

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載
 【部門区分】第3部門第2区分
 【発行日】令和4年12月1日(2022.12.1)

【国際公開番号】WO2020/113034
 【公表番号】特表2022-511776(P2022-511776A)
 【公表日】令和4年2月1日(2022.2.1)
 【年通号数】公開公報(特許)2022-018
 【出願番号】特願2021-530078(P2021-530078)

【国際特許分類】

10

- A 6 1 K 48/00(2006.01)
- A 6 1 K 35/76(2015.01)
- A 6 1 K 38/17(2006.01)
- A 6 1 P 25/00(2006.01)
- A 6 1 P 21/04(2006.01)
- A 6 1 K 49/04(2006.01)
- A 6 1 K 31/573(2006.01)
- A 6 1 K 45/00(2006.01)
- A 6 1 K 31/7088(2006.01)
- A 6 1 K 39/395(2006.01)
- A 6 1 K 31/7125(2006.01)
- A 6 1 K 47/34(2017.01)
- A 6 1 K 47/10(2006.01)
- C 1 2 N 15/12(2006.01)
- C 1 2 N 15/864(2006.01)
- C 1 2 Q 1/02(2006.01)
- C 1 2 Q 1/52(2006.01)
- C 1 2 Q 1/6851(2018.01)
- C 1 2 Q 1/686(2018.01)
- G 0 1 N 33/543(2006.01)

20

30

【F I】

- A 6 1 K 48/00
- A 6 1 K 35/76 Z N A
- A 6 1 K 38/17
- A 6 1 P 25/00
- A 6 1 P 21/04
- A 6 1 K 49/04
- A 6 1 K 31/573
- A 6 1 K 45/00
- A 6 1 K 31/7088
- A 6 1 K 39/395 N
- A 6 1 K 31/7125
- A 6 1 K 47/34
- A 6 1 K 47/10
- C 1 2 N 15/12
- C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z
- C 1 2 Q 1/02
- C 1 2 Q 1/52
- C 1 2 Q 1/6851 Z
- C 1 2 Q 1/686 Z

40

50

G 0 1 N 3 3 / 5 4 3 5 4 5

【手続補正書】

【提出日】令和4年11月22日(2022.11.22)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

10

【請求項1】

それを必要とする患者の脊髄性筋萎縮症(SMA)の治療に使用するための組成物であって、前記組成物が、生存運動ニューロン(SMN)タンパク質をコード化するポリヌクレオチドを含むAAV9ウイルスベクターを含み、前記AAV9ウイルスベクターが、約 1×10^{13} v.g ~ 5×10^{14} v.gの用量で髄腔内投与のために製剤化されている、前記組成物。

【請求項2】

前記AAV9ウイルスベクターが、改変AAV2 ITR、ニワトリ - アクチン(CB)プロモーター、サイトメガロウイルス(CMV)即時/早期エンハンサー、改変SV40後期16Sイントロン、ウシ成長ホルモン(BGH)ポリアデニル化シグナル、及び未改変AAV2 ITRをさらに含む、請求項1に記載の組成物。

20

【請求項3】

前記SMNタンパク質が配列番号2のアミノ酸配列を含み、及び/又は前記AAV9ウイルスベクターが配列番号1の核酸配列を含む、請求項1又は請求項2に記載の組成物。

【請求項4】

前記AAV9ウイルスベクターが、配列番号3のアミノ酸配列を含むカプシドを含む、請求項3に記載の組成物。

【請求項5】

髄腔内投与に適する薬学的に許容可能な担体をさらに含む、請求項1~4のいずれか一項に記載の組成物。

30

【請求項6】

造影剤をさらに含む、請求項1~5のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項7】

前記造影剤が、イオヘキソールを含む、請求項6に記載の組成物。

【請求項8】

前記組成物が容器内にあり、

- 約7.7~8.3のpH、
- 約390~430 mOsm/kgのモル浸透圧濃度、
- 容器あたり25 μm以上のサイズの約600個未満の粒子、
- 容器あたり10 μm以上のサイズの約6000個未満の粒子、
- 約 1.7×10^{13} ~ 5.3×10^{13} v.g/mLのゲノム力価、
- 1.0×10^{13} v.gあたり約 3.9×10^8 ~ 8.4×10^{10} IUの感染力価、
- 1.0×10^{13} v.gあたり約100~300 μgの総タンパク質、
- 約20~80 ppmのプルロニックF-68(ポロクサマー188)含有量、
- 生体外の細胞ベースのアッセイに基く、参照標準及び/又は適切な対照と関連した、約70~130%の相対力価、
- 7.5×10^{13} v.g/kgの用量でのSMN 7マウスモデルにおける、24日以上生存期間中央値を特徴とする効力、
- 約5%未満の空のカプシド、
- 約95%以上の総純度、

40

50

- m) 約 0.13 EU/mL 以下の内毒素、
 n) $1.0 \times 10^{-13} \text{ v g}$ あたり約 0.09 ng 未満のベンゾナーゼ、
 o) 約 $30 \mu\text{g/g}$ (ppm) 未満のセシウム、
 p) $1.0 \times 10^{-13} \text{ v g}$ あたり約 0.22 ng 未満のウシ血清アルブミン (BSA)、
 q) $1.0 \times 10^{-13} \text{ v g}$ あたり約 $6.8 \times 10^5 \text{ pg}$ 未満の残留プラスミド DNA、
 r) $1.0 \times 10^{-13} \text{ v g}$ あたり約 $1.1 \times 10^5 \text{ pg}$ 未満の残留 hcDNA、及び
 s) $1.0 \times 10^{-13} \text{ v g}$ あたり約 4 ng 未満の rHCP

の少なくとも1つを含む、請求項1～7のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項9】

前記AAV9ウイルスベクターが、約 $1.2 \times 10^{-14} \text{ v g}$ の用量での投与のために製剤化される、請求項1～8のいずれか一項に記載の組成物。 10

【請求項10】

前記AAV9ウイルスベクターが、約 $2.4 \times 10^{-14} \text{ v g}$ の用量での投与のために製剤化される、請求項1～8のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項11】

前記SMAがII型SMA又はIII型SMAである、請求項1～10のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項12】

前記患者が前記組成物の投与時に、

- a) 6ヶ月齢以上； 20
 b) 6ヶ月齢～24ヶ月齢の間；
 c) 24ヶ月～60ヶ月齢の間；
 d) 24ヶ月齢以下；又は
 e) 60ヶ月齢以下

である、請求項1～11のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項13】

前記患者が前記組成物の投与時又はその前に、

- a) 二対立遺伝子SMN1ヌル変異又は不活性化欠失を有し；
 b) SMN1のエクソン7の欠失を有し；
 c) SMN2の3つ以上のコピーを有し； 30
 d) 前記SMN2遺伝子の少なくとも1つのコピーの上のエクソン7中に $c.859G > C$ 置換を有しておらず；
 e) 約12ヶ月齢前に疾患の発症を示し；

f) 世界保健機関多施設成長基準研究 (WHO-MGRS) 基準によって定義されるように、組成物の投与時に補助なしで約10秒間以上座る能力を有するが、立ち上がる事と歩くことが出来ず；

g) 正常上限の約3倍未満の - グルタミルトランスフェラーゼレベル、約 3.0 mg/dL 未満のビリルビンレベル、約 1.0 mg/dL 未満のクレアチニンレベル、約 $8 \sim 18 \text{ g/dL}$ の間のHgbレベル、及び / 又は約 20000 個/mm^3 未満の白血球数の1つ又は複数を有し； 40

h) 約 $67,000 \text{ 細胞/mL}$ を超え、約 $100,000 \text{ 細胞/mL}$ を超え、又は約 $150,000 \text{ 細胞/mL}$ を超える血小板数を有し；

i) 正常な肝機能を有し；

j) 約 $8 \sim 40 \text{ U/L}$ 未満の肝トランスアミナーゼレベルを有し；

k) 酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA) による測定で、1:25、1:50、1:75、又は1:100以下の抗AAV9抗体価を有し；

l) X線検査で明らかな重度の側弯症 (50度以上の脊柱の湾曲として定義される) を有しておらず；

m) 脊椎穿刺処置又は髄腔内療法の投与に禁忌でなく；

n) 以前に側弯症修復手術又は処置を受けたことがなく； 50

- o) 侵襲的換気補助の使用を必要とせず；
- p) 独立して立ち上がる又は歩行した履歴がなく；
- q) 胃栄養チューブを使用しておらず；
- r) 活動性ウイルス感染症を有しておらず；
- s) 4週間以内に重度の非肺及び／又は気道感染症を有しておらず；
- t) 主要な腎機能障害又は肝機能障害、既知の発作性疾患、真性糖尿病、特発性低カルシウム尿症又は症候性心筋症などの併発疾患を有しておらず；
- u) 細菌性髄膜炎又は脳又は脊髄疾患の病歴を有しておらず；
- v) プレドニゾロン又はその他の糖質コルチコステロイド又は賦形剤に対する既知のアレルギー又は過敏症を有しておらず；
- w) ヨウ素又はヨウ素含有製品に対する既知のアレルギー又は過敏症を有しておらず；
- x) ミオパチー又はニューロパチーを治療するための薬物を服用しておらず；
- y) 3ヶ月以内に免疫抑制療法、血漿アフェレーシス、免疫調節剤又はアダリムマブを与られておらず；及び／又は
- z) SMAの治療を意図とした、研究中の又は承認された化合物製品又は治療を受けていない、

10

請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 14】

前記組成物の投与中及び／又は投与後に、前記患者をトレンデレンブルグ体位にする、
請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の組成物。

20

【請求項 15】

前記組成物が経口ステロイドの投与の少なくとも約 1 ~ 48 時間後に投与され、前記患者に、

- a) 約 1 mg / kg の用量で；
- b) 1日1回又は2回投与され；
- c) 約 1 mg / kg の用量で、次に2週間かけて 0.5 mg / kg / 日まで漸減させ、続いてさらに2週間にわたり 0.25 mg / kg / 日まで漸減させて、
- d) 少なくとも約 10 ~ 60 日間にわたり；
- e) 30日間を超えて、アスパラギン酸トランスアミナーゼ (AST) 及び／又はアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) レベルが正常上限の2倍未満になるか又は約 120 IU / L 未満になるまで；
- f) 30日間を超えて、前記患者からの血液サンプル中のT細胞応答が、 10^6 個の末梢血単核細胞 (PBMC) あたりのスポット形成細胞 (SFC) が 100 個を下回るまで；及び／又は
- g) 前記患者の抗AAV9抗体価が、ELISAによる測定で 1:25、1:50、1:75、又は 1:100 未満に減少するまで、

30

経口ステロイドが投与される、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 16】

前記経口ステロイドが、プレドニゾロン又は同等物である、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の組成物。

40

【請求項 17】

前記組成物が、第2の治療薬と同時に又は連続して投与される、請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 18】

前記第2の治療薬が、SMN1及び／又はSMN2、筋肉増強剤、及び／又は神経保護剤を標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む、請求項 17 に記載の組成物。

【請求項 19】

前記組成物の投与後に、前記患者が、

- a) X線検査で明らかな重度の側弯症 (50度以上の脊柱の湾曲として定義される) を有しておらず；

50

- b) 6ヶ月から3年以内に側弯症修復手術又は処置を受けておらず；
- c) 侵襲的換気補助の使用を必要とせず；
- d) 胃栄養チューブを使用しておらず；
- e) ELISAによる測定で1：25、1：50、1：75、又は1：100以上の抗AAV9抗体価を有し、約1～8週間にわたり、又は抗体価が1：25、1：50、1：75、又は1：100以下に減少するまでモニターされ；
- f) 約67,000細胞/ml未満、又は約100,000細胞/ml未満、又は約150,000細胞/ml未満の血小板数を有し、約1～8週間にわたり、又は血小板数が約67,000細胞/mlに、又は約100,000細胞/mlを超えて、又は約150,000細胞/mlを超えて増加するまでモニターされ；及び/又は
- g) 約67,000細胞/ml未満の血小板数を有し、血小板輸液で治療される、請求項1～18のいずれか一項に記載の組成物。

10

【請求項20】

投与前のスコアと関連して、前記患者のハマスミス機能的運動スケール拡張のスコアを改善し、及び/又は前記患者が、投与前のスコアと関連して、ベイリー乳幼児発達検査（登録商標）で改善されたスコアを達成するのに効果的である、請求項1～19のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項21】

前記AAV9ウイルスベクターが、 6×10^{13} vg～ 2.4×10^{14} vgの用量での投与のために製剤化される、請求項20に記載の組成物。

20

【請求項22】

前記患者が、投与の1～24ヶ月後に、

- a) ベイリー乳幼児発達検査（登録商標）による定義で、支えなしで少なくとも約3秒間立つ能力；
- b) ベイリー乳幼児発達検査（登録商標）による定義で、補助なしで歩く能力；
- c) ベイリー乳幼児発達検査（登録商標）による定義で、独立して少なくとも5歩歩く能力；
- d) ベイリー乳幼児発達検査（登録商標）による定義で、治療時のベースライン測定値からの治療後の変化；及び/又は

e) 投与前のスコアと関連した、ベイリー乳幼児発達検査（登録商標）の粗大運動構成要素の少なくとも3ポイントの改善を達成する、請求項20又は請求項21に記載の組成物。

30

【請求項23】

前記患者が、

- a) 投与の9ヵ月後までに、投与前のスコアと関連した、ハマスミス機能的運動スケール拡張の少なくとも3ポイントの改善；
- b) 投与の9ヵ月後までに、投与前のスコアと関連した、ハマスミス機能的運動スケール拡張の少なくとも4ポイントの改善；
- c) 投与の9ヵ月後までに、投与前のスコアと関連した、投与後のハマスミス機能的運動スケール拡張の少なくとも5ポイントの改善；
- d) 投与前のスコアと関連した、投与後のベイリー乳幼児発達検査（登録商標）の粗大運動構成要素の少なくとも3ポイントの改善；
- e) 投与の12ヶ月後までに、支えなしで少なくとも約3秒間立つ能力；及び/又は
- f) 投与の12ヶ月後までに、独立して少なくとも5歩歩く能力

40

を達成する、請求項20～22のいずれか一項に記載の組成物。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0312

【補正方法】変更

【補正の内容】

50

【 0 3 1 2 】

探索的評価項目は、ベイリー（登録商標）- I I I の微細運動及び粗大運動構成要素のベースラインからの変化であった。若年層と同様に、患者は粗大運動マイルストーンを獲得し続けている。マイルストーンを失った患者はいなかった。

以下に、本願の当初の特許請求の範囲に記載の発明を列挙する。

[発明 1]

生存運動ニューロン（S M N）タンパク質をコード化するポリヌクレオチドを含む A A V 9 ウイルスベクターを髄腔内に投与するステップを含み、前記ウイルスベクターが、約 1×10^{13} v g ~ 5×10^{14} v g の用量で投与される、それを必要とする患者において脊髄性筋萎縮症（S M A）を治療する方法。

10

[発明 2]

前記 A A V 9 ウイルスベクターが、改変 A A V 2 I T R、ニワトリ - アクチン（C B）プロモーター、サイトメガロウイルス（C M V）即時/早期エンハンサー、改変 S V 4 0 後期 1 6 S イントロン、ウシ成長ホルモン（B G H）ポリアデニル化シグナル、及び未改変 A A V 2 I T R を含む、発明 1 に記載の方法。

[発明 3]

前記ポリヌクレオチドが、配列番号 2 の S M N タンパク質をコード化する、発明 1 ~ 2 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 4]

前記 A A V 9 ウイルスベクターが、配列番号 1 を含む、発明 1 ~ 3 のいずれか一つに記載の方法。

20

[発明 5]

前記患者が投与時に 6 ヶ月齢以上である、発明 1 ~ 4 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 6]

前記患者が、投与時に 2 4 ヶ月齢以下であり、任意選択的に 6 ヶ月齢 ~ 2 4 ヶ月齢の間である、発明 1 ~ 5 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 7]

前記患者が投与時に 2 4 ヶ月齢以上である、発明 1 ~ 5 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 8]

前記患者が、投与時に 6 0 ヶ月齢以下であり、任意選択的に 2 4 ヶ月齢 ~ 6 0 ヶ月齢の間である、発明 1 ~ 5 のいずれか一つに記載の方法。

30

[発明 9]

前記 A A V 9 ウイルスベクターが、約 5.0×10^{13} v g ~ 3.0×10^{14} v g の用量で投与される、発明 1 ~ 8 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 1 0]

前記 A A V 9 ウイルスベクターが、最大約 6.0×10^{13} v g の用量で投与される、発明 1 ~ 9 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 1 1]

前記 A A V 9 ウイルスベクターが、約 6.0×10^{13} v g の用量で投与される、発明 1 ~ 1 0 のいずれか一つに記載の方法。

40

[発明 1 2]

前記 A A V 9 ウイルスベクターが、最大約 1.2×10^{14} v g の用量で投与される、発明 1 ~ 9 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 1 3]

前記 A A V 9 ウイルスベクターが、約 1.2×10^{14} v g の用量で投与される、発明 1 ~ 9 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 1 4]

前記 A A V 9 ウイルスベクターが、最大約 2.4×10^{14} v g の用量で投与される、発明 1 ~ 9 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 1 5]

50

前記 A A V 9 ウイルスベクターが、約 2.4×10^{14} v g の用量で投与される、発明 1 ~ 9 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 1 6]

前記患者が二対立遺伝子 S M N 1 ヌル変異又は不活性化欠失を含み、任意選択的に前記変異が S M N 1 のエクソン 7 の欠失を含む、発明 1 ~ 1 5 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 1 7]

前記患者が S M N 2 の 3 つのコピーを有する、発明 1 ~ 1 6 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 1 8]

前記患者が、S M N 2 遺伝子の少なくとも 1 つのコピー上のエクソン 7 に c . 8 5 9 G > C 置換を有さない、発明 1 ~ 1 7 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 1 9]

前記それを必要とする患者が 1 つ又は複数のゲノム試験によって判定される、発明 1 ~ 1 8 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 2 0]

前記患者が約 1 2 ヶ月齢前で疾患の発症を示す、発明 1 ~ 1 9 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 2 1]

前記患者が、投与時に、補助なしで約 1 0 時間以上座る能力を有するが、立ち上がる事と歩く事ができない、発明 1 ~ 2 0 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 2 2]

前記患者が、投与時に、例えば、世界保健機関多施設成長基準研究 (W H O - M G R S) の基準による定義で、補助なしで座る能力を有する、発明 1 ~ 2 1 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 2 3]

例えば、投与の 1 2 ヶ月後など、例えば、約 1 ~ 2 4 ヶ月後に評価された、例えば、ベイリー乳幼児発達検査 (登録商標) による定義で、前記患者が、投与後に支えなしで少なくとも約 3 秒間立つ能力を有する、発明 1 ~ 2 2 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 2 4]

例えば、投与の 1 2 ヶ月後など、例えば、約 1 ~ 2 4 ヶ月後に評価された、例えば、ベイリー乳幼児発達検査 (登録商標) による定義で、前記患者が、投与後に補助なしで歩行する能力を有する、発明 1 ~ 2 2 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 2 5]

例えば、投与の 1 2 ヶ月後など、約 1 ~ 2 4 ヶ月後に評価された、例えば、ベイリー乳幼児発達検査 (登録商標) による定義で、前記患者が、投与後に独立して少なくとも 5 歩歩く能力を有する、発明 1 ~ 2 4 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 2 6]

例えば、投与の 1 2 ヶ月後など、約 1 ~ 2 4 ヶ月後に評価された、例えば、ベイリー乳幼児発達検査 (登録商標) による定義で、前記患者が、投与後に治療時のベースライン測定値からの変化を示す、発明 1 ~ 2 5 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 2 7]

例えば、投与の 1 2 ヶ月後など、約 1 ~ 2 4 ヶ月後の評価で、前記患者が、投与後に X 線検査で明らかな例えば、5 0 度以上の脊柱の湾曲などの重度の側弯症を有さない、発明 1 ~ 2 6 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 2 8]

前記患者が、脊椎穿刺処置又は髄腔内療法 of 投与について禁忌ではない、発明 1 ~ 2 7 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 2 9]

前記患者が以前に側弯症修復手術又は処置を受けておらず、任意選択的に、前記患者が、例えば投与後 1 年以内などの 6 ヶ月 ~ 3 年以内に側弯症修復手術又は処置を受けていな

10

20

30

40

50

い、発明 1 ~ 28 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 30]

前記患者が、投与前及び / 又は投与後に侵襲的換気補助の使用を必要としない、発明 1 ~ 29 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 31]

前記患者が、投与前に独立して立ち上がった又は歩行した履歴がない、発明 1 ~ 30 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 32]

前記患者が、投与前及び / 又は投与後に胃栄養チューブを使用しない、発明 1 ~ 31 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 33]

前記患者が、治療時に活動性ウイルス感染症（ヒト免疫不全ウイルス（HIV）；又は B 型又は C 型肝炎又はジカウイルスに対する血清反応陽性を含む）を有さない、発明 1 ~ 32 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 34]

前記患者が、投与の 4 週間前以内に重度の非肺 / 呼吸器感染症（例えば、腎盂腎炎又は髄膜炎）を有していない、発明 1 ~ 33 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 35]

前記患者が、投与前に、例えば、主要な腎障害又は肝障害、既知の発作障害、真性糖尿病、特発性低カルシウム尿症又は症候性心筋症などの併発疾患を有さない、発明 1 ~ 34 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 36]

前記患者が、投与前に細菌性髄膜炎又は脳又は脊髄疾患の病歴を有さない、発明 1 ~ 35 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 37]

前記患者が、プレドニゾン又は他の糖質コルチコステロイド又は臍形剤に対する既知のアレルギー又は過敏症を有さない、発明 1 ~ 36 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 38]

前記患者が、投与前にヨウ素又はヨウ素含有製品に対して既知のアレルギー又は過敏症を有さない、発明 1 ~ 37 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 39]

前記患者が、ミオパチー又はニューロパチーを治療するための薬物を服用していない、発明 1 ~ 38 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 40]

前記患者が、投与の 3 ヶ月前以内に、免疫抑制療法、血漿交換、アダリムマブなどの免疫調節剤を受けていない、発明 1 ~ 39 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 41]

前記患者が、投与前に、例えば、ELISA 結合免疫アッセイによる測定で 1 : 25、1 : 50、1 : 75、又は 1 : 100 以下の抗 AAV9 抗体価を有する、発明 1 ~ 40 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 42]

前記患者が、投与前に、正常上限の約 3 倍未満の γ -グルタミルトランスフェラーゼレベル、約 3.0 mg / dL 未満のビリルビンレベル、約 1.0 mg / dL 未満のクレアチニンレベル、約 8 ~ 18 g / dL の間の Hgb レベル、及び / 又は約 20000 / mm³ 未満の白血球数の 1 つ又は複数 を有する、発明 1 ~ 41 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 43]

前記患者が、投与前に、SMA の治療を意図とした、研究中の又は承認された化合物製品又は治療を受けていない、発明 1 ~ 42 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 44]

前記 AAV9 ウイルスベクターが造影剤と共に投与され、任意選択的に前記造影剤がイ

10

20

30

40

50

オヘキソールを含む、発明 1 ~ 4 3 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 4 5]

前記投与される造影剤の量が、例えば、約 1 . 5 m L など約 1 . 0 ~ 2 . 0 m L であり、任意選択的に、前記造影剤が、例えば、投与の 2 4 時間未満、1 2 時間未満、6 時間未満、5 時間未満、4 時間未満、3 時間未満、2 時間未満、1 時間未満、3 0 分未満前、又は投与直前に、前記 A A V 9 ウイルスベクターと混合される、発明 4 4 に記載の方法。

[発明 4 6]

前記患者に投与される A A V 9 ウイルスベクター及び造影剤の総量が、約 1 0 m L、約 9 m L、又は約 8 m L を超えない、発明 4 4 ~ 4 5 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 4 7]

鎮静又は麻酔をさらに含む、発明 1 ~ 4 6 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 4 8]

前記 A A V 9 ウイルスベクターの投与中及び / 又は投与後に、患者をトレンドレンプルグ体位にする発明 1 ~ 4 7 のいずれか一項に記載の方法。

[発明 4 9]

前記 A A V 9 ウイルスベクターの投与後、前記患者を例えば、約 1 5 分間など約 1 0 ~ 6 0 分間にわたり、約 3 0 ° で頭を下に傾けて置く、発明 1 ~ 4 8 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 5 0]

前記患者が、例えば、前記 A A V 9 ウイルスベクターを投与する約 2 4 時間前など、少なくとも約 1 ~ 4 8 時間前に、経口ステロイドを投与される、発明 1 ~ 4 9 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 5 1]

前記患者が、前記ウイルスベクターを投与した後、例えば、約 3 0 日間など、少なくとも約 1 0 ~ 6 0 日間にわたり、経口ステロイドを投与される、発明 1 ~ 5 0 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 5 2]

前記経口ステロイドが 1 日 1 回投与される、発明 5 0 又は 5 1 に記載の方法。

[発明 5 3]

前記経口ステロイドが 1 日 2 回投与される、発明 5 0 又は 5 1 に記載の方法。

[発明 5 4]

前記患者が、ウイルスベクターの投与後、A L T 及び / 又は A S T のレベルについてモニターされ、前記経口ステロイドが、A S T 及び / 又は A L T レベルが正常上限の 2 倍未満になるか又は約 1 2 0 I U / L 未満になるまで、3 0 日後も投与され続ける、発明 5 1 ~ 5 3 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 5 5]

前記患者が、A S T 及び / 又は A L T レベルが正常上限の 2 倍未満になるか又は約 1 2 0 I U / L 未満になるまで、経口ステロイドを投与される、発明 5 1 ~ 5 4 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 5 6]

前記患者が、A A V 9 ウイルスベクターの投与後に、T 細胞応答のレベルについてモニターされ、前記経口ステロイドが、例えば、1 0 6 個の末梢血単核細胞 (P B M C) あたりのスポット形成細胞 (S F C) が 1 0 0 個を下回る血液サンプルなど、前記患者からのサンプルにおける T 細胞応答まで 3 0 日後も投与され続ける、発明 5 1 ~ 5 5 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 5 7]

前記経口ステロイドが、約 1 m g / k g の用量で投与される、発明 5 0 ~ 5 6 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 5 8]

A S T 及び / 又は A L T レベルが正常上限の 2 倍未満になるか又は約 1 2 0 I U / L 未

10

20

30

40

50

満になった後に、前記経口ステロイドを漸減するステップをさらに含む、発明 5 1 ~ 5 7 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 5 9]

前記漸減が、2 週間かけて約 0 . 5 m g / k g / 日まで、続いてさらに 2 週間かけて約 0 . 2 5 m g / k g / 日まで段階的に減少させることを含む、発明 5 8 に記載の方法。

[発明 6 0]

前記経口ステロイドが、約 1 m g / k g の用量で 3 0 日間投与され、次に、2 週間かけて 0 . 5 m g / k g / 日まで漸減され、続いてさらに 2 週間にわたり 0 . 2 5 m g / k g / 日で投与されることを含む、発明 5 1 ~ 5 9 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 6 1]

前記経口ステロイドが、プレドニゾロン又は同等物である、発明 5 0 ~ 6 0 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 6 2]

治療効果が、ベイリー乳幼児発達検査スケール及び / 又はハマスミス機能的運動スケール拡張 (H F M S E) を用いて判定される、発明 1 ~ 6 1 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 6 3]

前記 A A V 9 ウイルスベクターの投与と同時に又は連続して、第 2 の治療薬を前記患者に投与するステップをさらに含む、発明 1 ~ 6 2 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 6 4]

前記第 2 の治療薬が、筋肉増強剤又は神経保護剤を含む、発明 6 3 に記載の方法。

[発明 6 5]

前記第 2 の治療薬が、S M N 1 及び / 又は S M N 2 を標的化するアンチセンスオリゴヌクレオチド又はアンチセンスオリゴヌクレオチド群を含む、発明 6 3 又は 6 4 に記載の方法。

[発明 6 6]

前記第 2 の治療薬が、ヌシネルセン及び / 又はスタムルマブを含む、発明 6 3 ~ 6 5 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 6 7]

前記 A A V 9 ウイルスベクターゲノムの量が、d d P C R を使用して測定される、発明 1 ~ 6 6 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 6 8]

前記患者が、投与後に、E L I S A 結合免疫アッセイによる測定で例えば 1 : 2 5、1 : 5 0、1 : 7 5、又は 1 : 1 0 0 以上の抗 A A V 9 抗体価を有し、約 1 ~ 8 週間にわたり、又は抗体価が 1 : 2 5、1 : 5 0、1 : 7 5、又は 1 : 1 0 0 未満に減少するまでモニターされる、発明 1 ~ 6 7 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 6 9]

前記患者が、投与後に、E L I S A 結合免疫アッセイによる測定で例えば 1 : 2 5、1 : 5 0、1 : 7 5、又は 1 : 1 0 0 以上の抗 A A V 9 抗体価を有し、抗体価が 1 : 2 5、1 : 5 0、1 : 7 5、又は 1 : 1 0 0 未満に減少するまで、例えば、プレドニゾロンなどのステロイドが投与される、発明 1 ~ 6 8 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 7 0]

前記患者が、投与前に、約 6 7 , 0 0 0 細胞 / m l を超え、又は約 1 0 0 , 0 0 0 細胞 / m l を超える、又は約 1 5 0 , 0 0 0 細胞 / m l を超える血小板数を有する、発明 1 ~ 6 9 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 7 1]

前記患者が、投与後に、約 6 7 0 0 0 細胞 / m l 未満、又は約 1 0 0 , 0 0 0 細胞 / m l 未満、又は約 1 5 0 , 0 0 0 細胞 / m l 未満の血小板数を有し、約 1 ~ 8 週間にわたり、又は血小板数が約 6 7 , 0 0 0 細胞 / m l、又は約 1 0 0 , 0 0 0 細胞 / m l を超え、又は約 1 5 0 , 0 0 0 細胞 / m l を超えて増加するまでモニターされる、発明 1 ~ 7 0 の

10

20

30

40

50

いずれか一つに記載の方法。

[発明 7 2]

前記患者が、投与後に、約 6 7 , 0 0 0 細胞 / m l 未満の血小板数を有し、血小板輸液で治療される、発明 1 ~ 7 1 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 7 3]

前記患者が、前記 A A V 9 ウイルスベクターの投与前に正常な肝機能を有する、発明 1 ~ 7 2 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 7 4]

前記患者が、投与前に約 8 ~ 4 0 U / L 未満の肝トランスアミナーゼレベルを有する、発明 7 3 に記載の方法。

[発明 7 5]

前記肝トランスアミナーゼが、A S T、A L T、及びそれらの組み合わせから選択される、発明 7 4 に記載の方法。

[発明 7 6]

前記 A A V 9 ウイルスベクターが、髄腔内投与に適した医薬製剤である、発明 1 ~ 7 5 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 7 7]

発明 1 ~ 7 6 のいずれか一つに記載の方法に従った、脊髄性筋萎縮症 (S M A) の治療における A A V 9 ウイルスベクターの使用。

[発明 7 8]

A A V 9 ウイルスベクターが、改変 A A V 2 I T R、ニワトリ - アクチン (C B) プロモーター、サイトメガロウイルス (C M V) 即時 / 早期エンハンサー、改変 S V 4 0 後期 1 6 S イントロン、ウシ成長ホルモン (B G H) ポリアデニル化シグナル、及び未改変 A A V 2 I T R を含む、A A V 9 ウイルスベクターと、髄腔内投与に適した薬学的に許容可能な担体とを含む医薬組成物。

[発明 7 9]

約 $6 . 0 \times 1 0 ^ { 1 3 } \text{ v g}$ の A A V 9 ウイルスベクターの単位用量を含む、発明 7 8 に記載の医薬組成物。

[発明 8 0]

約 $1 . 2 \times 1 0 ^ { 1 4 } \text{ v g}$ の A A V 9 ウイルスベクターの単位用量を含む、発明 7 8 に記載の医薬組成物。

[発明 8 1]

約 $2 . 4 \times 1 0 ^ { 1 4 } \text{ v g}$ の A A V 9 ウイルスベクターの単位用量を含む、発明 7 8 に記載の医薬組成物。

[発明 8 2]

前記ポリヌクレオチドが、配列番号 2 の e S M N タンパク質をコード化する、発明 7 8 ~ 8 1 のいずれか一つに記載の医薬組成物。

[発明 8 3]

前記 A A V 9 ウイルスベクターが配列番号 1 を含む、発明 7 8 ~ 8 2 のいずれか一つに記載の医薬組成物。

[発明 8 4]

造影剤をさらに含む、発明 7 8 ~ の 8 3 いずれか一つに記載の医薬組成物。

[発明 8 5]

前記造影剤が、例えば、約 1 . 5 m L など約 1 . 0 ~ 2 . 0 m L の量で存在する、発明 8 4 に記載の医薬組成物。

[発明 8 6]

前記 A A V 9 ウイルスベクター及び造影剤の総量が、約 1 0 m L、約 9 m L、又は約 8 m L を超えない、発明 8 4 ~ 8 5 のいずれか一つに記載の医薬組成物。

[発明 8 7]

前記医薬組成物が、造影剤と組み合わせて患者に投与され、前記造影剤が、前記医薬組

10

20

30

40

50

成物の投与前、任意選択的に、医薬組成物の投与前の2時間以内に投与される、発明78～83のいずれか一つに記載の医薬組成物。

[発明88]

追加的な治療薬をさらに含む、発明78～87のいずれか一つに記載の医薬組成物。

[発明89]

前記組成物又は製剤が、

- a. 約pH7.7～8.3、
- b. 約390～430mOsm/kg、
- c. 容器あたり25μm以上のサイズの約600個未満の粒子、
- d. 容器あたり10μm以上のサイズの約6000個未満の粒子、
- e. 約 1.7×10^{13} ～ 5.3×10^{13} vg/mLのゲノム力価、
- f. 1.0×10^{13} vgあたり約 3.9×10^8 ～ 8.4×10^{10} IUの感染力価、
- g. 1.0×10^{13} vgあたり約100～300μgの総タンパク質、
- h. 約20～80ppmのプルロニックF-68含有量、
- i. 生体外の細胞ベースのアッセイに基づく、参照標準及び/又は適切な対照と関連する、約70～130%の相対力価；
- j. 7.5×10^{13} vg/kgの用量でのSMN7マウスモデルにおける、24日以上生存期間中央値を特徴とする効力；
- k. 約5%未満の空のカプシド、
- l. 及び約95%以上の総純度、及び
- m. 約0.13EU/mL以下の内毒素

10

20

の少なくとも1つを含む、発明78～88のいずれか一つに記載の医薬組成物。

[発明90]

前記組成物又は製剤が、

- a. 1.0×10^{13} vgあたり約0.09ng未満のベンゾナーゼ、
- b. 約30μg/g(ppm)未満のセシウム、
- c. 約20～80ppmのポロクサマー188、
- d. 1.0×10^{13} vgあたり約0.22ng未満のBSA、
- e. 1.0×10^{13} vgあたり約 6.8×10^5 pg未満の残留プラスミドDNA、
- f. 1.0×10^{13} vgあたり約 1.1×10^5 pg未満の残留hcDNA、
- g. 1.0×10^{13} vgあたり約4ng未満のrHCP、
- h. 約pH7.7～8.3、
- i. 約390～430mOsm/kg、
- j. 容器あたり25μm以上のサイズの約600個未満の粒子、
- k. 容器あたり10μm以上のサイズの約6000個未満の粒子、
- l. 約 1.7×10^{13} ～ 5.3×10^{13} vg/mLのゲノム力価、
- m. 1.0×10^{13} vgあたり約 3.9×10^8 ～ 8.4×10^{10} IUの感染力価、
- n. 1.0×10^{13} vgあたり約100～300μgの総タンパク質、
- o. 生体外の細胞ベースのアッセイに基づく、参照標準及び/又は適切な対照と関連する、約70～130%の相対力価、及び
- p. 約5%未満の空のカプシド

30

40

の少なくとも1つを含む、発明78～89のいずれか一つに記載の医薬組成物。

[発明91]

発明1～76のいずれか一つに記載の方法における使用のための、発明78～90のいずれか一つに記載の医薬組成物。

[発明92]

前記投与が、投与前のスコアと関連して、ハマスミス機能的運動スケール拡張のスコアの改善をもたらす、発明1～76のいずれか一つに記載の方法、又は発明77に記載の使用、又は発明91に記載の使用のための組成物。

[発明93]

50

前記投与が、投与前のスコアと関連して、ベイリー乳幼児発達検査第3版のスコアの改善をもたらす、発明1～76のいずれか一つに記載の方法、又は発明77に記載の使用、又は発明91に記載の使用のための組成物。

[発明94]

前記投与が、投与前のスコアと関連して、ハマスミス機能的運動スケール拡張のスコアにおいて少なくとも3ポイントの改善をもたらす、発明1～76のいずれか一つに記載の方法、又は発明77に記載の使用、又は発明91に記載の使用のための組成物。

[発明95]

生存運動ニューロン(SMN)タンパク質をコード化するポリヌクレオチドを含むAAV9ウイルスベクターを髄腔内に投与するステップを含み、前記ウイルスベクターが、約 6×10^{13} v.g. ~ 2.4×10^{14} v.g. の用量で投与され、前記患者が、投与前のスコアと関連して、投与後9ヵ月までにハマスミス機能的運動スケール拡張(HFMSE)のスコアにおいて少なくとも3ポイントの改善を達成する、脊髄性筋萎縮症(SMA)に罹患している患者を治療する方法。

10

[発明96]

前記患者が、投与前のスコアと関連して、投与後9ヶ月までにHFMSEにおいて少なくとも4ポイントの改善を達成する、発明95に記載の方法。

[発明97]

前記患者が、投与前のスコアと関連して、投与後9ヶ月までにHFMSEにおいて少なくとも5ポイントの改善を達成する、発明95に記載の方法。

20

[発明98]

生存運動ニューロン(SMN)タンパク質をコード化するポリヌクレオチドを含むAAV9ウイルスベクターを髄腔内に投与するステップを含み、前記ウイルスベクターが、約 6×10^{13} v.g. ~ 2.4×10^{14} v.g. の用量で投与され、患者が、投与後12ヶ月までに支えなしで少なくとも3秒間立つ能力を獲得する、脊髄性筋萎縮症(SMA)に罹患している患者を治療する方法。

[発明99]

生存運動ニューロン(SMN)タンパク質をコード化するポリヌクレオチドを含むAAV9ウイルスベクターを髄腔内に投与するステップを含み、前記ウイルスベクターが、約 6×10^{13} v.g. ~ 2.4×10^{14} v.g. の用量で投与され、前記患者が、投与後12ヶ月までに少なくとも5歩独立して歩く能力を獲得する、脊髄性筋萎縮症(SMA)に罹患している患者を治療する方法。

30

[発明100]

生存運動ニューロン(SMN)タンパク質をコード化するポリヌクレオチドを含むAAV9ウイルスベクターを髄腔内に投与するステップを含み、前記ウイルスベクターが、約 6×10^{13} v.g. ~ 2.4×10^{14} v.g. の用量で投与され、前記患者が、投与前のスコアと関連して、投与後のベイリー乳幼児発達検査ベイリー乳幼児発達検査の粗大運動構成要素において少なくとも3ポイントの改善を達成する、脊髄性筋萎縮症(SMA)に罹患している患者を治療する方法。

[発明101]

前記AAV9ウイルスベクターが、改変AAV2ITR、ニワトリ-アクチン(CB)プロモーター、サイトメガロウイルス(CMV)即時/早期エンハンサー、改変SV40後期16Sイントロン、ウシ成長ホルモン(BGH)ポリアデニル化シグナル、及び未改変AAV1ITRを含む、発明95～100のいずれか一つに記載の方法。

40

[発明102]

前記ポリヌクレオチドが、配列番号2のSMNタンパク質をコード化する、発明95～101のいずれか一つに記載の方法。

[発明103]

前記AAV9ウイルスベクターが、配列番号1を含む、発明95～102のいずれか一つに記載の方法。

50

[発明 1 0 4]

前記患者が投与時に 6 ヶ月齢以上である、発明 9 5 ~ 1 0 3 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 1 0 5]

前記患者が、投与時に 2 4 ヶ月齢以下であり、任意選択的に 6 ヶ月齢 ~ 2 4 ヶ月齢の間である、発明 9 5 ~ 1 0 4 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 1 0 6]

前記患者が投与時に 2 4 ヶ月齢以上である、発明 9 5 ~ 1 0 4 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 1 0 7]

前記患者が、投与時に 6 0 ヶ月齢以下であり、任意選択的に 2 4 ヶ月齢 ~ 6 0 ヶ月齢の間である、発明 9 5 ~ 1 0 4 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 1 0 8]

前記 A A V 9 ウイルスベクターが、約 6.0×10^{13} v g の用量で投与される、発明 9 5 ~ 1 0 7 のいずれか一つに記載の方法。 A

[発明 1 0 9]

前記 A A V 9 ウイルスベクターが、約 1.2×10^{14} v g の用量で投与される、発明 9 5 ~ 1 0 7 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 1 1 0]

前記 A A V 9 ウイルスベクターが、約 2.4×10^{14} v g の用量で投与される、発明 9 5 ~ 1 0 7 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 1 1 1]

前記患者が二対立遺伝子 S M N 1 ヌル変異又は不活性化欠失を含み、任意選択的に前記変異が S M N 1 のエクソン 7 の欠失を含む、発明 9 5 ~ 1 1 0 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 1 1 2]

前記患者が S M N 2 の 3 つのコピーを有する、発明 9 5 ~ 1 1 1 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 1 1 3]

前記患者が、S M N 2 遺伝子の少なくとも 1 つのコピー上のエクソン 7 に c . 8 5 9 G > C 置換を有さない、発明 9 5 ~ 1 1 2 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 1 1 4]

前記それを必要とする患者が 1 つ又は複数のゲノム試験によって判定される、発明 9 5 ~ 1 1 3 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 1 1 5]

前記ゲノム検査が、1 つ又は複数の二重性 S M N 1 ヌル変異又は不活性化欠失、S M N 2 の 2 つ以上のコピー、及び / 又は S M N 2 遺伝子の少なくとも 1 つのコピー上のエクソン 7 における c . 8 5 9 G > C 置換の欠如を検出する発明 1 9 又は 1 1 4 に記載の方法。

[発明 1 1 6]

前記 S M A が、I I 型 S M A 又は I I I 型 S M A である、発明 1 ~ 7 6 又は 9 2 ~ 1 1 5 のいずれか一つに記載の方法。

[発明 1 1 7]

前記 S M A が I I 型 S M A 又は I I 型 S M A である、発明 7 7 に記載の使用。

[発明 1 1 8]

前記医薬組成物が、I I 型 S M A 又は I I I 型 S M A に罹患している患者に投与される、発明 9 1 に記載の使用のための医薬組成物。

10

20

30

40

50