(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-516714
(P2025-516714A)
(43)公表日　令和7年5月30日(2025.5.30)

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*31/436 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/436	４Ｂ０６５
Ａ６１Ｋ	*35/15 (2025.01)*	Ａ６１Ｋ	35/15	４Ｃ０７６
Ａ６１Ｋ	*35/17 (2025.01)*	Ａ６１Ｋ	35/17	４Ｃ０８４
Ａ６１Ｋ	*35/28 (2015.01)*	Ａ６１Ｋ	35/28	４Ｃ０８５
Ａ６１Ｋ	*35/545 (2015.01)*	Ａ６１Ｋ	35/545	４Ｃ０８６

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全38頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-567558(P2024-567558)
(86)(22)出願日　令和5年5月11日(2023.5.11)
(85)翻訳文提出日　令和7年1月14日(2025.1.14)
(86)国際出願番号　PCT/US2023/066897
(87)国際公開番号　WO2023/220690
(87)国際公開日　令和5年11月16日(2023.11.16)
(31)優先権主張番号　63/364,607
(32)優先日　令和4年5月12日(2022.5.12)
(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,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
最終頁に続く

(71)出願人　524415940
アイトレランス インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 フロリダ州 ３３１３６
マイアミ ノースウエスト セブンス ア
ヴェニュー １９５１ ＃３００
(74)代理人　100103610
弁理士　▲吉▼田 和彦
(74)代理人　100109070
弁理士　須田 洋之
(74)代理人　100119013
弁理士　山崎 一夫
(74)代理人　100111796
弁理士　服部 博信
(74)代理人　100123766
弁理士　松田 七重
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ＦＡＳＬミクロゲルを用いた一過性シロリムス

(57)【要約】
本明細書で提供されるのは、移植片細胞に対する免疫寛容を誘導することを、それを必要とするヒト患者において行う方法であって、患者に、（ｉ）移植片細胞、（ｉｉ）ヒドロゲルにコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質、及び（ｉｉｉ）一過性シロリムスを投与することを含む、方法である。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
移植片細胞に対する免疫寛容を誘導することを、それを必要とするヒト患者において行う方法であって、前記方法は、前記ヒト患者に、（ｉ）前記移植片細胞、（ｉｉ）ヒドロゲルにコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質、及び（ｉｉｉ）シロリムスを投与することを含み、前記シロリムスは、３６週間以下、任意選択により、２４週間以下投与される、前記方法。
【請求項２】
シロリムスが、約４ｎｇ／ｍＬ～約１６ｎｇ／ｍＬまたは約９ｎｇ／ｍＬ～約１６ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する初期用量で投与される、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
シロリムスが、約４ｎｇ／ｍＬ～約１５ｎｇ／ｍＬまたは約９ｎｇ／ｍＬ～約１５ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する初期用量で投与される、請求項１に記載の方法。
【請求項４】
シロリムスが、約９ｎｇ／ｍＬ～約１３ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する初期用量で投与される、請求項１に記載の方法。
【請求項５】
前記初期用量が、約１２週間以下の初期期間にわたって投与される、請求項２～４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項６】
前記シロリムスが、漸減レジメンで漸減期間にわたって投与され、任意選択により、前記漸減レジメンは、前記初期用量の前記初期期間後に投与される、請求項１～５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７】
前記漸減レジメンが、前記初期用量の前記初期期間後に行われ、第１の漸減期間にわたって投与される第１の漸減用量及び第２の漸減期間にわたって投与される第２の漸減用量を含む、請求項６に記載の方法。
【請求項８】
前記第１の漸減用量が、約４ｎｇ／ｍＬ～約１１ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する、請求項７に記載の方法。
【請求項９】
前記第１の漸減用量が、約４ｎｇ／ｍＬ～約１１ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する、請求項７に記載の方法。
【請求項１０】
前記第１の漸減期間が、（ｉ）約２週間以下または（ｉｉ）約１週間～約２週間である、請求項７～９のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１１】
前記第２の漸減用量が、約４ｎｇ／ｍＬ～約９ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する、請求項７～１０のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１２】
前記第２の漸減用量が、約５ｎｇ／ｍＬ～約９ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する、請求項７～１０のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１３】
前記第２の漸減期間が、（ｉ）約２週間以下または（ｉｉ）約１週間～約２週間である、請求項７～１２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１４】
前記漸減レジメンが、第３の漸減期間にわたって投与される第３の漸減用量を更に含む、請求項７～１３のいずれか１項に記載の方法。

【請求項１５】
前記第３の漸減用量が、約３ｎｇ／ｍＬ～約７ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する、請求項１４に記載の方法。
【請求項１６】
前記第３の漸減期間が、（ｉ）約２週間以下または（ｉｉ）約１週間～約２週間である、請求項１４または１５に記載の方法。
【請求項１７】
前記漸減レジメンが、第４の漸減期間にわたって投与される第４の漸減用量を更に含む、請求項１４～１６のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１８】
前記第４の漸減用量が、約１ｎｇ／ｍＬ～約５ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する、請求項１７に記載の方法。
【請求項１９】
前記第４の漸減期間が、（ｉ）約２週間以下または（ｉｉ）約１週間～約２週間である、請求項１７または１８に記載の方法。
【請求項２０】
前記漸減レジメンが、第５の漸減期間にわたって投与される第５の漸減用量を更に含む、請求項１７～１９のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２１】
前記第５の漸減用量が、約０ｎｇ／ｍＬ～約３ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する、請求項２０に記載の方法。
【請求項２２】
前記第５の漸減期間が、（ｉ）約２週間以下または（ｉｉ）約１週間～約２週間である、請求項２０または２１に記載の方法。
【請求項２３】
前記漸減レジメンが、約４ｎｇ／ｍＬ～約１１ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持すること、約４ｎｇ／ｍＬ～約９ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持すること、約３ｎｇ／ｍＬ～約７ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持すること、約１ｎｇ／ｍＬ～約５ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持すること、及び／または約０ｎｇ／ｍＬ～約３ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持することを含む、請求項６～２２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２４】
前記漸減レジメンが、約７ｎｇ／ｍＬ～約１１ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持すること、約５ｎｇ／ｍＬ～約９ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持すること、約３ｎｇ／ｍＬ～約７ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持すること、約１ｎｇ／ｍＬ～約５ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持すること、及び／または約０ｎｇ／ｍＬ～約３ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持することを含む、請求項６～２２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２５】
前記漸減期間が、（ｉ）約１２週間以下または（ｉｉ）約６週間～約１２週間である、請求項６～２４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２６】
前記対象に、間葉系幹細胞、抗ＣＤ２０剤、及び／または抗ＣＤ４７剤を投与することを更に含む、請求項１～２５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２７】
前記抗ＣＤ２０剤が、リツキシマブである、請求項２６に記載の方法。
【請求項２８】
前記移植片細胞が、ＰＢＭＣ、骨髄細胞、造血幹細胞、幹細胞、幹細胞由来細胞、間葉

系幹細胞、樹状細胞、自己抗原でパルスした樹状細胞、ヒトベータ細胞産物、膵島細胞、同種島細胞、肝細胞、及び脾細胞から選択される、請求項１～２７のいずれか１項に記載の方法。

【請求項２９】

前記移植片細胞が、膵島細胞またはインスリン産生幹細胞に由来する膵島細胞である、請求項２８に記載の方法。

【請求項３０】

前記移植片細胞が、肝細胞である、請求項２８に記載の方法。

【請求項３１】

前記移植片細胞が、幹細胞または幹細胞由来細胞である、請求項２８に記載の方法。

【請求項３２】

前記移植片細胞が、死亡したドナーに由来する、請求項１～３１のいずれか１項に記載の方法。

【請求項３３】

前記移植片細胞が、同種異系である、請求項１～３１のいずれか１項に記載の方法。

【請求項３４】

前記キメラＦａｓＬタンパク質が、ＦａｓＬ部分及びストレプトアビジン部分またはアビジン部分を含み、任意選択により、前記キメラＦａｓＬキメラタンパク質が、前記ＦａｓＬ部分と前記ストレプトアビジン部分またはアビジン部分との間にリンカーを更に含む、請求項１～３３のいずれか１項に記載の方法。

【請求項３５】

前記キメラＦａｓＬタンパク質が、ＦａｓＬ部分及びストレプトアビジン部分を含む、請求項３４に記載の方法。

【請求項３６】

前記ＦａｓＬ部分が、マトリックスメタロプロテアーゼ耐性ＦａｓＬタンパク質である、請求項３４または３５に記載の方法。

【請求項３７】

前記キメラＦａｓＬタンパク質が、配列番号４のアミノ酸配列を含む、請求項１～３６のいずれか１項に記載の方法。

【請求項３８】

前記キメラＦａｓＬタンパク質が、ビオチンを介して、前記ヒドロゲルにコンジュゲートされる、請求項１～３７のいずれか１項に記載の方法。

【請求項３９】

前記ヒドロゲルが、ミクロゲルである、請求項１～３８のいずれか１項に記載の方法。

【請求項４０】

前記ミクロゲルが、約１２５マイクロメートル～約１７５マイクロメートルである、請求項３９に記載の方法。

【請求項４１】

前記ミクロゲルが、約１５０マイクロメートルである、請求項４０に記載の方法。

【請求項４２】

前記ヒドロゲルが、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）ミクロゲルである、請求項１～４１のいずれか１項に記載の方法。

【請求項４３】

前記ヒドロゲルが、ビオチン部分を提示するように操作される、請求項１～４２のいずれか１項に記載の方法。

【請求項４４】

前記移植片細胞が、前記ヒドロゲルに包埋されない、請求項１～４３のいずれか１項に記載の方法。

【請求項４５】

２：１の比率のヒドロゲル：移植細胞が投与される、請求項１～４４のいずれか１項に

記載の方法。
【請求項４６】
前記移植片細胞に対する免疫寛容が、１型糖尿病を治療するために誘導される、請求項１～２９及び３１～４５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項４７】
前記ヒト患者１キログラムあたり少なくとも５，０００個の島相当量が投与される、請求項４６に記載の方法。
【請求項４８】
前記移植片細胞に対する免疫寛容が、肝不全を治療するために誘導される、請求項１～２８及び３０～４５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項４９】
前記移植片細胞及び前記ヒドロゲルにコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質が、網に投与される、請求項１～４８のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５０】
前記シロリムスが、経口投与される、請求項１～４９のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５１】
前記シロリムスが、経口液剤として投与される、請求項５０に記載の方法。
【請求項５２】
前記シロリムスが、経口錠剤として投与される、請求項５０に記載の方法。
【請求項５３】
前記シロリムスが、１日１回投与される、請求項１～５２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５４】
前記シロリムス投与が、前記移植片細胞及び前記ヒドロゲルにコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質が前記ヒト対象に投与される日と同じ日または5日前までに開始される、請求項１～５３のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５５】
前記シロリムスの投与中に、予防的な抗ウイルス剤及び抗菌剤を投与することを更に含む、請求項１～５４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５６】
前記予防的な抗ウイルス剤が、ファムシクロビルである、請求項５５に記載の方法。
【請求項５７】
前記抗菌剤が、スルファメトキサゾール及び／またはトリメトプリムを含む、請求項５６または５７に記載の方法。
【請求項５８】
請求項１～５７のいずれか１項に記載の方法に従ってヒト患者において免疫寛容を誘導するための、ヒドロゲルにコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質の使用。
【請求項５９】
請求項１～５７のいずれか１項に記載の方法に従って免疫寛容の誘導に使用するための、ヒドロゲルにコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０２２年5月１２日に出願された米国仮出願第６３／３６４，６０７号の優先権の利益を主張するものであり、その全体が参照により本明細書に援用される。
【０００２】
電子的に提出された配列表の参照
本出願とともに提出された、電子的に提出された配列表の内容（ファイル名：４９９９＿００３ＰＣ０１＿ＳｅｑｕｅｎｃｅＬｉｓｔｉｎｇ＿ＳＴ２６；サイズ：８，３７３バ

イト；及び作成日：２０２３年５月５日）は、その全体が参照により本明細書に援用される。

【背景技術】

【０００３】

同種異系移植片細胞の移植は、移植片を生存させるために、宿主の免疫攻撃に対する慢性的な免疫抑制が必要となるために制限されている。慢性的な免疫抑制を伴わずに同種異系移植片の長期生存を達成させることは、依然として、臨床移植において実現が難しい目標である。生涯にわたる免疫抑制は、がん、腎機能障害、及びベータ細胞毒性のリスクを含む、罹患率及び死亡率の重大なリスクを伴うものであり、感染症を予防するために、慢性的な予防のための抗ウイルス剤、抗真菌剤、及び抗菌剤などの補助療法の使用を要する。慢性的な免疫抑制を解除することは、これらのリスクを排除し、移植片細胞移植を受けている患者の感情的、心理社会的、生活の質、及び健康管理の費用を削減する上で、計り知れない有益な影響をもたらし得る。したがって、慢性的な免疫抑制を用いることなく、移植片細胞を移植する方法に対するアンメットメディカルニーズが存在する。

【発明の概要】

【０００４】

本明細書で提供されるのは、慢性的な免疫抑制を必要とせず、移植片の長期生存を達成する、同種異系移植片細胞を移植する方法である。方法は、移植片細胞及びヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）にコンジュゲートされたＦａｓリガンド（ＦａｓＬ）を、シロリムスの一過性レジメンとともに投与することを含む。

【０００５】

いくつかの態様において、移植片細胞に対する免疫寛容を誘導することを、それを必要とするヒト患者において行う方法は、ヒト患者に、（ｉ）移植片細胞、（ｉｉ）ヒドロゲルにコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質、及び（ｉｉｉ）シロリムスを投与することを含み、シロリムスは、３６週間以下、任意選択により、２４週間以下投与される。

【０００６】

いくつかの態様において、シロリムスは、約４ｎｇ／ｍＬ～約１６ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する初期用量で投与される。いくつかの態様において、シロリムスは、約９ｎｇ／ｍＬ～約１６ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する初期用量で投与される。いくつかの態様において、シロリムスは、約４ｎｇ／ｍＬ～約１５ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する初期用量で投与される。いくつかの態様において、シロリムスは、約９ｎｇ／ｍＬ～約１５ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する初期用量で投与される。いくつかの態様において、シロリムスは、約９ｎｇ／ｍＬ～約１３ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する初期用量で投与される。いくつかの態様において、初期用量は、約１２週間以下の初期期間にわたって投与される。いくつかの態様において、初期用量は、約１週間～約１２週間の初期期間にわたって投与される。いくつかの態様において、初期用量は、約６週間～約１２週間の初期期間にわたって投与される。

【０００７】

いくつかの態様において、シロリムスは、漸減期間の漸減レジメンで投与される。いくつかの態様において、漸減レジメンは、初期用量の初期期間後に投与される。いくつかの態様において、漸減レジメンは、初期用量の初期期間後に行われ、第１の漸減期間にわたって投与される第１の漸減用量及び第２の漸減期間にわたって投与される第２の漸減用量を含む。いくつかの態様において、第１の漸減用量は、約４ｎｇ／ｍＬ～約１１ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する。いくつかの態様において、第１の漸減用量は、約４ｎｇ／ｍＬ～約１１ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する。いくつかの態様において、第１の漸減期間は、約２週間以下である。いくつかの態様において、第１の漸減期間は、約１週間～約２週間である。

【０００８】

いくつかの態様において、第２の漸減用量は、約４ｎｇ／ｍＬ～約９ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する。いくつかの態様において、第２の漸減用量は、約５ｎｇ／ｍＬ～約９ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する。いくつかの態様において、第２の漸減期間は、約２週間以下である。いくつかの態様において、第２の漸減期間は、約１週間～約２週間である。

【０００９】

いくつかの態様において、漸減レジメンは、第３の漸減期間にわたって投与される第３の漸減用量を更に含む。いくつかの態様において、第３の漸減用量は、約３ｎｇ／ｍＬ～約７ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する。いくつかの態様において、第３の漸減期間は、約２週間以下である。いくつかの態様において、第３の漸減期間は、約１週間～約２週間である。

【００１０】

いくつかの態様において、漸減レジメンは、第４の漸減期間にわたって投与される第４の漸減用量を更に含む。いくつかの態様において、第４の漸減用量は、約１ｎｇ／ｍＬ～約５ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する。いくつかの態様において、第４の漸減期間は、約２週間以下である。いくつかの態様において、第４の漸減期間は、約１週間～約２週間である。

【００１１】

いくつかの態様において、漸減レジメンは、第５の漸減期間にわたって投与される第５の漸減用量を更に含む。いくつかの態様において、第５の漸減用量は、約０ｎｇ／ｍＬ～約３ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する。いくつかの態様において、第５の漸減期間は、約２週間以下である。いくつかの態様において、第５の漸減期間は、約１週間～約２週間である。

【００１２】

いくつかの態様において、漸減レジメンは、約４ｎｇ／ｍＬ～約１１ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持すること、約４ｎｇ／ｍＬ～約９ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持すること、約３ｎｇ／ｍＬ～約７ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持すること、約１ｎｇ／ｍＬ～約５ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持すること、及び／または約０ｎｇ／ｍＬ～約３ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持することを含む。

【００１３】

いくつかの態様において、漸減レジメンは、約７ｎｇ／ｍＬ～約１１ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持すること、約５ｎｇ／ｍＬ～約９ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持すること、約３ｎｇ／ｍＬ～約７ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持すること、約１ｎｇ／ｍＬ～約５ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持すること、及び／または約０ｎｇ／ｍＬ～約３ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持することを含む。

【００１４】

いくつかの態様において、漸減期間は、（ｉ）約１２週間以下または（ｉｉ）約６週間～約１２週間である。

【００１５】

いくつかの態様において、本明細書で提供される方法は、対象に、間葉系幹細胞、抗ＣＤ２０剤、及び／または抗ＣＤ４７剤を投与することを更に含む。いくつかの態様において、抗ＣＤ２０剤は、リツキシマブである。

【００１６】

いくつかの態様において、移植片細胞は、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）、骨髄細胞、造血幹細胞、幹細胞、幹細胞由来細胞、間葉系幹細胞、樹状細胞、自己抗原でパルスした樹状細胞、ヒトベータ細胞産物、膵島細胞、同種島細胞、肝細胞、及び脾細胞から選択される。いくつかの態様において、移植片細胞は、膵島細胞またはインスリン産生幹細胞に由来する膵島細胞である。いくつかの態様において、移植片細胞は、肝細胞である。いくつ

かの態様において、移植片細胞は、幹細胞または幹細胞由来細胞である。いくつかの態様において、移植片細胞は、死亡したドナーに由来する。いくつかの態様において、移植片細胞は、同種異系である。

【００１７】

いくつかの態様において、キメラＦａｓＬタンパク質は、ＦａｓＬ部分と、ストレプトアビジン部分またはアビジン部分とを含む。いくつかの態様において、キメラＦａｓＬキメラタンパク質は、ＦａｓＬ部分とストレプトアビジン部分またはアビジン部分との間にリンカーを更に含む。いくつかの態様において、キメラＦａｓＬタンパク質は、ＦａｓＬ部分及びストレプトアビジン部分を含む。いくつかの態様において、ＦａｓＬ部分は、マトリックスメタロプロテアーゼ耐性ＦａｓＬタンパク質である。いくつかの態様において、キメラＦａｓＬタンパク質は、配列番号４のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、キメラＦａｓＬタンパク質は、ビオチンを介してヒドロゲルにコンジュゲートされる。

【００１８】

いくつかの態様において、ヒドロゲルは、ミクロゲルである。いくつかの態様において、ミクロゲルは、約１２５マイクロメートル～約１７５マイクロメートルである。いくつかの態様において、ミクロゲルは、約１５０マイクロメートルである。いくつかの態様において、ヒドロゲルは、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）ミクロゲルである。いくつかの態様において、ヒドロゲルは、ビオチン部分を提示するように操作される。

【００１９】

いくつかの態様において、移植片細胞は、ヒドロゲルに包埋されない。

【００２０】

いくつかの態様において、２：１の比のヒドロゲル：移植細胞が投与される。

【００２１】

いくつかの態様において、移植片細胞に対する免疫寛容は、１型糖尿病を治療するために誘導される。いくつかの態様において、ヒト患者１キログラムあたり少なくとも５，０００個の島等価物が投与される。

【００２２】

いくつかの態様において、移植片細胞に対する免疫寛容は、肝不全を治療するために誘導される。

【００２３】

いくつかの態様において、移植片細胞及びヒドロゲルにコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質は、網に投与される。

【００２４】

いくつかの態様において、シロリムスは、経口投与される。いくつかの態様において、シロリムスは、経口液剤として投与される。いくつかの態様において、シロリムスは、経口錠剤として投与される。いくつかの態様において、シロリムスは、１日１回投与される。いくつかの態様において、シロリムス投与は、移植片細胞及びヒドロゲルにコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質がヒト対象に投与される日と同じ日または５日前までに開始される。

【００２５】

いくつかの態様において、方法は、シロリムスの投与中に、予防的な抗ウイルス剤及び抗菌剤を投与することを更に含む。いくつかの態様において、予防的な抗ウイルス剤は、ファムシクロビルである。いくつかの態様において、抗菌剤は、スルファメトキサゾール及び／またはトリメトプリムを含む。

【００２６】

また、本明細書で提供される任意の方法に従ってヒト患者において免疫寛容を誘導するための、ヒドロゲルにコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質の使用も本明細書において提供される。

【００２７】

また、本明細書で提供される任意の方法に従って免疫寛容の誘導に使用するための、ヒドロゲルにコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質も本明細書において提供される。

【図面の簡単な説明】

【００２８】

【図１】島移植のためのストレプトアビジン（ＳＡ）－ＦａｓＬ提示ミクロゲルの局所的な表示を示す。Ａは、マイクロ流体で架橋し、ＳＡ－ＦａｓＬを捕捉及び提示させることによって作製された合成ビオチン－ＰＥＧミクロゲルを示す。ＳＡ－ＦａｓＬ提示ミクロゲル及び島を、自己血漿及びトロンビンを使用して非ヒト霊長類（ＮＨＰ）の網表面上に固定化し、網表面上に免疫受容を誘導する。Ｂは、ドナー及び糖尿病の主要組織適合遺伝子複合体（ＭＨＣ）が一致しないレシピエントＮＨＰ及び治療プロトコルを説明する図を示す。ＳＡ－ＦａｓＬ提示ミクロゲルを用いた一過性シロリムス単剤療法（ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲル、ｎ＝４）；対照ミクロゲルを用いた一過性シロリムス単剤療法（ミクロゲル、ｎ＝３）。（実施例１を参照されたい。）

【図２Ａ】ＳＡ－ＦａｓＬ提示ミクロゲルが同種島移植片受容を誘導することを示す。ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲル（ｎ＝４）及びミクロゲル（ｎ＝３）における同種島移植片のカプラン・マイヤー生存曲線を示す（マンテル・コックス検定、Ｐ＝０．０１０）。平均移植片生存時間は、ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲル：＞１８０日、ミクロゲル：２７．７日。

【図２Ｂ】ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルＮＨＰにおける非空腹時血糖値（平均：実線；ＳＥＭ：点線、左軸）及び１日の総外部インスリン必要量（ＥＩＲ）（平均：白棒；下側ＳＥＭ：網掛け棒、右軸）を示す。ＳＴＺ誘導後であるが移植前（ＳＴＺ後と定義）の動物は、高い血糖値及び外部インスリンの必要性を示した。死亡ドナー島及びＳＡ－ＦａｓＬ－ミクロゲルの共移植（Ｔｘ）後、ＮＨＰは、迅速に正常血糖となり、外部インスリン必要量が有意に減少した。動物は、移植片を除去すると高血糖状態に戻った（血糖値：濃い破線、左軸；総外部インスリン必要量、縞模様の棒、右軸）。

【図２Ｃ】ＳＡ－ＦａｓＬ－ミクロゲルＮＨＰにおける糖尿病の誘導前（ＳＴＺ前）及び誘導後（ＳＴＺ後）、移植後３ヶ月及び６ヶ月、ならびに移植片除去後でのグルコースＩＶ注入後の血糖値を示す。

【図２Ｄ】ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルＮＨＰにおける糖尿病の誘導前（ナイーブ）及び誘導後、移植後３ヶ月及び６ヶ月、ならびに移植片除去後（ＰＧＲ）での空腹時（Ｆ）及び刺激後（Ｓ）の血清中インスリン（左軸）及びＣペプチド（右軸）の濃度を示す。

【図２Ｅ】ミクロゲルＮＨＰにおける非空腹時血糖値（濃い破線；ＳＥＭ：点線、左軸）及び１日の総外部インスリン必要量（平均：白棒；下側ＳＥＭ：灰色棒、右軸）を示す。ＮＨＰは、移植（Ｔｘ）後に正常血糖に回復したが、移植後１ヶ月前後で高血糖になり、より多くの外部インスリンを必要とした。

【図２Ｆ】ミクロゲルＮＨＰにおける糖尿病前の状態（ＳＴＺ前）、糖尿病誘発後（ＳＴＺ後）、及び移植後１ヶ月でのＩＶ注入後の血糖を示す。

【図２Ｇ】ミクロゲルＮＨＰにおける糖尿病の誘導前及び誘導後及び移植後１ヶ月での空腹時（Ｆ）及び刺激後（Ｓ）の血清中インスリン（左軸）及びＣ－１７２ペプチド（右軸）の濃度を示す。（実施例１を参照されたい。）

【図３】ミクロゲル及びＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルＮＨＰの切片における総細胞数及び平均強度に関するＦｏｘＰ３$^{+}$細胞の組織学分析の定量化を示し、ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルＮＨＰにおいてT_{reg}の存在比率が増加していることを示している（ネストした両側ｔ検定）。プロットは、各ＮＨＰのデータ点を異なる色で示し、ＮＨＰごとに最低３つの代表的な画像を分析した。（実施例１を参照されたい。）

【図４－１】ＳＡ－ＦａｓＬ－ミクロゲルの局所送達が末梢血リンパ球集団に変化を与えないことを示す。これらの図では、ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルで処置したＮＨＰ（四角破線、平均、ＳＥＭ、ｎ＝３～４）及びミクロゲルを投与したレシピエント（三角実線、平均、ＳＥＭ、ｎ＝３）における、循環している（Ａ）ＣＤ３$^{+}$、（Ｂ）ＣＤ２０$^{+}$、（Ｃ）ＣＤ４$^{+}$、（Ｄ）ＣＤ８$^{+}$細胞の数。

【図４－２】ＳＡ－ＦａｓＬ－ミクロゲルの局所送達が末梢血リンパ球集団に変化を与えないことを示す。これらの図では、ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルで処置したＮＨＰ（四角破線、平均、ＳＥＭ、ｎ＝３～４）及びミクロゲルを投与したレシピエント（三角実線、平均、ＳＥＭ、ｎ＝３）における、ナイーブ（Ｔｎ）（Ｅ）ＣＤ４$^+$及び（Ｆ）ＣＤ８$^+$、エフェクターメモリー（ＥＭ）（Ｇ）ＣＤ４$^+$及び（Ｈ）ＣＤ８$^+$リンパ球の数。

【図４－３】ＳＡ－ＦａｓＬ－ミクロゲルの局所送達が末梢血リンパ球集団に変化を与えないことを示す。これらの図では、ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルで処置したＮＨＰ（四角破線、平均、ＳＥＭ、ｎ＝３～４）及びミクロゲルを投与したレシピエント（三角実線、平均、ＳＥＭ、ｎ＝３）における、セントラルメモリー（ＣＭ）（Ｉ）ＣＤ４＋及び（Ｊ）ＣＤ８$^+$リンパ球の数。（実施例１を参照されたい。）

【図５－１】ＳＡ－ＦａｓＬ－ミクロゲルレシピエントが、移植前から移植後の抗ドナーＭＨＣ抗体、ドナー及び第三者刺激物に対するＣＤ４$^+$及びＣＤ８$^+$Ｔ細胞増殖反応、ならびにＩＦＮ－γ分泌細胞数に有意な変化を示さないことを示している。Ａ及びＢは、ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲル（四角、ｎ＝３～４）及びミクロゲル（Ｄ；三角、ｎ＝３）ＮＨＰにおける、ドナー特異的ＭＨＣ（Ａ）クラスＩ及び（Ｂ）クラスＩＩエピトープに対するＩｇＧ応答（平均、各点）を示し、処置したＮＨＰではドナー特異的活性化は示されなかった（クラスＩ：Ｐ＝０．２９０４、クラスＩＩ：Ｐ＝０．０７５４）。ミクロゲルＮＨＰでは、ＭＨＣ　Ｉに対する陽性ドナー特異的抗体は検出されなかった（Ｐ＝０．３２９２）。しかしながら、これらの対照ＮＨＰは、ドナーＭＨＣ　ＩＩに対する抗体を産生した（Ｐ＝０．０３２６）。ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲル（白、ｎ＝３～４）及びミクロゲル（縞、ｎ＝３）ＮＨＰにおける、ＣＤ４$^+$（Ｃ）ドナー及び（Ｄ）第三者刺激物ならびにＣＤ８$^+$（Ｅ）ドナー及び（Ｆ）第三者抗原に対する混合リンパ球反応（平均、各点）を示し、後者における反応には差がないことを示している（ＣＤ４$^+$ドナー：Ｐ＝０．４２００；ＣＤ４$^+$第三者：Ｐ＝０．６９４９；ＣＤ８＋ドナー：Ｐ＝０．４１４５；ＣＤ８$^+$第三者：Ｐ＝０．７８５８）。ミクロゲルＮＨＰは、ＣＤ４$^+$コンパートメントでは、ドナー（Ｐ＝０．６０８２）または第三者（Ｐ＝０．０５５５）抗原に対する反応を示さなかったが、ＣＤ８$^+$Ｔ細胞の反応は、ドナー（Ｐ＝０．００５７）と第三者（Ｐ＝０．０２１６）刺激物の両方に対して上昇した。

【図５－２】ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲル（白、ｎ＝３～４）及びミクロゲル（縞、ｎ＝３）ＮＨＰにおける、ＣＤ４$^+$（Ｃ）ドナー及び（Ｄ）第三者刺激物ならびにＣＤ８$^+$（Ｅ）ドナー及び（Ｆ）第三者抗原に対する混合リンパ球反応（平均、各点）を示し、後者における反応には差がないことを示している（ＣＤ４$^+$ドナー：Ｐ＝０．４２００；ＣＤ４$^+$第三者：Ｐ＝０．６９４９；ＣＤ８＋ドナー：Ｐ＝０．４１４５；ＣＤ８$^+$第三者：Ｐ＝０．７８５８）。ミクロゲルＮＨＰは、ＣＤ４$^+$コンパートメントでは、ドナー（Ｐ＝０．６０８２）または第三者（Ｐ＝０．０５５５）抗原に対する反応を示さなかったが、ＣＤ８$^+$Ｔ細胞の反応は、ドナー（Ｐ＝０．００５７）と第三者（Ｐ＝０．０２１６）刺激物の両方に対して上昇した。ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲル（白、ｎ＝３～４）及びミクロゲル（縞、ｎ＝３）ＮＨＰにおけるＥＬＩＳｐｏｔ　ＩＦＮ－γ数（平均、各点）を（Ｇ）ドナー及び（Ｈ）第三者刺激について示す。ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲル（ドナー：Ｐ＝０．２４８５；第三者：Ｐ＝０．１４４５）またはミクロゲルＮＨＰ（ドナー：Ｐ＝０．０８２４；第三者：Ｐ＝０．１４１３）において、移植前と移植後の時間点で循環中のＩＦＮ－γ分泌細胞の存在比率に差はない。反復測定ＡＮＯＶＡを使用し、ダネット検定を使用して移植前／０日目の値に対するペアワイズ比較を行った。（実施例１を参照されたい。）

【図６－１】ＳＡ－ＦａｓＬまたは対照ミクロゲルを投与したＮＨＰにおける肝機能及び腎機能の血清マーカーならびにシロリムス（「ラパ」）血清濃度を示す。Ａ～Ｃは、ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルを投与したＮＨＰ（白丸、ｎ＝４）、及び対照ミクロゲルを投与したＮＨＰ（黒丸、ｎ＝３）における（Ａ）血中尿素窒素（ＢＵＮ）、（Ｂ）クレアチニン、及び（Ｃ）アラニンアミノトランスフェラーゼ（ＡＬＴ）のレベル（平均、ＳＥＭ）の縦断的追跡を示す。

【図６－２】血清中シロリムス（「ラパ」）濃度（平均、ＳＥＭ）の縦断的追跡を示し、ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルＮＨＰ（四角破線、ｎ＝４）と対照ミクロゲルＮＨＰ（三角実践、ｎ＝３）との間でシロリムス濃度に差はないことを示している（両側マン・ホイットニー検定、ｐ＝０．６３）。
【図６－３】個々のレシピエントの血清シロリムス濃度を示す。（実施例１を参照されたい。）
【図７】ｉＴＯＬ－１０１及びシロリムスの一時投与を使用する臨床試験の概略を示す。（実施例２を参照されたい。）
【発明を実施するための形態】
【００２９】
用語
本開示及び特許請求の範囲で使用される場合、単数形の「ａ」、「ａｎ」、及び「ｔｈｅ」は、文脈上特に明確な指示のない限り、複数形を含む。
【００３０】
具体的に記載されるか、文脈から明らかである場合を除き、本明細書で使用される場合、「または（もしくは）」という用語は、包括的であることが理解される。本明細書で「Ａ及び／またはＢ」などの句で使用される「及び／または」という用語は、「Ａ及びＢ」、「ＡまたはＢ」、「Ａ」、及び「Ｂ」の両方を含むことが意図される。同様に、「Ａ、Ｂ、及び／またはＣ」などの句で使用される「及び／または」という用語は、次の態様：Ａ、Ｂ、及びＣ；Ａ、Ｂ、またはＣ；ＡまたはＣ；ＡまたはＢ；ＢまたはＣ；Ａ及びＣ；Ａ及びＢ；Ｂ及びＣ；Ａ（単独）；Ｂ（単独）；ならびにＣ（単独）のそれぞれを包含することが意図される。
【００３１】
態様が「含む」という語を用いて本明細書に記載される場合、「からなる」及び／または「本質的にからなる」という表現で記載される別様の類似した態様もまた提供されることが理解される。本開示において，「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅ）」、「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」、「含有する」及び「有する」などは、「含む（ｉｎｃｌｕｄｅ）」、「含む（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）」などを意味し得、「から本質的になる」または「本質的になる」は、オープンエンドであり、列挙されるもの以上のものの存在が許容される。ただし、列挙されるものの基本的または新規の特徴が、列挙されるもの以上のものの存在によって変化されない場合に限り、先行技術の態様は除外される。
【００３２】
本明細書で使用される場合、「約」及び「およそ」という用語は、数値または数値範囲を修飾するように使用される場合、その値または範囲の上下１０％のずれが、列挙される値または範囲の意図される意味の範囲内であることを示す。態様が数値または範囲について「約」または「およそ」という語を用いて本明細書に記載される場合、特定の数値または範囲（「約」のない）に関する別様の類似した態様もまた提供されることが理解される。
【００３３】
本明細書で使用される場合、「シロリムス」（ラパマイシンとしても知られる）という用語は、３Ｓ，６Ｒ，７Ｅ，９Ｒ，１０Ｒ，１２Ｒ，１４Ｓ，１５Ｅ，１７Ｅ，１９Ｅ，２１Ｓ，２３Ｓ，２６Ｒ，２７Ｒ，３４ａＳ）－９，１０，１２，１３，１４，２１，２２，２３，２４，２５，２６，２７，３２，３３，３４，３４ａ－ヘキサデカヒドロ－９，２７－ジヒドロキシ－３－［（１Ｒ）－２－［（１Ｓ，３Ｒ，４Ｒ）－４－ヒドロキシ－３－メトキシシクロヘキシル］－１－メチルエチル］－１０，２１－ジメトキシ－６，８，１２，１４，２０，２６－ヘキサメチル－２３，２７－エポキシ－３Ｈ－ピリド［２，１－ｃ］［１，４］オキサアザシクロヘントリアコンチン－１，５，１１，２８，２９（４Ｈ，６Ｈ，３１Ｈ）－ペンタオンの化学名を持つ、大環状ラクトン化合物を指す。この用語には、例えば、Ｒａｐａｍｕｎｅの商品名で販売されている活性化合物が含まれる。

【００３４】
本明細書で使用される場合、「ＦａｓＬ」は、腫瘍壊死因子リガンドスーパーファミリーメンバー６、アポトーシス抗原リガンド（ＡＰＴＬ）、またはＣＤ９５リガンド（ＣＤ９５－Ｌ）としても知られている「Ｆａｓリガンド」を指す。ヒトＦａｓＬタンパク質の配列は、
ＭＱＱＰＦＮＹＰＹＰＱＩＹＷＶＤＳＳＡＳＳＰＷＡＰＰＧＴＶＬＰＣＰＴＳＶＰＲＲＰＧＱＲＲＰＰＰＰＰＰＰＰＰＬＰＰＰＰＰＰＰＰＬＰＰＬＰＬＰＰＬＫＫＲＧＮＨＳＴＧＬＣＬＬＶＭＦＦＭＶＬＶＡＬＶＧＬＧＬＧＭＦＱＬＦＨＬＱＫＥＬＡＥＬＲＥＳＴＳＱＭＨＴＡＳＳＬＥＫＱＩＧＨＰＳＰＰＰＥＫＫＥＬＲＫＶＡＨＬＴＧＫＳＮＳＲＳＭＰＬＥＷＥＤＴＹＧＩＶＬＬＳＧＶＫＹＫＫＧＧＬＶＩＮＥＴＧＬＹＦＶＹＳＫＶＹＦＲＧＱＳＣＮＮＬＰＬＳＨＫＶＹＭＲＮＳＫＹＰＱＤＬＶＭＭＥＧＫＭＭＳＹＣＴＴＧＱＭＷＡＲＳＳＹＬＧＡＶＦＮＬＴＳＡＤＨＬＹＶＮＶＳＥＬＳＬＶＮＦＥＥＳＱＴＦＦＧＬＹＫＬ（配列番号７）である。
【００３５】
配列番号７のアミノ酸１～８０は、ヒトＦａｓＬの細胞質ドメインである。配列番号７のアミノ酸８１～１０２は、ヒトＦａｓＬの膜貫通ドメインであり、配列番号７のアミノ酸１０３～２８１は、ヒトＦａｓＬの細胞外ドメインである。
【００３６】
「キメラＦａｓＬタンパク質」とは、ＦａｓＬタンパク質またはその断片と、異種タンパク質（例えば、ストレプトアビジンまたはアビジン）またはその断片との融合体を含む、タンパク質を指す。
【００３７】
本明細書で使用される場合、「ビオチン」（ヘキサヒドロ－２－オキソ－１Ｈ－チエノ（３，４－ｄ）イミダゾール－４－ペンタン酸）は、ＨＳ－ビオチン及びＥＺ－Ｌｉｎｋ（商標）スルホ－ＨＳ－ＬＣ－ビオチン（Ｐｉｅｒｃｅ）など、細胞表面などの表面に結合することができるビオチン含有部分を含む。ビオチン及びタンパク質反応型のビオチンは、市販されている。
【００３８】
本明細書で使用される場合、「ヒドロゲル」とは、水で膨潤した高分子物質を指す。これらには、例えば、細胞よりはるかに大きな寸法（例えば、５００μｍ超）を持つ水膨潤高分子ネットワークが含まれる。ヒドロゲルは、典型的に、有機高分子（天然または合成）が共有結合、イオン結合、または水素結合により架橋して三次元開格子構造を作り、それが水分子を取り込んでゲルを形成することで形成される。ヒドロゲルの形成に使用することができる物質の例としては、異なる架橋法（例えば、マイケル型付加、チオール－エン、クリック反応など）を使用して組み立てられたマクロマーベースの材料（ＰＥＧマクロマーを含む）、多糖（アルギン酸など）、ポリホスファジン、及びポリアクリレート、またはブロックコポリマー、例えば、温度、フリーラジカル重合、クリック反応もしくはｐＨによってそれぞれ架橋され得るポリエチレンオキシド－ポリプロピレングリコールブロックコポリマーのＰｌｕｒｏｎｉｃ（商標）もしくはＴｅｔｒｏｎｉｃ（商標）が挙げられる。
【００３９】
本明細書で使用される場合、「ミクロゲル」は、寸法がより小さい（例えば、数十または数百μｍのオーダー）ヒドロゲルを指す。
【００４０】
「ポリペプチド」、「ペプチド」、及び「タンパク質」という用語は、任意の長さのアミノ酸高分子を指すために、本明細書において区別なく使用される。高分子は、直鎖状または分岐状であってもよく、修飾アミノ酸を含んでもよく、非アミノ酸によって中断されてもよい。これらの用語は、天然または介入によって、例えば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、脂質化、アセチル化、リン酸化、または標識成分とのコンジュゲーションなどの任意の他の操作もしくは改変によって修飾されたアミノ酸高分子も包含する。この

定義にはまた、例えば、アミノ酸の１つ以上の類似体（例えば、非天然アミノ酸などを含む）及び当該技術分野において知られている他の修飾を含有するポリペプチドも含まれる。

【００４１】

「単離された」ポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物は、天然には見られない形態のポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物である。単離されたポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞または組成物には、もはや天然に見られる形態ではない程度まで精製されたものが含まれる。いくつかの態様において、単離された抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物は、実質的に純粋である。本明細書で使用される場合、「実質的に純粋」とは、少なくとも５０％純粋（すなわち、汚染物質を含まない）、少なくとも９０％純粋、少なくとも９５％純粋、少なくとも９８％純粋、または少なくとも９９％純粋である物質を指す。

【００４２】

「同一性パーセント」とは、２つの配列（例えば、アミノ酸配列または核酸配列）の間の同一性の程度を指す。同一性パーセントは、配列間の同一性を最大にするギャップを導入しながら、２つの配列をアライメントすることによって決定することができる。アライメントは、当該技術分野において知られているプログラムを使用して生成することができる。本明細書における目的のために、ヌクレオチド配列のアライメントは、デフォルトパラメーターに設定したｂｌａｓｔｎプログラムで実施することができ、アミノ酸配列のアライメントは、デフォルトパラメーターに設定したｂｌａｓｔｐプログラムで実施することができる（Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｃｅｎｔｅｒ　ｆｏｒ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ（ＮＣＢＩ）のワールドワイドウェブｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ参照）。

【００４３】

本明細書で使用される場合、疎水性側鎖を有するアミノ酸には、アラニン（Ａ）、イソロイシン（Ｉ）、ロイシン（Ｌ）、メチオニン（Ｍ）、バリン（Ｖ）、フェニルアラニン（Ｆ）、トリプトファン（Ｗ）、及びチロシン（Ｙ）が含まれる。脂肪族疎水性側鎖を有するアミノ酸には、アラニン（Ａ）、イソロイシン（Ｉ）、ロイシン（Ｌ）、メチオニン（Ｍ）、及びバリン（Ｖ）が含まれる。芳香族疎水性側鎖を有するアミノ酸には、フェニルアラニン（Ｆ）、トリプトファン（Ｗ）、及びチロシン（Ｙ）が含まれる。

【００４４】

本明細書で使用される場合、極性中性側鎖を有するアミノ酸には、アスパラギン（Ｎ）、システイン（Ｃ）、グルタミン（Ｑ）、セリン（Ｓ）、及びトレオニン（Ｔ）が含まれる。

【００４５】

本明細書で使用される場合、荷電性側鎖を有するアミノ酸には、アスパラギン酸（Ｄ）、グルタミン酸（Ｅ）、アルギニン（Ｒ）、ヒスチジン（Ｈ）、及びリジン（Ｋ）が含まれる。酸性荷電性側鎖を有するアミノ酸には、アスパラギン酸（Ｄ）及びグルタミン酸（Ｅ）が含まれる。塩基性荷電性側鎖を有するアミノ酸には、アルギニン（Ｒ）、ヒスチジン（Ｈ）、及びリジン（Ｋ）が含まれる。

【００４６】

本明細書で使用される場合、「宿主細胞」という用語は、任意の細胞種、例えば、初代細胞、培養中の細胞、または細胞株由来の細胞であり得る。いくつかの態様において、「宿主細胞」という用語は、核酸分子をトランスフェクトした細胞及びそのような細胞の子孫または潜在的な子孫を指す。そのような細胞の子孫は、例えば、後代に起こり得る変異もしくは環境の影響、または核酸分子の宿主細胞ゲノムへの組み込みに起因して、核酸分子をトランスフェクトした親細胞と同一でない場合もある。

【００４７】

「医薬製剤」ｏｒ「医薬組成物」という用語は、活性成分の生物学的活性を有効にする

ような形態であり、製剤が投与される対象にとって許容できないほど有毒である追加の成分を含有しない調製物を指す。製剤は、無菌であり得る。

【００４８】

「投与する」、「投与すること」、「投与」などの用語は、本明細書で使用される場合、所望の生物学的作用部位への活性剤（例えば、移植片細胞、ミクロゲル、及び／またはシロリムス）の送達を可能にするために使用され得る方法を指す。

【００４９】

本明細書で使用される場合、「対象」及び「患者」という用語は、区別なく使用される。対象は、動物であり得る。いくつかの態様において、対象は、非ヒト動物などの哺乳動物（例えば、ウシ、ブタ、ウマ、ネコ、イヌ、ラット、マウス、サルまたは他の霊長類など）である。いくつかの態様において、対象は、ヒトである。

【００５０】

「治療上有効な量」という用語は、対象の疾患または障害を治療するのに有効な量を指す。

【００５１】

「治療すること」もしくは「治療」もしくは「治療する」または「緩和すること」もしくは「緩和する」などの用語は、診断された病的状態または障害の治癒、緩徐化、症状の軽減及び／または進行の停止を行う治療的処手段を指す。したがって、治療を必要とする者には、既に障害の診断を受けている者またはその疑いのある者も含まれる。

【００５２】

本明細書で使用される場合、「一過性」用量またはレジメンとは、限られた期間で、慢性的ではない投与を指す。例えば、一過性投与は、３６週間以下、３０週間以下、または２４週間以下持続し得る。

【００５３】

本明細書で使用される場合、「漸減」用量またはレジメンとは、経時的に減少する量での投与を指す。レジメンの用量が範囲を指す場合、「漸減」は、上限値が減少していく範囲を指し、例えば、血中トラフ濃度９～１３ｎｇ／ｍＬを一定期間、次いで、血中トラフ濃度７～１１ｎｇ／ｍＬを一定期間、次いで、血中トラフ濃度５～９ｎｇ／ｍＬを達成する用量レジメンは、「漸減」レジメンである。

【００５４】

あるいは、薬理学的効果及び／または生理学的効果は、予防的効果、すなわち、疾患またはその症状を完全または部分的に予防する効果であり得る。この点に関して、開示される方法は、「予防上有効な量」の薬物（例えば、１つ以上の抗体またはその抗原結合断片）を投与することを含む。「予防上有効な量」は、所望の予防的結果を達成するのに必要な投与量及び期間で有効な量を指す。

【００５５】

本明細書で提供される任意の組成物または方法は、本明細書で提供される他の組成物及び方法のいずれか１つ以上と組み合わせることができる。

【００５６】

一過性シロリムス投与

本明細書で提供されるのは、シロリムスの一過性用量を使用して移植片細胞に対する免疫寛容を誘導する方法である。いくつかの態様において、シロリムスは、３６週間以下投与される。いくつかの態様において、シロリムスは、３０週間以下投与される。いくつかの態様において、シロリムスは、２４週間以下投与される。

【００５７】

本明細書で提供される方法によれば、シロリムスは、患者に移植片細胞が投与された後、約１～約３６週間投与され得る。いくつかの態様において、シロリムスは、患者に移植片細胞が投与された後、約４～約３６週間投与される。いくつかの態様において、シロリムスは、患者に移植片細胞が投与された後、約８～約３６週間投与される。いくつかの態様において、シロリムスは、患者に移植片細胞が投与された後、約１０～約３６週間投与

される。いくつかの態様において、シロリムスは、患者に移植片細胞が投与された後、約１２～約３６週間投与される。

【００５８】

本明細書で提供される方法によれば、シロリムスは、患者に移植片細胞が投与された後、約１週間～約３０週間投与され得る。いくつかの態様において、シロリムスは、患者に移植片細胞が投与された後、約４～約３０週間投与される。いくつかの態様において、シロリムスは、患者に移植片細胞が投与された後、約８～約３０週間投与される。いくつかの態様において、シロリムスは、患者に移植片細胞が投与された後、約１０～約３０週間投与される。いくつかの態様において、シロリムスは、患者に移植片細胞が投与された後、約１２～約３０週間投与される。

【００５９】

本明細書で提供される方法によれば、シロリムスは、患者に移植片細胞が投与された後、約１週間～約２４週間投与され得る。いくつかの態様において、シロリムスは、患者に移植片細胞が投与された後、約４～約２４週間投与される。いくつかの態様において、シロリムスは、患者に移植片細胞が投与された後、約８～約２４週間投与される。いくつかの態様において、シロリムスは、患者に移植片細胞が投与された後、約１０～約２４週間投与される。いくつかの態様において、シロリムスは、患者に移植片細胞が投与された後、約１２～約２４週間投与される。

【００６０】

いくつかの態様において、シロリムスは、約４ｎｇ／ｍＬ～約１６ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する用量で投与される。約４ｎｇ／ｍＬ～約１６ｎｇ／ｍＬの血中トラフ濃度は、約１２週間以下の初期期間、例えば、約１週間～約１２週間、約２週間～約１２週間、約３週間～約１２週間、約４週間～約１２週間、約５週間～約１２週間、約６週間～約１２週間、約７週間～約１２週間、約８週間～約１２週間、約９週間～約１２週間、約１０週間～約１２週間、または約１１週間～約１２週間維持される。

【００６１】

いくつかの態様において、シロリムスは、約４ｎｇ／ｍＬ～約１５ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する用量で投与される。約４ｎｇ／ｍＬ～約１５ｎｇ／ｍＬの血中トラフ濃度は、約１２週間以下の初期期間、例えば、約１週間～約１２週間、約２週間～約１２週間、約３週間～約１２週間、約４週間～約１２週間、約５週間～約１２週間、約６週間～約１２週間、約７週間～約１２週間、約８週間～約１２週間、約９週間～約１２週間、約１０週間～約１２週間、または約１１週間～約１２週間維持される。

【００６２】

いくつかの態様において、シロリムスは、約９ｎｇ／ｍＬ～約１６ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する用量で投与される。約９ｎｇ／ｍＬ～約１６ｎｇ／ｍＬの血中トラフ濃度は、約１２週間以下の初期期間、例えば、約１週間～約１２週間、約２週間～約１２週間、約３週間～約１２週間、約９週間～約１２週間、約５週間～約１２週間、約６週間～約１２週間、約７週間～約１２週間、約８週間～約１２週間、約９週間～約１２週間、約１０週間～約１２週間、または約１１週間～約１２週間維持される。

【００６３】

いくつかの態様において、シロリムスは、約９ｎｇ／ｍＬ～約１５ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する用量で投与される。約９ｎｇ／ｍＬ～約１５ｎｇ／ｍＬの血中トラフ濃度は、約１２週間以下の初期期間、例えば、約１週間～約１２週間、約２週間～約１２週間、約３週間～約１２週間、約９週間～約１２週間、約５週間～約１２週間、約６週間～約１２週間、約７週間～約１２週間、約８週間～約１２週間、約９週間～約１２週間、約１０週間～約１２週間、または約１１週間～約１２週間維持される。

【００６４】

いくつかの態様において、シロリムスは、約９ｎｇ／ｍＬ～約１３ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する用量で投与される。約９ｎｇ／ｍＬ～約１３ｎｇ／ｍＬの血中トラフ濃度は、約１２週間以下の初期期間、例えば、約１週間～約１２週間、約２週

間～約１２週間、約３週間～約１２週間、約９週間～約１２週間、約５週間～約１２週間、約６週間～約１２週間、約７週間～約１２週間、約８週間～約１２週間、約９週間～約１２週間、約１０週間～約１２週間、または約１１週間～約１２週間維持される。

【００６５】

シロリムスは、複数回用量が投与され、各用量が前の用量と比較して減少する漸減レジメンで投与され得る。シロリムスは、複数回用量が投与され、各用量が血中トラフ範囲を目標とし、各範囲の上限値が前の用量と比較して減少する漸減レジメンで投与され得る。例えば、シロリムスは、初期用量に続いて、１以上の漸減用量が投与され得る。いくつかの態様において、方法は、初期用量及び少なくとも１つの漸減用量（例えば、１～１０の漸減用量または１～５の漸減用量）を含む。いくつかの態様において、方法は、初期用量及び少なくとも２つの漸減用量（例えば、２～１０の漸減用量または２～５の漸減用量）を含む。いくつかの態様において、方法は、初期用量及び少なくとも３つの漸減用量（例えば、３～１０の漸減用量または３～５の漸減用量）を含む。

【００６６】

初期用量は、約４ｎｇ／ｍＬ～約１６ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持することができる。初期用量は、約９ｎｇ／ｍＬ～約１６ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持することができる。初期用量は、約４ｎｇ／ｍＬ～約１５ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持することができる。初期用量は、約９ｎｇ／ｍＬ～約１５ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持することができる。初期用量は、約９ｎｇ／ｍＬ～約１３ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持することができる。血中トラフ濃度は、初期用量であり、約１２週間以下の初期期間、例えば、約１週間～約１２週間、約２週間～約１２週間、約３週間～約１２週間、約４週間～約１２週間、約５週間～約１２週間、約６週間～約１２週間、約７週間～約１２週間、約８週間～約１２週間、約９週間～約１２週間、約１０週間～約１２週間、または約１１週間～約１２週間維持され得る。

【００６７】

次いで、例えば、初期用量後、シロリムスは、１以上の漸減用量で１以上の漸減期間にわたって投与され得る。例えば、いくつかの態様において、第１の漸減用量は、約４ｎｇ／ｍＬ～約１１ｎｇ／ｍＬ、例えば、約７ｎｇ／ｍＬ～約１１ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する。第１の漸減期間は、約２週間以下、例えば、約１週間～約２週間であり得る。いくつかの態様において、第２の漸減用量は、約４ｎｇ／ｍＬ～約９ｎｇ／ｍＬ、例えば、約５ｎｇ／ｍＬ～約９ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する。第２の漸減期間は、約２週間以下、例えば、約１週間～約２週間であり得る。いくつかの態様において、第３の漸減用量は、約３ｎｇ／ｍＬ～約７ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する。第３の漸減期間は、約２週間以下、例えば、約１週間～約２週間であり得る。いくつかの態様において、第４の漸減用量は、約１ｎｇ／ｍＬ～約５ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する。第４の漸減期間は、約２週間以下、例えば、約１週間～約２週間であり得る。いくつかの態様において、第５の漸減用量は、約０ｎｇ／ｍＬ～約３ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を維持する。第５の漸減期間は、約２週間以下、例えば、約１週間～約２週間であり得る。

【００６８】

いくつかの態様において、漸減レジメンは、約４ｎｇ／ｍＬ～約１１ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持すること、約４ｎｇ／ｍＬ～約９ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持すること、約３ｎｇ／ｍＬ～約７ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持すること、約１ｎｇ／ｍＬ～約５ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持すること、及び／または約０ｎｇ／ｍＬ～約３ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持することを含む。

【００６９】

いくつかの態様において、漸減レジメンは、約７ｎｇ／ｍＬ～約１１ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持すること、約５ｎｇ／ｍＬ～約９ｎｇ／ｍＬのシ

ロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持すること、約３ｎｇ／ｍＬ～約７ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持すること、約１ｎｇ／ｍＬ～約５ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持すること、及び／または約０ｎｇ／ｍＬ～約３ｎｇ／ｍＬのシロリムス血中トラフ濃度を２週間以下維持することを含む。

【００７０】

いくつかの態様において、漸減期間は、約１２週間以下である。例えば、漸減期間は、約週間～約１２週間、約２週間～約１２週間、約３週間～約１２週間、約４週間～約１２週間、約５週間～約１２週間、約６週間～約１２週間、約７週間～約１２週間、約８週間～約１２週間、約９週間～約１２週間、約１０週間～約１２週間、または約１１週間～約１２週間であり得る。

【００７１】

シロリムスは、経口投与され得る。いくつかの態様において、シロリムスは、経口液剤として投与される。いくつかの態様において、シロリムスは、経口錠剤として投与される。

【００７２】

いくつかの態様において、シロリムスは、１日１回投与される。

【００７３】

シロリムスの投与は、移植片細胞及びヒドロゲルにコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質が投与される日と同じ日に開始することができる。あるいは、シロリムスの投与は、移植片細胞及びヒドロゲルにコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質が投与される日よりも前に開始することができる。例えば、シロリムスの投与は、移植片細胞及びヒドロゲルにコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質が投与される日の約５日前から開始することができる。シロリムスの投与は、移植片細胞及びヒドロゲルにコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質が投与される日の約４日前から開始することができる。シロリムスの投与は、移植片細胞及びヒドロゲルにコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質が投与される日の約３日前から開始することができる。シロリムスの投与は、移植片細胞及びヒドロゲルにコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質が投与される日の約２日前から開始することができる。シロリムスの投与は、移植片細胞及びヒドロゲルにコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質が投与される日の約１日前から開始することができる。

【００７４】

ＦａｓＬヒドロゲル

ＦａｓＬヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）は、当該技術分野において知られている。例示的なＦａｓＬヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）は、ＷＯ２０１８／１６５５４７に提供されており、その全体が参照により本明細書に援用される。

【００７５】

本明細書で提供される場合、キメラＦａｓＬタンパク質は、ＦａｓＬ部分及び異種部分を含み得る。

【００７６】

いくつかの態様において、キメラＦａｓＬタンパク質中のＦａｓＬ部分は、ＴＮＦＲＳＦ６／ＦＡＳに結合するＦａｓＬ（例えば、ヒトＦａｓＬ）の断片を含む。ＴＮＦＲＳＦ６／ＦＡＳは、ＦａｓＬに結合し、アポトーシスシグナルを細胞に伝達する受容体である。いくつかの態様において、ＦａｓＬ部分は、ＴＮＦＲＳＦ６Ｂ／ＤｃＲ３に結合するＦａｓＬ（例えば、ヒトＦａｓＬ）の断片を含む。ＴＮＦＲＳＦ６Ｂ／ＤｃＲ３は、ＦａｓＬの可溶性デコイ受容体である。いくつかの態様において、ＦａｓＬ部分は、ＦａｓＬのアポトーシス誘導断片を含む。いくつかの態様において、ＦａｓＬ部分は、ＦａｓＬの細胞外ドメインを含む。

【００７７】

いくつかの態様において、ＦａｓＬ部分は、膜貫通ドメインを含まない。いくつかの態様において、ＦａｓＬ部分は、細胞質ドメインを含まない。いくつかの態様において、Ｆ

ａｓＬ部分は、膜貫通ドメインも細胞質ドメインも含まない。

【００７８】

いくつかの態様において、キメラＦａｓＬタンパク質中のＦａｓＬ部分は、マトリックスメタロプロテアーゼ（ＭＭＰ）耐性である。いくつかの態様において、ＦａｓＬ部分は、ＭＭＰ感受性部位を欠いている。Ｙｏｌｃｕ　ｅｔ　ａｌ，Ｉｍｍｕｎｉｔｙ　１７：７９５－８０８（２００２）を参照されたい。例として、配列番号１及び配列番号５のアミノ酸配列は、ＭＭＰ感受性部位を持たないＦａｓＬ部分である。

【００７９】

いくつかの態様において、キメラＦａｓＬタンパク質は、配列番号７のアミノ酸１３１～２８１または配列番号７のアミノ酸１３１～２８１に対して少なくとも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％、もしくは少なくとも９９％同一である配列を含む、ヒトＦａｓＬ部分を含む。いくつかの態様において、配列番号７のアミノ酸１３１～２８１に対して少なくとも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％、または少なくとも９９％同一である配列を含むヒトＦａｓＬ部分は、ＴＮＦＲＳＦ６／ＦＡに結合することが可能である。いくつかの態様において、配列番号７のアミノ酸１３１－２８１に対して少なくとも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％、または少なくとも９９％同一である配列を含むヒトＦａｓＬ部分は、エフェクターＴ細胞（T_{eff}）及び／またはＡ２０リンパ腫細胞などのＦａｓＬ感受性細胞において、アポトーシスを誘導することが可能である。いくつかの態様において、配列番号７のアミノ酸１３１－２８１に対して少なくとも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％、または少なくとも９９％同一である配列を含むヒトＦａｓＬ部分は、ＴＮＦＲＳＦ６／ＦＡに結合することが可能であり、T_{eff}及び／またはＡ２０リンパ腫細胞などのＦａｓＬ感受性細胞において、アポトーシスを誘導することが可能である。

【００８０】

いくつかの態様において、キメラＦａｓＬタンパク質は、以下のアミノ酸配列を含むヒトＦａｓＬ部分を含む：

ＩＧＨＰＳＰＰＰＥＫＫＥＬＲＫＶＡＨＬＴＧＫＳＮＳＲＳＭＰＬＥＷＥＤＴＹＧＩＶＬＬＳＧＶＫＹＫＫＧＧＬＶＩＮＥＴＧＬＹＦＶＹＳＫＶＹＦＲＧＱＳＣＮＮＬＰＬＳＨＫＶＹＭＲＮＳＫＹＰＱＤＬＶＭＭＥＧＫＭＭＳＹＣＴＴＧＱＭＷＡＲＳＳＹＬＧＡＶＦＮＬＴＳＡＤＨＬＹＶＮＶＳＥＬＳＬＶＮＦＥＥＳＱＴＦＦＧＬＹＫＬ（配列番号１）。

【００８１】

いくつかの態様において、キメラＦａｓＬタンパク質は、以下のアミノ酸配列を含むラットＦａｓＬ部分を含む：

【００８２】

ＩＡＮＰＳＴＰＳＥＴＫＫＰＲＳＶＡＨＬＴＧＮＰＲＳＲＳＩＰＬＥＷＥＤＴＹＧＴＡＬＩＳＧＶＫＹＫＫＧＧＬＶＩＮＥＡＧＬＹＦＶＹＳＫＶＹＦＲＧＱＳＣＮＳＱＰＬＳＨＫＶＹＭＲＮＦＫＹＰＧＤＬＶＬＭＥＥＫＫＬＮＹＣＴＴＧＱＩＷＡＨＳＳＹＬＧＡＶＦＮＬＴＶＡＤＨＬＹＶＮＩＳＱＬＳＬＩＮＦＥＥＳＫＴＦＦＧＬＹＫＬ（配列番号５）。

【００８３】

いくつかの態様において、キメラＦａｓＬタンパク質中の異種部分は、ビオチンに結合することが可能なタンパク質を含む。いくつかの態様において、キメラＦａｓＬタンパク質中の異種部分は、ストレプトアビジンまたはその断片を含む。本明細書で使用される場合、「ストレプトアビジンまたはその断片」とは、全長ストレプトアビジンまたはビオチンに結合することが可能な全長ストレプトアビジンの断片を指す。いくつかの態様において、キメラＦａｓＬタンパク質中の異種部分は、アビジンまたはその断片を含む。本明細書で使用される場合、「アビジンまたはその断片」とは、全長アビジンまたはビオチンに結合することが可能な全長アビジンの断片を指す。いくつかの態様において、キメラＦａｓＬタンパク質中の異種部分は、ストレプトアビジンもしくはその断片またはアビジンも

しくはその断片を含む。

【００８４】

本明細書で提供されるキメラＦａｓＬタンパク質に含まれ得るストレプトアビジンまたはアビジンの断片には、全長ストレプトアビジンポリペプチドの切断型であるストレプトアビジン残基１３～１３８、１４～１３８、１３～１３９または１４～１３９を含み得る、「コアストレプトアビジン」（「ＣＳＡ」）が含まれる。例えば、Ｐａｈｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，２６２：１３９３３－３７（１９８７）を参照されたい。ビオチンへの強い結合を保持する他の切断型のストレプトアビジン及びアビジンも使用することができる。例えば、Ｓａｎｏ ｅｔ ａｌ，Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ．２７０（４７）：２８２０４－０９（１９９５）（コアストレプトアビジンバリアント１６～１３３及び１４～１３８について記載）（米国特許第６，０２２，９５１号）を参照されたい。実質的なビオチン結合活性または増加したビオチン結合活性を保持するストレプトアビジン及びコア形態のストレプトアビジンの変異体も使用することができる。例えば、Ｃｈｉｌｃｏｔｉ ｅｔ ａｌ，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ，９２（５）：１７５４－５８（１９９５）、Ｒｅｚｎｉｋ ｅｔ ａｌ，Ｎａｔ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ，１４（８）：１００７－１１（１９９６）を参照されたい。例えば、免疫原性を低減させた変異体、例えば、部位特異的変異導入によって潜在的なＴ細胞エピトープまたはリンパ球エピトープを除去するように作製された変異体も使用することができる。Ｍｅｙｅｒ ｅｔ ａｌ，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｃｉ．，１０：４９１－５０３（２００１）を参照されたい。同様に、実質的なビオチン結合活性または増加したビオチン結合活性を保持するアビジン及びコア形態のアビジンの変異体が使用されてもよい。Ｈｉｌｌｅｒ ｅｔ ａｌ，Ｊ Ｂｉｏｃｈｅｍ，２７８：５７３－８５（１９９１）；及びＬｉｖｎａｈ ｅｔ ａｌ，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ ９０：５０７６－８０（１９９３）を参照されたい。便宜上、本明細書の記述において、「アビジン」及び「ストレプトアビジン」（または「ＳＡ」）という用語は、これらの分子の断片、変異体、及びコア形態を包含する。

【００８５】

アビジン及びストレプトアビジンは、市販の業者から入手することができる。更に、ストレプトアビジン及びアビジンをコードする核酸配列ならびにストレプトアビジン及びアビジンのアミノ酸配列も知られている。例えば、ＧｅｎＢａｎｋアクセッション番号Ｘ６５０８２；Ｘ０３５９１；ＮＭ＿２０５３２０；Ｘ０５３４３；Ｚ２１６１１；及びＺ２１５５４を参照されたい。

【００８６】

いくつかの態様において、キメラＦａｓＬタンパク質は、以下のアミノ酸配列を含むストレプトアビジン部分を含む：

ＩＴＧＴＷＹＮＱＬＧＳＴＦＩＶＴＡＧＡＤＧＡＬＴＧＴＹＥＳＡＶＧＮＡＥＳＲＹＶＬＴＧＲＹＤＳＡＰＡＴＤＧＳＧＴＡＬＧＷＴＶＡＷＫＮＮＹＲＮＡＨＳＡＴＴＷＳＧＱＹＶＧＧＡＥＡＲＩＮＴＱＷＬＬＴＳＧＡＴＥＡＮＡＷＫＳＴＬＶＧＨＤＴＦＴＫＶＫＰＳＡＡＳＳ（配列番号２）

【００８７】

いくつかの態様において、キメラＦａｓＬタンパク質は、配列番号２のアミノ酸配列と少なくとも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％、または少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を含む、ストレプトアビジン部分を含む。

【００８８】

いくつかの態様において、キメラＦａｓＬタンパク質は、異種部分（例えば、ストレプトアビジンもしくはその断片またはアビジンもしくはその断片）のＣ末端側にＦａｓＬ部分を含む。異種部分（例えば、ストレプトアビジンもしくはその断片またはアビジンもしくはその断片）のＣ末端側に位置するＦａｓＬ部分は、異種部分の直接Ｃ末端にあってもよいし、リンカー（例えば、アミノ酸リンカー）によって異種部分から分離されていても

よい。いくつかの態様において、キメラＦａｓＬタンパク質は、異種部分（例えば、ストレプトアビジンもしくはその断片またはアビジンもしくはその断片）のＮ末端側にＦａｓＬ部分を含む。異種部分（例えば、ストレプトアビジンもしくはその断片またはアビジンもしくはその断片）のＮ末端側に位置するＦａｓＬ部分は、異種部分の直接Ｎ末端にあってもよいし、リンカー（例えば、アミノ酸リンカー）によって異種部分から分離されていてもよい。

【００８９】

いくつかの態様において、キメラＦａｓＬタンパク質中のＦａｓＬ部分及び異種部分は、アミノ酸リンカーを介して融合される。いくつかの態様において、リンカーは、グリシン－セリンリンカーである。グリシン－セリンリンカーは、例えば、アミノ酸配列ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧ（配列番号３）を含み得る。

【００９０】

いくつかの態様において、ヒトＦａｓＬ部分を含むキメラＦａｓＬタンパク質は、以下のアミノ酸配列を含む：

ＩＴＧＴＷＹＮＱＬＧＳＴＦＩＶＴＡＧＡＤＧＡＬＴＧＴＹＥＳＡＶＧＮＡＥＳＲＹＶＬ
ＴＧＲＹＤＳＡＰＡＴＤＧＳＧＴＡＬＧＷＴＶＡＷＫＮＮＹＲＮＡＨＳＡＴＴＷＳＧＱＹ
ＶＧＧＡＥＡＲＩＮＴＱＷＬＬＴＳＧＡＴＥＡＮＡＷＫＳＴＬＶＧＨＤＴＦＴＫＶＫＰＳ
ＡＡＳＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＥＦＩＧＨＰＳＰＰＰＥＫＫＥＬＲＫＶＡＨＬＴＧＫＳ
ＮＳＲＳＭＰＬＥＷＥＤＴＹＧＩＶＬＬＳＧＶＫＹＫＫＧＧＬＶＩＮＥＴＧＬＹＦＶＹＳ
ＫＶＹＦＲＧＱＳＣＮＮＬＰＬＳＨＫＶＹＭＲＮＳＫＹＰＱＤＬＶＭＭＥＧＫＭＭＳＹＣ
ＴＴＧＱＭＷＡＲＳＳＹＬＧＡＶＦＮＬＴＳＡＤＨＬＹＶＮＶＳＥＬＳＬＶＮＦＥＥＳＱ
ＴＦＦＧＬＹＫＬ（配列番号４）。

【００９１】

いくつかの態様において、ラットＦａｓＬ部分を含むキメラＦａｓＬタンパク質は、以下のアミノ酸配列を含む：

ＩＴＧＴＷＹＮＱＬＧＳＴＦＩＶＴＡＧＡＤＧＡＬＴＧＴＹＥＳＡＶＧＮＡＥＳＲＹＶＬ
ＴＧＲＹＤＳＡＰＡＴＤＧＳＧＴＡＬＧＷＴＶＡＷＫＮＮＹＲＮＡＨＳＡＴＴＷＳＧＱＹ
ＶＧＧＡＥＡＲＩＮＴＱＷＬＬＴＳＧＡＴＥＡＮＡＷＫＳＴＬＶＧＨＤＴＦＴＫＶＫＰＳ
ＡＡＳＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＥＦＩＡＮＰＳＴＰＳＥＴＫＫＰＲＳＶＡＨＬＴＧＮＰ
ＲＳＲＳＩＰＬＥＷＥＤＴＹＧＴＡＬＩＳＧＶＫＹＫＫＧＧＬＶＩＮＥＡＧＬＹＦＶＹＳ
ＫＶＹＦＲＧＱＳＣＮＳＱＰＬＳＨＫＶＹＭＲＮＦＫＹＰＧＤＬＶＬＭＥＥＫＫＬＮＹＣ
ＴＴＧＱＩＷＡＨＳＳＹＬＧＡＶＦＮＬＴＶＡＤＨＬＹＶＮＩＳＱＬＳＬＩＮＦＥＥＳＫ
ＴＦＦＧＬＹＫＬ（配列番号６）。

【００９２】

配列番号４のアミノ酸配列において、アミノ酸１～１２４は、ストレプトアビジン部分に対応し、アミノ酸１２５～１３５は、グリシン－セリンリンカーに対応し、アミノ酸１３８～１８８は、ＦａｓＬ部分に対応する。

【００９３】

本明細書で提供される場合、ヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）は、キメラＦａｓＬタンパク質を提示するように操作される。例えば、ヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）は、ビオチン化され、ストレプトアビジンもしくはその断片またはアビジンもしくはその断片を含むキメラＦａｓＬタンパク質に結合され得る。したがって、いくつかの態様において、ビオチン化ヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）は、ビオチンとストレプトアビジンもしくはその断片またはアビジンもしくはその断片との間の非共有結合を介して、キメラＦａｓＬタンパク質に結合される。

【００９４】

本明細書で提供されるいくつかの態様において、ヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）は、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）を含む。いくつかの態様において、ヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）は、マレイミド末端４アームポリ（エチレン）グリコール（ＰＥＧ－４ＭＡＬ）マクロマーを含む。そのようなヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）は、マイク

口流体架橋によって合成することができる。Ｈｅａｄｅｎ　ｅｔ　ａｌ，Ａｄｖａｎｃｅｄ　Ｍａｔｅｒｉａｌｓ，２６：３００３－３００８（２０１４）を参照されたい。ＰＥＧ－４ＭＡＬプラットフォームは、チオール含有分子の化学量論的な共有結合性の組み込みを可能にし、構造的に定義されたヒドロゲルを形成するための架橋効率の改善をもたらす。Ｐｈｅｌｐｓ　ｅｔ　ａｌ，Ａｄｖａｎｃｅｄ　Ｍａｔｅｒｉａｌｓ，２４：６４－７０，６２（２０１２）を参照されたい。

【００９５】

いくつかの態様において、ヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）は、約１２５マイクロメートル～約１７５マイクロメートルの大きさである。いくつかの態様において、ヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）は、約１５０マイクロメートルである。

【００９６】

ビオチン化ヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）は、ビオチン－ＰＥＧ－チオールをＰＥＧ－４ＭＡＬマクロマーと反応させ、マイクロ流体架橋を介してジチオスレイトール（ＤＴＴ）と架橋された直径１５０μｍのミクロゲルを生成することによって、作製することができる。得られたミクロゲルは、ストレプトアビジン（ＳＡ）を高い親和性で捕捉することが可能な共有結合性ビオチンを提示することができる。

【００９７】

いくつかの態様において、ヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）にコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質中のＦａｓＬは、ＦａｓＬ三量体を形成することができる。

【００９８】

いくつかの態様において、ヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）にコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質は、アポトーシス活性を有する。

【００９９】

いくつかの態様において、キメラＦａｓＬタンパク質を含むヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）は、移植片細胞を包埋する。いくつかの態様において、キメラＦａｓＬタンパク質を含むヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）は、移植片細胞を包埋しない。

【０１００】

いくつかの態様において、ヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）は、ヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）に追加の化合物をコンジュゲートできるように、架橋のための複数の部位を含む。

【０１０１】

移植細胞

本明細書で使用される場合、「移植細胞」とは、それを必要とする対象に投与される細胞（または細胞を含む組織もしくは器官）を指す。本明細書で提供される方法によれば、シロリムス及びヒドロゲルにコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質は、移植片細胞に対して特異的な免疫寛容を誘導することができる。移植片細胞は、ドナー、例えば、死亡したドナーに由来する細胞であり得る。移植片細胞は、幹細胞または幹細胞由来細胞であってもよい。

【０１０２】

移植片細胞の種類には、ＰＢＭＣ、骨髄細胞、造血幹細胞、幹細胞、幹細胞由来細胞、間葉系幹細胞、樹状細胞、自己抗原とインキュベートした樹状細胞、ヒトベータ細胞産物、膵島細胞、同種島細胞、肝細胞、及び脾細胞が含まれる。

【０１０３】

いくつかの態様において、移植片細胞は、膵島細胞またはインスリン産生幹細胞に由来する膵島細胞である。いくつかの態様において、移植片細胞は、膵島細胞である。いくつかの態様において、移植片細胞は、インスリン産生幹細胞に由来する膵島細胞である。

【０１０４】

いくつかの態様において、移植片細胞は、肝細胞である。

【０１０５】

移植片細胞の種類には、島細胞（例えば、膵島細胞）、脾細胞、ＰＢＭＣ、骨髄細胞、

間葉系幹細胞、造血幹細胞、幹細胞、人工多能性幹細胞、ヒトベータ細胞産物、肝細胞、樹状細胞、マクロファージ、内皮細胞、心筋細胞、及び血管細胞、ならびにＴ細胞を含む免疫細胞なども含まれる。本明細書で提供される任意の態様において、移植片細胞は、単離細胞の調製物として、または組織もしくは器官の一部として投与することができる。

【０１０６】

本明細書で提供されるいくつかの態様において、移植片細胞は、同種異系である。いくつかの態様において、移植片細胞は、異種である。いくつかの態様において、移植片細胞は、ヒト由来である。いくつかの態様において、移植片細胞は、非ヒト霊長類、イヌ、ネコ、ウシ、ヒツジ、ウマ、ウサギ、マウス、またはラットに由来する。

【０１０７】

本明細書で提供される使用のための移植片細胞は、死亡したドナーから得られた移植片細胞であり得る。

【０１０８】

本明細書で提供されるいくつかの態様において、移植片細胞は、自己由来または自家由来である（治療される対象に由来する）。例えば、自己移植片細胞は、人工多能性細胞の人工多能性及び所望の自己移植片細胞への分化によって、自己組織から誘導することができる。いくつかの態様において、対象由来の細胞は、自己免疫疾患において中断された自己に対する免疫寛容を誘導するために使用される。

【０１０９】

いくつかの態様において、移植片細胞は、キメラＦａｓＬタンパク質を含むヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）に包埋される。いくつかの態様において、移植片細胞は、キメラＦａｓＬタンパク質を含むヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）に包埋されない。

【０１１０】

例えば、膵島細胞は、漸減及び／または一過性のシロリムスレジメン及びヒドロゲルにコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質とともに、糖尿病を治療するために投与され得る。

【０１１１】

別の例において、肝細胞は、シロリムス、ヒドロゲルにコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質とともに、急性肝不全または肝臓系代謝障害を治療するために投与され得る。

【０１１２】

使用及び適応症

本明細書で提供されるのは、移植片細胞に対する免疫寛容を誘導する方法である。いくつかの態様において、方法は、細胞移植片もしくは組織移植片の拒絶反応の予防もしくはリスクの低減及び／またはＩ型糖尿病の治療のためのものである。方法は、移植片細胞、ヒドロゲルにコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質、及びシロリムスを投与することを含み得る。

【０１１３】

いくつかの態様において、キメラＦａｓＬタンパク質を含むヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）及び移植片細胞は、同時に投与される。いくつかの態様において、移植片細胞は、ヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）に包埋されない。そのような態様において、移植片細胞及びヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）は、同じ医薬組成物で投与されてもよいし、別個の医薬組成物で投与されてもよい。

【０１１４】

いくつかの態様において、移植片細胞は、ヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）に包埋される。

【０１１５】

いくつかの態様において、ヒドロゲル及び移植片細胞は、ヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）約２：細胞１の比で投与される。

【０１１６】

いくつかの態様において、本明細書で提供される免疫寛容を誘導する方法は、ヒト患者におけるＩ型糖尿病の治療のためのものである。したがって、いくつかの態様において、患者１キログラムあたり少なくとも３，０００個の島相当量が投与される。いくつかの態様において、患者１キログラムあたり少なくとも５，０００個の島相当量が投与される。いくつかの態様において、患者１キログラムあたり少なくとも１０，０００個の島相当量が投与される。いくつかの態様において、患者１キログラムあたり少なくとも１１，０００個の島相当量が投与される。いくつかの態様において、患者１キログラムあたり約３，０００～約２０，０００個の島相当量が投与される。いくつかの態様において、患者１キログラムあたり約５，０００～約２０，０００個の島相当量が投与される。いくつかの態様において、患者１キログラムあたり約１０，０００～約２０，０００個の島相当量が投与される。いくつかの態様において、患者１キログラムあたり約１１，０００～約２０，０００個の島相当量が投与される。

【０１１７】

いくつかの態様において、ヒドロゲル及び移植片細胞は、ヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）約２：同種島１の比で投与される。

【０１１８】

いくつかの態様において、本明細書で提供される免疫寛容を誘導する方法は、例えば、治療上有効な量の肝細胞、ヒドロゲルにコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質、及び一過性シロリムスを投与することによる、肝不全の治療のためのものである。

【０１１９】

本明細書で提供される方法のいくつかの態様において、移植片細胞及びヒドロゲルにコンジュゲートされたキメラＦａｓＬタンパク質は、網に投与される。

【０１２０】

いくつかの態様において、ヒドロゲル（例えば、ミクロゲル）、移植片細胞、及びシロリムスは、投与されるか、または間葉系幹細胞（ＭＳＣ）、抗ＣＤ２０剤（リツキシマブなど）、もしくは抗ＣＤ４６剤と組み合わせて投与するためのものである。

【０１２１】

いくつかの態様において、シロリムスは、予防的な抗ウイルス剤（例えば、ファムシクロビル）と組み合わせて投与される。いくつかの態様において、シロリムスは、抗菌剤（例えば、スルファメトキサゾール及び／またはトリメトプリム）と組み合わせて投与される。いくつかの態様において、シロリムスは、予防的な抗ウイルス剤（例えば、ファムシクロビル）及び抗菌剤（例えば、スルファメトキサゾール及び／またはトリメトプリム）と組み合わせて投与される。

【０１２２】

本明細書で使用される場合、「組み合わせ」投与は、同時投与または逐次投与を指し得る。同時投与は、同じ医薬組成物または別個の医薬組成物における投与を含み得る。

【実施例】

【０１２３】

実施例１

ビオチン化ＰＥＧミクロゲル（直径１５０μｍ）をマイクロ流体架橋によって合成し、既述のようにＳＡ－ＦａｓＬで官能化した（Ｈｅａｄｏｎ，ＤＭ，ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ．Ｍａｔｅｒ．１７：７３２－７３９（２０１８））。４匹の糖尿病非ヒト霊長類（ＮＨＰ）（図１Ｂ；表１及び２）に、ＳＡ－ＦａｓＬ提示ミクロゲル（０．２ｍｇのＳＡ－ＦａｓＬを送達する１５０，０００～２００，０００個のミクロゲル）と混合した同種異系島（１４，８００～１８，７００個の島相当量（ＩＥＱ）／ｋｇ）の網表面上への移植を行った。シロリムス（ラパマイシン）単剤療法の３ヶ月コースを、最初の２週間は、４０ｎｇ／ｍｌのシロリムス血中トラフ濃度を目標とし、次いで、移植後３ヶ月の時点までは２０ｎｇ／ｍｌで使用し、この時点でシロリムスを離脱なく中止した。シロリムス濃度は、中止の２週間後には検知されなくなった。３匹の糖尿病ＮＨＰ（図１Ｂ；表１及び２）に、類似のシロリムスコース下、ＳＡ－ＦａｓＬタンパク質を欠く非修飾のＰＥＧミクロ

ゲルと同種異系島を網に共移植した。

【表１】

表１：ＮＨＰドナー及び島評価の要約

カニクイザルID	体重 (kg)	膵臓重量 (g)	IEQ	パック細胞容積 (mL)	島純度 (%)	レシピエントID
M717	8.4	8.8	105,000	0.4	80	SA-FasL-ミクロゲル１
M418	7.1	8.1	93,500	0.5	50	SA-FasL-ミクロゲル２
M118	8.5	8.7	110,200	0.3	80	SA-FasL-ミクロゲル３
M6518	6.2	6.4	80,300	0.4	65	SA-FasL-ミクロゲル４
M1017	7.9	7.7	115,200	0.3	85	ミクロゲル１
M120	8.6	8.4	96,000	0.4	65	ミクロゲル２
M220	8.5	8.7	94,700	0.5	50	ミクロゲル３

【表２】

表２：ＮＨＰレシピエントの特徴の要約

動物ID	カニクイザルID	体重 (kg)	移植投与量 (IEQ/kg)	ベースライン DSA (MFI)	
				クラスI	クラスII
SA-FasL-ミクロゲル１	M317	6.5	16,200	2326	2442
SA-FasL-ミクロゲル２	M618	6.3	14,800	3628	4526
SA-FasL-ミクロゲル３	M518	6.2	17,800	2027	2590
SA-FasL-ミクロゲル４	M9118	4.3	18,700	2027	2590
ミクロゲル１	M517	5.9	19,500	727	2892
ミクロゲル２	M8118	4.8	20,000	162	975
ミクロゲル３	M8918	4.9	19,300	177	1953

【０１２４】

島移植後、ＳＡ－ＦａｓＬ提示ミクロゲルを投与した全てのＮＨＰで、迅速な血糖コントロールが達成され、１３４日、１７０日、１７７日、及び１８８日を超える観察期間で維持された（図２Ａ及び２Ｂ）。動物は、移植片が機能した状態で終了した。対照的に、同一のシロリムスレジメンを受け、同等のシロリムス血漿濃度（Ｐ＝０．６３；図２Ｄ及び図２Ｅ）を有するが、ＳＡ－ＦａｓＬを受けていない対照ＮＨＰは、血糖コントロールを２１、２７、及び３５日間しか維持せず、平均生存時間は２７．７日であった（図２Ａ及び図２Ｅ、Ｐ＝０．０１０）。

【０１２５】

図２Ｂは、非空腹時血糖値（左軸）及び投与された外部総１日インスリン必要量（ＥＩＲ；右軸）を、全てのＳＡ－ＦａｓＬ提示ミクロゲルレシピエントについて平均したものを示す。島移植前、ＳＡ－ＦａｓＬ－ミクロゲル群のＮＨＰは、平均非空腹時血糖値が４

００ｍｇ／ｄＬ前後であり、１日あたり１６～２２単位の外因性インスリンを要した。移植後、空腹時血糖値は（ＮＨＰを一晩絶食させたときの静脈内糖負荷試験（ＩＶＧＴＴ）の時間０の読み取り値（図２Ｃ）を使用すると、ナイーブＮＨＰの正常範囲内であったが（例えば、Ｍ９１１８では３７～９２ｍｇ／ｄＬ）、一部のＮＨＰのランダムな非空腹時血糖値は、正常前に変動し、ときには３００ｍｇ／ｄＬを超えることもあった。とは言え、ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルＮＨＰは、試験期間中、正常範囲内の良好な血糖コントロールを維持した（ＳＴＺ後／移植前対移植後、Ｐ＝０．００３５）（図２Ｂ）。３匹のＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルＮＨＰは、移植後に外因性インスリンを要したが、食後血糖値を２５０ｍｇ／ｄＬ未満に維持するためには、移植前の１０～２０％の量しか必要としなかった。対象４（Ｍ９１１８）は、当初１日あたり１～２単位のインスリンを要したが、移植から４ヶ月後には移植片が完全に機能するようになり、外因性インスリンは時折しか必要としなくなった。ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルＮＨＰでは、移植後のＥＩＲは、ＳＴＺ後／移植前よりも有意に低くなった（Ｐ＝０．００９２）。ＮＨＰは全て、ＳＴＺ誘導後及び移植後に初期の体重減少を経験したが、徐々に回復したことから、移植後の正常血糖は、栄養不良によるものではないことを示している。ＳＴＺ誘導及び移植手術の両方は、直ちに体重減少を引き起こすことが予想される。移植後の継続的な初期の軽微な体重減少は、ラパマイシン療法に関連している可能性が高い。代謝マーカーの結果は、ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルＮＨＰの正常な肝機能及び腎機能を示した（図６、四角破線）。試験終了時に島移植片を外科的に除去すると、ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルＮＨＰは、速やかに糖尿病状態に戻ったことから（血糖値：移植後対移植片摘出後でＰ＜０．０００１；ＥＩＲ：移植後対移植片後でＰ＝０．００４２）（図２Ｂ）、血糖コントロールが移植片によるものであったことを示している。

【０１２６】

特定の時点で、静脈内糖負荷試験（ＩＶＧＴＴ）を実施して、グルコース処理動態ならびにインスリン及びＣ－ペプチド濃度を評価した。グルコースボーラス刺激後、ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルＮＨＰは、９０分以内に正常血糖値に戻り、糖尿病誘導前のナイーブＮＨＰと同等のプロファイルであった［曲線下面積（ＡＵＣ）分析：ＳＴＺ前［ナイーブ］対ＳＴＺ後（ＳＴＺ誘導後であるが移植前）でＰ＜０．０００１；移植後３ヶ月対ＳＴＺ後でＰ＜０．０００１；移植後６ヶ月対ＳＴＺ後でＰ＝０．０００２）（図２Ｃ）。移植片の除去後、血糖値は、上昇し続け、移植前の糖尿病レベルと同等になったことから（ＡＵＣ：移植片除去後対ＳＴＺ後でＰ＝０．０７６０）、血糖値のコントロールは、移植片によるものであったことを示している。これらの移植片機能の尺度と一致して、ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルＮＨＰの血清中インスリン及びＣ－ペプチドのバックグラウンドレベルを、ＳＴＺ投与後であるが島移植前に測定し、移植片除去後も同様に明らかに低レベルであった（インスリン：ＳＴＺ前対ＳＴＺ後でＰ＜０．０００１；ＳＴＺ後対移植片除去後（ＰＧＲ）でＰ＝０．９９９８；Ｃ－ペプチド：ＳＴＺ前対ＳＴＺ後でＰ＝０．００６０；ＳＴＺ後対移植片除去後でＰ＝０．４０３２）（図２Ｄ）。ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルＮＨＰは、インスリン及びＣ－ペプチド発現を回復し（インスリン：３ヶ月移植後対ＳＴＺ後でＰ＝０．００２２；６ヶ月移植後対ＳＴＺ後でＰ＝０．０００７；Ｃ－ペプチド：移植３ヶ月後対ＳＴＺ後でＰ＝０．０２４８；移植６ヶ月後対ＳＴＺ後でＰ＝０．０２３０）、糖尿病前の状態と同様のレベルであった。とりわけ、刺激されたインスリン及びＣ－ペプチド濃度は、グルコース応答性を示す対応する空腹時濃度よりも高かった（インスリン：Ｐ＝０．０２７４、Ｃ－ペプチド：Ｐ＝０．０１４９）。ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルＮＨＰの糖化ヘモグロビン（ＨｂＡ１ｃ）値は、移植後に良好にコントロールされ、試験終了時にはＮＰＨのほとんど（３／４）でＡ１Ｃ値が６％を下回った。ＳＡ－ＦａｓＬタンパク質は、早くも移植後１日に全てのＮＨＰの血清中に４～５６ｎｇ／ｍＬの範囲で検出され、７～１４日目にはバックグラウンドレベルに減少した。この結果は、マウスのＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルにおけるｉｎ　ｖｉｖｏ測定値と一致しており、局所半減期は３．０日を示した。

【０１２７】

図２Ｅは、対照ミクロゲル（本明細書において単に「ミクロゲル」と称される）を投与した全レシピエントについて平均したランダムな非空腹時血糖値（左軸）及び総１日ＥＩＲ２２７（右軸）を示す。島移植前、ミクロゲルＮＨＰは、平均非空腹時血糖値が４００ｍｇ／ｄＬ前後であり、１日あたり１５～２０単位の外因性インスリンを要した。移植後、ミクロゲルＮＨＰは、何事もなく回復し、平均血糖値は、正常範囲に戻った。しかしながら、移植後３０日頃には、血糖値及び必要な外部インスリン用量が増加し、移植前の糖尿病状態と同等のレベルで上昇を維持し、移植片拒絶を示した（血糖値：移植後対拒絶後でＰ＝０．００５０；ＥＩＲ：移植後対移植片拒絶後でＰ＝０．０４４１）。移植後、ＮＨＰは、当初体重が減少したが、２５日目頃から体重が増加し始めた。ＩＶＧＴＴは、グルコースボーラス注入後も血糖値が上昇したままであったことから、移植片の機能が不良であったことを示した（ＡＵＣ：ＳＴＺ前対ＳＴＺ後でＰ＝０．００１３；移植後１ヶ月対ＳＴＺ後でＰ＝０．１０３６）（図２Ｆ）。同様に、移植１ヶ月後のインスリン及びＣ－ペプチド濃度は、移植前の糖尿病２４０レベルのままであった（インスリン：ＳＴＺ前対ＳＴＺ後でＰ＜０．０００１；１ヶ月移植後対ＳＴＺ後で２４１　Ｐ＝０．９５０４；Ｃ－ペプチド：ＳＴＺ前対ＳＴＺ後でＰ＜０．０１３４；１ヶ月移植後対ＳＴＺ後で２４２　Ｐ＞０．９９９９）（図２Ｇ）。

【０１２８】

剖検病理では、ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルＮＨＰの肝臓、心臓、肺、腎臓、及び腸組織は、正常なＨ＆Ｅ染色を示した。レシピエント膵臓は、内分泌腺細胞の小島様クラスターをわずかに含有したが、インスリン陽性β細胞は見られなかったことから、ＳＴＺ処理によって宿主β細胞が効果的に排除されたことを示し、移植後の血糖コントロールが移植片に帰属することを裏付けている。ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルＮＨＰの網移植部位の組織学分析では、島を思わせる十分に粒状化した多数の細胞クラスターが認められ、浸潤リンパ球は最小限か全くなかったことから、拒絶反応がないことが示唆される。ミクロゲルＮＨＰの網の組織学では、リンパ球が浸潤した島様クラスターが認められ、移植片拒絶反応と一致した。移植片部位の免疫染色では、長期（１７７日目）ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルＮＨＰにおいて、移植した島に対応するよく保存されたインスリン$^{+}$構造が示されたが、拒絶反応時のミクロゲル対照ＮＨＰの切片（２１日目）は、インスリン染色が末梢で欠失した構造を示した。重要なのは、移植片部位の免疫染色分析により、ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルＮＨＰでは、ＦｏｘＰ３＋（T_{reg}のマーカー）細胞がミクロゲルＮＨＰと比較して高頻度（細胞数、強度）で存在することが示されたことである（ＦｏｘＰ３$^{+}$細胞数：Ｐ＝０．０１４３；ＦｏｘＰ３$^{+}$強度：Ｐ＝０．０４３、図３Ａ～Ｂ）。この所見は、糖尿病マウスでの試験と一致しており、ＳＡ－ＦａｓＬ－ミクロゲル誘導による免疫受容の確立において、T_{reg}が重要な役割を果たすことを示している（Ｈｅａｄｏｎ，ＤＭ，ｅｔａｌ．，Ｎａｔ．Ｍａｔｅｒ．１７：７３２－７３９（２０１８））。

【０１２９】

末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）を特定の時点で採取し、免疫染色し、検証済みのゲーティング戦略を使用してフローサイトメトリーによって評価した。図４は、免疫細胞集団の縦断的プロファイルを示す。ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲル及びミクロゲルＮＨＰの両方でＣＤ２０$^{+}$Ｂ細胞ならびにＣＤ３$^{+}$、ＣＤ４$^{+}$及びＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞のレベルは、わずかな変動があるものの両群の個々のＮＨＰ間で経時的に安定したままであった（ＣＤ２０$^{+}$：Ｐ＝０．５０６９、Ｐ＝０．２５３１；ＣＤ３$^{+}$：Ｐ＝０．３４０５、Ｐ＝０．４９５９；ＣＤ４$^{+}$：Ｐ＝０．５０７９、Ｐ＝０．５１４２；ＣＤ８$^{+}$：Ｐ＝０．２２８７、Ｐ＝０．５２７７）。同様に、ＣＤ２８$^{+}$　ＣＤ９５$^{-}$　ＣＤ４$^{+}$またはＣＤ８$^{+}$ナイーブ、ＣＤ２８$^{+}$　ＣＤ９５$^{+}$　ＣＤ４$^{+}$またはＣＤ８$^{+}$セントラルメモリー、ＣＤ２８$^{-}$　ＣＤ９５$^{+}$　ＣＤ４$^{+}$またはＣＤ８$^{+}$エフェクターメモリーＴ細胞にも経時的な差は観察されなかった（ＣＤ４$^{+}$ナイーブ：Ｐ＝０．４６２１、Ｐ＝０．５１０２；ＣＤ８$^{+}$ナイーブ：Ｐ＝０．２５２４、Ｐ＝０．５６２６；ＣＤ４$^{+}$セントラルメモリー：２８３Ｐ＝０．５９７７、Ｐ＝０．４７８５；ＣＤ８$^{+}$セントラルメモリー：Ｐ＝０．４４２０、Ｐ＝０．４７９０；ＣＤ４$^{+}$エフェクターメモリー：２８４Ｐ＝０．４８１５、Ｐ＝０．４８２９；ＣＤ８$^{+}$エフェク

ターメモリー：Ｐ＝０．２４４２、Ｐ＝０．０８４４）。ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルＮＨＰにおいて、全身循環中のこれらの免疫細胞集団に経時的な差がないのは、移植片に対するＳＡ－ＦａｓＬの免疫抑制効果が局所であることに起因し得る（Ｙｏｌｃｕ，ＥＳ．，ａｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１８７：５９０１－５９０９（２０１１）及びＨｅａｄｏｎ，ＤＭ，ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ．Ｍａｔｅｒ．１７：７３２－７３９（２０１８））。

【０１３０】

移植前及び移植後の複数の時点でドナーＭＨＣ抗原に対するＩｇＧ抗体の産生をフローサイトメトリーによって評価した。ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルＮＨＰにおいて、ＭＨＣクラスＩ（Ｐ＝０．２９０４）またはＭＨＣクラスＩＩ（Ｐ＝０．０７５８）に対する陽性ドナー特異的抗体は、経時的に検出されなかった（図５Ａ及び５Ｂ）。対照的に、移植１ヶ月後の対照ミクロゲルＮＨＰの血清では、ＭＨＣクラスＩＩ（Ｐ＝０．０３２６）に対する抗体の力価に有意な増加があったが、クラスＩ（Ｐ＝０．３２９２）に対する抗体の力価に有意な増加はなかった（図５Ａ及び５Ｂ）。ドナー及び第三者ＣＤ４$^{+}$及びＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞に対する混合リンパ球反応もまた、ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルＮＨＰにおいて、移植前と移植後の条件間で反応が変わらないことを示した（ＣＤ４$^{+}$ドナー：Ｐ＝０．４２００；ＣＤ４$^{+}$第三者：Ｐ＝０．６９４９；ＣＤ８$^{+}$ドナー：Ｐ＝０．４１４５；ＣＤ８$^{+}$第三者：Ｐ＝０．７８５８）（図５Ｃ～５Ｆ）。ミクロゲルＮＨＰは、ドナー（Ｐ＝０．６０８２）及び第三者（Ｐ＝０．０５５５）刺激物に対するＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞反応に変化を示さなかったが、ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞コンパートメントは、ドナー（Ｐ＝０．００５７）及び第三者（Ｐ＝０．０２１６）抗原の両方に対して反応の増加を示した（図５Ｃ～５Ｆ）。酵素結合免疫スポット（ＥＬＩＳｐｏｔ）アッセイでは、ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルＮＨＰ（ドナー：Ｐ＝０．２４８５；第三者：Ｐ＝０．１４４５）またはミクロゲルＮＨＰ（ドナー：Ｐ＝０．０８２４；第三者：Ｐ＝０．１４１３）において、移植前と移植後の各時点でＩＦＮ－γ分泌に差がないことが示された（図５Ｇ～５Ｈ）。マルチプレックス免疫ビーズアッセイでは、ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルＮＨＰ及びミクロゲルＮＨＰの血清中の炎症促進性及び抗炎症性サイトカイン及びケモカインの移植前後のレベルで有意差は示されなかった。最後に、ＳＡ－ＦａｓＬタンパク質に対する抗体は、初期の時点ではＳＡ－ＦａｓＬミクロゲルＮＨＰの血清中に検出されなかったが、移植から約２週間後に発現した。抗体の大部分は、ＳＡ－ＦａｓＬタンパク質のＳＡドメインに対するものであった。これらの結果により、ＳＡ－ＦａｓＬに対する抗体は、ＳＡ－ＦａｓＬが全身で検出されなくなる移植後約２週間で発現し、主にキメラタンパク質のＳＡ部分に対するものであることが示された。重要なのは、かかる抗体の存在が、同種異系島移植片の生存を維持するプロトコルの有効性に悪影響を与えなかったことである。

【０１３１】

これらの結果は、同種異系島と共移植したＳＡ－ＦａｓＬ提示ミクロゲルが、慢性的な免疫抑制を伴わずに、糖尿病ＮＨＰにおける長期（＞６ヶ月）生存及び優れた血糖コントロールの維持に有効であることを示している。

【０１３２】

実施例２

集中的な糖尿病管理にもかかわらず、コントロール不良の糖尿病成人におけるｉＴＯＬ－１０１及びシロリムス短期投与の安全性、忍容性、及び活性を示すために、第１／２相試験を実施する。試験デザインの概略を図７に示す。

【０１３３】

ｉＴＯＬ－１０１

ｉＴＯＬ－１０１は、２つの要素：１）ｉＴＯＬ－１００薬剤（ＳＡ－ＦａｓＬミクロゲル）及び２）同種異系死亡ドナー膵島薬剤からなる。

【０１３４】

同種島の用量は、被験者によって異なるが、少なくとも５，０００島相当量（ＩＥＱ）／ｋｇの機能的な島が各被験者に送達される。総ＩＥＱ及び移植に必要な最低用量（５，

０００ＩＥＱ／ｋｇ）の評価は、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ（ＮＩＨ）ＣＩＴ第３相臨床試験（ＣｌｉｎｉｃａｌＴｒｉａｌｓ．ｇｏｖ識別番号：ＮＣＴ００４３４８１１）において使用された標準作業手順書（ＳＯＰ）に従って決定される。

【０１３５】

およそ１１ｍＬのダルベッコリン酸緩衝生理食塩水中の０．７ｍｇのＳＡ－ＦａｓＬのｉＴＯＬ－１００用量を３５０，０００個の島（５，０００ＩＥＱ／ｋｇ）と混合して、最終送達用量とする。ｉＴＯＬ－１００の容量は、埋め込まれる膵島の総量の任意の増加に応じて体積：体積で調整される。

【０１３６】

参加者

試験の参加者は、以下の組み入れ基準を満たす：

・１８歳～６５歳の成人男女；

・１型糖尿病（Ｔ１Ｄ）に適合する病歴を有し、発症時に４０歳未満で、登録時に5年を超えるインスリン依存状態；

・食事開始後６０分及び９０分に測定された混合食負荷試験（ＭＭＴＴ）に対する刺激Ｃ－ペプチドの消失（＜０．３ｎｇ／ｍＬ）；

・試験登録前の１２ヶ月に、内分泌病専門医または糖尿病専門家の指示の下、血糖値の継続的モニタリング、毎日３回以上のインスリン注射投与、またはインスリンポンプ療法を含む、２回以上の臨床評価を伴う積極的な集中的糖尿病管理；ならびに

・Ｃｌａｒｋｅスコア≧４で測定される無自覚性低血糖症及び以下の基準のうちの少なくとも１つ：

ｏ集中的糖尿病管理の介入にもかかわらず、登録前１２ヶ月に米国糖尿病学会（ＡＤＡ）基準によって定義される重症低血糖症のうちの少なくとも２エピソード；

ｏＨｂＡ１ｃ＞８．０及び血糖変動＞３６％（ｃｖ）；

ｏＨｂＡ１ｃ＞７．０及び範囲未満（血糖値＜７０ｍｇ／ｄＬ）の時間＞８％

【０１３７】

試験参加者は、以下の除外基準のいずれにも該当しない：

・ボディマス指（ＢＭＩ）＞３０ｋｇ／ｍ２または体重≦５０ｋｇ；

・インスリン必要量＞１．０ＩＵ／ｋｇ／日または＜１５Ｕ／日；

・ＨｂＡ１ｃ＞１０％；

・未治療の増殖糖尿病網膜症；

・血圧：収縮期＞１６０ｍｍＨｇまたは拡張期＞１００ｍｍＨｇ；

・被験者の血清クレアチニン測定値及びＣｈｒｏｎｉｃ Ｋｉｄｎｅｙ Ｄｉｓｅａｓｅ Ｅｐｉｄｅｍｉｏｌｏｇｙ Ｃｏｌｌａｂｏｒａｔｉｏｎ（ＣＫＤ－ＥＰＩ）式またはＭｏｄｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ Ｄｉｅｔ ｉｎ Ｒｅｎａｌ Ｄｉｓｅａｓｅ［ＭＤＲＤ］研究推算式）を使用して算出した推算糸球体濾過量（ｅＧＦＲ）＜８０ｍＬ／分／１．７３ｍ^2。ｅＧＦＲ＜７０ｍＬ／分／１．７３ｍ^{2}の厳格なベジタリアン（ヴィーガン）も除外した。完全（生）ＧＦＲ値は体表面積が１．７３ｍ^{2}超の被験者に使用する；あるいは

・マクロアルブミン尿症の存在または既往歴（＞３００ｍｇ／ｇクレアチニン）。

【０１３８】

ｉＴＯＬ－１０１及びシロリムス投与

ｉＴＯＬ－１０１の２成分を臨床施設で混合し、標準治療による移植前の鎮静及び全身麻酔下で１２フレンチ胃瘻カテーテルを使用する腹腔鏡手術により投与してｉＴＯＬ－１０１を大網表面に送達する。島の大網表面への接着を促進し、細胞のペレット化を避けるために、ヒト組み換えトロンビンを必要に応じて加え、埋め込む移植片の体積とほぼ同量を加えて移植片表面を覆う。

【０１３９】

大網上にｉＴＯＬ－１０１を配置した後、大網をｉＴＯＬ－１０１移植片上で折り重ね

ることによって網嚢（大網フラップ）を作製する。ｉＴＯＬ－１０１の調製及び送達ならびに大網フラップの形成を含む全処置は、３０分未満で完了し得る。

【０１４０】

シロリムス（ｍＴＯＲ阻害剤）は、被験者の入院時、手術の１～３日前に開始し、合計２４週間とする。被験者には、シロリムスを、最初の１２週間は血中トラフ濃度９～１３ｎｇ／ｍＬを維持するように調整して投与し、続いて、血中トラフ濃度に基づいて２週間（＋／－７日）ごとに減少する１２週間の漸減レジメンで投与する。シロリムスの表示に従って、予防的な抗ウイルス剤（ファムシクロビル）、及び抗菌剤（スルファメトキサゾール及びトリメトプリム）も被験者に２４週間投与される。シロリムスレジメンは、以下のとおりである：

・最初の１２週間は９～１３ｎｇ／ｍＬ；
・１４週目まで７～１１ｎｇ／ｍＬ；
・１６週目まで５～９ｎｇ／ｍＬ；
・１８週目まで３～７ｎｇ／ｍＬ；
・２０週目まで１～５ｎｇ／ｍＬ；
・２２週目まで０～３ｎｇ／ｍＬ；
・２４週目で０。

【０１４１】

安全性及び有効性

以下の安全性エンドポイントを検討する：

・発熱、悪心、嘔吐、腹痛の発生；
・埋め込み後及びその後の診察時における腹腔鏡下ポート部位の評価（例えば、出血、紅斑、疼痛、圧痛、硬結、膿）；
・試験中に報告された全有害事象（ＡＥ）の発生率（関連が疑われる任意の免疫反応を含む）；
・臨床的に重要なグレード３及び４の検査所見異常の発生率；
・３、６、及び１２ヶ月時点における網膜症の評価；
・３、６、及び１２ヶ月時点におけるｅＧＦＲの評価；
・１２ヶ月時点における同種感作。

【０１４２】

ｉＴＯＬ－１０１の投与及びシロリムスの一時的コースが安全であることを示すために、安全性エンドポイントのレビューを実施する。

【０１４３】

以下の有効性エンドポイントが検討される。

・６ヶ月及び１２ヶ月時点でのインスリン非依存被験者の数；
・６ヶ月及び１２ヶ月時点でベースラインと比較してインスリン必要量が５０％以上減少した被験者の数；
・３ヶ月、６ヶ月、及び１２ヶ月時点でのＭＭＴＴ中のピークＣ－ペプチドが１００ｐｍｏｌ／Ｌ以上である被験者の数；
・３ヶ月、６ヶ月、及び１２ヶ月時点で範囲内（血糖値７０～１８０ｍｇ／ｄＬ）の時間が７０％を超える被験者の数；
・３ヶ月、６ヶ月、及び１２ヶ月時点での血糖変動が３６％（ｃｖ）未満である被験者の数；
・３ヶ月、６ヶ月、及び１２ヶ月時点でＨｂＡ１ｃが６．５未満またはＨｂＡ１ｃがベースラインから２％以上減少した被験者の数；
・１２ヶ月時点で少なくとも１つの重症低血糖エピソードがある被験者の数；ならびに
・３ヶ月、６ヶ月、及び１２ヶ月時点で重症低血糖イベントが５０％を超えて減少または消失した被験者の数。

【０１４４】

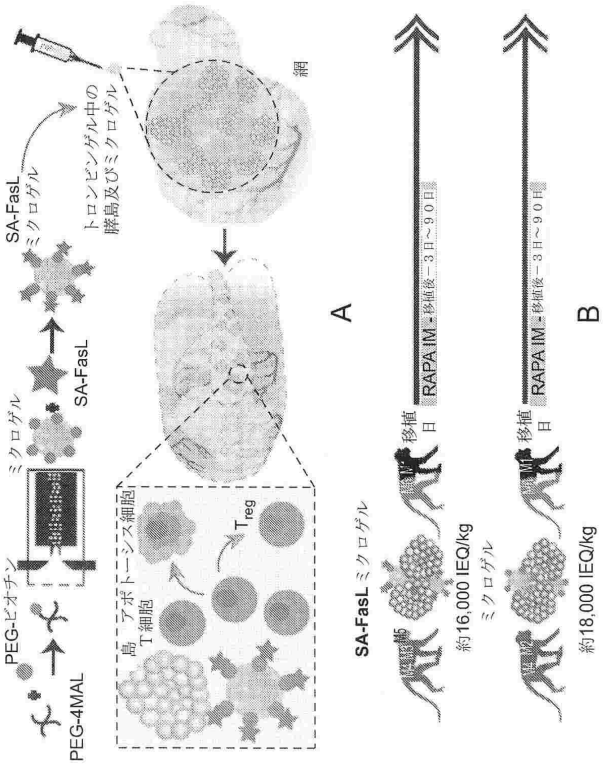
ｉＴＯＬ－１０１の投与及びシロリムスの一時的コースが糖尿病の治療に有効であるこ

とを示すために、有効性エンドポイントのレビューを実施する。

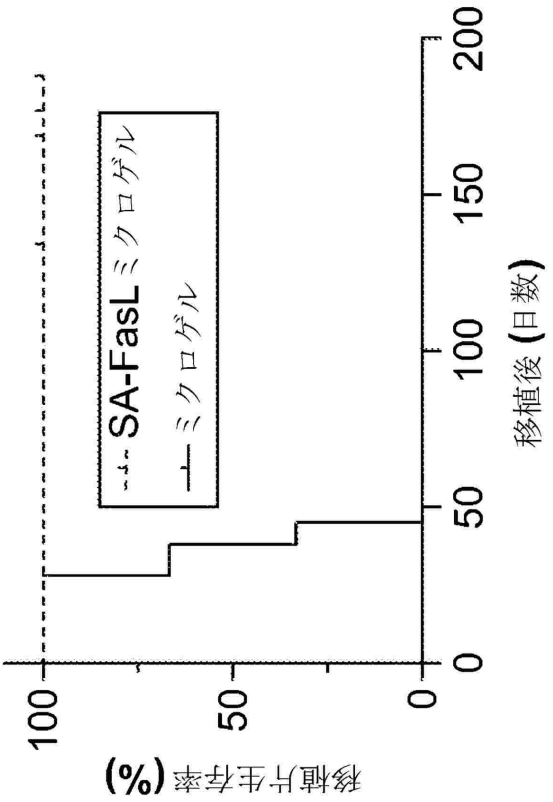
＊　＊　＊

【図面】

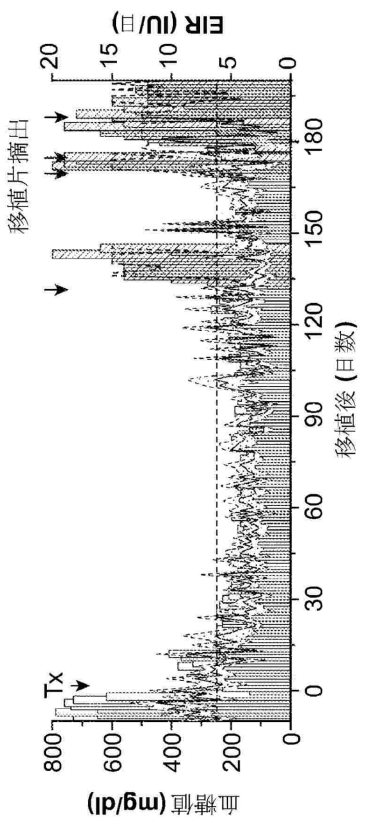
【図１】



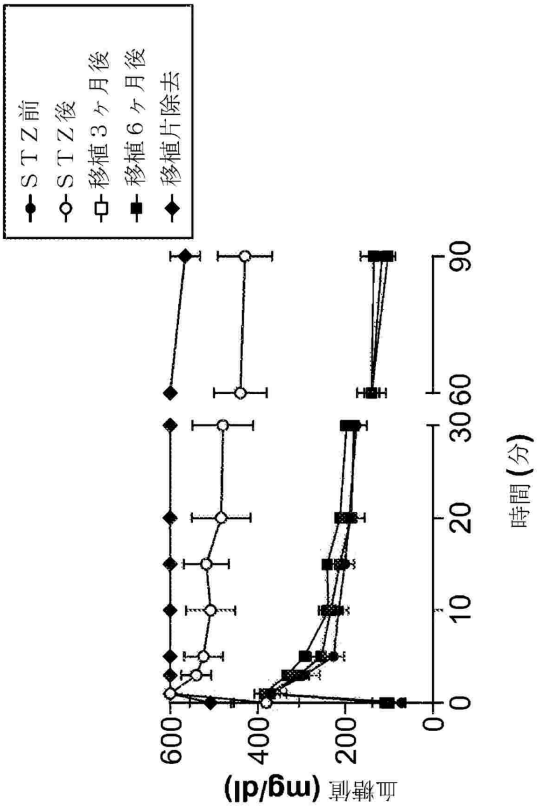
【図２Ａ】



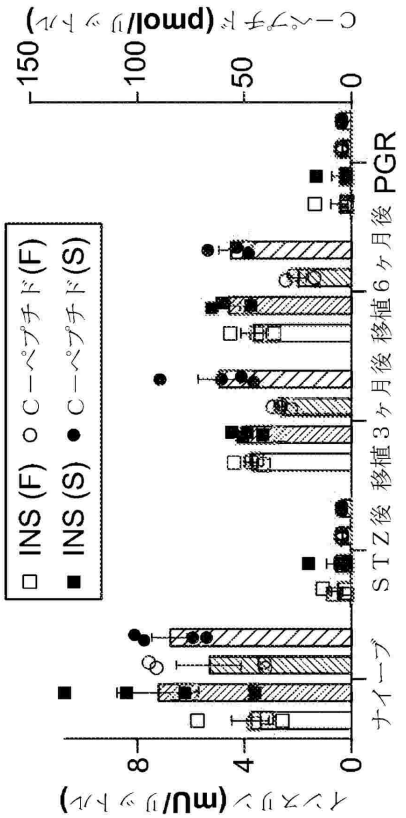
【図２Ｂ】



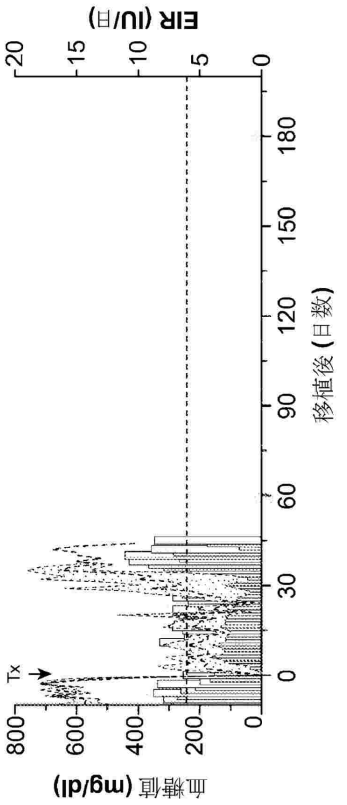
【図２Ｃ】



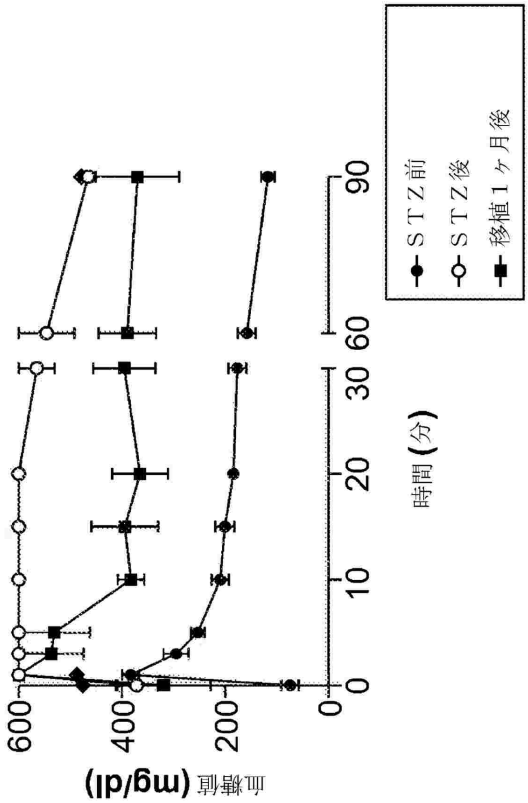
【図２Ｄ】



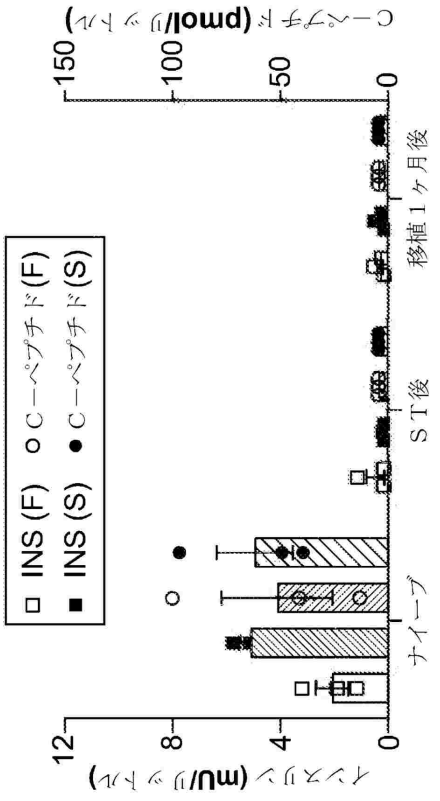
【図２Ｅ】



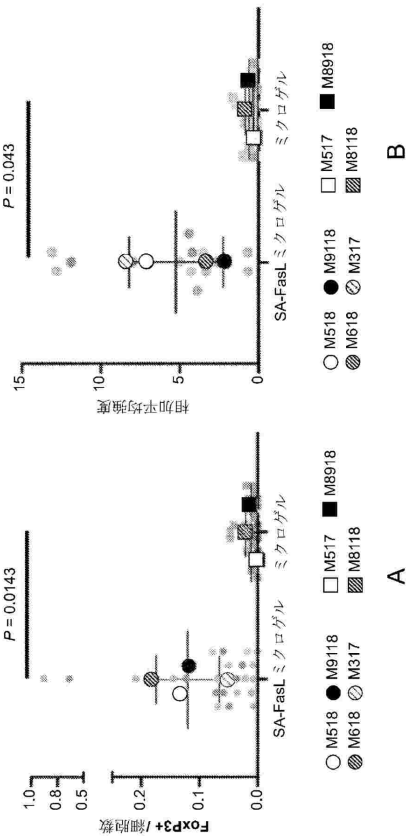
【図２Ｆ】



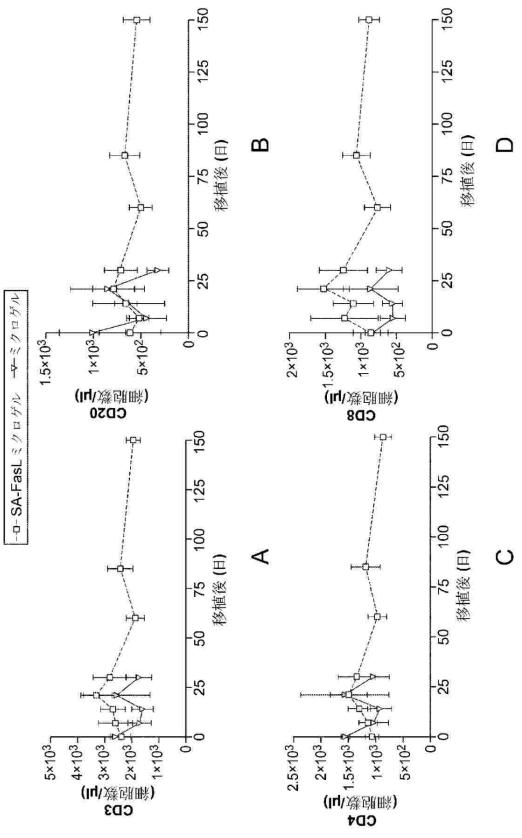
【図２Ｇ】



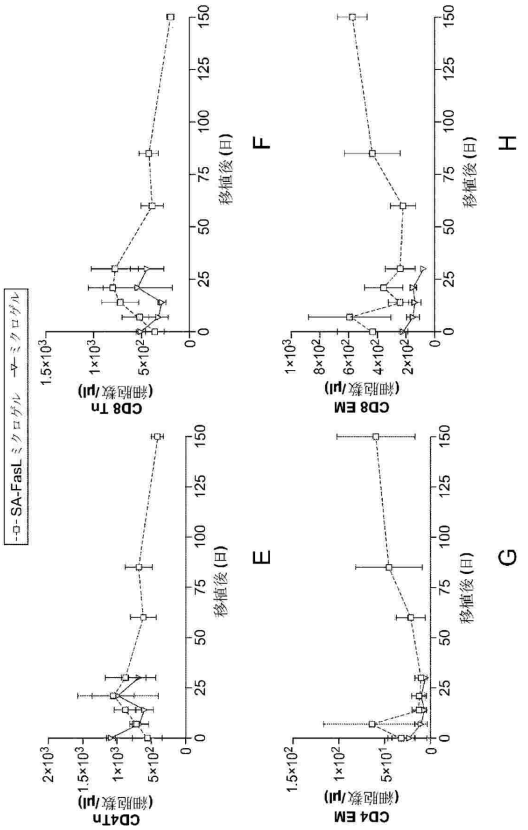
【図３】



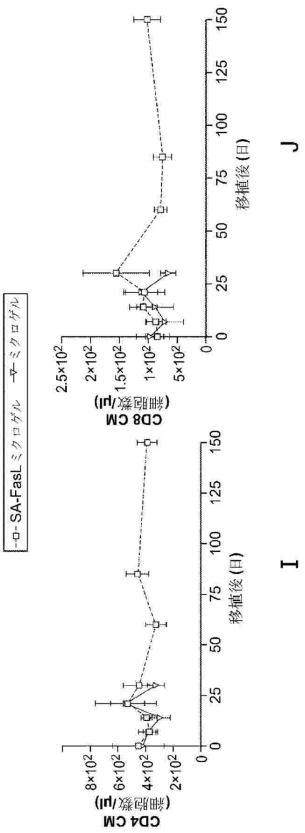
【図４－１】



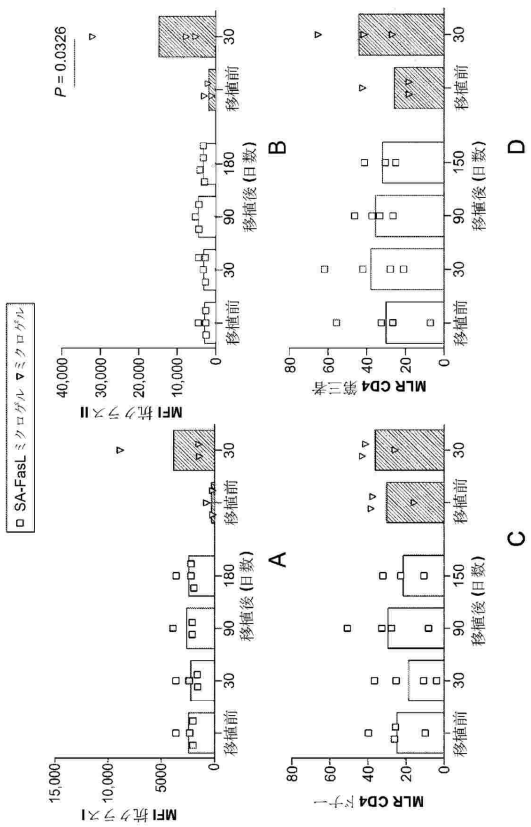
【図４－２】



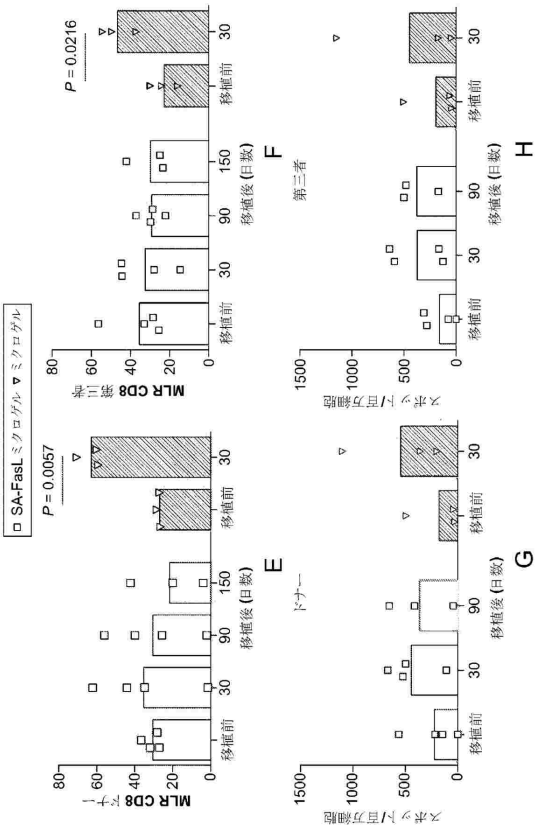
【図４－３】



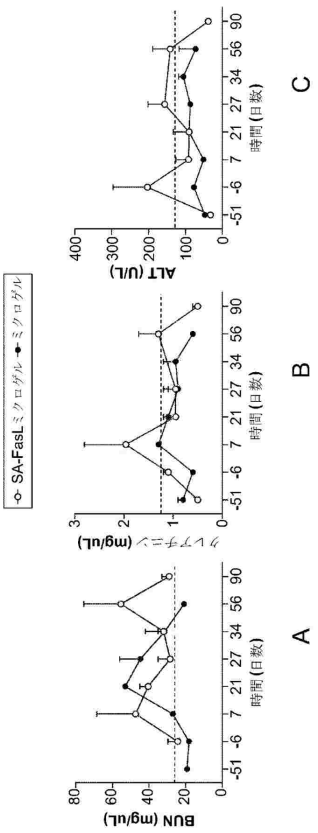
【図５－１】



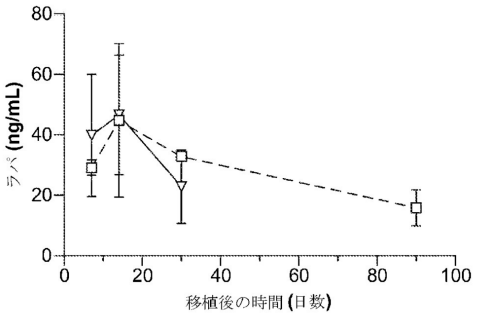
【図５－２】



【図６－１】



【図６－２】



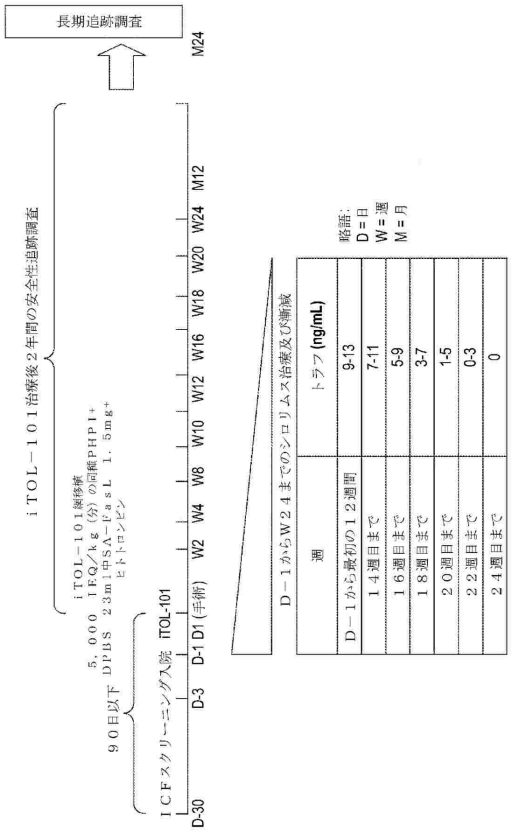
【図６－３】

動物１匹あたりの血清ラパ濃度（ｎｇ／ｍＬ）

時間（日数）	SA-FasL-ミクロゲル				ミクロゲル		
	M317	M618	M518	M9118	M517	M8118	M8119
7	31.0	31.5	27.3	26.3	38.4	60.6	20.3
14	24.3	50.3	25.9	78.4	42.8	28.8	68.0
30	32.1	33.8	31.0	34.3	12.1	36.0	20.2
90	18.5	22.7	12.3	9.7			

E

【図７】



【配列表】
2025516714000001.xml

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 23/66897

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC - INV. A61L 27/26 (2023.01)
ADD. A61K 45/06 (2023.01)

CPC - INV. A61L 27/26; A61K 9/0024

ADD. A61L 27/54, A61L 2300/426, A61L 27/3834, C12N 2502/1358

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 --- Y	US 2020/0046780 A1 (UNIVERSITY OF LOUISVILLE RESEARCH FOUNDATION, INC.) 13 February 2020 (13.02.2020) abstract; para [0013]; [0026]; [0045]; [0052]; [0058]	1 --- 2-5
Y	US 2021/0105999 A1 (REICHART) 15 April 2021 (15.04.2021) para [0005]; [0053]; [0386]	2-5

☐ 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
27 July 2023	AUG 23 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 23/66897

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.: 6-59
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:

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.:

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.

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）
A61K	*35/36 (2015.01)*	A61K	35/36		4C087
A61K	*35/26 (2015.01)*	A61K	35/26		4H045
A61K	*38/16 (2006.01)*	A61K	38/16		
A61K	*47/10 (2017.01)*	A61K	47/10		
A61K	*9/08 (2006.01)*	A61K	9/08		
A61K	*9/20 (2006.01)*	A61K	9/20		
A61K	*45/00 (2006.01)*	A61K	45/00		
A61K	*31/522 (2006.01)*	A61K	31/522		
A61K	*31/505 (2006.01)*	A61K	31/505		
A61K	*31/635 (2006.01)*	A61K	31/635		
A61P	*31/12 (2006.01)*	A61P	31/12		
A61P	*31/04 (2006.01)*	A61P	31/04		
A61P	*37/06 (2006.01)*	A61P	37/06		
A61P	*43/00 (2006.01)*	A61P	43/00	121	
A61K	*45/06 (2006.01)*	A61K	45/06		
A61K	*39/395 (2006.01)*	A61K	39/395	N	
C07K	*14/47 (2006.01)*	C07K	14/47	ZNA	
C07K	*19/00 (2006.01)*	C07K	19/00		
C12N	*5/0775(2010.01)*	C12N	5/0775		
C12N	*5/0786(2010.01)*	C12N	5/0786		
C12N	*5/0784(2010.01)*	C12N	5/0784		
C12N	*5/0789(2010.01)*	C12N	5/0789		

,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,MU,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,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

(74)代理人 100168631
弁理士 佐々木 康匡
(72)発明者 ゲイト スミトラ エム
アメリカ合衆国 フロリダ州 ３３１３６ マイアミ ノースウエスト セブンス アヴェニュー １９５１ ＃３００ アイトレランス インコーポレイテッド内
(72)発明者 リコルディ カミッロ
アメリカ合衆国 フロリダ州 ３３１３６ マイアミ ノースウエスト セブンス アヴェニュー １９５１ ＃３００ アイトレランス インコーポレイテッド内
(72)発明者 マークマン ジェームズ エフ
アメリカ合衆国 フロリダ州 ３３１３６ マイアミ ノースウエスト セブンス アヴェニュー １９５１ ＃３００ アイトレランス インコーポレイテッド内

Ｆターム（参考）
4B065 AA90X AA90Y AC14 CA44 CA46
4C076 AA09 AA11 AA36 AA94 BB01 BB32 CC07 CC32 CC35 EE23 FF68
4C084 AA02 AA03 AA22 AA23 CA53 DA27 DC50 MA02 MA16 MA35 MA52 MA67 NA05 NA10 NA14 ZB081 ZB082 ZB332 ZB352 ZC751 ZC752
4C085 AA14 BB11 DD62 EE03
4C086 AA01 AA02 BC42 CB07 CB22 DA20 MA03 MA04 MA16 MA35 MA52 MA67 NA05 NA10 NA14 ZB08 ZB33 ZB35 ZC75
4C087 AA01 AA02 BB37 BB43 BB44 BB51 BB63 CA04 MA02 MA67 NA05 NA14 ZB08 ZC75
4H045 AA10 AA30 BA09 CA40 EA20 EA50