

【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26年7月31日(2014.7.31)

【公表番号】特表2013-528230(P2013-528230A)
 【公表日】平成25年7月8日(2013.7.8)
 【年通号数】公開・登録公報2013-036
 【出願番号】特願2013-514402(P2013-514402)
 【国際特許分類】

A 6 1 K 35/14 (2006.01)

A 6 1 K 35/28 (2006.01)

A 6 1 K 35/407 (2006.01)

A 6 1 P 9/10 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 35/14 C

A 6 1 K 35/28

A 6 1 K 35/407

A 6 1 P 9/10

【手続補正書】

【提出日】平成26年6月10日(2014.6.10)

【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】

造血、間葉、および内皮系列の混合細胞集団を含む、組織修復のための単離された細胞組成物を含む、標準的な血行再建法を用いて消散することができない血管閉塞を呈する対象における重症虚血肢（CLI）を処置するための薬学的組成物であって、該細胞の生存率が少なくとも80%であり、かつ該細胞組成物が：

a) 約5~75%生存CD90⁺細胞を含み、該細胞組成物中の残りの細胞がCD45⁺であり；

b) 2 μg/ml未満のウシ血清アルブミンを含み；

c) 1 μg/ml未満の酵素的に活性な採取試薬を含み；かつ

d) マイコプラズマ、エンドトキシン、および微生物の汚染を実質的に含まず、それによって重症虚血肢（CLI）の臨床的帰結（clinical consequence）を改善または予防するための、薬学的組成物。

【請求項2】

細胞組成物の細胞が単核球に由来する、請求項1記載の薬学的組成物。

【請求項3】

単核球が、骨髓、末梢血、臍帯血、または胎児肝臓に由来する、請求項2記載の薬学的組成物。

【請求項4】

細胞組成物の細胞が、ヒトへの投与にとって適した医薬品グレードの電解質溶液中に存在する、請求項1記載の薬学的組成物。

【請求項5】

細胞組成物のCD90⁺細胞の少なくとも10%がCD15を同時発現する、請求項1記載の薬学的組成物。

【請求項6】

細胞組成物のCD45⁺細胞がCD14⁺、CD34⁺、またはVEGFR1⁺である、請求項1記載の薬学的組成物。

【請求項7】

細胞組成物が、ウマ血清および／またはウシ胎児血清を実質的に含まない、請求項1記載の薬学的組成物。

【請求項8】

細胞組成物中の総生存細胞数が3500万個から3億個である、請求項1記載の薬学的組成物。

【請求項9】

細胞が15ミリリットル未満の容積中に存在する、請求項8記載の薬学的組成物。

【請求項10】

細胞が10ミリリットル未満の容積中に存在する、請求項8記載の薬学的組成物。

【請求項11】

細胞が7.5ミリリットル未満の容積中に存在する、請求項8記載の薬学的組成物。

【請求項12】

標準的な血行再建法が、開放外科技法（open surgical procedure）または経皮血管内技法（percutaneous endovascular procedure）である、請求項1記載の薬学的組成物。

【請求項13】

対象が、下肢に血管閉塞を呈する、請求項1記載の薬学的組成物。

【請求項14】

対象が、肢に、脈の触れない、少なくとも2週間の反復性の虚血性安静時痛、潰瘍形成、壊疽をさらに呈する、請求項1記載の薬学的組成物。

【請求項15】

対象が、足または足指に、足の脈が触れず、かつ足指の収縮期血圧が50 mmHgに等しいかもしくはそれ未満であるか、または足首の収縮期血圧が70 mmHgに等しいかもしくはそれ未満であるかのいずれかである、少なくとも2週間の反復性の虚血性安静時痛、潰瘍形成、または壊疽をさらに呈する、請求項13記載の薬学的組成物。

【請求項16】

標準的な血行再建法を用いて消散することができない血管閉塞の存在が、理学的検査、血管造影、カラーフローデュプレックス超音波、またはその任意の組み合わせによって決定される、請求項1記載の薬学的組成物。

【請求項17】

細胞組成物が、1つまたは複数の部位での筋肉内注射によって投与されるものである、請求項1または13記載の薬学的組成物。

【請求項18】

細胞組成物が平均 $90 \sim 180 \times 10^6$ 個の生存細胞を含む、請求項1または13記載の薬学的組成物。

【請求項19】

対象における重症虚血肢（CLI）の臨床的帰結が、疼痛の増加、罹患肢の機能の減少、創傷サイズの増加、創傷治癒の減少、新たな壊疽、切断、または死亡である、請求項1記載の薬学的組成物。

【請求項20】

罹患肢の機能の減少が、肢の可動域の減少、強さの減少、または身体運動の持続時間の減少を含む、請求項19記載の薬学的組成物。

【請求項21】

前記肢が脚であり、かつ罹患肢の機能の減少が、歩行距離の減少または歩行時間の減少を含む、請求項19記載の薬学的組成物。

【請求項22】

対象の処置が臨床目標を達成する、請求項1記載の薬学的組成物。

【請求項23】

臨床目標が、疼痛の減少、罹患肢の機能の増加、創傷サイズの減少、創傷治癒の増加、新たな壊疽の遅延もしくは予防、切断の遅延もしくは予防、または生存の増加である、請求項22記載の薬学的組成物。

【請求項 2 4】

疼痛の減少が、薬学的組成物の投与前の期間での対象による鎮痛薬投与の要求または鎮痛薬の用量を、薬学的組成物の投与後の時点での対象による鎮痛薬投与の要求または鎮痛薬の用量と比較することによって決定され、要求が減少するかまたは用量が減少すれば、処置が、薬学的組成物の投与後に対象の疼痛を減少させたことを示している、請求項23記載の薬学的組成物。

【請求項 2 5】

罹患肢の機能の増加が、薬学的組成物の投与前の期間での該肢の可動域、強さ、または身体運動の持続時間の測定値を、薬学的組成物の投与後の時点での該肢の可動域、強さ、または身体運動の持続時間の測定値と比較することによって決定され、可動域が増加するか、強さが増加するか、または持続時間の測定値が増加すれば、処置が、薬学的組成物の投与後に対象の罹患肢の機能を増加させたことを示している、請求項23記載の薬学的組成物。

【請求項 2 6】

創傷サイズの減少が、薬学的組成物の投与前の期間での創傷の面積、周囲長、または深さの測定値を、薬学的組成物の投与後の時点での創傷の面積、周囲長、または深さの測定値と比較することによって決定され、面積、周囲長、または深さの測定値が減少すれば、処置が薬学的組成物の投与後に創傷のサイズを減少させたことを示している、請求項23記載の薬学的組成物。

【請求項 2 7】

創傷治癒の増加が、薬学的組成物の投与前の期間での創傷の活動性炎症、血管新生、コラーゲン沈着、線維増殖、肉芽組織形成、上皮化、収縮、またはリモデリングの測定値を、薬学的組成物の投与後の時点での創傷の活動性炎症、血管新生、コラーゲン沈着、線維増殖、肉芽組織形成、上皮化、収縮、またはリモデリングの測定値と比較することによって決定され、活動性炎症、血管新生、コラーゲン沈着、線維増殖、肉芽組織形成、上皮化、収縮、またはリモデリングの測定値が増加すれば、処置が薬学的組成物の投与後に創傷治癒を増加させたことを示している、請求項23記載の薬学的組成物。

【請求項 2 8】

新たな壊疽の遅延または予防が、薬学的組成物の投与前の期間での組織壊死の測定値を、薬学的組成物の投与後の時点での組織壊死の測定値と比較することによって決定され、組織壊死の測定値が同一であるかまたは減少すれば、処置が、薬学的組成物の投与後に新たな壊疽の形成を遅らせたかまたは予防したことを示している、請求項23記載の薬学的組成物。

【請求項 2 9】

切断の遅延または予防が、薬学的組成物の投与前の期間での対象の切断に関する予後を、薬学的組成物の投与後の対象の切断に関する予後と比較することによって決定され、切断までに要する期間が増加するか、または回復により切断技法が取り消されればそれぞれ、処置が、罹患肢の切断を遅らせたかまたは予防したことを示している、請求項23記載の薬学的組成物。

【請求項 3 0】

生存の増加が、薬学的組成物の投与前の期間での対象の生存に関する予後を、薬学的組成物の投与後の対象の生存に関する予後と比較することによって決定され、予想される生存期間が増加すれば、処置が、薬学的組成物の投与後に対象の生存を増加させたことを示している、請求項23記載の薬学的組成物。

【請求項 3 1】

造血、間葉、および内皮系列の混合細胞集団を含む組織修復のための単離細胞組成物を含む、標準的な血行再建法を用いて消散することができない血管閉塞を呈する重症虚血肢

であると診断された対象において非切断生存を増加させるための薬学的組成物であって、該細胞の生存率が少なくとも80%であり、かつ該細胞組成物が：

- a) 約5～75%生存CD90⁺細胞を含み、該細胞組成物中の残りの細胞がCD45⁺であり；
- b) 2 µg/ml未満のウシ血清アルブミンを含み；
- c) 1 µg/ml未満の酵素的に活性な採取試薬を含み；かつ
- d) マイコプラズマ、エンドトキシン、および微生物の汚染を実質的に含まない、薬学的組成物。

【請求項 3 2】

非切断生存が、同様に重症虚血肢（CLI）であると診断され、かつ同様に標準的な血行再建法を用いて消散することができない血管閉塞を呈する無処置対象と比較して、処置対象において増加する、請求項31記載の薬学的組成物。

【請求項 3 3】

造血、間葉、および内皮系列の混合細胞集団を含む組織修復のための単離細胞組成物を含む、標準的な血行再建法を用いて消散することができない血管閉塞を呈する重症虚血肢（CLI）であると診断された対象における大切断術を阻止するための薬学的組成物であって、該細胞の生存率が少なくとも80%であり、かつ該細胞組成物が：

- a) 約5～75%生存CD90⁺細胞を含み、該細胞組成物中の残りの細胞がCD45⁺であり；
- b) 2 µg/ml未満のウシ血清アルブミンを含み；
- c) 1 µg/ml未満の酵素的に活性な採取試薬を含み；かつ
- d) マイコプラズマ、エンドトキシン、および微生物の汚染を実質的に含まない、薬学的組成物。

【請求項 3 4】

血管閉塞が脚で生じる、請求項33記載の薬学的組成物。

【請求項 3 5】

大切断術が、脚の距骨またはそれより上での切断である、請求項34記載の薬学的組成物。

【請求項 3 6】

造血、間葉、および内皮系列の混合細胞集団を含む組織修復のための単離細胞組成物を含む、標準的な血行再建法を用いて消散することができない血管閉塞を呈する重症虚血肢（CLI）であると診断された対象における新たな壊疽、組織喪失、切断、または死亡の発生を遅らせるための薬学的組成物であって、該細胞の生存率が少なくとも80%であり、かつ該細胞組成物が：

- a) 約5～75%生存CD90⁺細胞を含み、該組成物中の残りの細胞がCD45⁺であり；
- b) 2 µg/ml未満のウシ血清アルブミンを含み；
- c) 1 µg/ml未満の酵素的に活性な採取試薬を含み；かつ
- d) マイコプラズマ、エンドトキシン、および微生物の汚染を実質的に含まない、薬学的組成物。

【請求項 3 7】

新たな壊疽、組織喪失、切断、または死亡の発生が、同様に重症虚血肢（CLI）であると診断され、かつ同様に標準的な血行再建法を用いて消散することができない血管閉塞を呈する無処置対象と比較して、処置対象において遅れる、請求項36記載の薬学的組成物。

【請求項 3 8】

造血、間葉、および内皮系列の混合細胞集団を含む組織修復のための単離細胞組成物を含む、標準的な血行再建法を用いて消散することができない血管閉塞を呈する重症虚血肢（CLI）であると診断された対象における生存確率を増加させるための薬学的組成物であって、該細胞の生存率が少なくとも80%であり、かつ該細胞組成物が：

- a) 約5～75%生存CD90⁺細胞を含み、該細胞組成物中の残りの細胞がCD45⁺であり；
- b) 2 µg/ml未満のウシ血清アルブミンを含み；
- c) 1 µg/ml未満の酵素的に活性な採取試薬を含み；かつ
- d) マイコプラズマ、エンドトキシン、および微生物の汚染を実質的に含まない、薬学的組成物。

組成物。

【請求項39】

生存確率が、同様に重症虚血肢（CLI）であると診断され、かつ同様に標準的な血行再建法を用いて消散することができない血管閉塞を呈する無処置対象と比較して、処置対象において増加する、請求項38記載の薬学的組成物。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0039

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0039】

[本発明1001]

造血、間葉、および内皮系列の混合細胞集団を含む、組織修復のための単離された細胞組成物を対象に投与する段階を含む、標準的な血行再建法を用いて消散することができない血管閉塞を呈する対象における重症虚血肢（CLI）を処置する方法であって、該細胞の生存率が少なくとも80%であり、かつ該組成物が：

a) 約5～75%生存CD90⁺細胞を含み、該組成物中の残りの細胞がCD45⁺であり；

b) 2μg/ml未満のウシ血清アルブミンを含み；

c) 1μg/ml未満の酵素的に活性な採取試薬を含み；かつ

d) マイコプラズマ、エンドトキシン、および微生物の汚染を実質的に含まず、それによって重症虚血肢（CLI）の臨床的帰結（clinical consequence）を改善または予防する、方法。

[本発明1002]

組成物の細胞が単核球に由来する、本発明1001の方法。

[本発明1003]

単核球が、骨髓、末梢血、臍帯血、または胎児肝臓に由来する、本発明1002の方法。

[本発明1004]

組成物の細胞が、ヒトへの投与にとって適した医薬品グレードの電解質溶液中に存在する、本発明1001の方法。

[本発明1005]

組成物のCD90⁺細胞の少なくとも10%がCD15を同時発現する、本発明1001の方法。

[本発明1006]

組成物のCD45⁺細胞がCD14⁺、CD34⁺、またはVEGFR1⁺である、本発明1001の方法。

[本発明1007]

組成物が、ウマ血清および／またはウシ胎児血清を実質的に含まない、本発明1001の方法。

[本発明1008]

組成物中の総生存細胞数が3500万個から3億個である、本発明1001の方法。

[本発明1009]

細胞が15ミリリットル未満の容積中に存在する、本発明1008の方法。

[本発明1010]

細胞が10ミリリットル未満の容積中に存在する、本発明1008の方法。

[本発明1011]

細胞が7.5ミリリットル未満の容積中に存在する、本発明1008の方法。

[本発明1012]

標準的な血行再建法が、開放外科技法（open surgical procedure）または経皮血管内技法（percutaneous endovascular procedure）である、本発明1001の方法。

[本発明1013]

対象が、下肢に血管閉塞を呈する、本発明1001の方法。

[本発明1014]

対象が、肢に、脈の触れない、少なくとも2週間の反復性の虚血性安静時痛、潰瘍形成、壊疽をさらに呈する、本発明1001の方法。

[本発明1015]

対象が、足または足指に、足の脈が触れず、かつ足指の収縮期血圧が50 mmHgに等しいかもしくはそれ未満であるか、または足首の収縮期血圧が70 mmHgに等しいかもしくはそれ未満であるかのいずれかである、少なくとも2週間の反復性の虚血性安静時痛、潰瘍形成、または壊疽をさらに呈する、本発明1013の方法。

[本発明1016]

標準的な血行再建法を用いて消散することができない血管閉塞の存在が、理学的検査、血管造影、カラーフローデュプレックス超音波、またはその任意の組み合わせによって決定される、本発明1001の方法。

[本発明1017]

組成物が、1つまたは複数の部位での筋肉内注射によって投与される、本発明1001または1013の方法。

[本発明1018]

組成物が平均 $90 \sim 180 \times 10^6$ 個の生存細胞を含む、本発明1001または1013の方法。

[本発明1019]

対象における重症虚血肢（CLI）の臨床的帰結が、疼痛の増加、罹患肢の機能の減少、創傷サイズの増加、創傷治癒の減少、新たな壊疽、切断、または死亡である、本発明1001の方法。

[本発明1020]

罹患肢の機能の減少が、肢の可動域の減少、強さの減少、または身体運動の持続時間の減少を含む、本発明1019の方法。

[本発明1021]

前記肢が脚であり、かつ罹患肢の機能の減少が、歩行距離の減少または歩行時間の減少を含む、本発明1019の方法。

[本発明1022]

対象の処置が臨床目標を達成する、本発明1001の方法。

[本発明1023]

臨床目標が、疼痛の減少、罹患肢の機能の増加、創傷サイズの減少、創傷治癒の増加、新たな壊疽の遅延もしくは予防、切断の遅延もしくは予防、または生存の増加である、本発明1022の方法。

[本発明1024]

疼痛の減少が、組成物の投与前の期間での対象による鎮痛薬投与の要求または鎮痛薬の用量を、組成物の投与後の時点での対象による鎮痛薬投与の要求または鎮痛薬の用量と比較することによって決定され、要求が減少するかまたは用量が減少すれば、処置が、組成物の投与後に対象の疼痛を減少させたことを示している、本発明1023の方法。

[本発明1025]

罹患肢の機能の増加が、組成物の投与前の期間での該肢の可動域、強さ、または身体運動の持続時間の測定値を、組成物の投与後の時点での該肢の可動域、強さ、または身体運動の持続時間の測定値と比較することによって決定され、可動域が増加するか、強さが増加するか、または持続時間の測定値が増加すれば、処置が、組成物の投与後に対象の罹患肢の機能を増加させたことを示している、本発明1023の方法。

[本発明1026]

創傷サイズの減少が、組成物の投与前の期間での創傷の面積、周囲長、または深さの測定値を、組成物の投与後の時点での創傷の面積、周囲長、または深さの測定値と比較することによって決定され、面積、周囲長、または深さの測定値が減少すれば、処置が組成物の投与後に創傷のサイズを減少させたことを示している、本発明1023の方法。

[本発明1027]

創傷治癒の増加が、組成物の投与前の期間での創傷の活動性炎症、血管新生、コラーゲ

ン沈着、線維増殖、肉芽組織形成、上皮化、収縮、またはリモデリングの測定値を、組成物の投与後の時点での創傷の活動性炎症、血管新生、コラーゲン沈着、線維増殖、肉芽組織形成、上皮化、収縮、またはリモデリングの測定値と比較することによって決定され、活動性炎症、血管新生、コラーゲン沈着、線維増殖、肉芽組織形成、上皮化、収縮、またはリモデリングの測定値が増加すれば、処置が組成物の投与後に創傷治癒を増加させたことを示している、本発明1023の方法。

[本発明1028]

新たな壊疽の遅延または予防が、組成物の投与前の期間での組織壊死の測定値を、組成物の投与後の時点での組織壊死の測定値と比較することによって決定され、組織壊死の測定値が同一であるかまたは減少すれば、処置が、組成物の投与後に新たな壊疽の形成を遅らせたかまたは予防したことを示している、本発明1023の方法。

[本発明1029]

切断の遅延または予防が、組成物の投与前の期間での対象の切断に関する予後を、組成物の投与後の対象の切断に関する予後と比較することによって決定され、切断までに要する期間が増加するか、または回復により切断技法が取り消されればそれぞれ、処置が、罹患肢の切断を遅らせたかまたは予防したことを示している、本発明1023の方法。

[本発明1030]

生存の増加が、組成物の投与前の期間での対象の生存に関する予後を、組成物の投与後の対象の生存に関する予後と比較することによって決定され、予想される生存期間が増加すれば、処置が、組成物の投与後に対象の生存を増加させたことを示している、本発明1023の方法。

[本発明1031]

造血、間葉、および内皮系列の混合細胞集団を含む組織修復のための単離細胞組成物を対象に投与する段階を含む、標準的な血行再建法を用いて消散することができない血管閉塞を呈する重症虚血肢であると診断された対象において非切断生存を増加させる方法であって、該細胞の生存率が少なくとも80%であり、かつ該組成物が：

a) 約5~75%生存CD90⁺細胞を含み、該組成物中の残りの細胞がCD45⁺であり；

b) 2 µg/ml未満のウシ血清アルブミンを含み；

c) 1 µg/ml未満の酵素的に活性な採取試薬を含み；かつ

d) マイコプラズマ、エンドトキシン、および微生物の汚染を実質的に含まない、方法。

[本発明1032]

非切断生存が、同様に重症虚血肢（CLI）であると診断され、かつ同様に標準的な血行再建法を用いて消散することができない血管閉塞を呈する無処置対象と比較して、処置対象において増加する、本発明1031の方法。

[本発明1033]

造血、間葉、および内皮系列の混合細胞集団を含む組織修復のための単離細胞組成物を対象に投与する段階を含む、標準的な血行再建法を用いて消散することができない血管閉塞を呈する重症虚血肢（CLI）であると診断された対象における大切断術を阻止する方法であって、該細胞の生存率が少なくとも80%であり、かつ該組成物が：

a) 約5~75%生存CD90⁺細胞を含み、該組成物中の残りの細胞がCD45⁺であり；

b) 2 µg/ml未満のウシ血清アルブミンを含み；

c) 1 µg/ml未満の酵素的に活性な採取試薬を含み；かつ

d) マイコプラズマ、エンドトキシン、および微生物の汚染を実質的に含まない、方法。

[本発明1034]

血管閉塞が脚で生じる、本発明1033の方法。

[本発明1035]

大切断術が、脚の距骨またはそれより上での切断である、本発明1034の方法。

[本発明1036]

造血、間葉、および内皮系列の混合細胞集団を含む組織修復のための単離細胞組成物を対象に投与する段階を含む、標準的な血行再建法を用いて消散することができない血管閉

塞を呈する重症虚血肢（CLI）であると診断された対象における新たな壊疽、組織喪失、切断、または死亡の発生を遅らせる方法であって、該細胞の生存率が少なくとも80%であり、かつ該組成物が：

- a) 約5～75%生存CD90⁺細胞を含み、該組成物中の残りの細胞がCD45⁺であり；
- b) 2 μ g/ml未満のウシ血清アルブミンを含み；
- c) 1 μ g/ml未満の酵素的に活性な採取試薬を含み；かつ
- d) マイコプラズマ、エンドトキシン、および微生物の汚染を実質的に含まない、方法。

[本発明1037]

新たな壊疽、組織喪失、切断、または死亡の発生が、同様に重症虚血肢（CLI）であると診断され、かつ同様に標準的な血行再建法を用いて消散することができない血管閉塞を呈する無処置対象と比較して、処置対象において遅れる、本発明1036の方法。

[本発明1038]

造血、間葉、および内皮系列の混合細胞集団を含む組織修復のための単離細胞組成物を対象に投与する段階を含む、標準的な血行再建法を用いて消散することができない血管閉塞を呈する重症虚血肢（CLI）であると診断された対象における生存確率を増加させる方法であって、該細胞の生存率が少なくとも80%であり、かつ該組成物が：

- a) 約5～75%生存CD90⁺細胞を含み、該組成物中の残りの細胞がCD45⁺であり；
- b) 2 μ g/ml未満のウシ血清アルブミンを含み；
- c) 1 μ g/ml未満の酵素的に活性な採取試薬を含み；かつ
- d) マイコプラズマ、エンドトキシン、および微生物の汚染を実質的に含まない、方法。

[本発明1039]

生存確率が、同様に重症虚血肢（CLI）であると診断され、かつ同様に標準的な血行再建法を用いて消散することができない血管閉塞を呈する無処置対象と比較して、処置対象において増加する、本発明1038の方法。

本発明の他の特色および長所は、以下の詳細な説明および特許請求の範囲から明らかとなるであろう。