(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-505589
(P2025-505589A)
(43)公表日　令和7年2月28日(2025.2.28)

(51)国際特許分類			FI		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*35/12*	*(2015.01)*	Ａ６１Ｋ	35/12	４Ｂ０６５
Ａ６１Ｋ	*35/15*	*(2025.01)*	Ａ６１Ｋ	35/15	４Ｃ０８４
Ａ６１Ｋ	*35/17*	*(2025.01)*	Ａ６１Ｋ	35/17	４Ｃ０８６
Ａ６１Ｋ	*45/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	45/00	４Ｃ０８７
Ａ６１Ｋ	*48/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	48/00	４Ｈ０４５

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全33頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-546022(P2024-546022)
(86)(22)出願日　令和5年2月2日(2023.2.2)
(85)翻訳文提出日　令和6年9月27日(2024.9.27)
(86)国際出願番号　PCT/US2023/061809
(87)国際公開番号　WO2023/150590
(87)国際公開日　令和5年8月10日(2023.8.10)
(31)優先権主張番号　63/305,973
(32)優先日　令和4年2月2日(2022.2.2)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/383,499
(32)優先日　令和4年11月13日(2022.11.13)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ
最終頁に続く

(71)出願人　523096528
フィブロバイオロジクス インコーポレイテッド
ＦＩＢＲＯＢＩＯＬＯＧＩＣＳ，ＩＮＣ．
アメリカ合衆国 テキサス州 ７７２８９、ヒューストン，ピーオー ボックス ８９１１４６
(74)代理人　110000729
弁理士法人ユニアス国際特許事務所
(72)発明者　オヒーロン、ピート
アメリカ合衆国 テキサス州 ７７０５９、ヒューストン、エバーグリーン エルム ウェイ １７００６
(72)発明者　ホージャ、ハミド
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　免疫系を刺激する線維芽細胞の治療的使用

(57)【要約】
本開示の実施形態は、組織再生のための個体への細胞集団の投与に関する。細胞集団は、線維芽細胞及び／又は免疫細胞を含んでもよく、これらの細胞は修飾されていても修飾されていなくてもよい。再生のための組織は胸腺であってもよい。

10

20

【特許請求の範囲】
【請求項１】
個体に有効量の細胞集団を投与する工程を含み、それにより個体の胸腺組織が再生される、個体の胸腺組織を再生する方法であって、細胞集団が、非修飾又は修飾線維芽細胞、非修飾又は修飾免疫細胞、活性化又はは非活性化線維芽細胞、活性化又は非活性化免疫細胞、線維芽細胞誘導体、免疫細胞誘導体、又はそれらの組み合わせを含む、方法。
【請求項２】
線維芽細胞誘導体が、エクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体、線維芽細胞からの溶解物、線維芽細胞培養からの調整培地、又は線維芽細胞の他の断片若しくは生物学的成分を含む、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
投与前及び／又は投与中に、細胞を活性化することができる１つ以上の薬剤に細胞を曝露することにより、細胞の集団を活性化する、請求項１又は２に記載の方法。
【請求項４】
薬剤が、１つ以上の核酸、サイトカイン、ケモカイン、転写因子、エピジェネティック因子、成長因子、ホルモン、又はそれらの組合せを含む、請求項３に記載の方法。
【請求項５】
細胞の集団がインビトロ、インビボ、又はエクスビボで活性化される、請求項１～４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項６】
細胞集団が個体に対して自家、同種異系、異種、同系、又はそれらの組み合わせである、請求項１～５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７】
１つ以上のアジュバントを個体に投与することをさらに含む、請求項１～６のいずれか１項に記載の方法。
【請求項８】
アジュバントが化学アジュバント、ウイルスアジュバント、細菌アジュバント、又はそれらの組み合わせを含む、請求項７に記載の方法。
【請求項９】
アジュバントが、カプセル化されたＲＮＡ、マイクロＲＮＡ、ｓｉＲＮＡ、又はそれらの組み合わせを含む、請求項７又は８に記載の方法。
【請求項１０】
再生が器官形成及び／又はＴ細胞発生及び／又はＢ細胞発生を含む、請求項１～９のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１１】
再生が胸腺の退縮の逆転を含む、請求項１～１０のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１２】
再生が胸腺免疫細胞の産生を再活性化又は刺激することを含む、請求項１～１１のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１３】
再生が組織分化を含む、請求項１～１２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１４】
再生が、組織のリクルート、幹細胞の組織の上皮細胞及び／又は組織の線維芽細胞への分化、及び／又は組織の上皮細胞及び／又は組織の線維芽細胞の拡張を含む、請求項１～１３のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１５】
組織の線維芽細胞が髄質線維芽細胞を含む、請求項１４に記載の方法。
【請求項１６】
活性化された細胞集団が個体に全身投与される、請求項１～１５のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１７】
活性化された細胞集団が個体の胸腺に局所的に投与される、請求項１～１６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１８】
線維芽細胞及び／又は免疫細胞を活性化を誘導する１つ以上の条件に曝露する工程を含む、活性化線維芽細胞又は非活性化線維芽細胞、活性化線維芽細胞の誘導体、活性化免疫細胞又は非活性化免疫細胞、活性化免疫細胞又は非活性化免疫細胞の誘導体、又はそれらの組合せを産生するインビトロ方法であって、活性化線維芽細胞、活性化線維芽細胞の誘導体、活性化免疫細胞、及び／又は活性化免疫細胞の誘導体が胸腺組織を再生するための活性を含む、方法。
【請求項１９】
活性化線維芽細胞又は非活性化線維芽細胞、及び／又は活性化免疫細胞又は非活性化免疫細胞が、胸腺に対して自家である、請求項１８に記載の方法。
【請求項２０】
活性化線維芽細胞又は非活性化線維芽細胞、及び／又は活性化免疫細胞又は非活性化免疫細胞が、胸腺に対して同種異系である、請求項１８又は１９に記載の方法。
【請求項２１】
活性化線維芽細胞、及び／又は活性化免疫細胞が、胸腺に対して異種である、請求項１８～２０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２２】
活性化線維芽細胞、及び／又は活性化免疫細胞が、胸腺に対して同系である、請求項１８～２１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２３】
再生が、胸腺における免疫細胞の産生及び／又は活性を刺激、改善、及び／又は増加させることを含む、請求項１８～２２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２４】
条件が、１つ以上の核酸、サイトカイン、ケモカイン、転写因子、エピジェネティック因子、成長因子、ホルモン、又はそれらの組合せを含む、請求項１８～２３のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２５】
有効量の活性化線維芽細胞、活性化線維芽細胞の誘導体、活性化免疫細胞、活性化免疫細胞の誘導体、又はそれらの組み合わせを個体に提供する工程を含む、個体における胸腺の細胞の産生及び／又は活性を刺激、改善、又は増加させる方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本出願は、２０２２年２月２日に出願された米国仮特許出願番号第６３／３０５，９７３号の優先権を主張し、また、２０２２年１１月１３日に出願された米国仮特許出願番号第６３／３８３，４９９号の優先権を主張するものであり、これら両出願は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。
【０００２】
背景
Ｉ．技術分野
本開示は、少なくとも医学、免疫学、細胞生物学、分子生物学の分野に関する。
【背景技術】
【０００３】
ＩＩ．背景
線維芽細胞は、もはや臓器の単なる構造的構成要素ではなく、免疫過程にダイナミックに関与していると考えられている。線維芽細胞は、免疫寛容を確保するために、Ｔ制御細胞の遊走、増殖、活性に影響を与える環境を作り出している［１］。

【０００４】
免疫系の重要な器官の一つが胸腺である。胸腺は、Ｔ細胞の成熟と選択、自己反応細胞の排除、中心的寛容の確立、そして様々な病原体を認識するためのＴ細胞の移動において重要な役割を果たしている。胸腺内部には様々な細胞が同定されている。上皮細胞、胸腺細胞、樹状細胞、マクロファージ、Ｂリンパ球、筋様細胞、内皮細胞、線維芽細胞などである［２－５］。加齢に伴い、胸腺は胸腺退縮と呼ばれる過程を経て機能が低下する。退縮の過程で制御性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）の生成が促進され、病原体感染、腫瘍、自己免疫疾患に対する感受性が高まるという報告がある［６］。
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００５】
したがって、細胞療法によって胸腺の生産寿命を改善し延長する必要性があり、本開示は、いくつかの実施形態において、線維芽細胞と胸腺の他の細胞との相互作用を利用することによってこれを達成する。
【課題を解決するための手段】
【０００６】
概要
本明細書の特定の実施形態は、個体における１つ以上の組織を再生するための組成物及び方法を含む。いくつかの実施形態において、１つ以上の組成物は、組織を再生する目的、重要な器官機能のために必要な細胞の増殖を刺激する目的、及び／又は器官の退縮を逆転させるために必要な細胞産物の産生を再活性化する目的を含めて、個体に投与される。投与は、胸腺組織などの組織の再生に有用であり得る。いくつかの実施形態において、再生は、器官形成及び／又はＴ細胞発生を含む。いくつかの実施形態において、組織が胸腺を含む場合、再生は胸腺の退縮を逆転させることを含む。いくつかの実施形態において、再生は組織分化を含む。ある実施形態では、再生は、組織のリクルート、幹細胞の組織の上皮細胞及び／又は組織の線維芽細胞への分化、及び／又は組織の上皮細胞及び／又は組織の線維芽細胞の拡張を含む。特定の実施形態では、前述の活性の全て又は少なくともいくつかの組み合わせが、組織の再生に包含される。組織の線維芽細胞は、場合によっては髄質線維芽細胞を含んでいてもよい。
【０００７】
特定の実施形態は、細胞集団及び細胞療法としてのそれらの使用に関する。細胞集団は、修飾及び／又は非修飾線維芽細胞（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；線維芽細胞からの溶解物；線維芽細胞培養からの調整培地；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体又は線維芽細胞の他の断片又は生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）を含んでいてもよい。細胞集団は、修飾免疫細胞及び／又は非修飾免疫細胞を含んでもよい。細胞集団は、線維芽細胞誘導体（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；線維芽細胞からの溶解物；線維芽細胞培養からの調整培地；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体又は線維芽細胞の他の断片又は生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）を含んでもよい。いくつかの実施形態において、細胞集団は、非修飾の線維芽細胞、非修飾の免疫細胞、活性化線維芽細胞、活性化免疫細胞、線維芽細胞誘導体（線維芽細胞からの溶解液及び／又は線維芽細胞培養からの調整培地を含み、エクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体又は線維芽細胞の他の断片又は生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）、免疫細胞誘導体、又はそれらの組み合わせを含む。線維芽細胞（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；線維芽細胞からの溶解物；線維芽細胞培養からの調整培地；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体又は線維芽細胞の他の断片又は生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）及び／又は免疫細胞は、細胞を活性化することができる１つ以上の薬剤に細胞を曝露することによって活性化され得る。線維芽細胞（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；線維芽細胞からの溶解物；線維芽細胞培養からの調整培地；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体又は線維芽細胞の任意の他の断片又は生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）及び／又は免疫細胞は、細胞を活性化す

ることができる１つ以上の薬剤に細胞を曝露することによって活性化され得、それによってそれぞれ活性化線維芽細胞及び／又は活性化免疫細胞を産生する。いくつかの実施形態において、薬剤（複数可）は、１つ以上の核酸、サイトカイン、ケモカイン、転写因子、エピジェネティック因子、成長因子、ホルモン、又はそれらの組み合わせを含む。細胞集団はインビトロ又はエクスビボで活性化されうる。

【０００８】

いくつかの実施形態では、線維芽細胞は、ＦＧＦ７、ＦＧＦ－１０、ＩＧＦ－１、レチノイン酸、又はエンドシアリンなどの因子のうちの１つ以上を発現及び放出する、又は発現するように活性化された線維芽細胞を選択することによって、インビボ、エクスビボ、又はその両方の組み合わせで活性化される［７－１１］。ＦＳＰ－１を発現する細胞の活性化は、再生したｍＴＥＣ（髄質胸腺上皮細胞）コンパートメントを維持するために用いることができる［１２－１４］。

【０００９】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡ、及び、又は転写因子調節を用いた活性化法により、線維芽細胞を活性化して、血管新生及び心臓再生促進形態因子であるソニックヘッジホッグ（Ｓｈｈ）を分泌させ、活性化ＴＥＣ、及びＴＭＣに対する細胞保護効果を確保することができる［１５］。

【００１０】

いくつかの実施形態において、活性化方法は、ＦＳＰ１、ＰＤＧＦ受容体α及びβ、ポドプラニン／ｇｐ３８、ＣＤ３４、ならびにＭＴＳ－５及びＥＲＴＲ１７のようなモノクローナル抗体の発現及び分泌の増加を確実にするために、ＲＮＡ及び又は転写因子による線維芽細胞の活性化を含む［７、８、１０、１３、１４、１６－１８］。

【００１１】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡ及び又はエピジェネティックな調節は、インビボ又はエクスビボで、Ｃｏｌ１ａ１、Ｃｏｌ３ａ１、Ｃｏｌ６ａ１、Ｄｎｃ、Ｌｕｍ、Ｍｇｐ、Ｓｐａｒｃ、Ｓｐｅｒｉｎｇ１、Ｓｅｒｐｉｎｈ１、Ｈｔｒａ１、Ｈｔｒａ３、Ｍｍｐ２、及び又はＭｍｐ３などの線維芽細胞関連遺伝子の１つ又は２つ以上の組み合わせの発現を増加させるために使用され得る［１２］。

【００１２】

いくつかの実施形態では、線維芽細胞の特定の亜集団は、Ｃｏｌ６ａ５、Ｃｏｌ６ａ６、Ｍｍｐ９、Ｈｍｇｃｓ２、Ｌｔｃ４ｓ、Ｑｐｒｔ、Ｌｔｂｐ１、及びＬｔｂｐ２などの髄質胸腺線維芽細胞に特異的な遺伝子セットの発現のために、ＲＮＡ及びエピジェネティック修飾を用いることによって選択され、又は活性化され得る［１９］。

【００１３】

いくつかの実施形態では、細胞集団は個体に関して、自家、同種異系、異種、同系、又は細胞集団はそれらの組み合わせを含み得る。

【００１４】

いくつかの実施形態では、細胞集団は、胸腺の少なくとも一部の再生が必要な個体を少なくとも含む個体に全身的に及び／又は個体の胸腺に局所的に投与される。

【００１５】

特定の実施形態は、活性化された線維芽細胞、活性化された線維芽細胞の誘導体（線維芽細胞からの溶解物及び／又は線維芽細胞培養からの調整培地を含み、エクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体又は線維芽細胞の任意の他の断片又は生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）、活性化された免疫細胞、活性化された免疫細胞の誘導体、又はそれらの組み合わせなどの活性化された細胞集団を産生するための、インビトロ法を含む方法に関する。いくつかの実施形態において、本方法は、線維芽細胞及び／又は免疫細胞を、活性化を誘導する１つ以上の条件に曝露する工程を含む。線維芽細胞、活性化された線維芽細胞の誘導体、活性化された免疫細胞、及び／又は活性化された免疫細胞の誘導体の活性化は、細胞集団を胸腺を再生できるようにし得る。活性化された細胞は、個体に関して、自家、同種異系、異種、同系であってもよく、又は集団はそれらの組み合わせから

構成されてもよい。いくつかの実施形態では、細胞は、１つ以上の核酸、サイトカイン、ケモカイン、転写因子、エピジェネティック因子、成長因子、ホルモン、又はそれらの組み合わせを含む条件によって活性化される。

【００１６】

いくつかの実施形態において、組織の再生は、胸腺における免疫細胞のあらゆる種類を含む、胸腺におけるあらゆる種類の細胞の産生及び／又は活性を刺激、改善、又は増加させることを含む。

【００１７】

本開示の実施形態には、個体における組織を再生する方法が含まれ、該方法は、有効量の細胞集団を個体に投与する工程を含み；ここで、組織は個体の胸腺を含み；細胞集団は、非修飾又は修飾線維芽細胞、非修飾又は修飾免疫細胞、活性化又は非活性化線維芽細胞、活性化又は非活性化免疫細胞、線維芽細胞誘導体、免疫細胞誘導体、又はそれらの組合せを含み、それによって個体における胸腺組織の再生がもたらされる。場合によっては、投与前及び／又は投与中に、細胞を活性化することができる１つ以上の薬剤に細胞を曝露することによって、細胞集団が活性化される。この薬剤は、１つ以上の核酸、サイトカイン、ケモカイン、転写因子、エピジェネティック因子、成長因子、ホルモン、又はそれらの組み合わせを含み得る。場合によっては、細胞集団はインビトロ、インビボ、又はエクスビボで活性化され、細胞集団は個体に関して、自家、同種異系、異種、同系、又はそれらの組み合わせであってもよい。どのような方法であっても、１つの工程は、化学的アジュバント、ウイルスアジュバント、細菌アジュバント、又はそれらの組み合わせなど、１つ以上のアジュバントを個体に投与することをさらに含んでいてもよい。いずれの場合においても、アジュバントは、カプセル化されたＲＮＡ、マイクロＲＮＡ、ｓｉＲＮＡ、又はそれらの組み合わせを含み得る。

【００１８】

ある特定の実施形態では、再生は器官形成及び／又はＴ細胞発生及び／又はＢ細胞発生を含む。特定の実施形態において、再生は、胸腺の退縮を逆転させることを含む。特定の実施形態において、再生は、胸腺免疫細胞の産生を再活性化又は刺激することを含む。特定の実施形態において、再生は、組織分化を含む。ある特定の実施形態において、再生は、組織のリクルート、幹細胞の組織の上皮細胞及び／又は組織の線維芽細胞への分化、及び／又は組織の上皮細胞及び／又は組織の線維芽細胞の拡張を含む。

【００１９】

任意の組成物及び／又は方法の特定の実施形態において、組織の線維芽細胞は髄質線維芽細胞を含む。

【００２０】

活性化された細胞集団が一つ以上の個体に投与される方法では、個体に全身的に投与されることもあれば、個体の胸腺に局所的に投与されることもある。

【００２１】

特定の実施形態では、活性化線維芽細胞又は非活性化線維芽細胞、活性化線維芽細胞の誘導体、活性化免疫細胞又は非活性化免疫細胞、活性化免疫細胞又は非活性化免疫細胞の誘導体、又はそれらの組合せを産生するインビトロ方法であって、線維芽細胞及び／又は免疫細胞を活性化を誘導する条件に曝露する工程を含み、活性化線維芽細胞、活性化線維芽細胞の誘導体、活性化免疫細胞、及び／又は活性化免疫細胞の誘導体が胸腺組織を再生するための活性を含む、方法が提供される。活性化線維芽細胞又は非活性化線維芽細胞、及び／又は活性化免疫細胞又は非活性化免疫細胞は、胸腺との関係において、自家、同種異系、異種、又は同系であってもよい。特定の実施形態において、再生は、胸腺における免疫細胞の産生及び／又は活性を刺激、改善、及び／又は増加させることを含む。本方法において、条件は、１つ以上の核酸、サイトカイン、ケモカイン、転写因子、エピジェネティック因子、成長因子、ホルモン、又はそれらの組合せを含んでいてもよい。

【００２２】

一実施形態では、個体における胸腺の細胞の産生及び／又は活性を刺激、改善、又は増

加させる方法であって、有効量の活性化線維芽細胞、活性化線維芽細胞の誘導体、活性化免疫細胞、活性化免疫細胞の誘導体、又はそれらの組み合わせを個体に提供する工程を含む方法が提供される。

【００２３】

本明細書で議論される任意の実施形態は、本開示の任意の方法又は組成物に関して実施され得、逆もまた同様であることが企図される。さらに、本開示の組成物は、本開示の方法を達成するために使用することができる。

【００２４】

本開示の他の目的、特徴及び利点は、以下の詳細な説明から明らかになるであろう。しかしながら、詳細な説明及び具体例は、本開示の具体的な実施形態を示すものであるが、本開示の精神及び範囲内での様々な変更及び修正は、この詳細な説明から当業者には明らかとなるので、例示のためにのみ与えられていることを理解されたい。

【００２５】

開示された着想及び特定の実施形態は、本開示の同じ目的を遂行するための他の構造を修正又は設計するための基礎として容易に利用され得ることが、当業者によって理解されるべきである。また、そのような等価な構造は、添付の特許請求の範囲に規定される本開示の精神及び範囲から逸脱しないことも、当業者によって理解されるべきである。

【発明を実施するための形態】

【００２６】

詳細な説明

Ｉ．定義

本出願を通じて、「約」という用語は、値が測定又は定量方法に固有の誤差の変動を含むことを示すために使用される。さらに、「約（ａｂｏｕｔ）」又は「約（ａｐｐｒｏｘｉｍａｔｅｌｙ）」は、基準量、レベル、値、数、頻度、百分率、寸法、サイズ、量、重量又は長さに対して、３０％、２５％、２０％、２５％、１０％、９％、８％、７％、６％、５％、４％、３％、２％又は１％だけ変動する量、レベル、値、数、頻度、百分率、寸法、サイズ、量、重量又は長さを指す場合がある。特定の実施形態において、数値に先行する場合の用語「約」又は「約」は、１５％、１０％、５％、又は１％の範囲のプラス又はマイナスの値を示す。生物学的システム又はプロセスに関して、この用語は、値の５倍以内、又は２倍以内などの桁以内を意味し得る。いくつかの実施形態では、「約」という用語は、特定の値に対して許容できる誤差範囲内であることを意味する。

【００２７】

「含む」という用語とともに使用される「ａ」又は「ａｎ」という単語の使用は、「１つ」を意味し得るが。「１つ以上」、「少なくとも１つ」、「１つ又は複数」の意味とも一致する。

【００２８】

「及び／又は」は、「及び」又は「又は」を意味する。例えば、Ａ、Ｂ、及び／又はＣは以下を含む：Ａ単独、Ｂ単独、Ｃ単独、ＡとＢの組み合わせ、ＡとＣの組み合わせ、ＢとＣの組み合わせ、又はＡ、Ｂ、Ｃの組み合わせ。

【００２９】

「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」（及び「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅｓ）」、「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅｓ）」などの含むの任意の形）、「有する（ｈａｖｉｎｇ）」（及び「有する（ｈａｖｅ）」、「有する（ｈａｓ）」などの有するの任意の形）、「含む（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）」（及び「含む（ｉｎｃｌｕｄｅｓ）」、「含む（ｉｎｃｌｕｄｅ）」などの含むの任意の形）、又は「含む（ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ）」（及び「含む（ｃｏｎｔａｉｎｓ）」、「含む（ｃｏｎｔａｉｎ）」などの含むの任意の形）という語は、包括的又はオープンエンドであり、追加の、記載されていない要素又は方法ステップを除外するものではない。

【００３０】

本明細書において、活性化された細胞型に言及する場合、「活性化された」という用語

は、代謝的、免疫学的、及び／又はエピジェネティックな変化；増殖因子分泌の変化；表面マーカー発現の変化；及び／又はエクソソーム、及び／又はマイクロベシクル（エクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体、又は線維芽細胞の他の断片又は生物学的成分を含む）などの細胞外小胞の産生及び／又は排泄の変化、を含む、細胞における１つ以上の変化を誘導することができる１つ以上の刺激及び／又は薬剤で処理された細胞型の細胞を指す。具体的な実施形態では、活性化された細胞は、以前持っていた機能を再開するように修飾された細胞である。一例として、老化細胞や他のエピジェネティックにサイレンシングされた細胞が再活性化される。

【００３１】

本明細書で使用される用語「投与される」又は「投与する」は、組成物が患者に意図された効果を有するように、組成物を個体に提供する任意の方法を指す。例えば、投与する１つの方法は、カテーテル、アプリケーターガン、シリンジなどのような、しかしこれらに限定されない医療デバイスを使用する間接的な機構によるものである。いくつかの実施形態において、投与方法は、局所組織投与、経口摂取、経皮パッチ、局所、吸入、座薬などのような直接的な機構によるものである。

【００３２】

本明細書で使用する「同種異系」とは、同じ種の１つ以上の個体からではあるが、自然環境では免疫学的に不適合であるか、又は免疫学的に不適合になりうる、他の体からの組織又は細胞を意味する。

【００３３】

本明細書で使用される「自家」とは、同一の個体の体から由来又は移植された組織又は細胞を指す。

【００３４】

本明細書において、「薬剤」とは、１つ以上の低分子、核酸、サイトカイン、ケモカイン、転写因子、エピジェネティクス因子、成長因子、及び／又はホルモンを指す。

【００３５】

本明細書で使用される「異種」とは、患者とは異なる種由来の組織又は細胞を指す。

【００３６】

本明細書で用いる「細胞培養」とは、休止期、老化期、活発な分裂を問わず、生存可能な細胞を含む人工的なインビトロ系を指す。

【００３７】

本明細書で使用する「個体」という用語は、医療施設に収容されていてもいなくてもよく、医療施設の外来患者として治療されていてもよいヒト又は動物を指す。個体は、インターネットを介して１つ以上の医療用組成物を受けることができる。個体は、ヒト又はヒト以外の動物のあらゆる年齢を含んでよく、したがって、成人、少年（すなわち、子供）、及び幼児を含む。「個体」という用語が医学的治療の必要性を意味することは意図されていないため、個体は、臨床的であろうと基礎科学研究の支援であろうと、自発的であろうと非自発的であろうと実験に参加することができる。「対象」又は「個体」という用語は互換的に使用することができ、哺乳類、例えばヒト、実験動物（霊長類、ラット、マウス、ウサギなど）、家畜（牛、羊、ヤギ、豚、七面鳥、鶏など）、家庭用ペット（イヌ、ネコ、げっ歯類など）、ウマ、トランスジェニック非ヒト動物を含む、方法又は材料の対象となるあらゆる生物又は動物を指す。個体の性別は問わない。

【００３８】

本明細書で使用する「単離された」とは、人為的な介入により自然の状態から変化又は除去されたことを意味する。例えば、生きている動物に天然に存在するｓｉＲＮＡは「単離された」ものではないが、合成ｓｉＲＮＡ、又は天然状態の共存物質から部分的もしくは完全に分離されたｓｉＲＮＡは「単離された」ものである。単離されたｓｉＲＮＡは実質的に精製された状態で存在することもあれば、例えばｓｉＲＮＡが導入された細胞のような非天然環境で存在することもある。

【００３９】

本明細書で細胞又は細胞集団に言及する際に使用される「非修飾」という用語は、その細胞種に固有の特性（標準的な細胞培養中に本質的に変化する可能性のあるものを除く）を変化させる可能性のある薬剤に曝されることなく、その細胞種に対する標準的な条件下でのみ培養された細胞を指し得る。非修飾細胞は内在性の遺伝物質のみから構成される、すなわち非修飾細胞は導入遺伝子を含まない。いくつかの実施形態では、何らかの操作を受けていないか、培養されただけの細胞を指す。具体的な実施形態では、「修飾」細胞とは、別の細胞型に分化する時点まで刺激された細胞であり、もはや出発物質の形態を有していない可能性がある。これは、例としてＭＳＣや線維芽細胞に適用できる。

【００４０】

本明細書全体を通して、「一実施形態」、「実施形態」、「特定の実施形態」、「関連する実施形態」、「ある実施形態」、「追加の実施形態」、又は「さらなる実施形態」、又はそれらの組み合わせへの言及は、実施形態に関連して記載される特定の特徴、構造、又は特性が、本開示の少なくとも１つの実施形態に含まれることを意味する。したがって、本明細書を通じて様々な場所に前述の語句が現れるが、必ずしもすべてが同じ実施形態を指すわけではない。さらに、任意の実施形態の特定の特徴、構造、又は特性は、１つ又は複数の実施形態において任意の好適な方法で組み合わせることができる。

【００４１】

用語「低減する（ｒｅｄｕｃｅ）」、「阻害する（ｉｎｈｉｂｉｔ）」、「減少させる（ｄｉｍｉｎｉｓｈ）」、「抑制する（ｓｕｐｐｒｅｓｓ）」、「減少させる（ｄｅｃｒｅａｓｅ）」、「予防する（ｐｒｅｖｅｎｔ）」、及び文法的等価物（「より低く（ｌｏｗｅｒ）」、「より小さく（ｓｍａｌｌｅｒ）」などを含む）は、治療を受けた対象と比較して、未治療の対象の症状の発現について言及する場合、治療を受けた対象における症状の量及び／又は大きさが、医学的に訓練された人員によって臨床的に適切であると認識される任意の量だけ、未治療の対象における症状の量及び／又は大きさよりも低いことを意味する。一実施形態では、治療を受けた対象における症状の量及び／又は大きさは、未治療の対象における症状の量及び／又は大きさより少なくとも１０％低い、少なくとも２５％低い、少なくとも５０％低い、少なくとも７５％低い、及び／又は少なくとも９０％低い。

【００４２】

本明細書において、「移植」という用語は、生きた組織又は細胞を採取し、それを体の別の部分又は別の体に移植するプロセスを指す。

【００４３】

「治療（ｔｒｅａｔｍｅｎｔ）」、「治療（ｔｒｅａｔ）」、「治療（ｔｒｅａｔｉｎｇ）」とは、疾患や症状の影響を軽減する方法を意味する。治療はまた、症候だけでなく、疾患や症状そのものを軽減する方法を指すこともある。治療は、治療前のレベルからの任意の減少であり得、疾患、症状、又は疾患若しくは症状の症候の完全な切除であり得るが、これらに限定されない。したがって、開示された方法において、「治療」は、疾患の少なくとも１つの症候の重症度の軽減を含む、確立された疾患又は疾患の進行の重症度の１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、又は１００％の軽減を指すことができる。例えば、細胞の免疫原性を低下させるための開示された方法は、同一対象又は対照の対象において、治療前レベルと比較して細胞の免疫原性に検出可能な低下がある場合、治療であるとみなされる。したがって、減少は、ネイティブレベル又は対照レベルと比較して、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００％、又はその間の任意の量の減少であり得る。「治療」とは、必ずしも疾患又は症状の治癒を意味するのではなく、疾患又は症状の見通しの改善を意味することが理解され、本明細書において企図される。具体的な実施形態において、治療とは、少なくとも１つの症候の重篤度又は程度の軽減を指し、代替的又は追加的に、少なくとも１つの症候の発症の遅延を指すこともある。

【００４４】

ＩＩ．一般的な実施形態

本開示の実施形態は、線維芽細胞（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；線維芽細胞からの溶解物；線維芽細胞培養からの調整培地；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体又は線維芽細胞の任意の他の断片又は生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）及び／又は免疫細胞を、再生及び／又は機能改善のために組織内に導入する、及び／又は組織内の既存の線維芽細胞及び／又は免疫細胞を修飾するための組成物、方法、及び／又はシステムを包含する［７］。いくつかの実施形態において、組織は胸腺を含む。特定の実施形態において、本開示は、第一のタイプの細胞と第二のタイプの細胞との相互作用、特定の条件、及び／又は特定の薬剤に関する。相互作用は、相互作用の結果として、第一及び／又は第二のタイプの細胞に修飾を誘導し得る。具体的な実施形態において、本開示は、線維芽細胞（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体又は線維芽細胞の他の断片又は生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）及び／又は免疫細胞が、特定の細胞及び／又は核酸、サイトカイン、ケモカイン、又は成長因子などの１つ以上の薬剤に曝露されることにより修飾される組成物、方法、及びシステムを含む［８］。いくつかの実施形態では、これらの修飾、又は非修飾細胞集団を胸腺に導入することで、退縮の段階に応じて、胸腺上皮細胞、胸腺線維芽細胞、髄質線維芽細胞、及び／又は胸腺の他の構造細胞などの必要な機能細胞を再生し、それによって退縮過程を逆転させることができる。

【００４５】

これらの細胞の再生は、いくつかのメカニズムを介することができる。いくつかの実施形態では、修飾又は非修飾の注入された線維芽細胞及び／又は免疫細胞は、組織の上皮細胞及び／又は組織の線維芽細胞に分化する。いくつかの実施形態において、修飾又は非修飾の注入された線維芽細胞（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；線維芽細胞からの溶解物；線維芽細胞培養からの調整培地；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体、又は線維芽細胞の他の断片又は生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）及び／又は免疫細胞は、組織の老化した上皮細胞及び／又は組織の線維芽細胞を活性化する。活性化は、修飾又は非修飾の線維芽細胞（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；線維芽細胞からの溶解物；線維芽細胞培養からの調整培地；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体又は線維芽細胞の他の断片若しくは生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）及び／又は免疫細胞との細胞間接触によって起こり得る。老化細胞の活性化は、組織微小環境中の修飾又は非修飾の線維芽細胞及び／又は免疫細胞から排泄される産物を通して起こり得る。いくつかの実施形態では、局所幹細胞から組織の上皮細胞、及び／又は組織の線維芽細胞（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；線維芽細胞からの溶解物；線維芽細胞培養からの調整培地；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体又は線維芽細胞の他の断片もしくは生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）への分化は、注入された修飾又は非修飾線維芽細胞（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；線維芽細胞からの溶解物；線維芽細胞培養からの調整培地；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体又は線維芽細胞の他の断片もしくは生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）及び／又は免疫細胞、又は修飾若しくは非修飾線維芽細胞（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；線維芽細胞からの溶解物；線維芽細胞培養からの調整培地；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体又は線維芽細胞の他の断片若しくは生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）及び／又は免疫細胞からの排泄物の直接的／間接的作用により起こる。いくつかの実施形態において、修飾又は非修飾の注入された線維芽細胞（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；線維芽細胞からの溶解物；線維芽細胞培養からの調整培地；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス体、又は線維芽細胞の任意の他の断片若しくは生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）及び／又は免疫細胞は、組織の機能を有意に改善するのに十分な数まで、退縮（ｉｎｖｏｌｕｔｅｄ）組織に残存する少数の組織の上皮細胞及び／又は組織の線維芽細胞を増殖する。いくつかの実施形態において、修飾又は非修飾の注入線維芽細胞（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；線維芽細胞からの溶解物；線維芽細胞培養からの調整培地；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体又は線維芽細胞の他の断片若しくは生物学的成分を含む細胞外小

胞を含む）は、組織再生、及び／又は機能獲得に必要な細胞への分化のために、線維芽細胞導入部位の近傍への幹細胞のリクルートを開始する。一部の実施形態では、組織の線維芽細胞は髄質線維芽細胞である。

【００４６】

いくつかの実施形態において、組織の再生又は改善は、組織の無脂肪率（ｆａｔ－ｆｒｅｅ　ｆｒａｃｔｉｏｎ）を決定するために、磁気共鳴画像法（ＭＲＩ）などのプロセス又は手順によってモニターされる。付加的な実施形態において、完全血球数評価、血球のＦＡＣＳソーティング特性評価、及び／又はフローサイトメトリー（例として）は、組織の変化を決定し、退縮組織への注入された修飾又は非修飾線維芽細胞及び／又は免疫細胞の影響をモニターするのに必要な測定基準を提供する。

【００４７】

特定の実施形態において、本開示は、線維芽細胞（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；線維芽細胞からの溶解物；線維芽細胞培養からの調整培地；及び／又はエクソソーム、微小小胞、アポトーシス小体又は線維芽細胞の任意の他の断片若しくは生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）及び／又は線維芽細胞から排泄される特定の薬剤（複数可）に曝露されると、特定の細胞が修飾される組成物、方法、及びシステムに関する。特定の実施形態において、線維芽細胞（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；線維芽細胞からの溶解物；線維芽細胞培養からの調整培地；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体又は線維芽細胞の任意の他の断片若しくは生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）と１つ以上の他のタイプの細胞との相互作用（及び任意にその相互作用はまた、１つ以上の特定の薬剤を含む）は、線維芽細胞（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；線維芽細胞からの溶解物；線維芽細胞培養からの調整培地；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体又は線維芽細胞の他の断片若しくは生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）及び／又は他のタイプの細胞の修飾をもたらす［９］。具体的な実施形態において、他の種類の細胞は、少なくとも免疫細胞を含む。

【００４８】

特定の実施形態において、修飾又は非修飾線維芽細胞（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；線維芽細胞からの溶解物；線維芽細胞培養からの調整培地；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体又は線維芽細胞の他の断片又は生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）及び／又は免疫細胞の組織への導入は、組織構造及び／又は機能の再生を刺激するために、組織において局所的に見出される線維芽細胞及び／又は他の細胞の修飾をもたらす［７］。特定の態様において、線維芽細胞及び／又はそれから産生される薬剤の曝露は、１種類以上の免疫細胞への修飾をもたらし、及び／又は１種類以上の免疫細胞及び／又はそれから産生される薬剤の曝露は、線維芽細胞への修飾をもたらす。具体的な実施形態では、１種類以上の薬剤も暴露に含まれ、環境及び／又は細胞（単数又は複数）及び／又は組織に内因性である他の場合のように、外因的に提供されてもされなくてもよい。

【００４９】

特定の実施態様において、本開示の方法は、培養物のようなエクスビボで起こる。特定の態様において、本方法は、人の手によって生じ、体における通常の又はランダムな発生を包含しない。本開示の方法は、特定の態様において、非天然的であってもよい。特定の実施態様において、ある種類の細胞を別の種類の細胞に曝露する方法において使用される細胞の濃度は、自然界では発生せず、自然界でランダムに起こるものではない。具体的な実施形態において、１つ以上の薬剤を１つ以上のタイプの細胞に曝露する方法において使用される１つ以上の薬剤の濃度は、自然界では発生せず、自然界でランダムに発生しない。エクスビボ又はインビトロで起こる本開示に包含されるあらゆる種類の細胞の修飾は、インビボでは自然には同じようには起こらない。このような実施形態では、退縮組織を再活性化する目的で、ドナーからの組織生検が、細胞の１つ又は組み合わせを単離、特性化、必要に応じて活性化、増殖、ドナーへの再導入を行うために用いられる［１０］。

【００５０】

本開示は、上皮細胞、胸腺細胞、樹状細胞、マクロファージ、Ｂリンパ球、筋様細胞、内皮細胞、線維芽細胞、免疫細胞、及びそれらの混合物を含む細胞の治療的使用を包含する。少なくともいくつかの場合において、細胞は線維芽細胞であり、線維芽細胞は免疫細胞や胸腺に見られる他の細胞などの他の細胞に暴露される前に修飾され得る。修飾は化学的、物理的、及び／又はエピジェネティックなものであってもよく、活性化又は条件への暴露は、通常体内には存在しないものであってもよい。場合によっては、免疫細胞又はその誘導体は、線維芽細胞に暴露される前に、活性化されるなどして修飾されている。

【００５１】

本開示の実施形態は、線維芽細胞（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；線維芽細胞からの溶解物；線維芽細胞培養からの調整培地；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体、又は線維芽細胞の任意の他の断片若しくは生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）及び／又は免疫細胞を自家、同種異系、異種、又は同系遺伝子治療細胞として利用する手段を提供する。いくつかの実施形態において、線維芽細胞（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；線維芽細胞からの溶解物；線維芽細胞培養からの条件培地；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体又は線維芽細胞の他の断片若しくは生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）及び／又は免疫細胞は、特定の培養条件によって改変される。本開示の一実施形態において、線維芽細胞は、免疫原性の低い供給源（例えば、胎盤線維芽細胞、卵膜組織由来線維芽細胞、臍帯血由来線維芽細胞など）から抽出される。

【００５２】

本開示の一実施形態において、線維芽細胞（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；線維芽細胞からの溶解物；線維芽細胞培養からの調整培地；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体、又は線維芽細胞の任意の他の断片若しくは生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）及び／又は免疫細胞は、細胞の生存能力及び増殖能力を維持するためにインビトロで培養される。本開示は、レシピエント免疫系による線維芽細胞及び／又は免疫細胞の認識を減少させるための既知の培養技術の改変を提供する。一実施形態では、線維芽細胞（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；線維芽細胞からの溶解物；線維芽細胞培養からの調整培地；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体又は線維芽細胞の他の断片若しくは生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）及び／又は免疫細胞は、異種成分を含まない培地などの異種成分を含まない条件下で培養される；場合によっては、培地は、例えば、子牛胎児血清を含まない。具体的な実施形態において、本開示は、子牛胎児血清を、線維芽細胞の免疫原性の低下を促進するもの、例えば、ヒト血小板豊富血漿、血小板溶解液、臍帯血血清、自己血清、及び／又は線維芽細胞増殖因子、上皮増殖因子、白血病抑制因子、インスリン様増殖因子、アンギオポエチン、及び血管内皮増殖因子の１つ又は組み合わせのような１つ又は複数の規定されたサイトカイン、などの１つ以上の他の薬剤で置換することを包含する。

【００５３】

本開示の一実施形態において、本開示に包含される方法において調製される有効量の線維芽細胞（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；線維芽細胞からの溶解物；線維芽細胞培養からの調整培地；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体、又は線維芽細胞の任意の他の断片若しくは生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）及び／又は免疫細胞は、１つ以上の病状の治療又は予防のために個体に投与される。具体的な実施形態において、線維芽細胞及び／又は免疫細胞は、内皮応答性を改善するため、免疫細胞活性を増加させるため、細胞分化を増加させるため、及び／又は胸腺の退縮を逆転させる（又は重症化を抑制する、発症を遅延させる、又はその両方）ために投与される。

【００５４】

本開示の特定の実施形態では、万能ドナー線維芽細胞（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；線維芽細胞からの溶解物；線維芽細胞培養からの調整培地；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体又は線維芽細胞の他の断片若しくは生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）を、組織における免疫細胞活性を刺激する１つ以上の薬剤と共投

与するための方法が提供される。本開示の具体的な実施形態において、万能ドナー線維芽細胞を、成長因子、ケモカイン、サイトカイン、及び／又は転写因子の１つ又は組み合わせと共投与する方法が提供される。本開示の一実施形態では、免疫原性を低下させる条件下で処理された線維芽細胞由来の万能ドナー線維芽細胞が利用される。このような線維芽細胞は、ＶＥＧＦ産生を自ら刺激するか、又は個体の神経成長因子（ＮＧＦ）の調節制御下にある内因性細胞を誘導することによって刺激し、それによって組織の再生及び血行再建を導くことができる［１１］。本開示の実施形態は、特定のタイプの線維芽細胞の免疫原性を低下させる方法を提供する。

【００５５】

線維芽細胞は、皮膚、心臓、血管、骨髄、骨格筋、肝臓、膵臓、脳、包皮などの様々な組織や臓器に由来するものであり、生検（適切な場合）によって、あるいは剖検によって得ることができる。ある態様では、細胞集団は線維芽細胞を含み、これは胎児、新生児、成体由来、又はそれらの組み合わせであり得る。

【００５６】

本開示のいずれかの方法で使用する線維芽細胞は、特定の実施形態において、特定の培地成分に曝露され得る。

【００５７】

ＩＩＩ．薬剤

本開示の細胞集団は、１つ又は様々な目的のために、１つ又は複数の薬剤に曝露され得る。薬剤は、例えば、細胞集団の細胞を活性化してもよい。いくつかの実施形態では、未修飾の細胞集団及び／又は薬剤によって活性化された細胞集団、及び／又は細胞集団の誘導体を含む細胞集団が、薬剤と共に個体に投与される。投与は、組織の退縮［１２］を逆転させるために組織の分化を誘導することができる。投与は、髄質線維芽細胞などの組織の上皮細胞及び／又は組織の線維芽細胞への幹細胞の組織リクルート及び分化を誘導することができる［１３、１４］。投与は、組織に存在する上皮細胞及び／又は線維芽細胞の増殖を誘導することができる。

【００５８】

いくつかの実施形態において、薬剤はアジュバントを含む。いくつかの実施形態において、アジュバントは、個体の免疫系を活性化するために個体に投与される。アジュバントは、免疫系を活性化するために細胞集団と組み合わせて使用することができる。アジュバントは、化学的、ウイルス性、細菌産物ベース、又はそれらの組み合わせであり得る。

【００５９】

いくつかの実施形態では、カプセル化されたＲＮＡ、マイクロＲＮＡ、ｓｉＲＮＡ、又は他のＲＮＡｉ組成物が細胞集団とともに投与される。この投与により、組織再生が局所的に活性化されたり、組織の退縮が逆転したりする可能性がある［１５－１８］。

【００６０】

Ａ．核酸

特定の実施形態において、核酸配列は、組み込まれた配列又は組み換えポリヌクレオチドの単離されたセグメント及び組み換えベクター、ハイブリダイゼーションプローブとして使用するのに十分なポリヌクレオチド、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを同定、分析、変異又は増幅するためのＰＣＲプライマー又は配列決定プライマー、ポリヌクレオチドの発現を阻害するためのアンチセンス核酸、及び本明細書中に記載される前記の相補配列のような種々の実施態様で存在し得る。エピトープをコードする核酸もまた提供される。融合タンパク質を含むタンパク質をコードする核酸もまた提供される。核酸は、一本鎖又は二本鎖であり得、そしてＲＮＡ及び／又はＤＮＡヌクレオチド並びにそれらの人工変異体（例えば、ペプチド核酸）を含み得る。

【００６１】

特定の実施形態において、本明細書中に開示される配列に対して実質的な同一性を有するポリヌクレオチド変異体；本明細書中に記載される方法（例えば、標準的なパラメーターを使用するＢＬＡＳＴ分析）を使用して、本明細書中に提供されるポリヌクレオチド配

列と比較して、その間のすべての値及び範囲を含めて、少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％以上の配列同一性を含むもの、が存在する。特定の態様において、単離されたポリヌクレオチドは、配列の全長にわたって、本明細書に記載されるアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、好ましくは９５％以上の同一性を有するポリペプチドをコードするヌクレオチド配列；又は前記単離されたポリヌクレオチドに相補的なヌクレオチド配列を含むであろう。

【００６２】

核酸セグメントは、コード配列自体の長さに関係なく、他の核酸配列、例えばプロモーター、ポリアデニル化シグナル、追加の制限酵素部位、多重クローニング部位、他のコードセグメントなどと組み合わせることができ、そのような場合、全体の長さはかなり変化する可能性がある。核酸はどのような長さでもよい。それらは、例えば、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、７５、１００、１２５、１７５、２００、２５０、３００、３５０、４００、４５０、５００、７５０、１０００、１５００、３０００、５０００又はそれ以上のヌクレオチドの長さであり得、及び／又は１つ以上の付加的配列、例えば、調節配列を含み得、及び／又はより大きな核酸、例えば、ベクターの一部であり得る。したがって、ほぼ任意の長さの核酸断片が採用され得、好ましくは、全長は、意図される組換え核酸プロトコールにおける調製及び使用の容易さによって制限されることが企図される。場合によっては、核酸配列は、例えば、ポリペプチドの精製、輸送、分泌、翻訳後修飾を可能にするため、又は標的化もしくは有効性のような治療上の利点を可能にするために、追加の異種コード配列を有するポリペプチド配列をコードし得る。上述したように、タグ又は他の異種ポリペプチドを修飾ポリペプチドコード配列に付加してもよく、ここで「異種」とは修飾ポリペプチドと同一ではないポリペプチドを指す。

【００６３】

１．ハイブリダイゼーション

特定のハイブリダイゼーション条件下で他の核酸にハイブリダイズする核酸。核酸をハイブリダイズさせる方法は、当該技術分野において周知である。例えば、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley and Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6を参照されたい。本明細書で定義されるように、中程度にストリンジェントなハイブリダイゼーション条件は、５×塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム（ＳＳＣ）、０．５％ＳＤＳ、１．０ｍＭ　ＥＤＴＡ（ｐＨ８．０）、約５０％ホルムアミド、６×ＳＳＣ、５５℃のハイブリダイゼーションバッファー（又は、約５０％ホルムアミドを含み、４２℃のハイブリダイゼーション温度などの他の類似のハイブリダイゼーション溶液）を含む予備洗浄溶液、及び０．５×ＳＳＣ、０．１％ＳＤＳで６０℃の洗浄条件を使用する。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件では、６×ＳＳＣ、４５℃でハイブリダイゼーションし、次いで０．１×ＳＳＣ、０．２％ＳＤＳ、６８℃で１回以上洗浄する。さらに、当業者であれば、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％又は少なくとも９９％が互いに同一であるヌクレオチド配列を含む核酸が、典型的には互いにハイブリダイズしたままであるように、ハイブリダイゼーション及び／又は洗浄条件を操作して、ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーを増加又は減少させることができる。

【００６４】

ハイブリダイゼーション条件の選択に影響するパラメーターと適切な条件を考案するための指針は、例えばSambrook、Fritsch、及びManiatis（Molecular Cloning：A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., chapter 9 and 11 (1989); Current Protocols in Molecular Biology, Ausubel et al., eds., John Wiley and Sons, Inc., section 2.10 and 6.3-6.4 (1995)、これらの両方は、全ての目的のために、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）により記載されており、例えば、ＤＮＡの長さ及び／又は塩基組成に基づいて、当業者により容易に決定され得る。

【００６５】
２．変異
変更は、本明細書中の任意の細胞に対する内因性核酸又は外因性核酸を含む核酸に変異により導入することができ、それによりそれがコードするポリペプチド（例えば、抗体又は抗体誘導体）のアミノ酸配列に変化をもたらす。変異は、当技術分野で公知の任意の技術を用いて導入することができる。一実施形態では、例えば部位特異的変異誘発プロトコールを用いて１つ以上の特定のアミノ酸残基を変化させる。別の実施形態では、１つ以上のランダムに選択された残基が、例えばランダム変異誘発プロトコールを用いて変更される。どのように作製しても、変異ポリペプチドを発現させ、所望の特性についてスクリーニングすることができる。
【００６６】
核酸がコードするポリペプチドの生物学的活性を著しく変化させることなく、核酸に変異を導入することができる。例えば、非必須アミノ酸残基のアミノ酸置換につながるヌクレオチド置換を行うことができる。あるいは、コードするポリペプチドの生物学的活性を選択的に変化させる１つ以上の変異を核酸に導入することもできる。例えば、Romain Studer et al., Biochem. J. 449:581-594 (2013)を参照のこと。例えば、変異は生物活性を定量的又は定性的に変化させることができる。定量的変化の例としては、活性の増加、減少、又は除去が挙げられる。質的な変化の例としては、抗体の抗原特異性を変化させることが挙げられる。
【００６７】
３．プローブ
別の態様では、核酸分子は、核酸配列の検出のためのプライマー又はハイブリダイゼーションプローブとして使用するのに適している。核酸分子は、全長ポリペプチドをコードする核酸配列の一部のみ、例えば、プローブ又はプライマーとして使用できる断片、あるいは所定のポリペプチドの活性部分をコードする断片を含むことができる。
【００６８】
別の実施形態では、核酸分子は特定の抗体配列に対するプローブ又はＰＣＲプライマーとして使用することができる。例えば、核酸分子プローブは、診断方法において使用され得るか、又は核酸分子ＰＣＲプライマーは、特に、抗体の可変ドメインを産生する際に使用するための核酸配列を単離するために使用され得るＤＮＡの領域を増幅するために使用され得る。例えば、Gaily Kivi et al., BMC Biotechnol. 16:2 (2016)を参照のこと。好ましい実施形態では、核酸分子はオリゴヌクレオチドである。より好ましい実施形態では、オリゴヌクレオチドは、目的の抗体の重鎖及び軽鎖の高度可変領域からのものである。さらに好ましい実施形態では、オリゴヌクレオチドは１つ以上のＣＤＲの全部又は一部をコードする。
【００６９】
核酸の所望の配列に基づくプローブは、核酸又は類似の核酸、例えば目的のポリペプチドをコードする転写産物を検出するために使用することができる。プローブは、標識基、例えば放射性同位元素、蛍光化合物、酵素、又は酵素補酵素を含むことができる。このようなプローブは、ポリペプチドを発現する細胞を同定するために用いることができる。
【００７０】
Ｂ．阻害性オリゴヌクレオチド
いくつかの態様において、本開示は、目的の遺伝子の発現を阻害する阻害性オリゴヌクレオチドに関する。阻害性オリゴヌクレオチドは、目的の遺伝子のＲＮＡ及び／又はタンパク質の発現を阻害し得る。阻害性オリゴヌクレオチドの例としては、ｓｉＲＮＡ（ｓｍａｌｌ　ｉｎｔｅｒｆｅｒｉｎｇ　ＲＮＡ）、ショートヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、二本鎖ＲＮＡ、アンチセンスオリゴヌクレオチド、リボザイム、及びそれらのいずれかをコードするオリゴヌクレオチドが挙げられるが、これらに限定されない。阻害性オリゴヌクレオチドは、遺伝子の転写を阻害するか、又は細胞における遺伝子転写物の翻訳を阻害することができる。阻害性オリゴヌクレオチド酸は、１６～１０００ヌクレオチド長であ

ってもよく、特定の実施形態では１８～１００ヌクレオチド長である。オリゴヌクレオチドは、少なくとも又は多くとも２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、４０、５０、６０、７０、８０、又は９０（又はそこから誘導可能な任意の範囲）のヌクレオチドを有してもよい。オリゴヌクレオチドは、ＤＮＡ、ＲＮＡ、又は阻害性ＲＮＡをコードするｃＤＮＡであってもよい。

【００７１】

阻害性オリゴヌクレオチドは当技術分野でよく知られている。例えば、ｓｉＲＮＡ及び二本鎖ＲＮＡは、米国特許第６，５０６，５５９号及び同第６，５７３，０９９号、並びに米国特許公開第２００３／００５１２６３号、同第２００３／００５５０２０号、同第２００４／０２６５８３９号、同第２００２／０１６８７０７号、同第２００３／０１５９１６１号、及び同第２００４／００６４８４２号に記載されており、これらはすべて、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【００７２】

具体的に、阻害オリゴヌクレオチドは、目的の遺伝子の発現を少なくとも１０％、２０％、３０％、又は４０％、より具体的に少なくとも５０％、６０％、又は７０％、最も具体的に少なくとも７５％、８０％、９０％、９５％、９９％、又は１００％以上減少させることができるか、又は前述の間の任意の範囲若しくは値で減少させることができる。

【００７３】

さらなる実施形態では、目的のタンパク質を阻害する合成オリゴヌクレオチドがある。阻害剤は、１７～２５ヌクレオチドの長さであってよく、成熟ｍＲＮＡの５’～３’配列に少なくとも９０％相補的な５’～３’配列を含む。特定の実施形態において、阻害剤分子は、長さが１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、若しくは２５ヌクレオチド、又はそこから誘導可能な任意の範囲である。さらに、阻害剤分子は、成熟ｍＲＮＡ、特に成熟した天然に存在するｍＲＮＡの５’から３’までの配列に対して、少なくとも９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９、９９．１、９９．２、９９．３、９９．４、９９．５、９９．６、９９．７、９９．８、９９．９若しくは１００％相補的であるか、又はそこから誘導可能な任意の範囲である配列（５’から３’まで）を有する。当業者であれば、ｍＲＮＡ阻害剤の配列として、成熟ｍＲＮＡの配列に相補的なプローブ配列の一部を使用することができるであろう。さらに、プローブ配列のその部分は、成熟ｍＲＮＡの配列に依然として９０％相補的であるように改変することができる。

【００７４】

いくつかの実施形態において、阻害オリゴヌクレオチドはアナログであり、修飾、特にヌクレアーゼ耐性を増加させ、結合親和性を改善し、及び／又は結合特異性を改善する修飾を含み得る。例えば、ヌクレオシド又はヌクレオチドの糖部分が炭素環部分で置換される場合、それはもはや糖ではない。さらに、他の置換、例えば糖間ホスホジエステル結合の置換がなされると、得られる物質はもはや真の種ではない。このような化合物はすべてアナログであると考えられる。本明細書を通して、核酸種の糖部分への言及は、真の糖、又は野生型核酸の糖の構造的位置を占める種のいずれかを指すと理解されるものとする。さらに、糖間結合への言及は、野生型核酸の様式で糖又は糖アナログ部分を結合する役割を果たす部分を含むものとする。

【００７５】

本開示は、修飾オリゴヌクレオチド、すなわち、オリゴヌクレオチドアナログ又はオリゴヌクレオシド、及び修飾をもたらすための方法に関する。これらの修飾されたオリゴヌクレオチド及びオリゴヌクレオチドアナログは、天然に存在する対応物と比較して、増加した化学的及び／又は酵素的安定性を示し得る。細胞外及び細胞内ヌクレアーゼは一般に、骨格修飾化合物を認識せず、したがって結合しない。プロトン化された酸形態として存在する場合、負に荷電した骨格がないため、細胞への浸透が促進される可能性がある。

【００７６】

修飾されたヌクレオシド間結合は、天然に存在するホスホジエステル－５’－メチレン結合を４原子の連結基で置き換えることで、得られる化合物にヌクレアーゼ耐性と細胞への取り込み促進を与えることを意図している。

【００７７】

修飾は固体支持体を用いて達成することができ、固体支持体は手作業で操作することもできるし、ＤＮＡ合成装置の技術分野の当業者に一般的に知られている方法論を用いてＤＮＡ合成装置と組み合わせて使用することもできる。一般に、この手順は、選択された配列において互いに隣接する２つのヌクレオシドの糖部分を官能基化することを含む。５’から３’の意味では、構造Ｈのような「上流」のシントンはその末端３’部位で修飾され、構造Ｈ１のような「下流」のシントンはその末端５’部位で修飾される。

【００７８】

ヒドラジン、ヒドロキシルアルニン、及び他の連結基によって連結されたオリゴヌクレオシドは、５’－ヒドロキシルでジメトキシトリチル基によって保護され、３’－ヒドロキシルでシアノエチルジイソプロピル－ホスファイト部分でのカップリングのために活性化され得る。これらの化合物は、標準的な固相の自動ＤＮＡ合成技術により、任意の配列に挿入することができる。最もポピュラーなプロセスの一つはホスホラミダイト技術である。均一な骨格結合を含むオリゴヌクレオチドは、ＣＰＧ固相支持体、及びＡｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ Ｉｎｃ．３８０Ｂ及び３９４、Ｍｉｌｌｉｇｅｎ／Ｂｉｏｓｅａｒｃｈ ７５００及び８８００ｓなどの標準核酸合成機を用いて合成できる。最初のヌクレオチド（３’末端の１番）は、制御細孔ガラスなどの固体支持体に付着させる。配列特定の順序で、それぞれの新しいヌクレオチドが、手動操作又は自動合成システムによって取り付けられる。

【００７９】

遊離アミノ基は、例えば酢酸中のアセトンと水素化シアノホウ素ナトリウムでアルキル化できる。アルキル化工程は、高分子上に他の有用な機能性分子を導入するために用いることができる。このような有用な機能性分子としては、レポーター分子、ＲＮＡ切断基、オリゴヌクレオチドの薬物動態学的特性を改善するための基、オリゴヌクレオチドの薬力学的特性を改善するための基などが挙げられるが、これらに限定されない。このような分子は、骨格連結の窒素原子への結合を介して高分子に結合又は共役させることができる。あるいは、このような分子は、１つ以上のヌクレオチドの糖部分のヒドロキシル基から伸びるペンダント基に結合させることができる。このような他の有用な官能基の例は、参照により本明細書に組み込まれるＷＯ１９９３００７８８３、及び他の上記した特許出願により提供される。

【００８０】

固体支持体には、制御細孔ガラス（ＣＰＧ）、オキサリル制御細孔ガラス、アミノポリエチレングリコール誘導体化支持体であるＴｅｎｔａＧｅｌ Ｓｕｐｐｏｒｔ、ポリスチレン／ジビニルベンゼンの共重合体であるＰｏｒｏｓを含む、ポリヌクレオチド合成のために当該技術分野で知られているものが含まれ得る。ヌクレオチド及びオリゴヌクレオチドの結合及び切断は、標準的な手順で行うことができる。本明細書で使用する場合、固体支持体という用語は、成長するオリゴヌクレオシドをＣＰＧなどの固定相に結合させるために使用される任意のリンカー（例えば、長鎖アルキルアミン及びスクシニル残基）をさらに含む。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、１つ以上のロックトヌクレオチド、エチレン架橋ヌクレオチド、ペプチド核酸、又は５’（Ｅ）－ビニルホスホネート（ＶＰ）修飾を有するものとしてさらに定義され得る。いくつかの実施形態において、オリゴヌクレオチドは、１つ以上のホスホロチオエート化ＤＮＡ又はＲＮＡ塩基を有する。

【００８１】

ＩＶ．細胞治療

本明細書の特定の実施形態は、本明細書に開示される適応症に有用な実質的に同種、同種、又は異種の細胞集団を包含する。細胞集団は、修飾及び／又は非修飾線維芽細胞（線

維芽細胞；線維芽細胞様細胞；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体、又は線維芽細胞の任意の他の断片若しくは生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）、修飾及び／又は非修飾免疫細胞、又は胸腺などの組織を再生することができる任意の修飾及び／又は非修飾細胞を含む、本明細書に開示される任意の細胞を含んでよい。本明細書のある実施形態は、細胞療法として個体に細胞集団を投与する方法を包含する。

【００８２】

いくつかの実施形態において、線維芽細胞（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；線維芽細胞からの溶解物；線維芽細胞培養からの調整培地；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体又は線維芽細胞の任意の他の断片若しくは生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）は、１つ以上の因子を産生するように操作又は刺激される。いくつかの実施形態において、線維芽細胞（線維芽細胞；線維芽細胞様細胞；線維芽細胞からの溶解物；線維芽細胞培養からの調整培地；及び／又はエクソソーム、マイクロベシクル、アポトーシス小体又は線維芽細胞の他の断片若しくは生物学的成分を含む細胞外小胞を含む）を操作又は刺激して、白血病抑制因子（ＬＩＦ）、脳由来神経栄養因子（ＢＤＮＦ）、上皮成長因子受容体（ＥＧＦ）、塩基性線維芽細胞成長因子（ｂＦＧＦ）、ＦＧＦ－６、グリア由来神経栄養因子（ＧＤＮＦ）、顆粒球コロニー刺激因子（ＧＣＳＦ）、肝細胞成長因子（ＨＧＦ）、ＩＦＮ－γ、インスリン様成長因子結合タンパク質（ＩＧＦＢＰ－２）、ＩＧＦＢＰ－６、ＩＬ－１ｒａ、ＩＬ－６、ＩＬ－８、単球走化性タンパク質（ＭＣＰ－１）、単核食細胞コロニー刺激因子（Ｍ－ＣＳＦ）、神経栄養因子（ＮＴ３）、組織メタロプロテイナーゼ阻害因子（ＴＩＭＰ－１）、ＴＩＭＰ－２、腫瘍壊死因子（ＴＮＦ－β）、血管内皮増殖因子（ＶＥＧＦ）、ＶＥＧＦ－Ｄ、ウロキナーゼプラスミノーゲン活性化因子受容体（ｕＰＡＲ）、骨形成タンパク質４（ＢＭＰ４）、ＩＬ１－ａ、ＩＬ－３、レプチン、幹細胞因子（ＳＣＦ）、間質細胞由来因子－１（ＳＤＦ－１）、血小板由来成長因子－ＢＢ（ＰＤＧＦＢＢ）、トランスフォーミング成長因子β（ＴＧＦβ－１）及び／又はＴＧＦβ－３を産生させる。操作又は刺激された線維芽細胞からの因子は、調整培地中に存在し、治療的使用のために収集され得る。

【００８３】

Ａ．細胞培養

特定の実施形態は、本明細書に記載される組成物及び／又は方法における使用に組み込むための任意の適切な細胞の培養に関する。いくつかの実施形態では、細胞は適切な温度、典型的には３７℃の温度で、典型的には酸素及びCO_2を含む雰囲気下で増殖され、維持される。培養条件は細胞種ごとに大きく異なってもよく、特定の細胞種に対して条件を変化させると、異なる表現型が発現され得る。培養系で最もよく変化する要因は増殖培地である。成長培地は、栄養素、成長因子の濃度、その他の成分の有無で変化する。培地を補うために使われる成長因子は、子牛血清のような動物の血液に由来することが多い。

【００８４】

いくつかの実施形態では、細胞は少なくとも約１０日間から約４０日間、少なくとも約１５日間から約３５日間、少なくとも約１５日間から約２１日間、例えば少なくとも約１５日間、約１６日間、約１７日間、約１８日間、約１９日間、又は約２１日間培養され得る。いくつかの実施形態において、本開示の細胞は、６０日以下、又は５０日以下、又は４５日以下で培養され得る。細胞は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、又は４０日間培養されてもよい。細胞は液体培地の存在下で培養してもよい。典型的には、培地は当分野で公知の基本培地製剤からなる。イーグル最小必須培地（ＭＥＭ）、ダルベッコ変法イーグル培地（ＤＭＥＭ）、α変法最小必須培地（α－ＭＥＭ）、基本必須培地（ＢＭＥ）、イスコフ変法ダルベッコ培地（ＩＭＤＭ）、ＢＧＪｂ培地、Ｆ－１２栄養混合物（Ｈａｍ）、Ｌｉｅｂｏｖｉｔｚ　Ｌ－１５、ＤＭＥＭ／Ｆ－１２、変法イーグル必須培地（ＥＭＥＭ）、ＲＰＭＩ－１６４０、及びこれらの改変物及び／又は組み合わせなどを含むが、これらに限定されない多くの基本培地処方が本明細書における

培養細胞に使用できる。上記の基本培地の組成は、当技術分野において一般的に知られており、培地及び／又は培地サプリメントの濃度を、培養される細胞に対して必要に応じて変更又は調節することは、当業者の技術の範囲内である。いくつかの実施形態において、培地処方は、１０％ウシ胎児血清（ＦＢＳ）、１００Ｕ／ｍｌペニシリン Ｇ、１００μｇ／ｍｌストレプトマイシン及び２ｍｍｏｌ／Ｌ　Ｌ－グルタミンを補充したＩＭＤＭからなるエクスプランツ培地（ＣＥＭ）であってもよい。他の実施形態では、上記のものから選択されるような、さらなる基本培地処方を採用することができる。

【００８５】

細胞の培養には、インビトロで細胞を支持できる培地であればどれでも使用できる。細胞の増殖を支持し得る培地処方としては、ダルベッコ変法イーグル培地（ＤＭＥＭ）、α変法最小必須培地（αＭＥＭ）、ロズウェルパーク記念研究所培地１６４０（ＲＰＭＩ培地１６４０）などが挙げられるが、これらに限定されない。典型的には、細胞の増殖を支持するために、２０％までのウシ胎児血清（ＦＢＳ）又は１～２０％のウマ血清が上記培地に添加される。しかしながら、細胞の培養に必要な増殖因子、サイトカイン、ホルモンが培地中に適切な濃度で供給される場合には、規定された培地を使用することもできる。本開示の方法において有用な培地は、細胞の培養に有用な抗生物質、分裂促進化合物、又は分化化合物を含むがこれらに限定されない、１つ以上の目的の化合物を含んでいてもよい。細胞は、２７℃～４０℃、例えば３１℃～３７℃の温度で増殖させることができ、加湿インキュベーター内で増殖させることができる。二酸化炭素濃度は２％～１０％に維持され、酸素濃度は１％～２２％に維持され得る。しかしながら、本開示は決して、細胞を単離し培養するいずれか一つの方法に限定して解釈されるべきではない。むしろ、細胞を単離し培養するいかなる方法も、本開示に含まれると解釈されるべきである。

【００８６】

細胞培養に使用するために、培地には１つ以上のさらなる成分を添加することができる。例えば、最適な増殖と拡張に必要な微量元素や物質を細胞に供給するために、追加のサプリメントを使用することができる。そのようなサプリメントには、インスリン、トランスフェリン、セレン塩、及びそれらの組み合わせが含まれる。これらの成分は、ハンクス平衡塩溶液（ＨＢＳＳ）、アール塩溶液などの塩溶液に含めることができるが、これらに限定されない。さらに抗酸化サプリメント、例えばβ－メルカプトエタノールを加えてもよい。多くの培地はすでにアミノ酸を含んでいるが、いくつかのアミノ酸は、例えば、溶液中では安定性が低いことが知られているＬ－グルタミンのように、後で補充してもよい。培地には、抗生物質及び／又は抗真菌性化合物、例えば、典型的にはペニシリンとストレプトマイシンの混合物、及び／又はアンホテリシン、アンピシリン、ゲンタマイシン、ブレオマイシン、ハイグロマイシン、カナマイシン、マイトマイシン、ミコフェノール酸、ナリジクス酸、ネオマイシン、ナイスタチン、パロモマイシン、ポリミキシン、ピューロマイシン、リファンピシン、スペクチノマイシン、テトラサイクリン、タイロシン、及びゼオシンなどの他の化合物が例示されるがこれらに限定されない。また、細胞培養培地に哺乳動物の血漿や血清を補充することも考えられる。血漿や血清には、生存能や増殖に必要な細胞因子や成分が含まれていることが多い。適切な血清代替物の使用も企図されている。

【００８７】

特定の緩衝液、培地、試薬、細胞、培養条件など、又はそれらのサブクラスへの言及は、限定を意図するものではなく、その議論が提示される特定の文脈において、当業者が興味又は価値があると認識するであろう、そのような関連材料すべてを含むように読まれるべきである。例えば、ある緩衝系又は培養培地を別の緩衝系又は培養培地に置き換えることはしばしば可能であり、示唆された方法、材料又は組成物の使用が指示されている目的と同じ目的を達成するために、異なるが公知の方法が使用される。特定の実施形態では、細胞は、細胞培養培地を含む細胞培養系、好ましくは培養容器中で、特に、細胞をインビトロ老化から保護し、及び／又は非特異的若しくは特異的な初期化を誘導するために適切かつ決定された物質を添加した細胞培養培地中で培養される。

【００８８】
Ｂ．細胞生成
本開示のある種の方法は、ヒト組織試料から得られた細胞の培養に関するものである。本開示の特定の実施態様において、細胞は、細胞の接着を可能にする基質上にプレーティングされる。これは、例えば、細胞の接着に適合する１つ以上の基質表面を提示する培養プレートに細胞をプレーティングすることによって実施され得る。１つ以上の基質表面が、培養系に導入された細胞の懸濁液（例えば、培地中の懸濁液）と接触すると、細胞と基質表面との間に細胞接着が生じ得る。従って、特定の実施形態では、細胞は、プレーティングされた細胞が前記基質表面と接触することができるように、一般的に細胞の接着に適合する少なくとも１つの基質表面を特徴とする培養系に導入され、このような実施形態は、細胞の接着を可能にする基質上へのプレーティングを包含する。
【００８９】
本開示の細胞は、細胞表面マーカーなどの特異的マーカータンパク質の発現によって同定し、特徴付けることができる。これらの細胞の検出及び単離は、例えばフローサイトメトリー、ＥＬＩＳＡ、及び／又は磁気ビーズによって達成することができる。単一細胞ＲＮＡ－Ｓｅｑ及び／又は逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（ＲＴ－ＰＣＲ）は、細胞特異的遺伝子を定量化するため、及び／又は分化に応答した遺伝子発現の変化をモニターするために使用され得る。特定の実施形態において、細胞を同定し、特徴付けるために使用されるマーカータンパク質は、免疫系細胞を含む様々な細胞タイプ及びサブタイプについて以前に刊行物で同定された分化クラスタ（ＣＤ）マーカーのリストの一部である。これらは、ｃ－Ｋｉｔ（ＣＤ１１７）、Ｎａｎｏｇ、Ｓｏｘ２、Ｈｅｙ１、ＳＭＡ、Ｖｉｍｅｎｔｉｎ、Ｃｙｃｌｉｎ　Ｄ２、Ｓｎａｉｌ、Ｅ－カドヘリン、Ｎｋｘ２．５、ＧＡＴＡ４、ＣＤ１０５、ＣＤ９０、ＣＤ２９、ＣＤ７３、Ｗｔ１、ＣＤ３４、ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ８、ＣＤ３、ＴＣＲ、ＣＤ２、ＣＤ２８、ＣＤ５、ＣＤ７、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ｌｄｂ、ｌｇａ、ｓｉｇ、ＣＤ４０、ＭＨＣ　ＩＩ、ＣＤ２２、ＣＲ１／ＣＤ３５、ＣＲ２／ＣＤ２１、Ｂ７／ＣＤ８０、ＣＤ５、ＦｃｇＲ　ＩＩ／ＣＤ３２、及びそれらの組み合わせからなる群から選択できる。
【００９０】
Ｃ．ポリペプチド発現
いくつかの態様において、本開示のポリペプチド又はペプチドをコードする核酸分子が存在し、本明細書に包含される任意の細胞は、それらを産生するように改変され得る。これらは、当技術分野で公知の方法、例えば、免疫化され単離されたマウスのＢ細胞から単離されたもの、ファージディスプレイ、任意の適切な組換え発現系で発現されたもの、又は組換え法によって生成され得る。核酸分子は、大量のポリペプチドを発現させるために使用することができる。
【００９１】
１．ベクター
いくつかの態様において、所望の配列のポリペプチド又はその一部をコードする核酸分子を含む発現ベクターが企図される。いくつかの態様において、核酸分子を含む発現ベクターは、融合タンパク質、改変抗体、抗体断片、及びそれらのプローブをコードし得る。転写及び翻訳を調節する制御配列に加えて、ベクター及び発現ベクターは、同様に他の機能を果たす核酸配列を含んでもよい。
【００９２】
本開示のポリペプチド又はペプチドを発現させるために、ポリペプチド又はペプチドをコードするＤＮＡは、遺伝子領域が転写及び翻訳制御配列に作動可能に連結されるように、発現ベクターに挿入され得る。典型的には、いずれかの宿主細胞で使用される発現ベクターは、プラスミド又はウイルスの維持、及び外来性ヌクレオチド配列のクローニング及び発現のための配列を含む。このような配列は、「フランキング配列」と総称されるが、典型的には、以下の作動可能に連結されたヌクレオチド配列の１つ以上を含む：プロモーター、１つ以上のエンハンサー配列、複製起点、転写終結配列、ドナー及びアクセプター

スプライス部位を含む完全なイントロン配列、ポリペプチド分泌のためのリーダー配列をコードする配列、リボソーム結合部位、ポリアデニル化配列、発現されるポリペプチドをコードする核酸を挿入するためのポリリンカー領域、及び選択可能なマーカーエレメント。このような配列及びその使用方法は当技術分野でよく知られている。

【００９３】

２．発現系

上述した発現ベクターの少なくとも一部又は全部を含む多数の発現系が存在する。原核生物ベース及び／又は真核生物ベースの系は、核酸配列、又はそれらの同族ポリペプチド、タンパク質及びペプチドを産生するための実施形態と共に使用するために採用され得る。商業的に広く入手可能な系としては、細菌、哺乳動物、酵母、及び昆虫細胞系が挙げられるが、これらに限定されない。異なる宿主細胞は、タンパク質の翻訳後プロセシングと修飾のための特徴的で特異的なメカニズムを有する。適切な細胞株又は宿主系は、発現された外来タンパク質の正しい修飾及びプロセシングを確実にするために選択され得る。当業者は、適切な発現系を用いて、核酸配列又はその同族ポリペプチド、タンパク質、又はペプチドを産生するベクターを発現させることができる。

【００９４】

Ｄ．遺伝子導入の方法

組成物の発現を効果的にするための核酸送達のための適切な方法は、本明細書に記載されるように、又は当業者に公知であろうように、核酸（例えば、ウイルス及び非ウイルスベクターを含むＤＮＡ；ＣＲＩＳＰＲ－Ｃａｓ９）を任意の細胞、任意の組織又は任意の生物に導入することができる実質的に任意の方法を含むことが予想される。このような方法には、マイクロインジェクション（Harland and Weintraub、1985；米国特許第５，７８９，２１５号、各々参照により本明細書に組み込まれる）を含む、注射（米国特許５，９９４，６２４、５，９８１，２７４、５，９４５，１００、５，７８０，４４８、５，７３６，５２４、５，７０２，９３２、５，６５６，６１０、５，５８９，４６６及び５，５８０，８５９、各々参照により本明細書に組み込まれる）によるようなＤＮＡの直接送達；エレクトロポレーションによる方法（米国特許第５，３８４，２５３号、参照により本明細書に組み込まれる）；リン酸カルシウム沈殿による方法（Graham and Van Der Eb, 1973; Chen and Okayama, 1987; Rippe et al., 1990）；ＤＥＡＥデキストランを使用し、次いでポリエチレングリコールを使用する方法（Gopal、1985）；直接音波ローディングによる方法（Fechheimer et al., 1987）；リポソームを介するトランスフェクションによる方法（Nicolau and Sene, 1982; Fraley et al., 1979; Nicolau et al., 1987; Wong et al., 1980; Kaneda et al., 1989; Kato et al., 1991）；微粒子銃による方法（ＰＣＴ出願番号ＷＯ９４／０９６９９及びＷＯ９５／０６１２８；米国特許第５，６１０，０４２；５，３２２，７８３、５，５６３，０５５、５，５５０，３１８、５，５３８，８７７及び５，５３８，８８０号、各々参照により本明細書に組み込まれる）；シリコンカーバイド繊維による撹拌による方法（Kaeppler et al., 1990；米国特許第５，３０２，５２３号及び第５，４６４，７６５号、各々参照により本明細書に組み込まれる）；アグロバクテリウム媒介形質転換（米国特許第５，５９１，６１６号及び第５，５６３，０５５号、各々参照により本明細書に組み込まれる）；又はプロトプラストのＰＥＧ媒介形質転換（Omirulleh et al., 1993；米国特許第４，６８４，６１１号及び第４，９５２，５００号、各々参照により本明細書に組み込まれる）；乾燥／阻害媒介ＤＮＡ取り込み（Potrykus et al., 1985）による方法が含まれるが、これらに限定されない。他の方法としては、レンチウイルス又はレトロウイルス導入による遺伝子導入のようなウイルス導入がある。

【００９５】

いくつかの実施形態において、本明細書に包含される任意の細胞は、１つ以上の内因性遺伝子のノックダウン又はノックアウトを有するように改変され得る。当業者は、例えば、あらゆる種類のＲＮＡ干渉及びＣＲＩＳＰＲ技術を含む、そうするための標準的な手順に精通している。

【００９６】
Ｅ．ＣＲＩＳＰＲ－媒介遺伝子活性化
腫瘍壊死因子受容体（ＴＮＦＲ）ファミリー、活性化ＮＦκＢ受容体（ＲＡＮＫ）、ＣＤ４０、リンパ球β受容体（ＬＴβＲ）、線維芽細胞増殖因子（ＦＧＦ）Ｆｏｘｎ１、Ｗｎｔを含む様々な遺伝子が、胸腺上皮細胞（ＴＥＣ）の成熟と発達に関与している（Sun, Luo et al. 2013, Sun, Sun et al. 2015）。ＴＥＣの成熟はまた、成熟に必要な遺伝子のエピジェネティックな活性化に必要な因子を提供できるという点で、胸腺細胞、線維芽細胞、間葉系幹細胞などの他の細胞との相互作用や依存性にも関与している。この実施形態では、線維芽細胞、及び／又は不随胸腺からの細胞は、胸腺の皮質及び髄質の両方に対して予定されたＴＥＣ活性化の原因となる遺伝子の１つ又は組み合わせの遺伝子及びプロモーター領域のＣＲＩＳＰＲ媒介メチル化を通じてエピジェネティックに活性化され得る（Vojta, Dobrinic et al. 2016, Tyurin-Kuzmin, Karagyaur et al. 2018, Kang, Park et al. 2019, Nakamura, Gao et al. 2021, Singina, Sergiev et al. 2021）。ＴＥＣの成熟に必要な遺伝子の発現を再活性化するために、遺伝子やプロモーター領域のアセチル化にも同じ手法を用いることができる。加齢や傷害に関連した胸腺の退縮には、ＴＥＣだけでなく、線維芽細胞や間葉系幹細胞（胸腺幹細胞）のエピジェネティックな不活性化が関与しているため、同じＣＲＩＳＰＲに基づくエピジェネティックな活性化を単独で、あるいは他の細胞の活性化と組み合わせて用いることができる。

【００９７】
Ｆ．宿主細胞
別の態様では、組換え発現ベクターが導入された任意の宿主細胞の使用が企図される。目的のタンパク質をコードする発現構築物は、当該分野で公知の種々の方法に従って細胞にトランスフェクトされ得る。ベクターＤＮＡは、通常の形質転換又はトランスフェクション技術によって原核細胞又は真核細胞に導入することができる。いくつかのベクターは、原核細胞及び真核細胞の両方において複製及び／又は発現されることを可能にする制御配列を用いることができる。特定の態様において、発現構築物は、ＮＦＡＴ－１又はＮＦ－κＢによって制御されるもののような、細胞活性化に連結されるプロモーターの制御下に置くことができる。宿主細胞を維持し、ベクターの複製を可能にするために宿主細胞をインキュベートする条件は、当業者であれば理解できるであろう。また、ベクターの大規模生産、ベクターによってコードされる核酸及びその同族ポリペプチド、タンパク質、又はペプチドの生産を可能にする技術及び条件も理解され、知られている。

【００９８】
哺乳動物細胞を安定的にトランスフェクションする場合、使用する発現ベクターやトランスフェクション技術にもよるが、ごく一部の細胞が外来ＤＮＡをゲノムに組み込み得ることが知られている。これらの要素（ｉｎｔｅｇｒａｎｔ）を同定し、選択するために、選択可能なマーカー（例えば、抗生物質に対する耐性）を目的の遺伝子とともに宿主細胞に導入するのが一般的である。導入された核酸で安定的にトランスフェクトされた細胞は、当該技術分野で知られている他の方法の中でも、薬剤選択（例えば、選択可能マーカー遺伝子を組み込んだ細胞は生き残り、他の細胞は死滅する）によって同定することができる。

【００９９】
Ｖ．製剤化及び細胞の培養
特定の実施形態では、本開示の細胞は特別に製剤化されてもよく、及び／又は特定の培地で培養されてもよい。細胞は、有害な影響なしにレシピエントに送達するのに適するような方法で製剤化されてもよい。

【０１００】
特定の態様における培地は、動物細胞の培養に使用される培地を基礎培地として用いて調製することができ、例えば、ＡＩＭ Ｖ、Ｘ－ＶＩＶＯ－１５、ＮｅｕｒｏＢａｓａｌ、ＥＧＭ２、ＴｅＳＲ、ＢＭＥ、ＢＧＪｂ、ＣＭＲＬ １０６６、Ｇｌａｓｇｏｗ ＭＥ

Ｍ、Ｉｍｐｒｏｖｅｄ ＭＥＭ Ｚｉｎｃ Ｏｐｔｉｏｎ、ＩＭＤＭ、Ｍｅｄｉｕｍ １９９、Ｅａｇｌｅ ＭＥＭ、αＭＥＭ、ＤＭＥＭ、Ｈａｍ、ＲＰＭＩ－１６４０、Ｆｉｓｃｈｅｒ’ｓ培地、及びこれらの任意の組み合わせが挙げられるが、動物細胞の培養に使用できる培地であれば、特にこれらに限定されるものではない。特に、培地はゼノフリーであっても化学的に規定されていてもよい。

【０１０１】

培地は、血清含有培地、無血清培地、あるいはゼノフリー培地とすることができる。異種動物由来成分の混入を防ぐという観点から、血清は幹細胞と同じ動物由来のものを用いることができる。無血清培地とは、未処理又は未精製の血清を含まない培地を指し、それゆえ精製された血液由来成分や動物組織由来成分（成長因子など）を含む培地を含むことができる。

【０１０２】

培地は血清の代替物を含んでも含まなくてもよい。血清の代替物としては、アルブミン（脂質リッチアルブミン、ウシアルブミン、組換えアルブミン又はヒト化アルブミンなどのアルブミン代替物、植物デンプン、デキストラン及びタンパク質加水分解物など）、トランスフェリン（又は他の鉄トランスポーター）、脂肪酸、インスリン、コラーゲン前駆体、微量元素、２－メルカプトエタノール、３’－チオールグリセロール、又はこれらの等価物を適切に含む材料を挙げることができる。血清の代替物は、例えば国際公開第９８／３０６７９号（その全体が本明細書に組み込まれる）に開示された方法により調製することができる。あるいは、より便宜的に、任意の市販の材料を使用することができる。市販の材料としては、ノックアウト血清代替物（ＫＳＲ）、化学的に規定された脂質濃縮物（Ｇｉｂｃｏ）、グルタマックス（Ｇｉｂｃｏ）などが挙げられる。

【０１０３】

特定の実施形態において、培地は、ビオチン、酢酸ＤＬα－トコフェロール、ＤＬα－トコフェロール、ビタミンＡ（酢酸塩）などのビタミン；ＢＳＡ（ウシ血清アルブミン）又はヒトアルブミン、脂肪酸フリーフラクションＶなどのタンパク質；カタラーゼ；ヒト組換えインスリン；ヒトトランスフェリン；スーパーオキシドジスムターゼ；コルチコステロンなどのその他の成分；Ｄ－ガラクトース；エタノールアミンＨＣｌ；グルタチオン（還元型）；Ｌ－カルニチンＨＣｌ；リノール酸；リノレン酸；プロゲステロン；プトレシン２ＨＣｌ；亜セレン酸ナトリウム；及び／又はＴ３（トリオード－Ｉ－チロニン）の１種、２種、３種、４種、５種、６種、７種、８種、９種、１０種、１１種、１２種、１３種、１４種、１５種、１６種、１７種、１８種、１９種、２０種又はそれ以上を含み得る。特定の実施形態において、これらのうちの１つ以上が明確に除外され得る。

【０１０４】

いくつかの実施形態において、培地は、１種以上のビタミンをさらに含む。いくつかの実施形態において、培地は、ビオチン、酢酸ＤＬα－トコフェロール、ＤＬα－トコフェロール、ビタミンＡ、塩化コリン、パントテン酸カルシウム、パントテン酸、葉酸ニコチン酸アミド、ピリドキシン、リボフラビン、チアミン、イノシトール、ビタミンＢ１２の１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、又は１３種（及びそこから誘導可能な任意の範囲）を含む、又は培地はそれらの組み合わせ又はそれらの塩を含む。いくつかの実施形態において、培地は、ビオチン、酢酸ＤＬα－トコフェロール、ＤＬα－トコフェロール、ビタミンＡ、塩化コリン、パントテン酸カルシウム、パントテン酸、葉酸ニコチンアミド、ピリドキシン、リボフラビン、チアミン、イノシトール、及びビタミンＢ１２を含むか、又はこれらから本質的になる。いくつかの実施形態において、ビタミンは、ビオチン、酢酸ＤＬα－トコフェロール、ＤＬα－トコフェロール、ビタミンＡ、又はそれらの組み合わせ若しくは塩を含むか、又は本質的にそれらからなる。いくつかの実施形態において、培地は、タンパク質をさらに含む。いくつかの実施形態において、タンパク質は、アルブミン若しくはウシ血清アルブミン、ＢＳＡの画分、カタラーゼ、インスリン、トランスフェリン、スーパーオキシドジスムターゼ、又はそれらの組み合わせを含む。いくつかの実施形態において、培地は、コルチコステロン、Ｄ－ガラクトース、エ

タノールアミン、グルタチオン、Ｌ－カルニチン、リノール酸、リノレン酸、プロゲステロン、プトレシン、亜セレン酸ナトリウム、又はトリオード－Ｉ－チロニン、又はそれらの組み合わせから選択される１つ以上をさらに含む。いくつかの実施形態において、培地は、Ｂ－２７（登録商標）サプリメント、ゼノフリーＢ－２７（登録商標）サプリメント、ＧＳ２１ＴＭサプリメント、又はそれらの組み合わせの１つ以上を含む。いくつかの実施形態において、培地は、アミノ酸、単糖類、無機イオンを含むか、又は更に含む。いくつかの実施形態において、アミノ酸は、アルギニン、シスチン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、グルタミン、フェニルアラニン、スレオニン、トリプトファン、ヒスチジン、チロシン、若しくはバリン、又はそれらの組み合わせを含む。いくつかの実施形態において、無機イオンは、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、窒素、若しくはリン、又はそれらの組み合わせ若しくは塩を含む。いくつかの実施形態において、培地は、モリブデン、バナジウム、鉄、亜鉛、セレン、銅、若しくはマンガン、又はそれらの組み合わせのうちの１つ以上をさらに含む。特定の実施形態において、培地は、本明細書において議論される１つ以上のビタミン、及び／又は本明細書において議論される１つ以上のタンパク質、及び／又はコルチコステロン、Ｄ－ガラクトース、エタノールアミン、グルタチオン、Ｌ－カルニチン、リノール酸、リノレン酸、プロゲステロン、プトレシン、亜セレン酸ナトリウム、又はトリオード－Ｉ－チロニン、Ｂ－２７（登録商標）サプリメント、ゼノフリーＢ－２７（登録商標）サプリメント、ＧＳ２１ＴＭサプリメント、アミノ酸（例えば、アルギニン、シスチン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、グルタミン、フェニルアラニン、スレオニン、トリプトファン、ヒスチジン、チロシン、又はバリンなど）、単糖、無機イオン（ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、窒素、及び／又はリンなど）又はそれらの塩、及び／又はモリブデン、バナジウム、鉄、亜鉛、セレン、銅、又はマンガンの１つ以上を含むか、又はこれらから本質的になる。特定の実施形態では、これらのうちの１つ以上を明確に除外することができる。

【０１０５】

培地はまた、１つ以上の外部から添加された脂肪酸又は脂質、アミノ酸（非必須アミノ酸など）、ビタミン（複数可）、成長因子、サイトカイン、抗酸化物質、２－メルカプトエタノール、ピルビン酸、緩衝剤、及び／又は無機塩を含むことができる。特定の実施形態では、これらのうちの１つ以上を明確に除外することができる。

【０１０６】

培地成分の１つ以上は、少なくとも、多くとも、又は約０．１、０．５、１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、１００、１５０、１８０、２００、２５０ｎｇ／Ｌ、ｎｇ／ｍｌ、μｇ／ｍｌ、ｍｇ／ｍｌ、又はそこから派生する任意の範囲の濃度で添加することができる。

【０１０７】

特定の実施形態では、本開示の細胞は特に製剤化される。それらは細胞懸濁液として製剤化されてもされなくてもよい。特定の場合には、それらは単回投与形態で製剤化される。それらは全身投与用又は局所投与用に製剤化されてもよい。場合によっては、細胞は使用前の保存のために製剤化され、細胞製剤はＤＭＳＯ（例えば、５％ＤＭＳＯ中）などの１つ以上の凍結保存剤を含んでもよい。細胞製剤は、ヒトアルブミンを含むアルブミンを含んでもよく、具体的な製剤は２．５％のヒトアルブミンを含む。細胞は、静脈内投与用に特別に製剤化されてもよく、例えば、１時間未満の静脈内投与用に製剤化される。特定の実施形態では、細胞は室温で解凍時から１、２、３、４時間以上安定な製剤化された細胞懸濁液にある。

【０１０８】

ＶＩ．治療用組成物の投与

本明細書で提供される療法は、治療用組成物（例えば、線維芽細胞、免疫細胞、細胞の誘導体、線維芽細胞からのエクソソーム、薬剤など）を単独で又は組み合わせて投与する

ことを含み得る。治療薬は、当技術分野で知られている任意の適切な方法で投与することができる。例えば、第１及び第２の治療法は、順次（異なる時間）又は同時（同じ時間）に投与することができる。いくつかの実施形態において、第１及び第２の治療は、別々の組成物で投与される。いくつかの実施形態において、第１及び第２の処置は、同じ組成物中にある。

【０１０９】

本開示の実施形態は、治療用組成物を含む組成物及び方法に関する。異なる治療法は、１つの組成物で投与してもよいし、２つの組成物、３つの組成物、又は４つの組成物のような２つ以上の組成物で投与してもよい。組成物の様々な組み合わせが採用されてもよい。

【０１１０】

本開示の治療用組成物（例えば、線維芽細胞を含むか又は線維芽細胞からの細胞、細胞産物）は、同じ投与経路によって投与されてもよいし、異なる投与経路によって投与されてもよい。いくつかの実施形態において、療法は、静脈内、筋肉内、皮下、局所、経口、経皮、腹腔内、眼窩内、移植、吸入、髄腔内、脳室内、又は経鼻により投与される。いくつかの実施形態において、組成物は胸腺に直接投与される。いくつかの実施形態において、抗生物質は、静脈内、筋肉内、皮下、局所、経口、経皮、腹腔内、眼窩内、移植、吸入、髄腔内、脳室内、又は経鼻により投与される。適切な投与量は、治療される疾患の種類、疾患の重症度及び経過、個体の臨床状態、個体の臨床歴及び治療に対する反応、並びに主治医の裁量に基づいて決定され得る。

【０１１１】

治療薬には様々な「単位用量」が含まれる。単位用量は、治療組成物を所定量含むものとして定義される。投与される量、並びに特定の経路及び製剤は、臨床技術に携わる者の判断能力の範囲内である。単位用量は、1回の注射として投与される必要はないが、一定期間にわたる連続注入を含んでいてもよい。いくつかの実施形態において、単位用量は、単回投与可能な用量を含む。

【０１１２】

投与量は、治療回数と単位投与量の両方において、望まれる治療効果に依存する。有効量は、特定の効果を達成するのに必要な量を指すと理解される。特定の実施形態における実施において、１０ｍｇ／ｋｇ～２００ｍｇ／ｋｇの範囲の用量が、これらの薬剤の保護能力に影響を及ぼすことができることが企図される。従って、用量としては、約０．１、０．５、１、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、１００、１０５、１１０、１１５、１２０、１２５、１３０、１３５、１４０、１４５、１５０、１５５、１６０、１６５、１７０、１７５、１８０、１８５、１９０、１９５、及び２００、３００、４００、５００、１０００μｇ／ｋｇ、ｍｇ／ｋｇ、μｇ／日、又はｍｇ／日、又はそこから誘導可能な任意の範囲が挙げられる。さらに、このような用量は、１日、及び／又は複数日、週、又は月の間に複数回で投与することができる。

【０１１３】

特定の実施形態において、医薬組成物の有効量は、約１μＭ～１５０μＭの血中レベルを提供し得るものである。別の実施形態において、有効量は、約４μＭ～１００μＭ；又は約１μＭ～１００μＭ；又は約１μＭ～５０μＭ；又は約１μＭ～４０μＭ；又は約１μＭ～３０μＭ；又は約１μＭ～２０μＭ；又は約１μＭ～１０μＭ；又は約１０μＭ～１５０μＭ；又は約１０μＭ～１００μＭ；又は約１０μＭ～約５０μＭ；又は約２５μＭ～約１５０μＭ；又は約２５μＭ～約１００μＭ；又は約２５μＭ～約５０μＭ；又は約５０μＭ～約１５０μＭ；又は約５０μＭ～約１００μＭ（又はそこから誘導可能な任意の範囲）の血中レベルを提供する。他の実施形態において、用量は、対象に投与される治療薬から生じる薬剤の以下の血中レベルを提供し得る：約、少なくとも約、又は多くとも約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、

３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９、若しくは１００μＭ、又はそこから誘導可能な任意の範囲である。特定の実施形態において、対象に投与される治療薬は、体内で代謝されて代謝治療薬となり、この場合、血中濃度はその治療薬の量を指すことがある。あるいは、治療剤が対象によって代謝されない範囲において、本明細書で議論される血中濃度は、代謝されない治療剤を指す場合がある。

【０１１４】

治療用組成物の正確な量もまた、実施者の判断に依存し、各個人に特有である。投与量に影響する因子には、患者の身体的及び臨床的状態、投与経路、意図する治療目標（症状の緩和対治癒）、特定の治療物質又は被験者が受けている可能性のある他の療法の効力、安定性及び毒性が含まれる。

【０１１５】

体重のμｇ／ｋｇ又はｍｇ／ｋｇという投与量単位は、μｇ／ｍｌ又はｍＭ（血中濃度）という同等の濃度単位に換算して表すことができることは、当業者には理解され、認識されるであろう。また、取り込みは種及び臓器／組織に依存することが理解される。取り込み及び濃度測定に関して適用可能な換算係数及び生理学的仮定は周知であり、当業者であれば、１つの濃度測定値を別の濃度測定値に換算し、本明細書に記載の用量、効能及び結果に関して合理的な比較及び結論付けを行うことができるであろう。

【０１１６】

いくつかの実施形態では、１００ｋｇあたり約10^{5}～約10^{13}の細胞が、１回の点滴につきヒトに投与される。いくつかの実施形態では、１００ｋｇあたり約1.5×10^{6}～約1.5×10^{12}の細胞が注入される。一部の実施形態では、１００ｋｇあたり約1×10^{9}～約5×10^{11}の細胞が注入される。いくつかの実施形態では、１００ｋｇあたり約4×10^{9}～約2×10^{11}の細胞が注入される。一部の実施形態では、１００ｋｇあたり約5×10^{8}細胞～約1×10^{11}細胞が注入される。いくつかの実施形態では、細胞の単回投与が提供される。いくつかの実施形態では、複数回の投与が提供される。いくつかの実施形態では、複数回の投与が３～７日間連続して行われる。いくつかの実施形態では、３～７回の投与が、３～７日間連続して提供される。いくつかの実施形態では、５回の投与が、５日間連続して提供される。いくつかの実施形態では、１００ｋｇあたり約10^{5}～約10^{13}の細胞の単回投与が提供される。いくつかの実施形態では、１００ｋｇあたり約1.5×10^{8}～約1.5×10^{12}の細胞の単回投与が提供される。いくつかの実施形態では、１００ｋｇあたり約1×10^{9}～約5×10^{11}の細胞の単回投与が提供される。いくつかの実施形態では、１００ｋｇあたり約5×10^{10}細胞の単回投与が提供される。いくつかの実施形態では、１００ｋｇあたり1×10^{10}細胞の単回投与が提供される。いくつかの実施形態では、１００ｋｇあたり約10^{5}～から約10^{13}の細胞の複数回の投与が提供される。いくつかの実施形態では、１００ｋｇあたり約1.5×10^{8}～約1.5×10^{12}の細胞の複数回の投与が提供される。いくつかの実施形態では、１００ｋｇあたり約1×10^{9}～約5×10^{11}の細胞の複数回の投与が、３～７日間連続して提供される。いくつかの実施形態では、１００ｋｇあたり約4×10^{9}の細胞の複数回の投与が、３～７日間連続して提供される。いくつかの実施形態では、１００ｋｇあたり約2×10^{11}の細胞の複数回の投与が、３～７日間連続して提供される。いくつかの実施形態では、約3.5×10^{9}の細胞の５回の投与が、連続する５日間にわたって提供される。いくつかの実施形態では、約4×10^{9}の細胞の５回の投与が、連続する５日間にわたって提供される。いくつかの実施形態では、約1.3×10^{11}細胞の５回の投与が、連続する５日間にわたって提供される。いくつかの実施形態では、約2×10^{11}の細胞の５回の投与が、連続する５日間にわたって提供される。

【０１１７】
ＶＩＩ．本開示のキット
本明細書に記載される細胞性組成物及び／又は非細胞性組成物のいずれか、又はそれらに類似するものが、キットに含まれ得る。非限定的な例では、線維芽細胞、線維芽細胞由来産物、又はそれらの誘導体（例えば、線維芽細胞由来のエクソソーム）を調製するための方法において使用するための１つ以上の試薬が、キットに含まれ得る。このような試薬としては、細胞、ベクター、１つ以上の成長因子、ベクター、１つ以上の共刺激因子、培地、酵素、緩衝液、ヌクレオチド、塩、プライマー、化合物などが挙げられる。キットの構成要素は適切な容器で提供される。
【０１１８】
キットの一部の成分は、水性媒体中又は凍結乾燥形態で包装され得る。キットの容器手段には、一般に、少なくとも１つのバイアル、試験管、フラスコ、瓶、注射器又は他の容器手段が含まれ、その中に成分を入れることができ、好ましくは、好適に分注することができる。キット中に２つ以上の成分が含まれる場合、キットは一般的に第２、第３又は他の追加の容器を含み、そこに追加の成分を別々に入れることができる。しかしながら、成分の様々な組み合わせがバイアルに含まれ得る。本開示のキットはまた、一般に、商業的販売のために成分を密閉して収容するための手段を含む。このような容器には、所望のバイアルが保持される射出成形又はブロー成形プラスチック容器が含まれ得る。
【０１１９】
キットの成分が１つ及び／又は複数の液体溶液で提供される場合、液体溶液は水溶液であり、無菌水溶液が特に有用である。場合によっては、容器手段はそれ自体が注射器、ピペット、及び／又は他のそのような器具であってもよく、あるいは所望の反応のための複数の区画を有する基板であってもよい。
【０１２０】
キットの一部の成分は乾燥粉末として提供され得る。試薬及び／又は成分が乾燥粉末として提供される場合、粉末は適切な溶媒の添加により再構成することができる。溶媒は、別の容器手段で提供されることも想定される。キットはまた、滅菌された許容可能な緩衝液及び／又は他の希釈剤を含むための第二の容器手段を含んでいてもよい。
【０１２１】
具体的な実施形態では、試薬及び材料には、所望の配列を増幅するためのプライマー、ヌクレオチド、適切な緩衝液又は緩衝試薬、塩などが含まれ、場合によっては、試薬には、特定の所望の細胞を単離するための装置又は試薬が含まれる。
【０１２２】
特定の実施形態では、個体から１つ以上のサンプルを抽出するのに適した１つ以上の器具がキット内に存在する。器具は、注射器、細い針、メスなどであってもよい。
【０１２３】
本開示及びその利点について詳細に説明したが、添付の特許請求の範囲によって定義される設計の精神及び範囲から逸脱することなく、本明細書において様々な変更、置換及び改変を行うことができることを理解されたい。さらに、本出願の範囲は、本明細書に記載されたプロセス、機械、製造、物質組成、手段、方法及びステップの特定の実施形態に限定されることを意図するものではない。当業者であれば、本開示から容易に理解されるように、本明細書に記載される対応する実施形態と実質的に同じ機能を果たすか、又は実質的に同じ結果を達成する、現在存在するか、又は後に開発されるプロセス、機械、製造、物質組成物、手段、方法、又はステップが、本開示に従って利用され得る。従って、添付の特許請求の範囲は、そのようなプロセス、機械、製造、物質組成物、手段、方法、又はステップをその範囲内に含むことを意図している。
【０１２４】
本明細書において開示され、特許請求される全ての方法は、本開示に照らして過度の実験を行うことなく製造及び実行することができる。本開示の組成物及び方法は、好ましい実施形態の観点から記載されているが、本開示の概念、精神及び範囲から逸脱することな

く、本明細書に記載される方法のステップ又はステップの順序において、方法に変形が適用され得ることは、当業者には明らかであろう。より具体的には、化学的及び生理学的に関連する特定の薬剤を、本明細書に記載される薬剤の代わりに用いても、同じ又は類似の結果が得られることは明らかであろう。当業者に明らかなそのような類似の代替物及び改変はすべて、添付の特許請求の範囲によって定義される本開示の精神、範囲及び概念の範囲内であるとみなされる。

【０１２５】

参考文献

以下の参考文献は、それらが本明細書に記載されたものを補足する例示的な手順又は他の詳細を提供する限りにおいて、参照により本明細書に具体的に組み込まれる。

1. Clark, R.A. and T.S. Kupper, IL-15 and dermal fibroblasts induce proliferation of natural regulatory T cells isolated from human skin. Blood, 2007. 109(1): p. 194-202.
2. Wood, G.W., Macrophages in the thymus. Surv Immunol Res, 1985. 4(3): p. 179-91.
3. Akashi, K., et al., B lymphopoiesis in the thymus. J Immunol, 2000. 164(10): p. 5221-6.
4. Proietto, A.I., et al., Dendritic cells in the thymus contribute to T-regulatory cell induction. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008. 105(50): p. 19869-74.
5. Wang, H., et al., Myeloid cells activate iNKT cells to produce IL-4 in the thymic medulla. Proc Natl Acad Sci U S A, 2019. 116(44): p. 22262-22268.
6. Wang, W., et al., Thymic Function Associated With Cancer Development, Relapse, and Antitumor Immunity - A Mini-Review. Front Immunol, 2020. 11: p. 773.
7. Oh, J., et al., Thymic rejuvenation via FOXN1-reprogrammed embryonic fibroblasts (FREFs) to counteract age-related inflammation. JCI Insight, 2020. 5(18).
8. Chaudhry, M.S., et al., Thymus: the next (re)generation. Immunol Rev, 2016. 271(1): p. 56-71.
9. Sun, L., et al., FSP1(+) fibroblast subpopulation is essential for the maintenance and regeneration of medullary thymic epithelial cells. Sci Rep, 2015. 5: p. 14871.
10. Singh, J., et al., Thymic Engraftment by in vitro-Derived Progenitor T Cells in Young and Aged Mice. Front Immunol, 2020. 11: p. 1850.
11. Park, H.J., et al., Up-regulation of VEGF expression by NGF that enhances reparative angiogenesis during thymic regeneration in adult rat. Biochim Biophys Acta, 2007. 1773(9): p. 1462-72.
12. Shichkin, V.P. and M. Antica, Thymus Regeneration and Future Challenges. Stem Cell Rev Rep, 2020. 16(2): p. 239-250.
13. Hamazaki, Y., M. Sekai, and N. Minato, Medullary thymic epithelial stem cells: role in thymic epithelial cell maintenance and thymic involution. Immunol Rev, 2016. 271(1): p. 38-55.
14. Alawam, A.S., G. Anderson, and B. Lucas, Generation and Regeneration of Thymic Epithelial Cells. Front Immunol, 2020. 11: p. 858.
15. Xu, M., et al., MicroRNA Functions in Thymic Biology: Thymic Development and Involution. Front Immunol, 2018. 9: p. 2063.
16. Xu, M., et al., MicroRNAs Regulate Thymic Epithelium in Age-Related Thymic Involution via Down- or Upregulation of Transcription Factors

. J Immunol Res, 2017. 2017: p. 2528957.
17. Zuklys, S., et al., MicroRNAs control the maintenance of thymic epithelia and their competence for T lineage commitment and thymocyte selection. J Immunol, 2012. 189(8): p. 3894-904.
18. Bredenkamp, N., C.S. Nowell, and C.C. Blackburn, Regeneration of the aged thymus by a single transcription factor. Development, 2014. 141(8): p. 1627-37.

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 23/61809

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC - INV. A61K 35/12, C07K 14/475, A61K 38/17 (2023.01)
ADD. A61K 38/18 (2023.01)

CPC - INV. A61K 35/12, C07K 14/475, A61K 38/17

ADD. A61K 38/18

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

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
See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Han et al., "A 2020 View of Thymus Stromal Cells in T Cell Development" 15 January 2023 (15.01.2021) entire document especially Page 249, Para 3; Page 252, Para 6	1-4
A	US 2008/0279812 A1 (Boyd et al.) 13 November 2008 (13.11.2008) entire document	1-4
A	US 2010/0178700 A1 (Fletcher et al.) 15 July 2010 (15.07.2010) entire document	1-4
A	US6338953B1 (Boyce et al.) 15 January 2002 (15.01.2002) entire document	1-4

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ 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
"D" document cited by the applicant in the international application
"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
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
16 April 2023	JUL 20 2023
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Kari Rodriquez Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 23/61809

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 5-17, 21-24
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I: Claims 1-4, directed to a method of regenerating thymus tissue in an individual, comprising the step of administering an effective amount of a population of cells to the individual; wherein the population of cells comprises unmodified or modified fibroblasts, unmodified or modified immune cells, activated or non-activated fibroblasts, activated or non-activated immune cells, fibroblast derivatives, immune cell derivatives, or a combination thereof, thereby resulting in regeneration of thymus tissue in the individual.

****

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-4

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 23/61809

Box III Continued

Group II: Claims 18-20, directed to an in vitro method of producing activated or non-activated fibroblasts, derivatives of activated fibroblasts, activated or non-activated immune cells, derivatives of activated or non-activated immune cells, or a combination thereof, comprising the step of exposing fibroblasts and/or immune cells to one or more conditions that induce activation, wherein the activated fibroblasts, derivatives of activated fibroblasts, activated immune cells, and/or derivatives of activated immune cells comprise activity for regenerating thymus tissue.

Group III: Claims 25, directed to a method of stimulating, improving, or increasing production and/or activity of cells in a thymus in an individual, comprising the step of providing to the individual an effective amount of activated fibroblasts, derivatives of activated fibroblasts, activated immune cells, derivatives of activated immune cells, or a combination thereof.

The group of inventions listed above do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special Technical Features:

Group I requires the special technical feature of a method of regenerating thymus tissue in an individual, comprising the step of administering an effective amount of a population of cells to the individual, thereby resulting in regeneration of thymus tissue in the individual, not required by Groups II and III.

Group II requires the special technical feature of an in vitro method of producing activated or non-activated fibroblasts, derivatives of activated fibroblasts, activated or non-activated immune cells, derivatives of activated or non-activated immune cells, or a combination thereof, comprising the step of exposing fibroblasts and/or immune cells to one or more conditions that induce activation, wherein the activated fibroblasts, derivatives of activated fibroblasts, activated immune cells, and/or derivatives of activated immune cells comprise activity for regenerating thymus tissue, not required by Groups I and III.

Group III requires the special technical feature of a method of stimulating, improving, or increasing production and/or activity of cells in a thymus in an individual, comprising the step of providing to the individual an effective amount of activated fibroblasts, derivatives of activated fibroblasts, activated immune cells, derivatives of activated immune cells, or a combination thereof, not required by Groups I and II.

Common Technical Features:

Groups I-III share the technical feature of wherein the population of cells comprises unmodified or modified fibroblasts, unmodified or modified immune cells, activated or non-activated fibroblasts, activated or non-activated immune cells, fibroblast derivatives, immune cell derivatives, or a combination thereof

These shared technical features, however, do not provide a contribution over the prior art, as being anticipated by the article entitled "A 2020 View of Thymus Stromal Cells in T Cell Development" to Han et al. (hereinafter "Han").

Han teaches wherein the population of cells comprises unmodified or modified fibroblasts, unmodified or modified immune cells, activated or non-activated fibroblasts (Page 252, Para 6 "The significance of the transcription factor FoxN1 to thymopoiesis has been appreciated since the identification of its mutation as the genetic cause of the athymic nude (nu/nu) phenotype (72). It was further reinforced by the observation that forced expression of FoxN1 alone was enough to induce mouse embryonic fibroblasts to become functional TECs that support T cell development both in vitro and in vivo when engrafted under the kidney capsule"), activated or non-activated immune cells, fibroblast derivatives, immune cell derivatives, or a combination thereof.

As the technical features were known in the art at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups. Groups I-III therefore lack unity under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

Item 4 continued: Claims 5-17, 21-24 determined unsearchable because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
A61P 37/04 (2006.01)		A61P	37/04		
A61K 31/7105(2006.01)		A61K	31/7105		
A61K 31/713 (2006.01)		A61K	31/713		
A61P 43/00 (2006.01)		A61P	43/00	121	
A61K 38/19 (2006.01)		A61K	38/19		
A61K 38/18 (2006.01)		A61K	38/18		
A61K 38/22 (2006.01)		A61K	38/22		
C12N 15/11 (2006.01)		C12N	15/11	Z	
C12N 5/078(2010.01)		C12N	5/078		
C12N 5/071(2010.01)		C12N	5/071		
C07K 14/475 (2006.01)		C07K	14/475		
C07K 14/52 (2006.01)		C07K	14/52		
C07K 14/575 (2006.01)		C07K	14/575		
C07K 14/47 (2006.01)		C07K	14/47		

,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,ME,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,NE,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,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,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

アメリカ合衆国 テキサス州 ７７２８９、ヒューストン、ピーオー ボックス ８９１１４６ フィブロバイオロジクス インコーポレイテッド内

Ｆターム（参考） 4B065 AA93X AA94X AC20 BA30 CA44 CA46
4C084 AA02 AA13 AA19 BA44 DA01 DB01 DB52 MA02 NA05 ZB091 ZB092 ZC75
4C086 AA01 EA16 MA02 MA04 NA05 NA14 ZB09 ZB21 ZC75
4C087 AA01 AA02 AA03 BB64 MA02 NA05 NA14 ZB09 ZC75
4H045 AA10 AA20 AA30 DA01 DA30 EA24