

【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7月19日(2022.7.19)

【国際公開番号】WO2020/021536

【公表番号】特表2021-531284(P2021-531284A)

【公表日】令和3年11月18日(2021.11.18)

【出願番号】特願2021-502844(P2021-502844)

【国際特許分類】

- A 6 1 K 35/28(2015.01) 10
- A 6 1 P 3/00(2006.01)
- A 6 1 K 35/545(2015.01)
- A 6 1 K 35/50(2015.01)
- A 6 1 K 35/14(2015.01)
- A 6 1 P 13/00(2006.01)
- A 6 1 P 27/02(2006.01)
- A 6 1 P 25/00(2006.01)
- A 6 1 P 25/04(2006.01)
- A 6 1 P 29/00(2006.01)
- A 6 1 P 25/14(2006.01) 20
- A 6 1 P 25/08(2006.01)
- A 6 1 P 3/10(2006.01)
- A 6 1 P 27/16(2006.01)
- A 6 1 P 7/06(2006.01)
- A 6 1 P 1/00(2006.01)
- A 6 1 P 13/12(2006.01)
- A 6 1 P 1/16(2006.01)
- A 6 1 P 21/00(2006.01)
- A 6 1 P 1/18(2006.01)
- C 1 2 N 5/22(2006.01) 30
- C 1 2 N 5/10(2006.01)
- C 1 2 N 5/074(2010.01)

【F I】

- A 6 1 K 35/28
- A 6 1 P 3/00
- A 6 1 K 35/545
- A 6 1 K 35/50
- A 6 1 K 35/14 Z
- A 6 1 P 13/00
- A 6 1 P 27/02 40
- A 6 1 P 25/00
- A 6 1 P 25/04
- A 6 1 P 29/00
- A 6 1 P 25/14
- A 6 1 P 25/08
- A 6 1 P 3/10
- A 6 1 P 27/16
- A 6 1 P 7/06
- A 6 1 P 1/00
- A 6 1 P 13/12 50

A 6 1 P 1 / 1 6  
 A 6 1 P 2 1 / 0 0  
 A 6 1 P 1 / 1 8  
 C 1 2 N 5 / 2 2  
 C 1 2 N 5 / 1 0  
 C 1 2 N 5 / 0 7 4

【手続補正書】

【提出日】令和4年7月8日(2022.7.8)

【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】

原発性ミトコンドリア病、障害、またはそれらの症状の治療を必要とするヒト患者において、かかる治療に使用するための医薬組成物であって、前記組成物が、細胞の生存能力を支援することができる薬学的に許容可能な液体培地中、前記患者の体重1キログラムあたり少なくとも $10^5 \sim 5 \times 10^9$ 個のヒト幹細胞を含み、前記ヒト幹細胞は、ミトコンドリアDNAに病原性突然変異がないヒト外因性ミトコンドリアで富化され、前記ヒト外因性ミトコンドリアは、前記ミトコンドリア富化ヒト幹細胞中の全ミトコンドリアの少なくとも1%を構成する、医薬組成物。

【請求項2】

前記富化が、百万個の細胞あたり少なくとも0.044~最大176ミリユニットのCS活性のミトコンドリアの用量を前記幹細胞に導入することを含むか、または  
前記富化が、百万個の細胞あたり0.44~最大17.6ミリユニットのCS活性のミトコンドリアの用量と前記幹細胞を接触させることを含む、  
 請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項3】

前記ヒト外因性ミトコンドリアが、同系または同種異系である、請求項1または請求項2に記載の医薬組成物。

【請求項4】

前記原発性ミトコンドリア病もしくは障害が、ミトコンドリアDNAの突然変異に関連しているか、または  
前記原発性ミトコンドリア病もしくは障害が、ピアソン症候群；カーンズ・セイヤー症候群；ミトコンドリア脳症乳酸アシドーシスおよび脳卒中様発作(MELAS)症候群；レーバー遺伝性視神経症(LHON)；ニューロパチー、運動失調、および色素性網膜炎(NARP)症候群；赤色ぼろ線維を伴うミオクロオヌステんかん(MERRF)症候群；母性遺伝性糖尿病および難聴(MIDD)；アルパース様症候群；慢性進行性外眼筋麻痺(CPEO)；ミトコンドリアDNA関連型の先天性乳酸アシドーシス(CLA)；ミトコンドリアDNA枯渇症候群(MDDS)；ならびにミトコンドリアDNA関連型のリー症候群からなる群から選択される、ミトコンドリアDNAの突然変異に関連しているか、  
 または

前記原発性ミトコンドリア病もしくは障害が、核DNAの突然変異に関連しているか、  
 または

前記原発性ミトコンドリア病もしくは障害が、ミトコンドリア神経胃腸脳症(MNGIE)症候群；アルパース症候群；フリードライヒ運動失調症(FA)；進行性外眼筋麻痺(PEO)；鉄芽球性貧血；運動失調ニューロパチー症候群(ANS)；メンデルの神経変性ミトコンドリア病(mitochondriopathy)；3-メチルグルタコン

10

20

30

40

50

酸尿症 ( M E G ) 難聴 ( D )、脳症 ( E ) およびリー様病 ( L ) 症候群 ( M E G D E L ) ;  
 ゼンガー症候群 ( S e n g e r s s y n d r o m e ) ; 微小変化群ネフローゼ症候群  
 ( M C N S ) ; 核 D N A 関連型の先天性乳酸アシドーシス ( C L A ) ; ミトコンドリア D  
 N A 枯渇症候群 ( M D D S ) ならびに核 D N A 関連型のリー症候群からなる群から選択さ  
 れる、核 D N A の突然変異に関連しているか、または

前記原発性ミトコンドリア病もしくは障害が、腎臓、肝臓、脳、筋肉、膵臓、眼、およ  
 びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される器官に関連しているか、または

前記症状が、歩行能力障害、運動技能障害、言語技能障害、記憶障害、体重増加障害、  
 発育不良、低血中アルカリホスファターゼレベル、低血中マグネシウムレベル、高血中ク  
 レアチニンレベル、低血中重炭酸塩レベル、低血中塩基過剰レベル、高尿中グルコース/  
 クレアチニン比、高尿中塩化物/クレアチニン比、高尿中ナトリウム/クレアチニン比、  
 高血中乳酸レベル、高尿マグネシウム/クレアチニン比、高尿中カリウム/クレアチニン  
 比、高尿中カルシウム/クレアチニン比、糖尿、マグネシウム尿、高血中尿素レベル、低  
 C - ペプチドレベル、高 H b A 1 C レベル、副甲状腺機能低下症、眼瞼下垂、聴力損失、  
 心伝導障害、てんかん発作、脳卒中様発作、E E G 障害、高血中アスパラギン酸アミノト  
 ランスフェラーゼ ( A S T ) レベル、高血中アラニンアミノトランスフェラーゼ ( A L T )  
 レベル、低 A T P 含有量、およびリンパ球における低酸素消費量からなる群から選択さ  
 れる、

請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 5】

前記医薬組成物が特定の組織もしくは器官に投与されるか、または

前記医薬組成物が、全身投与によって投与されるか、または

前記医薬組成物が、前記患者の体重 1 キログラムあたり約  $1.0 \times 10^6$  個のミトコンドリア富  
 化ヒト幹細胞を含むか、または

前記医薬組成物が、合計  $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^9$  個のミトコンドリア富化ヒト幹細胞を  
 含む、

請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

前記ミトコンドリア富化ヒト幹細胞が、ミトコンドリア富化前の前記幹細胞における対応  
 するレベルと比較して、

( i ) 増加したミトコンドリア D N A 含有量、

( i i ) 増加した C S 活性レベル、

( i i i ) S D H A および C O X 1 から選択された少なくとも 1 つのミトコンドリアタン  
 パク質の増加した含有量、

( i v ) 増加した O <sub>2</sub> 消費率、

( v ) 増加した A T P 産生率、または

( v i ) それらの任意の組み合わせ

のうちの少なくとも 1 つを有する、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

前記ヒト幹細胞が、前記外因性ミトコンドリアで富化される前の前記患者から得られるか  
 もしくは由来する、または

前記ヒト幹細胞が、前記外因性ミトコンドリアで富化される前の前記患者とは異なるド  
 ナーから得られるかもしくは由来する、または

前記ヒト幹細胞が、前記外因性ミトコンドリアで富化される前の前記患者とは異なるド  
 ナーから得られるかもしくは由来し、前記ドナーが、少なくとも部分的に前記患者と H L  
 A 適合する、

請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

前記ヒト幹細胞が、造血幹細胞であるか、または

前記ヒト幹細胞が、間葉系幹細胞であるか、または

10

20

30

40

50

前記ヒト幹細胞が、多能性幹細胞（PSC）もしくは人工多能性幹細胞（iPSC）であるか、または

前記ヒト幹細胞が、CD34<sup>+</sup>である、

請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

前記ヒト幹細胞が、前記ヒト外因性ミトコンドリアを前記ヒト幹細胞と接触させる前に、少なくとも 1 回の凍結 - 解凍サイクルを受けているか、または

前記ヒト幹細胞が、前記ヒト外因性ミトコンドリアでの富化後に、少なくとも 1 回の凍結 - 解凍サイクルを受けている、

請求項 2 ~ 8 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

10

【請求項 10】

前記ヒト幹細胞が、骨髄、脂肪組織、口腔粘膜、皮膚線維芽細胞、血液、もしくは臍帯血の細胞から単離されるか、由来するか、もしくは得られる、または

前記外因性ミトコンドリアが、胎盤、培養で成長させた胎盤細胞、もしくは血液細胞から単離されるかもしくは得られる、

請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 11】

前記外因性ミトコンドリアが、全ミトコンドリアの少なくとも 1 % を構成するか、または前記外因性ミトコンドリアが、前記ミトコンドリア富化ヒト幹細胞の全ミトコンドリアの少なくとも 3 % を構成する、

20

請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

ヒト外因性ミトコンドリアでヒト幹細胞を富化するためのエクスピボ法であって、

( i ) ミトコンドリア病、障害、もしくはそれらの症状に罹患している患者からまたはドナーから、単離されたまたは部分的に精製された複数のヒト幹細胞を含む、第 1 の組成物を提供するステップと、

( i i ) ミトコンドリア DNA に病原性突然変異がないドナーから得られた複数の単離されたヒト外因性ミトコンドリアを含む、第 2 の組成物を提供するステップと、

( i i i ) 前記第 1 の組成物の前記ヒト幹細胞を、前記第 2 の組成物の前記ヒト外因性ミトコンドリアと、 $10^6$  個の幹細胞あたり  $0.044 \sim 176$  mU の CS 活性の比率で接触させて、第 3 の組成物を提供するステップと、

30

( i v ) 前記ヒト外因性ミトコンドリアが前記ヒト幹細胞に入るのを可能にする条件下で前記第 3 の組成物をインキュベートし、それにより前記ヒト幹細胞を前記ヒト外因性ミトコンドリアで富化し、よってミトコンドリア富化ヒト幹細胞を含む第 4 の組成物を提供するステップと、を含み、

前記ヒト外因性ミトコンドリアが、前記第 4 の組成物中の全ミトコンドリアの少なくとも 1 % を構成する、方法。

【請求項 13】

前記ヒト外因性ミトコンドリアが前記ヒト幹細胞に入るのを可能にする前記条件が、前記ヒト幹細胞を、前記ヒト外因性ミトコンドリアとともに、 $16 \sim 37$  の範囲の温度で  $0.5 \sim 30$  時間の範囲の時間にわたってインキュベートすることを含むか、または

40

前記方法が、インキュベーションの前に、 $2500 \times g$  を超える遠心力での前記ヒト幹細胞および前記ヒト外因性ミトコンドリアの単一遠心分離をさらに含むか、または

前記方法が、前記ミトコンドリア富化ヒト幹細胞を凍結することをさらに含み、任意選択で解凍することをさらに含むか、または

前記方法が、前記ヒト外因性ミトコンドリアでの富化の前または後に、前記幹細胞を拡大することをさらに含む、

請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記ヒト幹細胞が、CD34<sup>+</sup>であるか、または

50

前記ミトコンドリア富化ヒト幹細胞におけるミトコンドリア富化のレベルが、  
( i ) 内因性ミトコンドリアDNAおよび外因性ミトコンドリアDNAのレベル、  
( i i ) クエン酸シンターゼ活性のレベル、  
( i i i ) コハク酸デヒドロゲナーゼ複合体フラボタンパク質サブユニットA ( S D H A )  
もしくはチトクロームCオキシダーゼ ( C O X 1 ) タンパク質のレベル、  
( i v ) 酸素 ( O 2 ) 消費率、  
( v ) A T P 産生率、もしくは  
( v i ) それらの任意の組み合わせ  
のうちの少なくとも1つによって決定される、請求項 1 2 または 請求項 1 3 に記載の方法

10

【請求項 1 5】

前記ヒト外因性ミトコンドリアが、前記ミトコンドリア富化ヒト幹細胞中の全ミトコンドリアの少なくとも1%かつ33%未満を構成する、請求項 1 2 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の方法によって得られるヒト外因性ミトコンドリアで富化された複数のヒト幹細胞を含む、組成物。

【請求項 1 6】

富化されていない幹細胞、巨核球、赤血球、肥満細胞、骨髄芽球、好塩基球、好中球、好酸球、単球、マクロファージ、ナチュラルキラー ( N K ) 細胞、小リンパ球、Tリンパ球、Bリンパ球、形質細胞、細網細胞、またはそれらの任意の組み合わせをさらに含む、請求項 1 に記載の医薬組成物。

20

【請求項 1 7】

前記増加したミトコンドリアDNA含有量が、内因性および/または外因性ミトコンドリアに由来する、請求項 6 に記載の医薬組成物。

30

40

50