

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)公表特許公報(A)

(11)公表番号  
特表2022-525888  
(P2022-525888A)

(43)公表日 令和4年5月20日(2022.5.20)

(51)国際特許分類		F I	テーマコード(参考)	
A 6 1 K	38/43 (2006.01)	A 6 1 K	38/43	4 C 0 8 4
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	48/00	4 C 0 8 7
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	4 C 2 0 6
A 6 1 K	35/76 (2015.01)	A 6 1 K	35/76	
A 6 1 K	38/48 (2006.01)	A 6 1 K	38/48	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全20頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2021-555592(P2021-555592)	(71)出願人	302057661
(86)(22)出願日	令和2年3月20日(2020.3.20)		ラッシュ・ユニバーシティ・メディカル ・センター
(85)翻訳文提出日	令和3年11月11日(2021.11.11)		アメリカ合衆国 60612 イリノイ州 , シカゴ, ウエスト コングレス パーク ウェイ 1653
(86)国際出願番号	PCT/US2020/023768	(74)代理人	110002077
(87)国際公開番号	WO2020/197967	(72)発明者	園田・小林特許業務法人 パハン, カリバーダ
(87)国際公開日	令和2年10月1日(2020.10.1)		アメリカ合衆国 60076 イリノイ, スコーリー, トリップ アヴェニュー 7830
(31)優先権主張番号	62/822,310	F ターム(参考)	4C084 AA13 AA19 BA44 CA53 DC02 DC07 DC22 MA02 MA66 NA05 NA14 ZC21
(32)優先日	平成31年3月22日(2019.3.22)		最終頁に続く
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
(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		

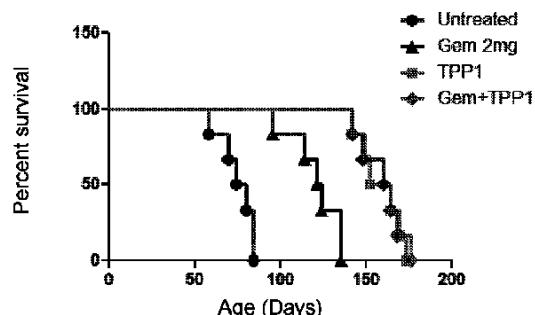
(54)【発明の名称】 リソソーム蓄積症のための、経鼻遺伝子送達と経口の桂皮酸、オレアミド、またはゲムフイブロジルとの組合せ

## (57)【要約】

本明細書において、リソソーム酵素をコードする遺伝子および薬剤の投与を含む、リソソーム蓄積症の処置のための方法が提供される。共投与による遺伝子療法と薬学的組成物との組合せは、各個々の治療法の効果をさらに増強させるだけではなく、各個々の組成物の様々な作用機序を理由として、処置のための多角的手法の提供もする。

【選択図】図 1

Figure 1



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

リソソーム蓄積症の処置のための方法であって、それを必要とする対象に、リソソーム酵素をコードする治療的有効量の遺伝子を含む第1の組成物、および治療的有効量の薬剤を含む第2の組成物を投与することを含む、方法。

**【請求項 2】**

第1の組成物が鼻腔内投与される、請求項1に記載の方法。

**【請求項 3】**

遺伝子が血液脳関門を通過して送達される、請求項1に記載の方法。

**【請求項 4】**

第1の組成物が7～30日ごとに約1回投与される、請求項1に記載の方法。

10

**【請求項 5】**

第1の組成物が、リソソーム酵素をコードする遺伝子を含むウイルスベクターを含む、請求項1に記載の方法。

**【請求項 6】**

ウイルスベクターがアデノウイルス隨伴ウイルスベクターである、請求項6に記載の方法。

**【請求項 7】**

遺伝子が、*pp1*、*c1n2*、*c1n3*、*gale*、または*hexa*を含む、請求項1に記載の方法。

20

**【請求項 8】**

リソソーム酵素が、パルミトイル-タンパク質チオエステラーゼ-1、トリペプチジルペプチダーゼ1、ガラクトシルセラミド、バッテニン、またはヘキソサミニダーゼAを含む、請求項1に記載の方法。

**【請求項 9】**

乳児型神経セロイドリポフスチン症を含むリソソーム蓄積症の処置のために、*pp1*遺伝子を含む第1の組成物を投与することを含む、請求項7に記載の方法。

**【請求項 10】**

遲発乳児型神経セロイドリポフスチン症を含むリソソーム蓄積症の処置のために、*c1n2*遺伝子を含む第1の組成物を投与することを含む、請求項7に記載の方法。

30

**【請求項 11】**

若年型神経セロイドリポフスチン症を含むリソソーム蓄積症の処置のために、*c1n3*遺伝子を含む第1の組成物を投与することを含む、請求項7に記載の方法。

**【請求項 12】**

クラッベ病を含むリソソーム蓄積症の処置のために、*gale*遺伝子を含む第1の組成物を投与することを含む、請求項7に記載の方法。

**【請求項 13】**

ティ・サックス病を含むリソソーム蓄積症の処置のために、*hexa*遺伝子を含む第1の組成物を投与することを含む、請求項7に記載の方法。

**【請求項 14】**

薬剤が、桂皮酸、オレアミド、またはフィブラーートを含む、請求項1に記載の方法。

40

**【請求項 15】**

フィブラーートが、ゲムフィブロジルまたはフェノフィブラーートである、請求項14に記載の方法。

**【請求項 16】**

第2の組成物が、治療的有効量のオールトランスレチノイン酸をさらに含む、請求項1に記載の方法。

**【請求項 17】**

薬剤の治療的有効量が、薬剤がオールトランスレチノイン酸と組み合わせて投与される場合、薬剤がオールトランスレチノイン酸を伴わずに送達される場合よりも少ない、請求項

50

1に記載の方法。

【請求項 18】

第2の組成物が経口投与される、請求項1に記載の方法。

【請求項 19】

第2の組成物が1日に1回投与される、請求項1に記載の方法。

【請求項 20】

第1の組成物および第2の組成物を投与すると、第1の組成物または第2の組成物を単独で投与する場合よりも、対象において優れた治療効果がもたらされる、請求項1に記載の方法。

【請求項 21】

リソソーム蓄積症が、遅発乳児型バッテン病、若年型バッテン病、クラッベ病、ティ・サックス病、ニーマン・ピック病、ファブリー病、ファーバー病、およびゴーシェ病からなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

【請求項 22】

第1の組成物が鼻腔内投与され、第2の組成物が経口投与される、請求項1に記載の方法。

【請求項 23】

第1の組成物が7日ごとに少なくとも1回投与され、第2の組成物が1日に1回投与される、請求項1または請求項22に記載の方法。

【請求項 24】

ウイルスベクターがアデノウイルス随伴ウイルスベクターである、請求項23に記載の方法。

【請求項 25】

遺伝子がc1n2を含む、請求項23に記載の方法。

【請求項 26】

第2の組成物がゲムフィプロジルを含む、請求項23に記載の方法。

【請求項 27】

第1の組成物の投与によって寿命が約100日間増大した、請求項25に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2019年3月22日に出願された米国仮特許出願第62/822,310号に対する優先権を請求するものであり、この出願は、参照によってその全体が本明細書に組み込まれる。

【0002】

本発明は、リソソーム酵素をコードする遺伝子を、遅発乳児型バッテン病およびクラッベ病などのリソソーム蓄積症の処置のための薬剤と組み合わせて投与する方法に関する。

【背景技術】

【0003】

リソソームは、脂質、タンパク質、炭水化物、および核酸の分解に関与するいくつかの酵素を含有する、膜結合細胞小器官である(De DuveおよびWattiaux, 1966年)。これらの成分のほとんど全てにおける欠陥および欠乏によって、未消化のおよび/または部分的に消化された物質がリソソームに沈着し、こうして、バッテン病(乳児型、遅発乳児型、および若年型の神経セロイドリポフスチン症)、クラッベ病、ならびにティ・サックス病を含む、多くのリソソーム蓄積症(LSD)の基礎となっている(De DuveおよびWattiaux, 1966年、Perez-Salaら、2009年)。

【0004】

神経セロイドリポフスチン症(NCL)は、典型的な常染色体劣性のリソソーム蓄積症か

10

20

30

40

50

ら主に構成される、神経変性疾患の群である。NCLは、ニューロンまたは他の細胞型における自家蛍光蓄積物質の沈着などの組織学的所見を伴う、進行性の精神機能低下、認知機能障害、視覚障害、発作、および運動機能の低下のような臨床的兆候を特性とし得る(Hachiyalaら、2006年)。NCLは、発病の年齢、沈着した蓄積物質の超微細構造のバリエーション、およびそれぞれの具体的な疾患型に特有の遺伝的変異に基づいて、いくつかの群(1~10型)に細分されている(Laneら、1996年およびMoleら、2005年)。

#### 【0005】

乳児型神経セロイドリポフスチン症(INCL)は、失明、認知障害、発作、および早期死亡を含む症状を伴って、約18ヶ月齢の小児で表れる(Hawkins-Salsburyら、2013年)。リソーム酵素であるパルミトイルタンパク質チオエステラーゼ-1(PPT1)をコードするc1n1遺伝子における欠陥は、中枢神経系および組織の両方において、リポスフスチン(liposfuscin)などの様々な自家蛍光物質基質の沈着を生じさせる(同上)。その後に続くニューロン変性、皮質菲薄化、および脳萎縮によって、罹患していない小児と比較して、脳の質量がおよそ50%低減するという結果をもたらす(同上)。現在のところ、利用可能な処置法はない。

#### 【0006】

遅発乳児型神経セロイドリポフスチン症(ヤンスキー・ビールショースキー病、LINC-L、2型)は、典型的には2~4歳で症状を示し、急速に進行し、そして最後には、ニューロンおよび他の細胞の数が著しく減少する結果、8歳から15歳の間に死に至る(Laneら、1996年およびSleatら、1997年)。LINC-Lは、染色体の11p15.5にマッピングされている13のエクソンと12のイントロンからなる全長6.65kbの遺伝子である、c1n2遺伝子における突然変異に関連している。c1n2遺伝子は、リソーム区画の酸性環境内で機能してタンパク質のアミノ末端からトリペプチドを除去する46KDのタンパク質である、リソームトリペプチジルトリペプチダーゼI(TPP-Iまたはペプチド(peptidase)非感受性プロテアーゼ)をコードする(Goebel、1995年およびVineesら、1999年)。c1n2遺伝子におけるこの突然変異は、セロイド-リポフスチンとして公知の自家蛍光脂肪色素のリソーム内沈着につながる、TPP1タンパク質の欠乏および/または機能喪失をもたらす(Goebel、1995年)。現在のところ、この疾患に利用可能な処置または薬は確立されておらず、全ての手法は補助的または対症的であるにすぎず、このことは、新規の治療手法の必要性を示している(Changら、2008年)。しかし、様々なc1n2突然変異の変異体が存在し、また、残留TPP-I活性がLINC-Lを有する患者で見られ得るという報告がなされており、このことは、正常なc1n2遺伝子のわずかなコピーが、LINC-Lに罹患している患者に残っているに違いないことを示している(Vigliolaら、2001年およびWaluszら、2010年)。

#### 【0007】

別のNCLは、若年型バッテン病(若年型乳児型神経セロイドリポフスチン症(JINC-L))である。c1n3遺伝子は、シナプス機能または分解に関与し得るリソーム膜貫通タンパク質をコードする(Doliscaraら、2013年)。JINC-Lに関連するc1n3の突然変異は、1.01kbの欠失を特徴とする。他のNCLの発病と同様に、JINC-Lの発病は、漸進的な失明、運動機能および認知機能の低下、発作、および早期死亡を含む症状を伴って、4歳から7歳の間の小児で生じる。

#### 【0008】

クラッベ病は、稀なリソーム蓄積症であり、スフィンゴリピドーシスに基づくミエリン鞘の劣化の結果生じる。この疾患は、-ガラクトセレブロシダーゼというリソーム蓄積酵素の突然変異によって生じ、この突然変異によって細胞傷害性の代謝産物が沈着し、様々な代謝経路を破壊して、脱髓をもたらす。クラッベ病は、乳児型、遅発乳児型、若年型、およびさらには成人型であり得る(Pavuluriら、2017年)。

#### 【0009】

10

20

30

40

50

ティ・サックス病は、GM2 ガングリオシドから GM3 ガングリオシドへのプロセシングに関与する酵素である、β-ヘキソサミニダーゼをコードする hexa 遺伝子の突然変異の結果である (Dershら、2016年)。この酵素は2つのサブユニットからなり、突然変異は酵素の喪失または不活性をもたらし、結果として、GM2 の沈着を生じさせる。ティ・サックス病に関連する hexa 遺伝子において、100 を超える突然変異が同定されている (同上)。

【 0 0 1 0 】

様々な遺伝子突然変異が複数の酵素と関連してリソソーム蓄積症をもたらしているため、遺伝子療法は、潜在的な処置選択肢である。しかし、特に神経変性疾患の処置のための遺伝子送達は、脳への治療遺伝子の送達の課題を有する。ウイルスに基づく遺伝子送達機序は周知であり、遺伝子送達は、アデノ随伴ウイルスベクターの使用を具体的に介して行うことができるが、それは、このウイルスの免疫原性が低いためである ( Shawら、2013年 )。さらに、治療遺伝子を含むこれらのウイルスベクターの経鼻投与は、脳への送達を可能にする。経鼻送達は、脳への直接的な送達のために血液脳関門を回避するいくつかの可能性が存在する「鼻から脳」 ( N2B ) の輸送系を利用すると考えられている ( Djupesland、2013年 )。これらの輸送系は、鼻粘膜に吸収された薬物を副鼻腔に、そして最終的には、静脈血から脳への「向流移行」が生じ得る頸動脈に排出することを含む。中枢神経系 ( CNS ) の間の嗅覚三叉神経から血管周囲腔へのリンパ液排出もまた、N2B 輸送の機序として推論されている。

〔 0 0 1 1 〕

さらに、遺伝子療法と経口医薬品処置とを組み合わせることは、単独療法の効果を増強させる別の強力な治療手法を提供する。遺伝子療法と組み合わせるための2つの薬剤候補には、桂皮酸およびオレアミドが含まれる。桂皮酸は、神経保護効果を有する植物で見られる、天然に存在する脂肪酸である(Prorokら、2019年)。桂皮酸は、パーキンソン病におけるドーパミン作動性ニューロンの保護のためのペルオキシソーム増殖剤活性化受容体a(PPARa)の活性化に関与することが分かっている(同上)。桂皮酸の様々な誘導体はまた、その抗酸化プロファイルおよび血液脳関門を通過する能力も公知であり、これらの薬剤を、神経変性障害の処置のために理想的なものにする(Roleiraら、2010年)。オレアミドは、広範な神経薬理作用を有する別の脂肪酸である。公知の内因性脂肪酸であるオレアミドは、脳脊髄液で最初に発見された(Namら、2017年)。オレアミドは海馬で構成的に存在し、海馬において、オレアミドは、PPARaリガンドとして作用し、睡眠導入に関与している(Paham、2017年)。したがって、遺伝子療法と組み合わせて、桂皮酸を天然の薬剤として使用し、またオレアミドを内因性の脳リガンドとして使用する可能性は、有益である。

【 0 0 1 2 】

加えて、いくつかの研究によって、神経の炎症およびアポトーシス経路の誘導が、LINCCLを含むNCCLのほとんどの形態におけるニューロンの損傷に関与し得ると結論付けられている (Geraetsら、2016年、Dharら、2002年、Puranamら、1997年、Kohanら、2011年)。炎症はLINCCLの開始因子ではないが、グリア介在性の持続的な炎症応答は、疾患の進行に寄与すると考えられている (Cooperら、2015年、Macaulayら、2014年)。FDAによって承認された脂質低下薬であるゲムフィブロジルは、血液循環中のトリグリセリドレベルを低減させ、高脂血症のリスクを低下させることができることが分かっている (Robbinsら、2001年、RubinsおよびRobbins、1992年、Rubinsら、1999年)。しかし、多くの最近の研究によって、その脂質低下効果とは別に、ゲムフィブロジルはまた、炎症、ヘルパーT細胞のスイッチング、細胞間の接触、移動、酸化ストレス、およびリソソーム生合成に関与する多くの他のシグナル伝達経路を調節し得ることも明らかにされている (GhoshおよびPahan、2012a、Corbettら、2012年、Ghoshら、2012年、Janaら、2007年、JanaおよびPahan、2012年、Dasguptaら、2007年、Pahanら、2002年、RoyおよびPahan、2002年、Pahanら、2002年)。

009年、G h o s h ら、2015年）。したがって、ゲムフィブロジルと組み合わせた遺伝子療法もまた、大きな可能性を有する。

【発明の概要】

【0013】

本明細書において記載される一実施形態は、リソソーム蓄積症の処置のための方法であって、それを必要とする対象に、リソソーム酵素をコードする治療的有効量の遺伝子を含む第1の組成物、および治療的有効量の薬剤を含む第2の組成物を投与することを含む、方法である。

【0014】

一態様において、第1の組成物は、鼻腔内投与される。

10

【0015】

別の態様において、遺伝子は、血液脳関門を通過して送達される。

【0016】

別の態様において、第1の組成物は、7～30日ごとに約1回投与される。

【0017】

さらに別の態様において、第1の組成物は、リソソーム酵素をコードする遺伝子を含むウイルスベクターを含む。

【0018】

一態様において、ウイルスベクターは、アデノウイルス隨伴ウイルスベクターである。

【0019】

別の態様において、遺伝子は、p p t 1、c l n 2、c l n 3、g a l e、またはh e x aを含む。

20

【0020】

別の態様において、リソソーム酵素は、パルミトイル-タンパク質チオエステラーゼ-1、トリペプチジルペプチダーゼ1、ガラクトシルセラミド、バッテニン、またはヘキソサミニダーゼAを含む。

【0021】

さらに別の態様において、本方法は、乳児型神経セロイドリポフスチン症を含むリソソーム蓄積症の処置のために、p p t 1遺伝子を含む第1の組成物を投与することを含む。

30

【0022】

一態様において、本方法は、遅発乳児型神経セロイドリポフスチン症を含むリソソーム蓄積症の処置のために、c l n 2遺伝子を含む第1の組成物を投与することを含む。

【0023】

別の態様において、本方法は、若年型神経セロイドリポフスチン症を含むリソソーム蓄積症の処置のために、c l n 3遺伝子を含む第1の組成物を投与することを含む。

【0024】

別の態様において、本方法は、クラッベ病を含むリソソーム蓄積症の処置のために、g a l e遺伝子を含む第1の組成物を投与することを含む。

40

【0025】

さらに別の態様において、本方法は、ティ・サックス病を含むリソソーム蓄積症の処置のために、h e x a遺伝子を含む第1の組成物を投与することを含む。

【0026】

一態様において、薬剤は、桂皮酸、オレアミド、またはフィブラーートを含む。

【0027】

別の態様において、フィブラーートは、ゲムフィブロジルまたはフェノフィブラーートである。

【0028】

別の態様において、第2の組成物は、治療的有効量のオールトランスレチノイン酸をさらに含む。

【0029】

50

さらに別の態様において、薬剤の治療的有効量は、薬剤がオールトランスレチノイン酸と組み合わせて投与される場合、薬剤がオールトランスレチノイン酸を伴わずに送達される場合よりも少ない。

【0030】

一態様において、第2の組成物は経口投与される。

【0031】

別の態様において、第2の組成物は、1日に1回投与される。

【0032】

別の態様において、第1の組成物および第2の組成物を投与すると、第1の組成物または第2の組成物を単独で投与する場合よりも、対象においてより優れた治療効果がもたらされる。

10

【0033】

さらに別の態様において、リソソーム蓄積症は、遅発乳児型バッテン病、若年型バッテン病、クラッベ病、ティ・サックス病、ニーマン・ピック病、ファブリー病、ファーバー病、およびゴーシェ病からなる群から選択される。

【0034】

一態様において、第1の組成物は鼻腔内投与され、第2の組成物は経口投与される。

【0035】

別の態様において、第1の組成物は7日ごとに少なくとも1回投与され、第2の組成物は1日に1回投与される。

20

【0036】

別の態様において、ウイルスベクターは、アデノウイルス隨伴ウイルスベクターである。

【0037】

別の態様において、遺伝子はC1n2を含む。

【0038】

別の態様において、第2の組成物はゲムフィブロジルを含む。

【0039】

別の態様において、第1の組成物の投与によって、寿命が約100日間増大した。

【図面の簡単な説明】

【0040】

【図1】アデノウイルスヒトC1n2遺伝子(Ad-C1n2)の鼻腔内送達が、遅発乳児型バッテン病の動物モデルである、C1n2(-/-)マウスの寿命を延ばすことを示す図である。鼻腔内遺伝子送達では、C1n2(-/-)マウスに、Ad-C1n2のゲノムコピー $5 \times 10^6$ 個を、5lの容量で、2週齢から開始して4週間、週に2回、鼻腔内投与した(2.5μl/鼻孔)。ゲムフィブロジル(gem)処置では、マウスに、gem(0.1%Mec中に溶解した)を、1日当たり体重1kg当たり7.5mgの用量で、6週齢から開始して、経口投与した。図1は、生存のパーセージがカプランマイヤープロットによって示されていることを記載している。

30

【図2】アデノウイルスヒトC1n2遺伝子(Ad-C1n2)の鼻腔内送達が、遅発乳児型バッテン病の動物モデルである、C1n2(-/-)マウスの寿命を延ばすことを示す図である。鼻腔内遺伝子送達では、C1n2(-/-)マウスに、Ad-C1n2のゲノムコピー $5 \times 10^6$ 個を、5lの容量で、2週齢から開始して4週間、週に2回、鼻腔内投与した(2.5μl/鼻孔)。ゲムフィブロジル(gem)処置では、マウスに、gem(0.1%Mec中に溶解した)を、1日当たり体重1kg当たり7.5mgの用量で、6週齢から開始して、経口投与した。図2は、平均生存日数を記載している。3頭のオスおよび3頭のメスを含有する6頭のマウス(n=6)を各群で使用した。\*\*\*p < 0.001; NS、有意でない。

40

【発明を実施するための形態】

【0041】

本明細書において開示されている実施形態は、網羅的であることを意図したものでも、本

50

開示の範囲を以下の記載における詳細な形態に限定することを意図したものでもない。むしろ、実施形態は、本明細書における例として選択および記載されており、そのため、当業者は、これら実施形態の教示を利用することができる。

#### 【0042】

本開示は、リソソーム酵素をコードする遺伝子を、遅発乳児型バッテン病およびクラッベ病などのリソソーム蓄積症の処置のための薬剤と組み合わせて共投与する方法に関する。

#### 【0043】

##### 定義

別段の定義がない限り、本明細書において使用される全ての技術用語および科学用語は、当業者によって一般に理解されるものと同一の意味を有する。一致しないケースでは、定義を含み、本文献が優先される。好ましい方法および材料を以下に記載するが、本明細書において記載されるものに類似のまたは同等の方法および材料を、本発明の実施または試験において使用することができる。本明細書において言及される全ての刊行物、特許出願、特許、および他の参考文献は、参照によってその全体が組み込まれる。本明細書において開示されている材料、方法、および実施例は例示的なものにすぎず、限定されるものではない。

#### 【0044】

用語「含む (comprise (s))」、「含む (include (s))」、「有する (having)」、「有する (has)」、「できる (can)」、「含有する (contain (s))」、およびこれらの変型は、本明細書において使用される場合、さらなる作用または構造の可能性を除外しない、オープンエンドの移行句、用語、または語句であるものとする。単数形「a」、「および (and)」、および「the」は、文脈から別段のことが明らかに指示されない限り、複数形の言及を含む。本開示はまた、本明細書において提示される実施形態または要素である、「を含む (comprising)」、「からなる (consisting of)」、および「から基本的になる (consisting essentially of)」他の実施形態を、それが明確に示されてもいなくても、検討する。

#### 【0045】

用語「鼻腔内」は、本明細書において使用される場合、鼻腔粘膜表面との接触または肺の気管支道における吸収のための吸入を含む投与様式を指す。

#### 【0046】

用語「経口」は、本明細書において使用される場合、経口投与、経腸投与、頬側投与、唇下投与、および舌下投与、胃内投与を含む投与様式を指す。

#### 【0047】

本明細書において使用される「処置する (treating)」、「処置する (treat)」、または「処置 (treatment)」は、障害もしくは疾患に関連する症状の緩和、またはこれらの症状のさらなる進行もしくは悪化の停止、または疾患もしくは障害の防止もしくは予防を意味する。例えば、本開示の文脈内で、成功裏の処置としては、神経変性疾患の防止、神経変性疾患に関連する症状の緩和、または神経変性疾患などの疾患の進行の停止が含まれ得る。本明細書において使用される場合、比較して処置を測定するための対照は、治療剤を投与されていない対象である。

#### 【0048】

本明細書における数値範囲の列挙では、これらの範囲の間に同程度の精度で介在する各数値が明確に検討される。例えば、6 ~ 9 の範囲では、数値 7 および 8 が 6 および 9 に加えて検討され、6.0 ~ 7.0 の範囲では、数値 6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、および 7.0 が明確に検討される。

#### 【0049】

本明細書において、治療的有効量の遺伝子およびリソソーム蓄積症の処置のための薬剤を投与することを含む、リソソーム酵素をコードする遺伝子および薬学的組成物を対象に共投与する方法が提供される。

10

20

30

40

50

## 【0050】

## 遺伝子組成物

一実施形態において、本明細書において記載されるものは、「治療的有効量」の目的の治療遺伝子を含み得る遺伝子組成物である。「治療的有効量」は、所望の治療結果を達成するために、投薬量である必要性の期間にわたり効果的な量を指す。治療遺伝子の治療的有効量は当業者によって決定され得、個体の病状、年齢、性別、ならびに体重、および組成物が所望の応答を個体において引き起こす能力などの因子に従って変化し得る。治療的有効量はまた、遺伝子のあらゆる有毒な影響または有害な影響を治療的に有利な効果が上回る量である。

## 【0051】

本明細書において記載される一態様において、治療遺伝子を含む組成物を送達するための方法は、鼻腔内投与を介する。治療遺伝子を含む組成物を送達する方法としては、受動送達機序または能動送達機序のいずれかを介する、経鼻投与のための組成物の液体製剤または粉末製剤の送達を含む、鼻へのいくつもの投与様式が含まれる。一実施形態において、液体製剤は、経鼻吸入、手動の鼻腔用装置、および機械的スプレーポンプを介する蒸発を含む様々な機序を介して送達され得る。別の実施形態において、このような送達機序のための製剤は、エアロゾルを含有する噴霧剤または噴霧剤を含まない吸入可能な溶液の形態であり得る。別の実施形態において、機械的スプレーポンプは、手動の、ガスによって動く、または、電動の場合のように電気的なネプライザーおよびアトマイザーであり得る。さらなる実施形態において、粉末製剤は、機械的動力スプレー、鼻腔用吸入器、およびネプライザー／アトマイザーを介して送達され得る。

10

20

30

40

## 【0052】

鼻内投与の目的は、血液脳関門を通過して脳への、治療遺伝子の最終的な送達のためである。いかなる理論にも拘束されないが、遺伝子療法の経鼻投与は、脳への直接的な送達のために血液脳関門を回避するいくつかの可能性が存在する「鼻から脳」(N2B)への輸送系(Djupesland, 2013年)を利用することができる。これらの輸送系は、鼻腔粘膜に吸収された薬物を副鼻腔に、そして最終的には、静脈血から脳への「向流移行」が生じ得る頸動脈に排出することを含む。したがって、本明細書において記載される一態様において、遺伝子は、血液脳関門を通過して送達される。

## 【0053】

本明細書において記載される一実施形態において、治療的有効量の遺伝子を含む遺伝子組成物は、約1日ごとから約100日ごとに1回、約2日ごとから約90日ごとに1回、約3日ごとから約80日ごとに1回、約4日ごとから約70日ごとに1回、約5日から約60日ごとに1回、約6日から約50日ごとに1回、7日から約40日ごとに1回、約8日ごとから約30日ごとに1回、または約9日から約20日ごとに1回投与される。一態様において、遺伝子組成物は、約7日ごとから約30日ごとに1回投与される。別の態様において、遺伝子組成物は、約7日ごとに1回投与される。

## 【0054】

本明細書において記載される一実施形態において、治療遺伝子は、ウイルスベクターの使用を介して送達される。遺伝子療法のための理想的なウイルスベクターは、標的細胞に成功裏に感染し、核に移行し、そして毒性を誘導することなく発現レベルを維持する。ウイルスベクターは、レトロウイルスまたはアデノウイルスを含む遺伝子療法に適切なあらゆるウイルスを含み得る。ウイルスベクターに適切な他のウイルスとしては、アデノ随伴ウイルス、レンチウイルス、ポックスウイルス、アルファウイルス、およびヘルペスウイルスが含まれる。アデノ随伴ウイルスベクターは、比較的病原性が低く、発現が持続するため、理想的なベクターである。したがって、本明細書において記載される一態様において、ウイルスベクターは、アデノ随伴ウイルスベクターを含む。

## 【0055】

本明細書において記載される別の実施形態において、ウイルスベクターは、リソソーム酵素をコードする治療遺伝子を含む。リソソーム酵素および関連するタンパク質をコードす

50

る遺伝子としては、アスパルチルグルコサミニダーゼ ( a g o ) 、アリールスルファターゼ A ( a r s a ) 、アリールスルファターゼ B ( a r s b ) 、酸性セラミダーゼ ( a s a h 1 ) 、自食作用タンパク質 5 ( a t g 5 ) 、自食作用タンパク質 7 ( a t g 7 ) 、パルミトイルタンパク質チオエステラーゼ 1 もしくは P P T 1 ( c l n 1 ) 、トリペプチジルペプチダーゼ 1 ( c l n 2 ) 、バッテニン ( c l n 3 ) 、膜貫通小胞体タンパク質 ( c l n 6 ) 、小胞体カーゴ受容体 ( c l n 8 ) 、シスチノシン ( c t n s ) 、カテプシン A ( c t s a ) 、カテプシン K ( c t s k ) 、ホスホイノシチドホスファターゼ ( f i g 4 ) 、アルファ - L - フコシダーゼ 1 ( f u c a 1 ) 、酸性アルファグルコシダーゼ ( g a d ) 、ガラクトシルセラミダーゼ ( g a l e ) 、ガラクトサミン ( N - アセチル ) - 6 - スルファターゼ ( g a i n s ) 、ベータ - グルコセレブロシダーゼ ( g b a ) 、アルファ - ガラクトシダーゼ A ( g l d ) 、ベータガラクトシダーゼ 1 ( g l b 1 ) 、GM2 ガングリオシドアクチベーター ( g m 2 a ) 、g l c N A c - 1 - ホスホトランスフェラーゼ ( g n p t a b ) 、N - アセチルグルコサミン - 1 - ホスホトランスフェラーゼ ( g n p t g ) 、N - アセチルグルコサミン - 6 - スルファターゼ ( g n s ) 、ベータ - グルクロニダーゼ ( g u s h ) 、ベータ - ヘキソサミニダーゼ A ( h e x a ) 、ベータ - ヘキソサミニダーゼ B ( h e x b ) 、ヘパラン - アルファ - グルコサミニド N - アセチルトランスフェラーゼ ( h g s n a t ) 、ヒアルロニダーゼ - 1 ( h y a l 1 ) 、イズロン酸 2 - スルファターゼ ( i d s ) 、アルファ - L - イズロニダーゼ ( i d u a ) 、リソソーム関連膜タンパク質 2 ( l a m p 2 ) 、リソソーム酸性リパーゼ ( / / / 3 / 4 / ) 、アルファ - マンノシダーゼ ( m a n 2 b 1 ) 、ベータ - マンノシダーゼ ( m a n b a ) 、ムコリピン - 1 ( m c o l n 1 ) 、ラパマイシン複合体 1 の哺乳類ラパマイシン標的タンパク質複合体 1 もしくは機械的ラパマイシン標的タンパク質複合体 1 ( m t o r c 1 ) 、アルファ - N - アセチルガラクトサミニダーゼ ( n a g a ) 、アルファ - N - アセチルグルコサミニダーゼ ( n a g l u ) 、ノイラミニダーゼ 1 ( n e u l ) 、ニーマン - ピック C 1 ( n p c 1 ) 、ニーマン - ピック C 1 ( n p c 2 ) 、パタチン様ホスホリパーゼドメイン含有タンパク質 1 ( p n p 1 a 2 ) 、パルミトイール - タンパク質チオエステラーゼ 1 ( p p t 1 ) 、プロサポシン ( p s a p ) 、N - スルホグルコサミンスルホヒドロラーゼ ( s g s h ) 、シアリンタンパク質 ( s l c ! 7 a 5 ) 、T O R 調節タンパク質 ( s l c 3 8 9 ) 、ナトリウム / 水素交換輸送体 6 ( s l c 9 A 6 ) 、酸性スフィンゴミエリナーゼ ( s m p d 1 ) 、ホルミルグリシン生成酵素 ( s u m f 1 ) 、またはトリペプチジルペプチダーゼ 1 i t p p T ) が含まれる。本明細書において記載される一態様において、治療遺伝子は、p p t 1 、c / < < 2 、c l n 3 、g a l e 、または h e x a を含む。

### 【 0 0 5 6 】

リソソーム蓄積症に関与するリソソーム酵素は幅広い。リソソーム蓄積症に関与するリソソーム酵素の例としては、N - アセチルガラクトサミニダーゼ、酸性セラミダーゼ、酸性マルターゼ、酸性スフィンゴミエリナーゼ、酸性スフィンゴミエリナーゼ、酸性 - グルコシダーゼ、脂肪トリグリセリドリパーゼ、アリールスルファターゼ A 、アリールスルファターゼ B 、A T G 5 、A T G 7 、バッテニン、カテプシン K 、シスチノシン、精巣上体分泌タンパク質 H E 1 、ガラクトサミン - 6 - 硫酸スルファターゼ、ガラクトシルセラミド、N - アセチルグルコサミン - 1 - ホスホトランスフェラーゼのガンマサブユニット、グリコシルアスパラギナーゼ、GM2 アクチベーター - タンパク質、ヘパラン N - スルファターゼ、ヘキソサミニダーゼ A および B 、ヒアルロニダーゼ、イズロン酸 2 - スルファターゼ、リソソーム酸性リパーゼ、リソソーム - マンノシダーゼ、リソソーム関連膜タンパク質 - 2 、一価ナトリウム選択ナトリウム / 水素交換輸送体 ( N H E ) 、m T O R C 1 、ムコリピン - 1 、N - a - アセチルグルコサミニダーゼ、ノイラミニダーゼ、パルミトイール - タンパク質チオエステラーゼ - 1 、P I P ( 2 ) 5 - ホスファターゼ、防御タンパク質 / カテスピシン ( c a t h e s p i n ) A 、サポシン B 、サポシン C 、シアリン、S L C 3 8 A 9 、スルファターゼ修飾因子 - 1 、トリペプチジルペプチダーゼ 1 、a - ガラクトシダーゼ、a - L - フコシダーゼ、a - L - イズロニダーゼ、a - マンノシダーゼ、または - グルコシダーゼが含まれる。本明細書において記載される一態様において、リソ

10

20

30

40

50

ソーム酵素は、パルミトイル - タンパク質チオエステラーゼ - 1、トリペプチジルペプチダーゼ 1、ガラクトシルセラミド、バッテン、またはヘキソサミニダーゼ A を含む。

#### 【 0 0 5 7 】

脳を標的化するための治療遺伝子の鼻腔内送達は、神経変性障害およびリソーム蓄積症の処置に理想的である。神経変性障害としては、アルツハイマー病 ( A D ) 、ハンチントン病、筋萎縮性側索硬化症 ( A L S ) 、多系統萎縮症 ( M S A ) などのパーキンソンプラス疾患を含むパーキンソン病、多発性硬化症 ( M S ) 、進行性核上麻痺 ( P S P ) 、大脳皮質基底核変性症 ( C B D ) またはレビー小体型認知症 ( D L B ) が含まれ得る。神経変性疾患は、リソーム蓄積症によって生じ得る。バッテン病は、乳児型神経セロイドリポフスチン症 ( I N C L ) 、遅発乳児型神経セロイドリポフスチン症 ( L I N C L ) 、および若年型神経セロイドリポフスチン症 ( J I N C L ) を含む、神経セロイドリポフスチン症 ( N C L ) と呼ばれる障害群の、最も一般的な形態である。リソーム蓄積症はまた、例えば、ティ・サックス病、ファブリー病、ニーマン・ピック病、クラッペ病、ゴーシエ病、ハンター症状群、アルファ - マンノシドーシス、アスパルチルグルコサミン尿症、コレステロールエステル蓄積症、慢性的なヘキソサミニダーゼ A の欠乏、シスチノーシス、ダノン病、ファーバー病、フコシドーシス、またはガラクトシアリドーシスでもあり得る。一態様において、リソーム蓄積症は、乳児型神経セロイドリポフスチン症 ( I N C L ) 、遅発乳児型神経セロイドリポフスチン症 ( L I N C L ) および若年型神経セロイドリポフスチン症 ( J I N C L ) 、またはクラッペ病を含む。本明細書において記載される一態様において、リソーム蓄積症は、遅発乳児型バッテン病、若年型バッテン病、クラッペ病、ティ・サックス病、ニーマン・ピック病、ファブリー病、ファーバー病、およびゴーシエ病を含む。

#### 【 0 0 5 8 】

本明細書において記載される別の態様において、*p p t 1* 遺伝子は、乳児型神経セロイドリポフスチン症に関する酵素をコードする。別の態様において、*c l n 2* 遺伝子は、遅発乳児型神経セロイドリポフスチン症に関する酵素をコードする。別の態様において、*c l n 3* 遺伝子は、若年型神経セロイドリポフスチン症に関する酵素をコードする。さらに別の態様において、*g a l e* 遺伝子は、クラッペ病に関する酵素をコードする。別の態様において、*h e x a* 遺伝子は、ティ・サックス病に関する酵素をコードする。

#### 【 0 0 5 9 】

##### 薬学的組成物

薬学的組成物は、「治療的有効量」または「予防的有効量」の薬剤を含み得る。「治療的有効量」は、所望の治療結果を達成するために、投薬量および必要な期間にわたり効果的な量を指す。組成物の治療的有効量は当業者によって決定され得、個体の病状、年齢、性別、ならびに体重、および組成物が所望の応答を個体において引き起こす能力などの因子に従って変化し得る。治療的有効量はまた、薬剤のあらゆる毒有毒な影響または有害な影響を治療的に有利な効果が上回る量である。「予防的有効量」は、所望の予防結果を達成するために、投薬量および必要な期間にわたり効果的な量を指す。典型的には、予防的用量は疾患に罹患する前のまたは疾患の早期段階にある対象において使用されるため、予防的有効量は、治療的有効量よりも少ない。

#### 【 0 0 6 0 】

薬剤は、リソーム蓄積症の処置のための治療効果を誘導する任意の活性成分であり得る。薬剤は、天然に存在するか、または合成であり得る。天然に存在する薬剤の例としては、天然に存在する飽和脂肪酸およびこれらの誘導体、例えば、ステアリン酸、パルミチン酸、桂皮酸、ラウリン酸、カプリン酸、およびそれに類するものが含まれる。天然に存在する不飽和脂肪酸およびこれらの誘導体の例としては、オレイン酸、オレアミド、リノール酸、リノレン酸、およびリシノール酸が含まれる。本明細書において記載される一態様において、薬剤は、桂皮酸またはオレアドミド ( o l e a d m i d e ) である。

#### 【 0 0 6 1 】

薬剤としての合成薬剤の例としては、例えば、フィブラーートなどの脂質低下薬が含まれる

10

20

30

40

50

。フィブラーートの非限定的な例としては、ゲムフィブロジル、フェノフィブラーート、クロフィブラーート、ベザフィブラーート、シプロフィブラーート、およびクリノフィブラーートが含まれる。ゲムフィブロジル(5-(2,5-ジメチルフェノキシ)-2,2-ジメチルペニタン酸)は、P f i z e r社によってL o p i d(登録商標)の商標で市販されている。フェノフィブラーート(2-(4-(4-クロロベンゾイル)フェノキシ)-2-メチル-プロピオン酸1-メチルエチルエステル)は、A b b v i e社によってT r i c o r(登録商標)として市販されている。さらなるフィブラーートとしては、クロフィブラーート(2-(4-クロロフェノキシ)-2-メチル-プロパン酸エチルエステル)、ベザフィブラーート(2-(4-(2-(4-クロロ-ベンゾイルアミノ)-エチル)フェノキシ)-2-メチル-プロピオン酸)、シプロフィブラーート(2-(4-(2,2-ジクロロシクロプロピル)フェノキシ)-2-メチルプロピオン酸)、およびクリノビブラーート(C 1 i n o b i b r a t e)(2-[4-[1-[4-(2-カルボキシブタン-2-イルオキシ)フェニル]シクロヘキシル]フェノキシ]-2-酪酸)が含まれる。本明細書において記載される一態様において、薬剤は、フィブラーートである。本明細書において記載される別の態様において、薬剤は、ゲムフィブロジルまたはフェノフィブラーートである。

10

#### 【0062】

薬剤は、対象(ヒトまたは非ヒトであり得る患者など)への投与に適切な薬学的組成物に組み込むことができる。

20

#### 【0063】

薬学的組成物は、他の治療的に効果的な薬剤をさらに含み得る。本明細書において記載される一態様において、薬学的組成物は、治療的有効量のオールトランスレチノイン酸をさらに含む。オールトランスレチノイン酸は認知活性に関与しており、アルツハイマー病に関連する酸化ストレスを低減することが示唆されている(L e eら、2009年)。したがって、オールトランスレチノイン酸を薬剤および治療遺伝子と共に投与すると、オールトランスレチノイン酸、薬剤、または治療遺伝子を単独で投与する場合よりも、対象における治療効果がさらに増強され得る。本明細書において記載される別の態様において、薬剤の治療的有効量は、薬剤がオールトランスレチノイン酸と組み合わせて投与される場合、薬剤がオールトランスレチノイン酸を伴わずに送達される場合よりも少ない。

#### 【0064】

薬学的組成物は、薬学的に許容される担体を含み得る。用語「薬学的に許容される担体」は、本明細書において使用される場合、無毒で不活性の固体状、半固体状、または液体状の充填剤、希釈剤、カプセル化材料、または任意のタイプの処方助剤を意味する。薬学的に許容される担体として機能し得る物質の一部の例は、限定はしないがラクトース、グルコース、およびスクロースなどの糖類；限定はしないがコム(c o m)デンプンおよびジャガイモデンプンを含むデンプン類；セルロースおよびその誘導体、例えば、限定はしないが、カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロース、および酢酸セルロース；粉末状のトラガカント；麦芽；ゼラチン；タルク；限定はしないがココアバターおよび坐剤ワックスなどの添加物；限定はしないがピーナッツ油、綿実油、べにはな油、ごま油、オリーブ油、とうもろこし油、および大豆油などの油類；プロピレングリコールなどのグリコール類；限定はしないがオレイン酸エチルおよびラウリン酸エチルなどのエステル類；寒天；限定はしないが水酸化マグネシウムおよび水酸化アルミニウムなどの緩衝剤；アルギン酸；発熱性物質を含まない水；等張生理食塩水；リンゲル液；エチルアルコールおよびリン酸バッファー溶液であり、また、限定はしないがラウリル硫酸ナトリウムおよびステアリン酸マグネシウムなどの他の無毒の適合する潤滑剤、ならびに着色剤、放出剤、被覆剤、甘味剤、香味剤および芳香剤、防腐剤、ならびに抗酸化剤もまた、製剤者の判断に従って、組成物内に存在し得る。

30

40

#### 【0065】

遅発乳児型神経セロイドリポフスチン症などの神経疾患の処置の方法は、薬剤または薬剤の薬学的組成物のいくつもの数の投与態様を含み得る。本明細書において記載される一態様において、薬学的組成物は、遺伝子組成物と共に投与される。

50

## 【0066】

本明細書において記載される別の態様において、薬学的組成物は経口投与される。経口投与には、錠剤、丸剤、糖衣錠剤、ハードゲルカプセル剤およびソフトゲルカプセル剤、顆粒剤、植え込み注射剤、水性、脂質性、油性、もしくは他の液剤、水中油型エマルジョンなどの乳剤、リポソーム、水性もしくは油性の懸濁剤、シロップ剤、エリキシル剤、固体乳剤、固体分散体、または分散性の散剤が含まれ得る。経口投与のための薬学的組成物の調製では、薬剤は、一般に公知のおよび使用されているアジュバントおよび添加物、例えば、アラビアガム、タルカム、デンプン、糖類（例えば、マンニトース、メチルセルロース、ラクトースなど）、ゼラチン、界面活性剤、ステアリン酸マグネシウム、水性もしくは非水性の溶媒、パラフィン誘導体、架橋結合剤、分散剤、乳化剤、潤滑剤、保存剤、香味剤（例えば芳香油）、溶解度増強剤（例えば、ベンジルベンゾエートもしくはベンジルアルコール）、または生物学的利用能増強剤（例えば、Gelucire（商標））などと混合され得る。薬学的組成物において、薬剤はまた、微小粒子組成物、例えばナノ粒子組成物に分散させてもよい。

10

## 【0067】

一実施形態において、治療的有効量の薬学的組成物は、約1日から約100日ごとに1日に1回、約2日ごとから約90日ごとに1日に1回、約3日ごとから約80日ごとに1日に1回、約4日ごとから約70日ごとに1日に1回、約5日から約60日ごとに1日に1回、約6日から約50日ごとに1回、7日から約40日ごとに1回、約8日ごとから約30日ごとに1回、または約9日から約20日ごとに1回、投与される。本明細書において記載される別の実施形態において、薬学的組成物は約1日から約100日ごとに2回、約2日ごとから約90日ごとに2回、約3日ごとから約80日ごとに1回、約4日ごとから約70日ごとに1回、約5日から約60日ごとに1回、約6日から約50日ごとに1回、7日から約40日ごとに1回、約8日ごとから約30日ごとに1回、または約9から約20日ごとに1回投与される。本明細書において記載される一態様において、薬学的組成物は毎日投与される。

20

## 【0068】

## 併用療法

共投与による遺伝子療法と薬学的組成物との組合せは、各個々の治療法の効果をさらに増強させるだけではなく、各個々の組成物の様々な作用機序を理由として、処置のための多角的手法の提供もする。この方法で、酵素機能が回復するだけではなく、機能的酵素の集団も増強する。したがって、本明細書において記載される一態様において、遺伝子送達はリソソームの機能を回復させ、薬剤はリソソームの量を増大させる。本明細書において記載される別の態様において、第1の組成物および第2の組成物の共投与は、第1の組成物または第2の組成物を単独で投与する場合よりも、対象においてより優れた治療効果をもたらす。一部の態様において、遺伝子組成物は1つの間隔で送達され得、薬学的組成物は第2の異なる間隔で送達され得る。一部の態様において、遺伝子組成物は、薬学的組成物よりも少ない頻度で送達され得る。非限定的な例では、遺伝子組成物は週に1回送達され得、薬学的組成物は1日に1回送達され得る。他の組合せ投与レジメンもまた、併用療法を送達するために使用してよい。

30

## 【0069】

本開示は、以下の非限定的な実施例によって説明される複数の態様を有する。

40

## 【実施例】

## 【0070】

神経変性障害の動物モデルにおける薬学的組成物と組み合わせた鼻腔内遺伝子療法の効果を評価するために研究を行う。

## 【0071】

遺伝子組成物および薬学的組成物。遺伝子組成物は、ppt1、c1n2、c1n3、gale、またはhexa遺伝子を含むアデノ随伴ウイルスベクターを使用して調製する。経口用のゲムフィブロジル組成物、桂皮酸組成物、またはオレアミド組成物を使用する。

50

## 【0072】

噴霧 (nebulization)。一部の態様において、噴霧を鼻腔内送達のために使用するが、限定はしないが点鼻薬、軟膏、霧化 (atomization) ポンプ、および加圧エアロゾルなどの、他の鼻腔内方法もまた使用してよい。DSI (商標) の Buxco Inhalation Tower All-In-One Controller を、噴霧のための給気に使用する (図1A)。ホールボディーチャンバに、Buxco 社のバイアスフローポンプから給気を受ける Aeroneb (登録商標) Ultrasonic Nebulizer (図1B)を取り付ける。マウスに、適切な用量 (マウス当たり、ある容積の 100 μl 再蒸留水に溶解している) の遺伝子組成物を 3 分間噴霧する。マウスの対照群にも、100 μl の水を噴霧によって投与する。

10

## 【0073】

## 実施例 1：乳児型神経セロイドリポフスチン症

INC-L を有するマウスにおける、鼻腔内遺伝子療法、および経口のゲムフィブロジル、桂皮酸、またはオレアドミドでの、ppt1 (-/-) マウスの処置：同一のバックグラウンドから得た年齢および性別を合わせた ppt1 (+/+) マウスを野生型 (WT) 対照として使用し、ppt1 (-/-) マウスを異なる処置群で使用する。マウスを、遺伝子療法組成物、ならびにゲムフィブロジル、桂皮酸、およびオレアドミドからなる群から選択される薬学的組成物で処置し、対照群は担体のみで処置する。

## 【0074】

ppt1 (-/-) マウスおよび対照群を、経鼻 AA V1 - PPT1 (マウス当たり  $2 \times 10^6$  個のゲノムコピーを含む 2 μl) を週に 1 回と、経口の桂皮酸 (1 日当たり体重 1 kg 当たり 25 mg)、オレアミド (1 日当たり体重 1 kg 当たり 5 mg)、またはゲムフィブロジル (1 日当たり体重 1 kg 当たり 8 mg) を 1 日に 1 回とで処置し、その後、延命を記録し、脳内の蓄積物質をモニタリングする。

20

## 【0075】

## 実施例 2：若年型バッテン病

Cln3<sup>+</sup> マウスを、経鼻 AA V1 - CLN3 (マウス当たり  $2 \times 10^6$  個のゲノムコピーを含む 2 μl) を週に 1 回と、経口の桂皮酸 (1 日当たり体重 1 kg 当たり 25 mg)、オレアミド (1 日当たり体重 1 kg 当たり 5 mg)、またはゲムフィブロジル 1 (1 日当たり体重 1 kg 当たり 8 mg) を 1 日に 1 回とで処置し、その後、延命を記録し、脳内の蓄積物質をモニタリングする。

30

## 【0076】

## 実施例 3：クラッベ病

Galc<sup>+</sup> マウスを、経鼻 AA V1 - GALC (マウス当たり  $2 \times 10^6$  個のゲノムコピーを含む 2 μl) を週に 1 回と、経口の桂皮酸 (1 日当たり体重 1 kg 当たり 25 mg)、オレアミド (1 日当たり体重 1 kg 当たり 5 mg)、またはゲムフィブロジル (1 日当たり体重 1 kg 当たり 8 mg) を 1 日に 1 回とで処置し、その後、延命を記録し、脳内の蓄積物質をモニタリングする。

## 【0077】

## 実施例 4：ティ・サックス病

Hexa<sup>+</sup> マウスを、経鼻 AA V1 - HEXA (マウス当たり  $2 \times 10^6$  個のゲノムコピーを含む 2 μl) を週に 1 回と、経口の桂皮酸 (1 日当たり体重 1 kg 当たり 25 mg)、オレアミド (1 日当たり体重 1 kg 当たり 5 mg)、またはゲムフィブロジル 1 (1 日当たり体重 1 kg 当たり 8 mg) を 1 日に 1 回とで処置し、その後、延命を記録し、脳内の蓄積物質をモニタリングする。

40

## 【0078】

## 実施例 5：遅発乳児型神経セロイドリポフスチン症 (LINC-L)

鼻腔内遺伝子送達を、致命的なリソソーム蓄積症のための妥当な選択肢として調べた。トリペプチジルペプチダーゼ 1 (TPP1) 酵素の機能の欠乏または喪失をもたらす Cln2 遺伝子の突然変異によって生じる稀な神経変性疾患である遅発乳児型神経セロイドリポ

50

フスチン症（LINC-L）のマウスモデルを使用した。

【0079】

ヒト  $C1n2$  遺伝子のアデノウイルスベクター（Ad- $C1n2$ ）を、2週齢の  $C1n2$  / - マウスに鼻腔内経路を介して送達した（5  $\mu$ l の容積の Ad- $C1n2$  の  $5 \times 10^6$  個のゲノムコピーを週に2回；2.5  $\mu$ l / 鼻孔）。鼻腔内遺伝子療法の4週間後、一方のマウス群（n = 6）を未処置のままとし、他方のマウス群（n = 6）を、1日当たり体重1kg当たり7.5mgの用量のゲムフィブロジルで経口的に処置した。したがって、Ad- $C1n2$  を投与されていない一方の  $C1n2$  / - マウス群もまた、ゲムフィブロジルで経口的に処置した。

【0080】

ゲムフィブロジル処置が  $C1n2$  / - マウスの寿命を有意に増大させることができた（図1～2）。しかし、4週間の、週に2回の鼻腔内遺伝子送達単独は、 $C1n2$  / - マウスの寿命の増大において、ゲムフィブロジルよりも有意にさらに効果的であった（図1～2）。しかし、4週間の、週に2回の鼻腔内遺伝子送達単独は、 $C1n2$  / - マウスの寿命の増大において、ゲムフィブロジルよりも有意にさらに効果的であった（図1～2）。逆に、経口ゲムフィブロジル処置は、鼻腔内 Ad- $C1n2$  を投与されていない  $C1n2$  / - マウスの寿命をさらには増大させなかつた（図1～2）。

【0081】

本明細書において引用される全ての刊行物、特許、および特許出願は、このような引用が使用される教示のために、参照によって本明細書に組み込まれる。

【0082】

観察される特異的応答は、利用する特定の製剤タイプおよび投与態様に従っておよび応じて変化し得、結果におけるこのような予想されるバリエーションまたは違いは、本発明の実施に従って検討される。

【0083】

本発明の具体的な実施形態が本明細書において説明され、詳述されているが、本発明はこれらに限定されない。上記の詳細な説明は本発明の例示として提供されており、本発明の何らかの限定を構成するものと解釈されるべきではない。変更は当業者に自明であり、本発明の趣旨から逸脱しない全ての変更は、添付の特許請求の範囲の範囲内に含まれるものである。

【0084】

参考文献

Chang, M., Cooper, J. D., Sleat, D. E., Cheng, S. H., Dodge, J. C., Passini, M. A., Lobel, P., and Davidson, B. L. (2008) Mol Ther 16, 649-656.

Cooper, J. D., Tarczyluk, M. A. and Nelvagal, H. R. (2015) Towards a new understanding of NCL pathogenesis. Biochim Biophys Acta, 1852, 2256-2261.

Corbett, G. T., Gonzalez, F. J. and Pahan, K. (2015) Activation of peroxisome proliferator-activated receptor alpha stimulates ADAM10-mediated proteolysis of APP. Proc Natl Acad Sci USA, 112, 8445-8450.

Dasgupta, S., Roy, A., Jana, M., Hartley, D. M. and Pahan, K. (2007) Gemfibrozil ameliorates relapsing-remitting experimental autoimmune encephalomyelitis independent of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha. Mol Pharmacol, 72, 934-946.

De Duve, C. and Wattiaux, R. (1966) Functions of lysosomes. Annu Rev Physiol, 28, 435-492.

Dersh, D., Iwamoto, Y., and Argon, Y., Mol Biol Cell (2016) Dec 1; 27(24): 3813-3827.

Djupesland, P.G. (2013) Nasal drug delivery devices: characteristics and performance in a clinical perspective- a review. DrugDeliv Transl Res.

10

20

30

40

50

3(1), 42-62.

Dhar, S., Bitting, R. L., Ryllova, S. N., Jansen, P. J., Lockhart, E., Koeberl, D. D., Amalfitano, A. and Boustany, R. M. (2002) Flupirtine blocks apoptosis in batten patient lymphoblasts and in human postmitotic CLN3- and CLN2-deficient neurons. *Ann Neurol*, 51, 448-466.

Dolisca, S.B., Mehta, M., Pearce, D.A., Mink, J. W., Maria, B. L., J Child Neurol (2013) Sep; 28(9): 1074-1100.

Food and Drug Administration-approved lipid-lowering drugs, up-regulate tripeptidyl-peptidase 1 in brain cells via peroxisome proliferator-activated receptor alpha: implications for late infantile Batten disease therapy. *J Biol Chem*, 287, 38922-38935. 10

Geraets, R. D., Koh, S., Hastings, M. L., Kielian, T., Pearce, D. A. and Weimer, J. M. (2016) Moving towards effective therapeutic strategies for Neuronal Ceroid Lipofuscinosis. *OrphanetJ Rare Dis*, 11, 40.

Goebel, H. H. (1995) *J Child Neurol* 10, 424-437.

Ghosh, A., Jana, M., Modi, K., Gonzalez, F. J., Sims, K. B., Berry-Kravis, E. and Pahan, K. (2015) Activation of peroxisome proliferator-activated receptor alpha induces lysosomal biogenesis in brain cells: implications for lysosomal storage disorders. *J Biol Chem*, 290, 10309-10324.

Ghosh, A. and Pahan, K. (2012a) Gemfibrozil, a lipid-lowering drug, induces suppressor of cytokine signaling 3 in glial cells: implications for neurodegenerative disorders. *J Biol Chem*, 287, 27189-27203. 20

Hachiya, Y., Hayashi, M., Kumada, S., Uchiyama, A., Tsuchiya, K., and Kurata, K. (2006) *Acta Neuropathol* 111, 168-177.

Hawkins-Salsbury, J.A., Cooper, J.D., and Sands, M.S., (2013) *Biochim Biophys Acta* 1832(11): 1906-1909.

Jana, M. and Pahan, K. (2012) Gemfibrozil, a lipid lowering drug, inhibits the activation of primary human microglia via peroxisome proliferator-activated receptor beta. *Neurochem Res*, 37, 1718-1729.

Kohan, R., Cismondi, I. A., Oller-Ramirez, A. M., Guelbert, N., Anzolini, T. V., Alonso, G., Mole, S. E., de Kremer, D. R. and de Halac, N. I. (2011) Therapeutic approaches to the challenge of neuronal ceroid lipofuscinoses. *Curr Pharm Biotechnol*, 12, 867-883. 30

Lane, S. C., Jolly, R. D., Schmeichel, D. E., Alroy, J., and Boustany, R. M. (1996) *Neurochem* 67, 677-683.

Lee, H. P., Casadesus, G., Zhu, X., Lee, E.L., Perry, G., Smith, M.A., Gustaw-Rothenberg, K. and Lemer, A. (2009) *Expert Rev Neurother*. 9(11): 1615-1621.

Macaulay, S. L., Wong, A. M., Shyng, C. et al. (2014) An anti-neuroinflammatory that targets dysregulated glia enhances the efficacy of CNS-directed gene therapy in murine infantile neuronal ceroid lipofuscinosis. *J Neurosci*, 34, 13077-13082. 40

Mole, S. E., Williams, R. E., and Goebel, H. H. (2005) *Neurogenetics* 6, 107-126.

Nam, H.Y., Na, E. J., Lee, E., Kwon, Y., and K. H.J., *Front Pharmacol*. (2017); 8: 817.

Pahan, K., Improvement of Brain Function by a Lipid-Lowering Factor, (2017)

<https://www.rush.edu/sites/default/files/2017RushNeuroscienceReview.pdf#page=20>

10

20

30

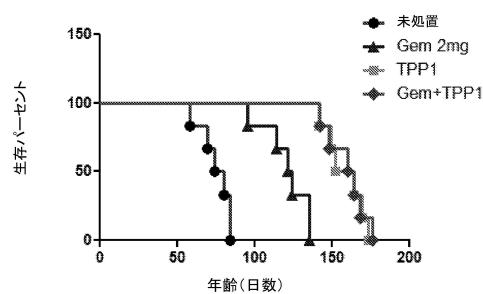
40

50

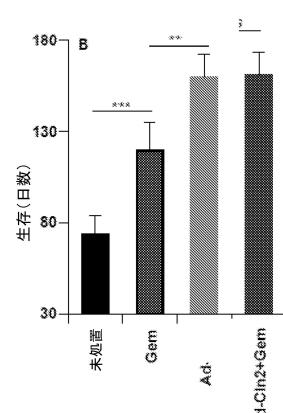
- Pahan, K. (2006) Lipid-lowering drugs. *Cell Mol Life Sci*, 63, 1165-1178.
- Pahan, K., Jana, M., Liu, X., Taylor, B. S., Wood, C. and Fischer, S. M. (2002) Gemfibrozil, a lipidlowering drug, inhibits the induction of nitric oxide synthase in human astrocytes. *J Biol Chem*, 277, 45984-45991.
- Pavuluri, P., Vadakedath, S., Gundu, R., Uppulety, S., and Kandi, V., *Cureus* (2017) Jan; 9(1): e949.
- Prorok, T., Malabendu, J., Patel, D., and Pahan, K., *Neurochem Research* (2019) <https://doi.org/10.1007/s11064-018-02705-0>.
- Puranam, K., Qian, W. H., Nikbakht, K., Venable, M., Obeid, L., Hannun, Y. and Boustany, R. M. (1997) Upregulation of Bcl-2 and elevation of ceramide in Batten disease. *Neuropediatrics*, 28, 37-41. 10
- Robins, S. J., Collins, D., Wittes, J. T. et al. (2001) Relation of gemfibrozil treatment and lipid levels with major coronary events: VA-HIT: a randomized controlled trial. *JAMA*, 285, 1585-1591.
- Roleira, F.M.; Siquet, C.; Orru, E.; Garrido, E.M.; Garrido, J.; Milhazes, N.; Podda, G.;
- Paiva-Martins, F.; Reis, S.; Carvalho, R.A.; et al. Lipophilic phenolic antioxidants: Correlation between antioxidant profile, partition coefficients and redox properties. *Bioorg. Med. Chem.* 2010, 18, 5816-5825.
- Roy, A. and Pahan, K. (2009) Gemfibrozil, stretching arms beyond lipid lowering. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 31, 339-351. 20
- Rubins, H. B. and Robins, S. J. (1992) Effect of reduction of plasma triglycerides with gemfibrozil on high-density-lipoprotein-cholesterol concentrations. *J Intern Med*, 231, 421-426.
- Rubins, H. B., Robins, S. J., Collins, D. et al. (1999) Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high-density lipoprotein cholesterol. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial Study Group. *N Engl J Med*, 341, 410-418.
- Shaw, Alan R. & Feinberg, Mark B., *Clinical immunology* (4th ed., 2013). 30
- Sleat, D. E., Donnelly, R. J., Lackland, H., Liu, C. G., Sohar, F, Pullarkat, R. K., and Lobel, P. (1997) *Science* 277, 1802-1805.
- Vines, D. J., and Warburton, M. J. (1999) *FEBS Lett* 443, 131-135.
- Vigliio, S., Marchi, E., Wisniewski, K., Casado, B., Cetta, G., and Iadarola, P. (2001) *Electrophoresis* 22, 2343-2350.
- Walusz, M., Kida, E., and Golabek, A. A. (2010) *Hum Mutat* 31, 710-721.
- 3

【図面】

【図1】



【図2】



10

20

30

40

50

## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2020/023768
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC(8) - A61P 25/28; A61K 48/00; C12N 15/861 (2020.01) CPC - A61P 25/28; A61K 48/005; A61K 48/0075; A61K 48/0083; C12N 15/86; C12N 15/861 (2020.05)		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC - 424/93.2; 424/133.1; 514/543; 514/559 (keyword delimited)		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History document		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2018/0028685 A1 (QUEEN'S UNIVERSITY AT KINGSTON et al) 01 February 2018 (01.02.2018) entire document	1, 2, 7, 13, 18, 22
X	WO 2018/136710 A1 (UNIVERSITY OF PITTSBURGH - OF THE COMMONWEALTH SYSTEM OF HIGHER EDUCATION) 26 July 2018 (26.07.2018) entire document	1, 3-7, 12, 21, 23, 24
Y		14-17, 25-27
X	MACAULEY et al., An Anti-Neuroinflammatory That Targets Dysregulated Glia Enhances the Efficacy of CNS-Directed Gene Therapy in Murine Infantile Neuronal Ceroid Lipofuscinosis, The Journal of Neuroscience, Vol. 34, 24 September 2014 [retrieved on 01 May 2020]. Retrieved from the Internet: <URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4172802/pdf/zns13077.pdf>. Pgs. 13077-13082	1, 7-9, 19, 20
X	WO 2017/218519 A1 (BLUEBIRD BIO INC) 21 December 2017 (21.12.2017) entire document	1, 7, 10
Y		25, 27
X	US 2019/0032078 A1 (BOARD OF REGENTS OF THE UNIVERSITY OF NEBRASKA et al) 31 January 2019 (31.01.2019) entire document	1, 7, 11
Y	US 2017/0319531 A1 (RUSH UNIVERSITY MEDICAL CENTER) 09 November 2017 (09.11.2017) entire document	14-17, 26
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> 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		
Date of the actual completion of the international search 05 May 2020		Date of mailing of the international search report <b>20 MAY 2020</b>
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Blaine R. Copenheaver PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

## 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)

<b>A 61 K 38/47 (2006.01)</b>	A 61 K 38/48	1 0 0
<b>A 61 K 31/203(2006.01)</b>	A 61 K 38/47	
<b>A 61 K 31/192(2006.01)</b>	A 61 K 31/203	
<b>A 61 K 38/46 (2006.01)</b>	A 61 K 31/192	
<b>A 61 K 35/761(2015.01)</b>	A 61 K 38/46	
	A 61 K 35/761	

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,  
CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,K  
G,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,N  
I,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

F ターム(参考)	ZC211 ZC212 ZC54 ZC541 ZC542 ZC75 ZC751 ZC752
4C087	AA01 AA02 BC83 CA08 CA12 CA36 MA02 MA66 NA05 NA14
	ZC19 ZC21 ZC75
4C206	AA01 AA02 DA12 DA28 MA02 MA04 MA86 NA14 ZC19 ZC54
	ZC75