

【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】平成29年12月14日(2017.12.14)

【公表番号】特表2016-537414(P2016-537414A)

【公表日】平成28年12月1日(2016.12.1)

【年通号数】公開・登録公報2016-066

【出願番号】特願2016-552222(P2016-552222)

【国際特許分類】

A 6 1 K	35/34	(2015.01)
A 6 1 L	27/00	(2006.01)
A 6 1 P	9/00	(2006.01)
C 1 2 N	5/071	(2010.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)

【F I】

A 6 1 K	35/34	
A 6 1 L	27/00	V
A 6 1 P	9/00	
C 1 2 N	5/071	Z N A
C 1 2 N	5/10	
C 1 2 N	15/00	A

【手続補正書】

【提出日】平成29年10月27日(2017.10.27)

【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】

【請求項1】

心臓傷害を治療する必要がある対象者において心臓傷害を治療するための医薬組成物を製造するための治療上有効量の心臓神経堤細胞の使用。

【請求項2】

請求項1記載の使用において、前記心臓神経堤細胞がcKit陽性である、使用。

【請求項3】

請求項1または2記載の使用において、前記心臓傷害が、心筋梗塞、心不全、心筋症、先天性心疾患、栄養性疾患、虚血性または非虚血性心筋症、高血圧性心筋症、弁膜症性心筋症、炎症性心筋症、全身性代謝性疾患に対し二次的に起こる心筋症、アルコール性心筋症、糖尿病性心筋症、拘束型心筋症、及びこれらの組合せによって引き起こされる心臓傷害である、使用。

【請求項4】

請求項1～3のいずれか記載の使用において、前記医薬組成物が、約50重量%から約100重量%心臓神経堤細胞を有する、使用。

【請求項5】

請求項1～4のいずれか記載の使用において、前記医薬組成物が、約50重量%心臓神経堤細胞を有する、使用。

【請求項6】

請求項1～5のいずれか記載の使用において、前記医薬組成物が、約70重量%心臓神

経堤細胞を有する、使用。

【請求項 7】

請求項 1 ~ 6 のいずれか記載の使用において、前記医薬組成物が、約 90 % 心臓神経堤細胞を有する、使用。

【請求項 8】

請求項 1 ~ 7 のいずれか記載の使用において、前記医薬組成物が、約 1×10^6 心臓神経堤細胞を有する、使用。

【請求項 9】

請求項 1 ~ 8 のいずれか記載の使用において、前記医薬組成物が、約 1×10^8 心臓神経堤細胞を有する、使用。

【請求項 10】

請求項 1 ~ 9 のいずれか記載の使用において、前記医薬組成物が、1つまたはそれ以上の分化剤をさらに有する、使用。

【請求項 11】

請求項 10 記載の使用において、前記 1 つまたはそれ以上の分化剤が、BMP 拮抗薬、ノギン、コルジン、Tsg、BMP R1A 及び BMP R1B などの可溶性受容体、ドルソモルフィンなどの低分子 BMP 拮抗薬、レチノイン酸、ビタミン A、LGD100268、または LGD1069 などのレチノイン酸受容体作動薬、dickkopf ホモログ 1 (DKK1) などの wnt 阻害剤から選択される、使用。

【請求項 12】

請求項 1 ~ 11 のいずれか記載の使用において、前記心臓神経堤細胞が、約 50 受容体 / マイクロメートル² から約 800 受容体 / マイクロメートル² の幹細胞因子受容体濃度を有する、使用。

【請求項 13】

請求項 1 ~ 11 のいずれか記載の使用において、前記心臓神経堤細胞が、約 200 受容体 / マイクロメートル² から約 600 受容体 / マイクロメートル² の幹細胞因子受容体濃度を有する、使用。

【請求項 14】

心臓神経堤細胞を生産する方法であって、
ノギン及び白血病阻止因子と共に複数の幹細胞を培養する工程と、
前記複数の幹細胞をノギンと共に培養することにより、前記複数の幹細胞の三次元集合体を形成する工程と、
心臓神経堤細胞を形成するために、前記複数の幹細胞を心臓神経堤分化培地中で培養する工程と
を有する、方法。

【請求項 15】

請求項 14 記載の方法において、前記心臓神経堤細胞が幹細胞因子受容体を発現する、方法。

【請求項 16】

請求項 14 記載の方法において、前記心臓神経堤細胞が cKit 陽性である、方法。

【請求項 17】

請求項 14 記載の方法において、前記複数の幹細胞が人工多能性幹細胞である、方法。

【請求項 18】

請求項 14 記載の方法において、前記複数の幹細胞が胚性幹細胞である、方法。

【請求項 19】

請求項 14 記載の方法において、前記ノギン及び白血病阻止因子と共に複数の幹細胞を培養する工程におけるノギンが、濃度 150 ng / ml である、方法。

【請求項 20】

請求項 14 記載の方法において、前記ノギン及び白血病阻止因子と共に複数の幹細胞を培養する工程における白血病阻止因子が、濃度 2000 単位 / ml である、方法。

【請求項 2 1】

請求項 1 4 ~ 2 0 のいずれか記載の方法において、前記心臓神経堤細胞が、約 5 0 受容体 / マイクロメートル² から約 8 0 0 受容体 / マイクロメートル² の幹細胞因子受容体濃度を有する、方法。

【請求項 2 2】

請求項 1 4 ~ 2 1 のいずれか記載の方法において、前記心臓神経堤細胞が、約 2 0 0 受容体 / マイクロメートル² から約 6 0 0 受容体 / マイクロメートル² の幹細胞因子受容体濃度を有する、方法。

【請求項 2 3】

請求項 1 4 ~ 2 2 のいずれか記載の方法であって、さらに、前記幹細胞にタモキシフェンを接触させる工程を有する、方法。

【請求項 2 4】

心臓神経堤細胞、及び薬学的に許容可能な担体または賦形剤を有する、医薬組成物。

【請求項 2 5】

請求項 2 4 記載の医薬組成物において、前記心臓神経堤細胞が c K i t 陽性である、組成物。

【請求項 2 6】

請求項 2 4 記載の医薬組成物において、前記心臓神経堤細胞が、約 5 0 受容体 / マイクロメートル² から約 8 0 0 受容体 / マイクロメートル² の幹細胞因子受容体濃度を有する、組成物。

【請求項 2 7】

請求項 2 4 記載の医薬組成物において、前記心臓神経堤細胞が、約 2 0 0 受容体 / マイクロメートル² から約 6 0 0 受容体 / マイクロメートル² の幹細胞因子受容体濃度を有する、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】0 0 0 2

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 0 2】

幹細胞は、様々な心臓の疾患及び状態を治療するために使用されてきた。しかしながら、異なる種類の幹細胞を同定かつ使用する必要がある。本実施形態は、これらの及びその他の需要を満たす。

この出願の発明に関連する先行技術文献情報としては、以下のものがある（国際出願日以降国際段階で引用された文献及び他国に国内移行した際に引用された文献を含む）。

（先行技術文献）

（特許文献）

（特許文献 1）米国特許出願公開第 2 0 1 2 / 0 0 3 4 5 9 5 号明細書

（特許文献 2）米国特許第 6 , 3 8 7 , 3 6 9 号明細書

（特許文献 3）米国特許第 6 , 9 3 0 , 2 2 2 号明細書

（特許文献 4）米国特許第 7 , 0 7 0 , 9 4 3 号明細書

（特許文献 5）米国特許第 9 , 7 4 6 , 4 5 7 号明細書

（特許文献 6）米国特許出願公開第 2 0 0 3 / 0 0 5 4 9 7 3 号明細書

（特許文献 7）米国特許出願公開第 2 0 0 4 / 0 1 2 6 8 7 9 号明細書

（特許文献 8）米国特許出願公開第 2 0 0 6 / 0 0 0 8 4 5 0 号明細書

（特許文献 9）米国特許出願公開第 2 0 0 7 / 0 0 0 5 3 8 9 号明細書

（特許文献 10）米国特許出願公開第 2 0 1 0 / 0 2 6 0 7 2 7 号明細書

（特許文献 11）米国特許出願公開第 2 0 1 1 / 0 1 2 3 5 0 0 号明細書

（特許文献 12）米国特許出願公開第 2 0 1 4 / 0 3 6 9 9 7 6 号明細書

（特許文献 13）米国特許出願公開第 2 0 1 6 / 0 2 5 0 2 6 1 号明細書

(特許文献14) 国際公開第2000/006701号

(特許文献15) 国際公開第2006/039630号

(特許文献16) 国際公開第2008/054819号

(特許文献17) 国際公開第2008/058216号

(特許文献18) 国際公開第2014/093051号

(非特許文献)

(非特許文献1) TAMURA et al. Neural Crest-Derived Stem Cells Migrate and Differentiate Into Cardiomyocytes After Myocardial Infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011, Vol. 31(3), p. 582-9. Abstract; pg 584, col 2, para 1; pg 585, Fig 2B; and pg 587, Fig 4F

(非特許文献2) TOMITA et al. Cardiac neural crest cells contribute to the dormant multipotent stem cell in the mammalian heart. *J Cell Biol.* 2005, Vol. 170(7), p. 1135-46. Entire documentation, especially Title; pg 1136, col 2, para 1 and last para; pg 1140, col 2, last para; and 1143, col 2, para 2

(非特許文献3) CHATZISTERGOS et al. Abstract 18448: Kit Marks Cardiac Neural Crest Progenitors in the Developing Mouse Heart. American Heart Association 2013 Scientific Sessions and Resuscitation Science Symposium. Volume 128(22) Supplement. Abstract 18448, 26 November 2013 [online]. [Retrieved on 2014.12.15]. Retrieved from the Internet: <URL: http://circ.ahajournals.org/cgi/content/meeting_abstract/128/22_MeetingAbstracts/A18448> Merged PDF file: pg 1-20. pg 1, Abstract; and pg 2, Title and Core 3

(非特許文献4) BELTRAMI et al., Adult Cardiac Stem Cells Are Multipotent and Support Myocardial Regeneration, *Cell* (September 19, 2003), (114) pp. 763-776.

(非特許文献5) BOLLI et al., Cell Therapy Needs Rigorous Translational Studies in Large Animal Models, *JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY*, Vol. 66, No. 18, 2015 (November 3, 2015), pp. 2000-4

(非特許文献6) DAI W ET AL: "Allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in post infarcted rat myocardium: Short- and long-term effects", *CIRCULATION*, LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS, US, vol. 112, no. 2, 12 July 2005 (2005-07-12), pages 214-223

(非特許文献7) DHARMENDRA DINGAR ET AL: "Anti

- apoptotic function of the E2F transcription factor 4 (E2F4) / p130, a member of retinoblastoma gene family in cardiac myocytes", JOURNAL OF MOLECULAR AND CELLULAR CARDIOLOGY., vol. 53, no. 6, 15 September 2012 (2012-09-15), pages 820-828

(非特許文献8) Anonymous: "Enrichment of pluripotent stem cell derived neural crest stem cells and further differentiation to peripheral neurons", 7 May 2013 (2013-05-07), pages 1-2

(非特許文献9) FAUCHERRE ADELE ET AL: "The heart's content - renewable resources", INTERNATIONAL JOURNAL OF CARDIOLOGY, vol. 167, no. 4, 6 October 2012 (2012-10-06), pages 1141-1146

(非特許文献10) KONSTANTINOS E HATZISTERGOS ET AL: "Retinoblastoma Regulates Cardiac and Mesenchymal Stem Cell Niches during Adult Heart Regeneration", CIRCULATION, vol. 126, 20 December 2012 (2012-12-20), page A19546

(非特許文献11) K. E. HATZISTERGOS ET AL: "Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Stimulate Cardiac Stem Cell Proliferation and Differentiation", CIRCULATION RESEARCH., vol. 107, no. 7, 1 October 2010 (2010-10-01), pages 913-922

(非特許文献12) HOLMES et al., "Preparation of Cells and Reagents for Flow Cytometry, "Current Protocols in Immunology (2001) 5.3.1-5.3.24

(非特許文献13) HOU ET AL: "Transplantation of mesenchymal stem cells from human bone marrow improves damaged heart function in rats", INTERNATIONAL JOURNAL OF CARDIOLOGY, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS. AMSTERDAM, NL, vol. 115, no. 2, 25 January 2007 (2007-01-25), pages 220-228

(非特許文献14) HUANG ET AL: "Transplantation of angiogenin-overexpressing mesenchymal stem cells synergistically augments cardiac function in a porcine model of chronic ischemia", JOURNAL OF THORACIC AND CARDIOVASCULAR SURGERY, MOSBY-YEAR BOOK. INC., ST. LOUIS, MO, US, vol. 132, no. 6, 29 November 2006 (2006-11-29), pages 1329-1338.

(非特許文献15) WENHUI JIANG ET AL: "Homing and differentiation of mesenchymal stem cells delivered intravenously to ischemic

myocardium in vivo: a time-series study", PFLUGERS ARCHIV - EUROPEAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY, SPRINGER, BERLIN, DE, vol. 453, no. 1, 17 August 2006 (2006-08-17), pages 43-52

(非特許文献16) KARANTALIS et al., "Synergistic Effects of Combined Cell Therapy for Chronic Ischemic Cardiomyopathy," JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY, Vol. 66, No. 18, 2015 (November 3, 2015), pp. 1990-1999

(非特許文献17) MAY L LAM ET AL: "Embryonic stem cell-derived cardiomyocytes harbor a subpopulation of niche-forming Sca-1 progenitor cells", MOLECULAR AND CELLULAR BIOCHEMISTRY, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, BO, vol. 349, no. 1 - 2, 3 December 2010 (2010-12-03), pages 69-76

(非特許文献18) LEE GABSANG ET AL: "Derivation of neural crest cells from human pluripotent stem cells", NATURE PROTOCOLS, NATURE PUBLISHING GROUP, GB, vol. 5, no. 4, 1 April 2010 (2010-04-01), pages 688-701

(非特許文献19) LI ET AL: "Bone marrow mesenchymal stem cells differentiate into functional cardiac phenotypes by cardiac microenvironment", JOURNAL OF MOLECULAR AND CELLULAR CARDIOLOGY, ACADEMIC PRESS, GB, vol. 42, no. 2, 24 January 2007 (2007-01-24), pages 295-303

(非特許文献20) LIN B ET AL: "High-purity enrichment of functional cardiovascular cells from human iPS cells", CARDIOVASCULAR RESEARCH, OXFORD UNIVERSITY PRESS, GB, vol. 95, no. 3, 1 August 2012 (2012-08-01), pages 327-335

(非特許文献21) MEDEPALLI et al., "A new technique for reversible permeabilization of live cells for intracellular delivery of quantum dots," NANOTECHNOLOGY, vol. 24, no. 20, 24 May 2013

(非特許文献22) BEHZAD N. OSKOUEI ET AL: "Increased Potency of Cardiac Stem Cells Compared with Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells in Cardiac Repair", STEM CELLS TRANSLATIONAL MEDICINE : SCTM, vol. 1, no. 2, 7 February 2012 (2012-02-07). pages 116-124

(非特許文献23) SHAPIRO, Howard M.: Practical Flow Cytometry, John Wiley & Sons, 2005, p. 43

(非特許文献24) PATIMA SDEK ET AL : "Rb and p1
30 control cell cycle gene silencing to maintain the postmitotic phenotype in cardiac myocytes", THE JOURNAL OF CELL BIOLOGY : JCB, vol. 194, no. 3, 8 August 2011 (2011-08-08), US, pages 407 - 423

(非特許文献25) TOMA C ET AL : "Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardio-myocyte phenotype in the adult murine heart", CIRCULATION, LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS, US, vol. 105, no. 1, 8 January 2002 (2002-01-08), pages 93 - 98

(非特許文献26) HIDEKI UOSAKI ET AL : "Direct Contact with Endoderm-Like Cells Efficiently Induces Cardiac Progenitors from Mouse and Human Pluripotent Stem Cells", PLOS ONE, vol. 7, no. 10, 1 October 2012 (2012-10-01), page e46413

(非特許文献27) WANG ET AL : "The roles of mesenchymal stem cells (MSCs) therapy in ischemic heart diseases", BIOCHEMICAL AND PHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, ACADEMIC PRESS INC. ORLANDO, FL, US, vol. 359, no. 2, 9 June 2007 (2007-06-09), pages 189 - 193

(非特許文献28) ADAM R. WILLIAMS ET AL : "Enhanced Effect of Combining Human Cardiac Stem Cells and Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells to Reduce Infarct Size and to Restore Cardiac Function After Myocardial Infarction Clinical Perspective", CIRCULATION, vol. 127, no. 2, 5 December 2012 (2012-12-05), pages 213 - 223

(非特許文献29) YANG et al., "A key role for telomerase reverse transcriptase unit in modulating human embryonic stem cell proliferation, cell cycle dynamics, and in vitro differentiation." Stem Cells (April 2008, published online 17 January 2008) vol 26, no 4, pp 850 - 63