が裏付けられ、主に星状細胞の形質導入及びタンパク質発現が確認された。免疫組織化学により、GFPに対して染色された脳、脊髄及びDRGの切片上で定量的画像分析を行い、パーセントGFP陽性ピクセルとして報告した（図3）。最大発現レベルが脊髄及びDRGにおいて検出され、脳で検出された発現はより低レベルであった。評価した領域にわたり 3.0×10^{13} v g / 動物で投与されたLP ITとICM動物との間で統計学的な有意差はなかった。これらの知見と一致して、プルキンエニューロン及び深部小脳核のニューロンにおいて、限定的なGFPタンパク質発現が観察された（図4）。

10

【0302】

タンパク質発現パターンを確認するために、GFPセンス及びアンチセンスプローブを用いてインシトゥハイブリダイゼーションを行って、脳の選択領域においてベクター配列を検出した。インシトゥハイブリダイゼーションにより、GFPに対する免疫組織化学と比較して、ベクター局在の同様のパターンが検出され、しばしば血管及び血管周囲パターンでシグナルが明らかになった。LP ITとICM投与動物との間の差は観察されなかった。

20

【0303】

多巢性の血管周囲分布に加えて、一部の動物において、限定的な脳室周囲GFPタンパク質発現が明らかであった。このパターンで、主に星状細胞においてタンパク質発現が検出され、一般的には隣接ニューロピルの $500 \sim 1000$ μ mに限定されていた（図5）。これらの知見は、脳室CSFからのベクターの拡散が限定的であることと一致する。

【0304】

多巢性のGFP発現パターンのさらなる評価から、穿通動脈血管に沿って陽性の星状細胞が血管周囲分布を示すことが多いことが明らかになった（図6及び7）。画像分析を通じたGFP免疫組織化学陽性細胞の検出から、これらの血管に沿った分布及び発現の線状の性質が強調された（図8）。星状細胞のこの血管周囲の形質導入は、髄腔内投与されたベクターがグリンパティック流入を通して脳実質の間質液に到達することと一致する。

30

【0305】

40

50

【表 9】

表 5 IT LP 及び ICM 経路による対照動物 P0001 及び 3.0×10^{13} vg/動物の scAAV9-CB-GFP が投与された動物からの脊髄、DRG 及び脳切片における GFP 免疫組織化学スコア

	対照	IT LP 3.0E13					ICM 3.0E13			
組織 (ブロック番号)	P0001	P0301	P0302	P0303	P0304	P0501	P0502	P0503	P0504	
L SC(8D)	neg	中	中	中	中	中	neg	軽	中	10
S DRG(37)	neg	中	強	中	軽	微小	軽	軽	強	
PFC(44)	neg	微小	微小	微小	軽	微小	微小	微小	微小	
TC、PUT、CG(45)	neg	軽	軽	neg	軽	軽	neg	軽	微小	
CC、CG(46)	neg	軽	軽	微小	軽	微小	微小	軽	微小	
TC(47)	neg	軽	軽	微小	軽	微小	neg	軽	微小	
TH、HT、HC、AMD(48)	neg	軽	軽	微小	軽	微小	微小	軽	微小	20
TH、HT、HC、SN(49)	neg	軽	軽	微小	軽	軽	n/p	軽	微小	
PN、CB(50)	neg	軽	軽	微小	軽	軽	微小	軽	中	
CB、DCN(51 又は 52)	neg	中	軽	微小	中	軽	微小	軽	微小	
OC(51 又は 52)	neg	中	中	微小	中	軽	微小	軽	微小	
CB(53)	neg	軽	n/p	微小	n/p	軽	n/p	軽	微小	

LP IT、髄腔内;ICM、頭蓋内マグナ(intracranial magna);neg、陰性;L SC、腰髄;S DRG、仙骨後根神経節;PFC、前頭前皮質;TC、側頭皮質;PUT、被殻;CG、帯状回;CC、脳梁;TH、視床;HT、視床下部;HC、海馬;AMD、扁桃体;SN、黒質;PN、脳橋;CB、小脳;DCN、深部小脳核;OC:後頭葉皮質;n/p、存在せず;neg、陰性。

【0306】

グリンパティックは、血管に隣接する星状細胞によって形成される動脈周囲腔に沿って脳のより深い領域にCSFが引き込まれる最近認識された系であり、CSFは、対応する細静脈周囲の空間において脳を出る前に間質液と交流し得る。この系は、流体の動き及び脳実質からの巨大分子の除去において主要な役割を果たすと考えられる。AAVベクターと同等なサイズであるリポタンパク質などのより大きい粒子は、グリンパティック系を通して動く。この試験で観察されるGFP分布パターンは、脳表面を裏打ちする膜を横断するベクターの拡散が限定的であること及びベクター侵入が主にグリンパティック流入を通して起こることと一致する。

【0307】

これらの知見に基づき、AAVベクターのCNS及び全身分布のモデルがIT投与後に提案され得る(図9)。CSFは、常に産生されており、シノモルグス・マカク(cynomolgus macaque)では、半減期がおよそ5時間であり、その後、くも膜顆粒及び神経根を通して髄腔内の空間から排出され、髄膜のリンパ管に入り、その後全身的な循環に入る。組織において定量されたベクターDNAコピー数に基づき、全部で 3.0×10^{13} 個のベクター用量の0.01%のみが投与後1カ月で脳において検出可能で

あり、それと比較して、IT送達後に肝臓では1.3%が検出可能であった。これは、グリンパティック流入を通して脳実質において間質液と交流する前に、ベクターの大部分が髄腔内の空間から全身的な循環に流れ出ることと一致する。髄腔内投与時にグリンパティック流入を増強させることにより、間質液中でより高いレベルのベクターが達成され、その結果、標的とされる細胞タイプの形質導入が改善され、より均一になる。さらに、全身的な器官に対するベクター分布の低下により、これらの組織において安全性問題が低減され得る。

【0308】

実施例2：4週間の観察期間でのカニクイザルにおける単回髄腔内注入後のAAV9脳形質導入のグリンパティック流調整の影響

以前の非臨床NHP試験から、AAV遺伝子治療ベクターの髄腔内投薬後の脳実質の形質転換が低く、ばらつきがあることが示された。脳での形質導入を評価するために相補的分子局在アプローチ（免疫組織化学及びインシトゥハイブリダイゼーション）を使用して、実質で検出される形質導入された細胞の大多数が、血管周囲腔に隣接して局在する星状細胞であると思われ、このことから、ベクターがグリンパティック系を通して脳実質に入り得ることが示される。睡眠周期に対する投与の時間、麻酔レジメン、動脈の脈波及び末梢モル浸透圧濃度などの多数の促進因子がグリンパティック流入に影響を及ぼし得、脳実質の間質腔内でのベクター粒子の侵入に影響し得る。これらの因子の操作により、脳において標的とされた細胞型の形質導入レベルが改善され得、全体的なばらつきが低下し得る。CNS組織への分布及びCNS組織の形質導入のさらなる向上により、全身的な分布並びに肝臓及び後根神経節毒性などの関連する安全性シグナルも低減され得る。

【0309】

したがって、この試験の目的は、単回投与としてカニクイザルに投与される場合、AAVベクターの髄腔内注射後に、ばらつきを低減し、脳形質導入レベルを上昇させるための投与のタイミング、麻酔レジメ及び血漿高浸透圧を探索することである。低周波高振幅のデルタ波パターンと比較して麻酔の深さを評価し、用量投与のタイミングを改善するために、EEGによる脳波活動性の監視を行う。投与後、動物を投与後少なくとも4週間観察し、ベクターが標準的な方式で投与された対照群と変化を比較する。

【0310】

【表10】

表6 群の割り当て及び用量レベル

群 ^a	用量レベル ^b	用量濃度 ^b	動物数
	(vg/動物)	(vg/mL)	雄
1	3.0×10^{13}	TBD	4
2	3.0×10^{13}	TBD	4
3	3.0×10^{13}	TBD	4

TBD=未確定

注:動物は3つのコホートに分けられる。コホート1は、群1の全動物からなり、コホート2は、群2の全動物からなり、コホート3は、群3の全動物からなる。

a 全群に試験物品(scAAV9-CB-GFP)を投与する。

b 2mL/動物の体積で動物に投与する。

【0311】

用量投与の根拠

対象とするヒト治療経路であるため、髄腔内注入投与経路を選択した。これは、全身曝露を制限する一方、中枢神経系の広い形質導入を達成するための好ましい投与経路である。

【 0 3 1 2 】

用量の正当化

脳実質内での A A V 9 - C B - G F P の形質導入プロファイルの特徴を評価するために 3 e 1 3 v g / 動物の用量が以前に使用されており、したがって、これは、ベンチマークとしての使用となる。この用量レベルは、一般に、同様の被験物質を使用した過去の試験において忍容性良好であり、重篤な有害事象は報告されなかった。この用量での以前忍容性があった知見は、肝臓酵素上昇を含み、後根神経節における神経病理学的な変化が観察された (A A V プラットフォームに関するものとして知見が同定された) 。

【 0 3 1 3 】

種の選択

A A V 生体内分布及び安全性評価試験においてカニクイザルが歴史的に使用されており、科学的な観点からの最適な非臨床モデルである。サルとヒトとの間で C N S 解剖学が類似しているため、適切な種としてカニクイザルが選択された。

【 0 3 1 4 】

10

20

30

40

50

【表 1 1】

表 7 用量投与

処方操作	投与製剤は、投薬前に少なくとも 30 分間、周囲条件で維持する。
頻度	投薬期の第 1 日に 1 回 投薬期の第 1 日は、各コホートに対する投薬日として定められる。
用量体積	2mL/動物
投与経路	腰部領域において、髄腔内、スローボラス注射(B Braun 製造の 25 ゲージx1 インチ Pencan Pencil Point Spinal Needleを使用し、1～3 分間投与し、その後、0.25mL の 0.9%滅菌食塩水でフラッシュ) 注射前に、最大 1.0mL の CSF を取り出し、回収(脳脊髄液回収セクション参照;回収した体積を記録)。 コホート 1:IT 注射後 10～15 分間、トレンデレンブルグ体位に動物を配置。このタイミングは、その動物の許容可能なバイタルサインを維持する能力の両方に基づいて調整され得る。 コホート 2 及び 3:IT 注射後 1～2 時間、トレンデレンブルグ体位に動物を配置。このタイミングは、その動物の許容可能なバイタルサインを維持する能力の両方に基づいて調整され得る。 各投与の位置は生データにおいて文書化する。
投与部位の準備	投薬前に及びその後必要に応じて、投薬のために使用される領域に対して毛がかからないように毛を刈る。注射部位に印を付け、必要に応じて維持する。投与の位置は生データにおいて文書化する。
投与部位の同定	投与部位の選択肢は次の通りである。 投与部位 A:L5-L6 必要に応じて、次の投与部位を使用し得、文書化する。 投与部位 B:L4-L5 投与部位 C:L3-L4 投与部位 D:L2-L3
絶食状態	投薬前に動物を一晩絶食させる。

10

20

30

40

【0 3 1 5】

麻酔方法

コホート 1 に対する方法

投薬前、投薬の 10～15 前にケタミン (10 mg / kg) で動物に麻酔をかけ、続いてデクスメトミジン (0.02 mg / kg) を投与する。用量投与の完了後、後肢を高くした背殿位 (トレンデレンブルグ様体位) で動物を 10～15 分間維持する。動物にアチパメゾール (0.2 mg / kg IM) を投与する。標準時 8:00～10:00 AM に投薬を行う。

【0 3 1 6】

50

コホート 2 及び 3 に対する方法

投薬前、投薬の 10～15 分前にケタミン（10 mg / kg）で動物に麻酔をかけ、続いてデクスメトミジン（0.02 mg / kg）を投与し、続いてセボフルラン吸入麻酔を行う。

【0317】

EEG により麻酔の深さを監視し、深い麻酔状態（最大デルタパワー及び微小アルファパワー）に達したときに投薬を行う。

【0318】

コホート 3 に対して、高張食塩水（HTS）（NaCl 3% AT 2～3.5 ml / kg）の静脈内注射を行い、HTS 投与の 5 分後に投薬を行う。流体及び電解質は、血清ナトリウム、カリウム及び流体入／出に特定の注意を払い、全ての高浸透圧流体の投与とともに監視を必要とする。

【0319】

用量投与の完了後、後肢を高くした背殿位（トレンデレンブルグ様体位）で動物を維持し、投与後 1～2 時間、手順全体にわたり麻酔状態を維持する。

【0320】

2:00～4:00 PM に投与を行う。

【0321】

臨床観察

動物健康監視－1 日に少なくとも 2 回（a.m. 及び p.m.）；移動／終了日に少なくとも 1 回。

【0322】

ケージサイド観察－投薬前及び投薬期中に 1 日 1 回

【0323】

投与後の検査－投与された各動物に対する投与日。時間点は投与後 1 時間である。観察は、各動物に対する投薬完了時間に基づく。

【0324】

体重－投与前の期間：少なくとも 1 回。投薬期：第 1、8、15、22 及び 28 日に 1 回。

【0325】

食餌消費－動物到着／移動日を除いて又は必要に応じて他の試験手順のための絶食がない限り、投与前及び投薬期中は毎日。

【0326】

抗 AAV9 キャプシド免疫原性分析

投与前の期間に少なくとも 1 回並びに第 1 日の投与前及び第 8、15 及び 22 日及び投薬期中の計画された安楽死の日（その日に 殺が計画されている動物のみ）に 1 回、血清試料を回収する。

【0327】

十分な試料が利用可能である場合、抗 AAV9 キャプシド免疫原性のために血清試料を分析する。計画された試験が完了され得ない場合、理由を記録する。

【0328】

生体内分布分析

第 1 日の投与前に及び第 8 日に 1 回及び投薬期中の計画された安楽死の日（その日に 殺が計画されている動物のみ）に血液試料を回収する。

【0329】

試料が十分な体積である場合、非 GLP 法を使用することにより、DNA（ベクターゲノム）について血液細胞ペレット及び血漿を分析する。試料体積が分析に不十分な場合には記録する。

【0330】

NfL 及び GFAP 分析

10

20

30

40

50

第1日の投薬前に血漿試料を回収し、投薬期中、第8、15、22及び28日に1回、回収する。

【0331】

試料が十分な体積である場合、NfL及びGFAP分析に対して非GLP法を使用することによって血漿を分析する。試料体積が分析に不十分な場合には記録する。

【0332】

抗AAV9キャプシド免疫原性、生体内分布及びNfL及びGFAP分析のための脳脊髄液

第1日の投与前にCSF試料を回収し、投薬期中の計画された安楽死の日（その日に殺が計画されている動物のみ）に回収する。

【0333】

チューブ1：試料体積が十分である場合、非GLP法を使用することにより、DNA（ベクターゲノム）についてCSF試料を分析する。試料体積が分析に不十分な場合には記録する。

【0334】

チューブ2：試料体積が十分である場合、NfL及びGFAP分析のために非GLP法を使用することにより、CSF試料を分析する。試料体積が分析に不十分な場合には記録する。

【0335】

チューブ3及び4：十分な試料が利用可能である場合、抗AAV9キャプシド免疫原性についてCSF試料を分析する（修正により追加されるべき方法情報）。計画された試験が完了できない場合、理由を記録する。

【0336】

本明細書に記載の例及び態様は、単なる説明目的であり、それに照らして様々な修飾形態又は変更形態が当業者に示唆され、本明細書の趣旨及び範囲並びに添付の特許請求の範囲内に含まれるべきであることを理解されたい。

【0337】

さらに、本開示の特性又は態様がマーカッシュグループに関して記載される場合、当業者は、本開示がそれによりマーカッシュグループのいずれかの個々のメンバー又はメンバーのサブグループに関しても記載されることを認識する。

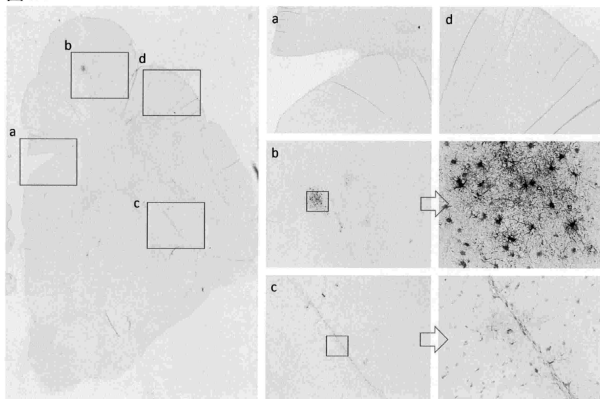
【0338】

あたかもそれぞれが個々に参照により組み込まれるのと同じ程度まで、それらの全体における参照により（又は文脈が指示する場合）、本明細書で言及される全ての刊行物、特許出願、特許及び他の参考文献が明らかに組み込まれる。矛盾する場合、定義を含めて本明細書が優先する。

【図面】

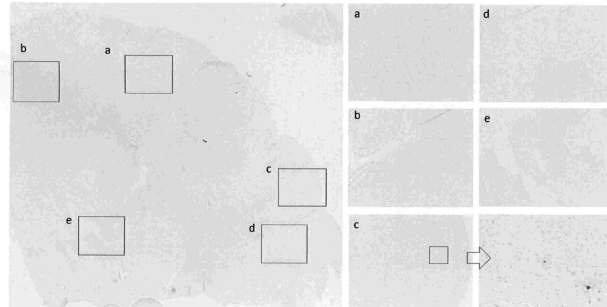
【図1-1】

図1A



【図1-2】

図1B



10

20

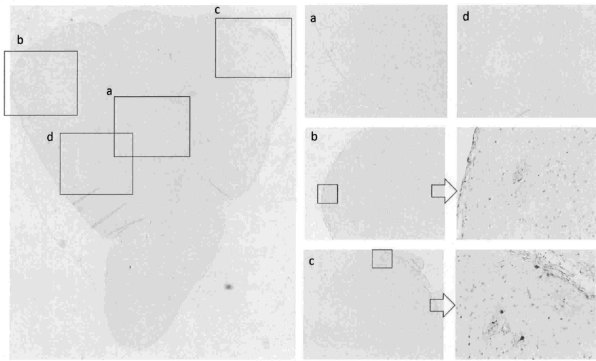
30

40

50

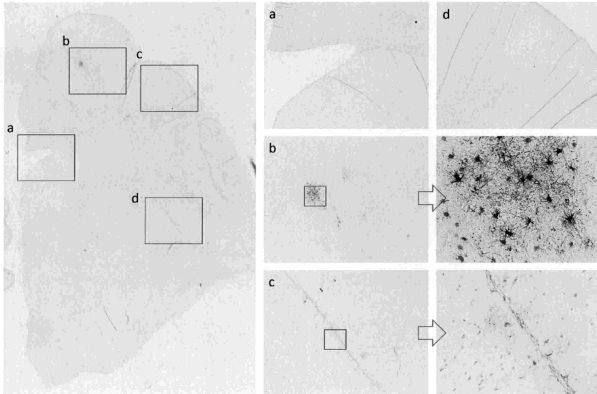
【図 1 - 3】

図1C



【図 1 - 4】

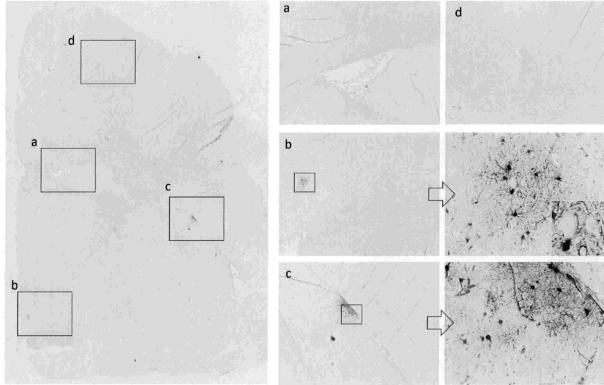
図1D



10

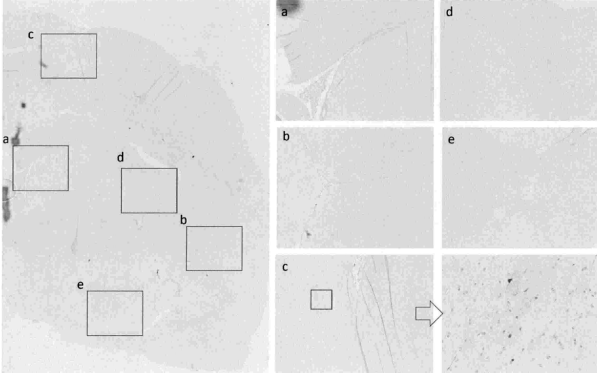
【図 1 - 5】

図1E



【図 1 - 6】

図1F



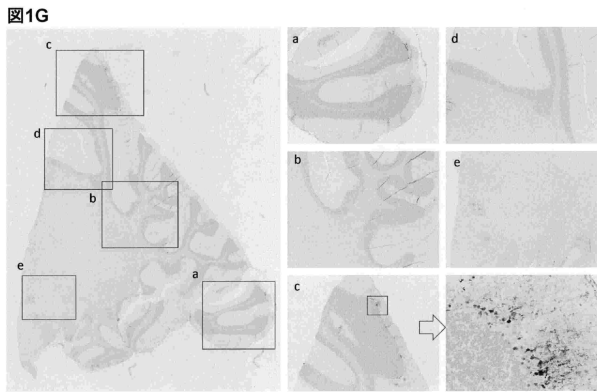
20

30

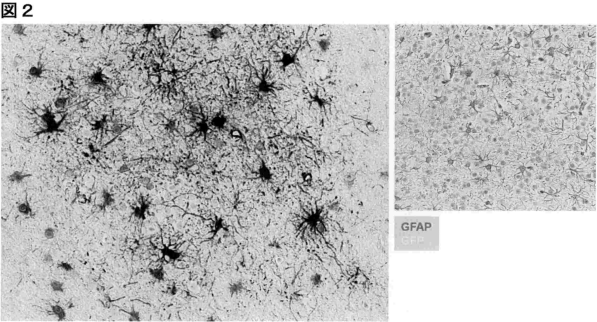
40

50

【図 1 - 7】

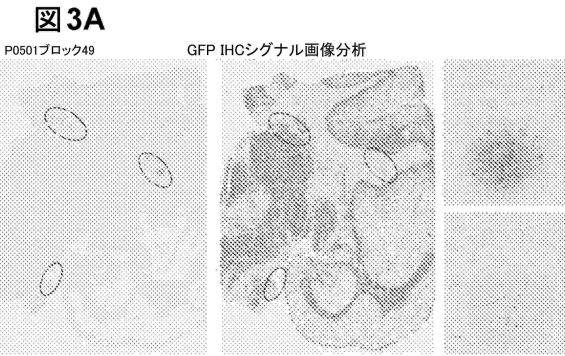


【図 2】

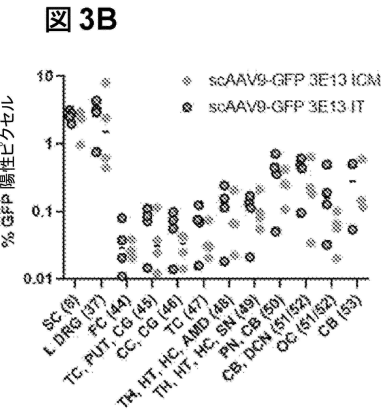


10

【図 3 - 1】



【図 3 - 2】



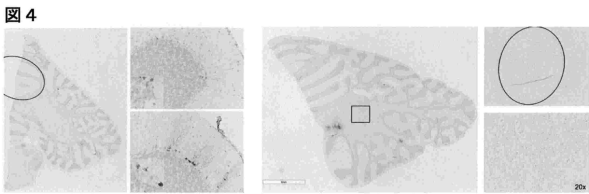
20

30

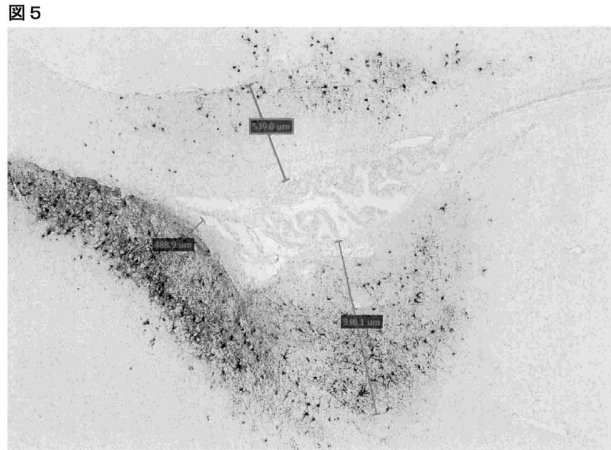
40

50

【図 4】

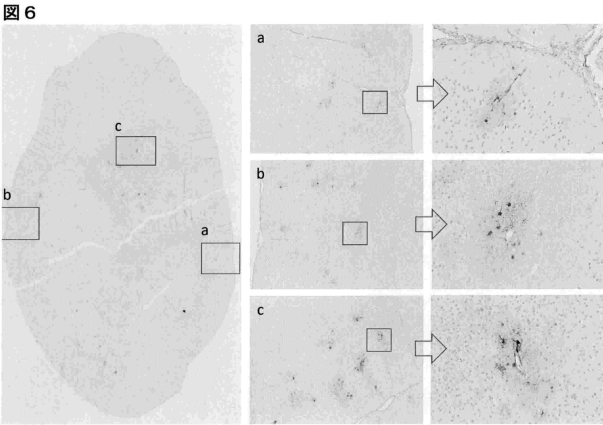


【図 5】

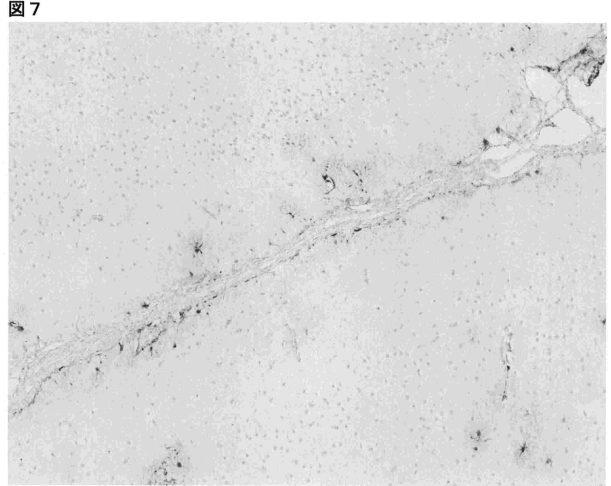


10

【図 6】



【図 7】



20

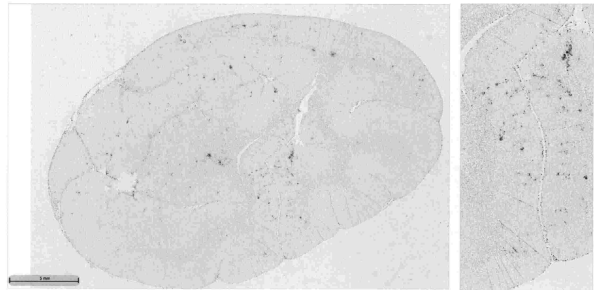
30

40

50

【 図 8 】

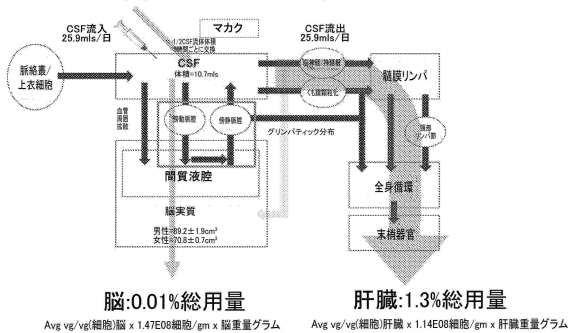
図 8



【 図 9 】

図 9

3.00E13 scAAV9-CBA-GFP IT LP



【 配 列 表 】

2024539123000001.xml

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2022/060189

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K31/08 A61K31/135 A61K31/4174 A61K31/44 A61K31/4535
A61K31/7004 A61K33/14 A61K39/395 A61K9/00 A61K45/06
A61K48/00 A61P25/00 A61P25/28 C12N15/86

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)

A61K C07K A61P C12N

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	WO 2020/072357 A1 (UNIV ROCHESTER [US]) 9 April 2020 (2020-04-09)	1-6, 19-24, 29, 43-49, 61-66, 80-84, 97-102, 107
Y	claims 1-41; figures 4A-4G; examples 3-5 -----	1-191
X	US 2016/000945 A1 (NEDERGAARD MAIKEN [US] ET AL) 7 January 2016 (2016-01-07)	1-8, 25
Y	claims 22-43; example 8 -----	1-191
Y	US 2021/230632 A1 (SAH DINAH WEN-YEE [US] ET AL) 29 July 2021 (2021-07-29) claims 1-100; examples 1-14 -----	1-11, 29-38
	---/---	

☒ 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

19 January 2023

Date of mailing of the international search report

25/01/2023

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

Estañol, Inma

2

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2022/060189

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	LILIUS TUOMAS O ET AL: "Dexmedetomidine enhances glymphatic brain delivery of intrathecally administered drugs", JOURNAL OF CONTROLLED RELEASE, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 304, 28 June 2019 (2019-06-28), pages 29-38, XP085733414, ISSN: 0168-3659, DOI: 10.1016/J.JCONREL.2019.05.005 [retrieved on 2019-05-05] cited in the application	1-5, 9-11
Y	pages 29-36; figures 1-5	1-11, 29-38
Y	----- LEE DONG SOO ET AL: "Brain Glymphatic/Lymphatic Imaging by MRI and PET", NUCLEAR MEDICINE AND MOLECULAR IMAGING, SPRINGER BERLIN HEIDELBERG, BERLIN/HEIDELBERG, vol. 54, no. 5, 27 August 2020 (2020-08-27), pages 207-223, XP037269856, ISSN: 1869-3474, DOI: 10.1007/S13139-020-00665-4 [retrieved on 2020-08-27] figures 5, 6a, 6b, 6d	1-191
Y	----- KOY CHONG NG KEE KWONG ET AL: "Defining novel functions for cerebrospinal fluid in ALS pathophysiology", ACTA NEUROPATHOLOGICA COMMUNICATIONS, BIOMED CENTRAL LTD, LONDON, UK, vol. 8, no. 1, 20 August 2020 (2020-08-20), pages 1-18, XP021280774, DOI: 10.1186/S40478-020-01018-0 page 11	1-191
Y	----- BENJAMIN A. PLOG ET AL: "Transcranial optical imaging reveals a pathway for optimizing the delivery of immunotherapeutics to the brain", JCI INSIGHT, vol. 3, no. 20, 18 October 2018 (2018-10-18), XP055664423, ISSN: 2379-3708, DOI: 10.1172/jci.insight.120922 figures 7A, 7B, 7C, 7E	1-191
	----- -/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2022/060189

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	L. XIE ET AL: "Sleep Drives Metabolite Clearance from the Adult Brain", SCIENCE, vol. 342, no. 6156, 18 October 2013 (2013-10-18), pages 373-377, XP055312252, US ISSN: 0036-8075, DOI: 10.1126/science.1241224 figures 1, 3, 4A, 4B -----	1-191
X	LIU XINGHUA ET AL: "Polyunsaturated fatty acid supplement alleviates depression-incident cognitive dysfunction by protecting the cerebrovascular and lymphatic systems", BRAIN, BEHAVIOR AND IMMUNITY, ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, CA, US, vol. 89, 24 July 2020 (2020-07-24), pages 357-370, XP086288349, ISSN: 0889-1591, DOI: 10.1016/J.BBI.2020.07.022 [retrieved on 2020-07-24] figures 5C, F -----	1-4, 6-8, 29
Y		1-191
Y	SUN BAO-LIANG ET AL: "Lymphatic drainage system of the brain: A novel target for intervention of neurological diseases", PROGRESS IN NEUROBIOLOGY (OXFORD),, vol. 163, no. Sp. Iss. SI, 1 April 2018 (2018-04-01), pages 118-143, XP002797338, ISSN: 0301-0082, DOI: 10.1016/J.PNEUROBIO.2017.08.007 column 3.4 -----	1-191

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB2022/060189

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☒ forming part of the international application as filed.
- b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2022/060189

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2020072357	A1	09-04-2020	AU 2019354965 A1 CA 3115071 A1 CN 113226283 A EP 3860564 A1 JP 2022508609 A KR 20210100086 A US 2022031867 A1 WO 2020072357 A1	06-05-2021 09-04-2020 06-08-2021 11-08-2021 19-01-2022 13-08-2021 03-02-2022 09-04-2020
US 2016000945	A1	07-01-2016	CN 105228652 A EP 2964270 A1 JP 6382232 B2 JP 2016509061 A US 2016000945 A1 WO 2014130777 A1	06-01-2016 13-01-2016 29-08-2018 24-03-2016 07-01-2016 28-08-2014
US 2021230632	A1	29-07-2021	EP 3793616 A1 TW 202015742 A US 2021230632 A1 WO 2019222329 A1	24-03-2021 01-05-2020 29-07-2021 21-11-2019

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K 47/12 (2006.01)
A 6 1 P 25/00 (2006.01)
A 6 1 K 47/26 (2006.01)
A 6 1 K 31/44 (2006.01)
A 6 1 K 31/08 (2006.01)
A 6 1 K 31/4168(2006.01)
A 6 1 K 31/433 (2006.01)
A 6 1 K 31/4164(2006.01)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)
A 6 1 K 31/7088(2006.01)
A 6 1 K 31/135 (2006.01)
A 6 1 K 38/18 (2006.01)
C 1 2 N 15/864 (2006.01)

A 6 1 K 47/12
A 6 1 P 25/00
A 6 1 K 47/26
A 6 1 K 31/44
A 6 1 K 31/08
A 6 1 K 31/4168
A 6 1 K 31/433
A 6 1 K 31/4164
A 6 1 K 39/395
A 6 1 K 31/7088
A 6 1 K 31/135
A 6 1 K 38/18
C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z
C 1 2 N 15/864

4 C 2 0 6

Z N A

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,N
E,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,
CV,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,I
T,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,
MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,
SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

ツツ アベニュー 2 5 0 , ノバルティス インスティテューツ フォー バイオメディカル リサー
チ, インコーポレイテッド

F ターム (参考)

4C076 AA95 BB11 BB13 DD23 DD41 DD67
4C084 AA13 AA20 AA24 BA44 DB52 MA52 MA56 MA66 NA05 NA13
ZA021 ZA031 ZA052 ZC412 ZC751
4C085 AA13 EE03
4C086 AA01 AA02 BC17 BC38 BC85 EA16 GA16 MA02 MA04 MA66
NA05 NA13 ZA02 ZC41 ZC75
4C087 AA01 AA02 BC83 CA12 NA05 NA13 ZA02
4C206 AA01 AA02 CA23 FA29 MA02 MA04 MA76 MA86 NA05 NA13
ZA02 ZC41 ZC75