

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】平成27年11月12日 (2015.11.12)

【公表番号】特表2014-530012(P2014-530012A)

【公表日】平成26年11月17日 (2014.11.17)

【年通号数】公開・登録公報2014-063

【出願番号】特願2014-533413(P2014-533413)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 6 1 P 7/00 (2006.01)

A 6 1 P 7/06 (2006.01)

A 6 1 P 7/02 (2006.01)

A 6 1 K 35/12 (2015.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

A 6 1 P 7/00

A 6 1 P 7/06

A 6 1 P 7/02

A 6 1 K 35/12

【手続補正書】

【提出日】平成27年9月17日 (2015.9.17)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

レトロウイルスと一緒に培養した細胞の形質導入効率を上昇させるための in vitro 方法であって、該細胞および該レトロウイルスを、プロスタグランジン E P 受容体シグナル伝達を増加させる化合物を含む培養培地中で培養する工程を含む方法。

【請求項 2】

必要に応じて、

(a) 前記細胞が幹細胞または前駆細胞であるか、

(b) 前記細胞が、骨芽細胞、軟骨細胞、脂肪細胞、骨格筋、心筋、ニューロン、星状膠細胞、オリゴデンドロサイト、シュワン細胞、網膜細胞、角膜細胞、皮膚細胞、単球、マクロファージ、好中球、好塩基球、好酸球、赤血球、巨核球、樹状細胞、Tリンパ球、Bリンパ球、NK細胞、胃細胞、腸細胞、平滑筋細胞、血管細胞、膀胱細胞、膵アルファ細胞、膵ベータ細胞、膵デルタ細胞、肝細胞、腎細胞、副腎細胞、および肺細胞からなる群から選択されるか、あるいは

(c) 前記細胞が造血幹細胞または造血前駆細胞である、

請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

必要に応じて、

(a) 前記幹細胞または前駆細胞が、胚性幹細胞および人工多能性幹細胞からなる群から選択されるか、

(b) 前記幹細胞または前駆細胞が、間葉幹細胞、造血幹細胞、神経幹細胞、網膜幹細胞、心筋幹細胞、骨格筋幹細胞、脂肪組織由来幹細胞、軟骨形成幹細胞、肝幹細胞、腎幹

細胞、および臍幹細胞からなる群から選択されるか、あるいは

(c) 前記幹細胞または前駆細胞が造血幹細胞または造血前駆細胞である、  
請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

必要に応じて、

(a) 前記造血幹細胞または造血前駆細胞の少なくとも約 50% が形質導入されている  
か、

(b) 前記造血幹細胞または造血前駆細胞の少なくとも約 75% が形質導入されている  
か、あるいは、

(c) 前記造血幹細胞または造血前駆細胞の少なくとも約 90% が形質導入されている  
、  
請求項 2 に記載の方法。

【請求項 5】

必要に応じて、

(a) プロスタグランジン E<sub>2</sub> 受容体シグナル伝達を増加させる前記化合物が、PGE<sub>2</sub> ; PGB<sub>2</sub> ; PGD<sub>2</sub> ; PGE<sub>1</sub> ; PGE<sub>2</sub> ; PGF<sub>2</sub> ; PGI<sub>2</sub> ; PGH<sub>2</sub> ; PGJ<sub>2</sub> ;  
ならびにその前駆体、代謝産物、誘導体および類似体からなる群から選択されるか、

(b) プロスタグランジン E<sub>2</sub> 受容体シグナル伝達を増加させる前記化合物が、15d  
- PGJ<sub>2</sub> ; デルタ 12 - PGJ<sub>2</sub> ; 2 - ヒドロキシヘプタデカトリエン酸 (HHT) ;  
トロンボキサン A<sub>2</sub> ; トロンボキサン B<sub>2</sub> ; イロprost ; トレprostチニル ; トラボ  
prost ; カルボprost・トロメタミン ; タフルprost ; ラタノprost ; ビマトprost  
st ; イソプロピルウノprostton ; クロprostステノール ; エストロファン ; スーパー  
ファン ; ミソprostトール ; プタprost ; リノール酸 ; 13 (s) - HODE ; LY 17  
1883 ; ミード酸 ; エイコサトリエン酸 ; エボキシエイコサトリエン酸 ; ONO - 25  
9 ; Cay 1039 ; PGE<sub>2</sub> 受容体アゴニスト ; 16, 16 - ジメチル PGE<sub>2</sub> ; 19  
(R) - ヒドロキシ PGE<sub>2</sub> ; 16, 16 - ジメチル PGE<sub>2</sub> p - (p - アセトアミドベ  
ンズアミド) フェニルエステル ; 11 - デオキシ - 16, 16 - ジメチル PGE<sub>2</sub> ; 9 -  
デオキシ - 9 - メチレン - 16, 16 - ジメチル PGE<sub>2</sub> ; 9 - デオキシ - 9 - メチレン  
PGE<sub>2</sub> ; スルprostton ; PGE<sub>2</sub> セリノールアミド ; PGE<sub>2</sub> メチルエステル ; 16  
- フェニルテトラノール PGE<sub>2</sub> ; 15 (S) - 15 - メチル PGE<sub>2</sub> ; 15 (R) - 15  
- メチル PGE<sub>2</sub> ; BIO ; 8 - プロモ - cAMP ; フォルスコリン ; Bapta - AM  
; フェンジリン ; ニカルジピン ; ニフェジピン ; ピモジド ; ストロファンチジン ; ラナト  
シド ; L - Arg ; ニトロブルシドナトリウム ; バナジン酸ナトリウム ; ブラジキニン ;  
メベベリン ; フランドレノリド ; アテノロール ; ビンドロール ; ガボキサドール ; キヌ  
レン酸 ; ヒドララジン ; チアベンダゾール ; ピククリン ; ベサミコール ; ペルボシド ; イ  
ミブラミン ; クロルプロパミド ; 1, 5 - ペンタメチレンテトラゾール ; 4 - アミノピリ  
ジン ; ジアゾキシド ; ベンフォチアミン ; 12 - メトキシドデセン酸 ; N - ホルミル - M  
et - Leu - Phe ; ガラミン ; IAA 94 ; およびクロロトリアニセンからなる群か  
ら選択されるか、あるいは

(c) プロスタグランジン E<sub>2</sub> 受容体シグナル伝達を増加させる前記化合物が、プロス  
タグランジン E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>)、または 16, 16 - ジメチル PGE<sub>2</sub> からなる群から選  
択される、

請求項 1 から 4 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記細胞およびレトロウイルスをヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害剤の存在  
下で培養する工程をさらに含み、前記 HDAC 阻害剤が、必要に応じて、トリコスタチン  
A (TSA)、バルプロ酸 (VPA)、酪酸ナトリウム、スベロイルアニリドヒドロキサ  
ム酸 (SAHA)、フェニル酪酸ナトリウム、デブシペプチド、トラボキシニン (TPX)  
、環状ヒドロキサム酸含有ペプチド 1 (CHAP1)、MS - 275、LBH589、お  
よび PXD - 101 からなる群から選択される、請求項 1 から 5 までのいずれか一項に記

載の方法。

【請求項 7】

前記レトロウイルスがレンチウイルスである、

前記レトロウイルスが、必要に応じてヒト免疫不全ウイルス（HIV）ウイルスである、  
および / または

前記レトロウイルスが、必要に応じて水疱性口内炎ウイルス G タンパク質（VSV - G）エンベロープタンパク質でシュードタイピングされている、

請求項 1 から 6 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記細胞を、形質導入の前にプロスタグランジン E 受容体シグナル伝達を増加させる前記化合物の存在下で培養する、請求項 1 から 7 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

必要に応じて、

(a) 前記細胞を、プロスタグランジン E 受容体シグナル伝達を増加させる前記化合物と一緒に少なくとも約 2 時間にわたって培養する、

(b) 前記細胞を、プロスタグランジン E 受容体シグナル伝達を増加させる前記化合物と一緒に少なくとも約 4 時間にわたって培養する、

請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記細胞を、形質導入の間、必要に応じて少なくとも約 2 4 時間にわたって、プロスタグランジン E 受容体シグナル伝達を増加させる前記化合物の存在下で培養する、請求項 1 から 8 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

請求項 9 から 10 までのいずれか一項に記載の方法であって、請求項 9 に従属する場合は、前記細胞を、プロスタグランジン E 受容体シグナル伝達を増加させる前記化合物と一緒に少なくとも約 4 時間にわたって培養し、前記細胞を、形質導入の最初の 2 4 時間の間または形質導入の最初の 4 8 時間の間に、プロスタグランジン E 受容体シグナル伝達を増加させる前記化合物の存在下で培養する、方法。

【請求項 12】

前記レトロウイルスが、

a) 左側の (5') レトロウイルス LTR と、

b) 目的の遺伝子に作動可能に連結した発現制御配列と、

c) 右側の (3') レトロウイルス LTR と

を含むベクターを含む、請求項 1 から 11 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

必要に応じて、

(I) 前記レトロウイルスが、

a) 左側の (5') HIV - 1 LTR と、

b) プサイパッケージング配列 (+) と、

c) HIV - 1 セントラルポリプリントラクト / DNA フラップ (cPPT / FLAP) と、

d) rev 応答エレメント (RRE) と、

e) 目的の遺伝子に作動可能に連結した - グロビンプロモーターおよび - グロビン遺伝子座制御領域 (LCR) と、

f)

i) 1 つまたは複数のインスレーターエレメント、または

ii) ウサギ - グロビンポリ A 配列 (rgpA)

を含む右側の (3') レトロウイルス LTR と

を含むベクターを含む、

(II) 前記造血幹細胞または造血前駆細胞が、異常ヘモグロビン症に罹患している患

者に投与され、前記異常ヘモグロビン症が、必要に応じて - サラセミアまたは鎌状赤血球症であるか、あるいは

- ( I I I ) 前記レトロウイルスが、
  - ( a ) 左側の ( 5 ' ) H I V - 1 L T R と、
  - ( b ) プサイ ( ) パッケージングシグナルと、
  - ( c ) c P P T / F L A P と、
  - ( d ) R R E と、
  - ( e ) ヒト A B C D 1 ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに作動可能に連結した M N D プロモーターと、
  - ( f ) 右側の ( 3 ' ) H I V - 1 L T R と、
  - ( g ) ウサギ - グロビンポリアデニル化配列と
- を含むベクターを含む、

請求項 4 から 1 2 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記レトロウイルスが複製欠損性である、請求項 1 から 1 3 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5】

請求項 1 3 に記載の方法で規定される前記造血幹細胞または造血前駆細胞を含む組成物であって、

- 前記レトロウイルスが、
  - ( a ) 左側の ( 5 ' ) H I V - 1 L T R と、
  - ( b ) プサイ ( ) パッケージングシグナルと、
  - ( c ) c P P T / F L A P と、
  - ( d ) R R E と、
  - ( e ) ヒト A B C D 1 ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに作動可能に連結した M N D プロモーターと、
  - ( f ) 右側の ( 3 ' ) H I V - 1 L T R と、
  - ( g ) ウサギ - グロビンポリアデニル化配列と
- を含むベクターを含み、

該組成物が、副腎白質ジストロフィーまたは副腎脊髄神経障害に罹患している患者に投与されることを特徴とする、方法。

【請求項 1 6】

請求項 1 3 に記載の方法で規定される前記造血幹細胞または造血前駆細胞を含む組成物であって、

- 前記レトロウイルスが、
  - a ) 左側の ( 5 ' ) H I V - 1 L T R と、
  - b ) プサイパッケージング配列 ( + ) と、
  - c ) H I V - 1 セントラルポリブリントラクト / D N A フラップ ( c P P T / F L A P ) と、
  - d ) r e v 応答エレメント ( R R E ) と、
  - e ) 目的の遺伝子に作動可能に連結した - グロビンプロモーターおよび - グロビン遺伝子座制御領域 ( L C R ) と、
  - f )
  - i ) 1 つまたは複数のインスレーターエレメント、または
  - i i ) ウサギ - グロビンポリ A 配列 ( r g p A )
- を含む右側の ( 3 ' ) レトロウイルス L T R と
- を含むベクターを含み、

該組成物が、異常ヘモグロビン症に罹患している患者に投与されることを特徴とする、方法。

## 【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0043

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0043】

種々の実施形態では、レトロウイルスは複製欠損性である。

本発明は、例えば、以下の項目も提供する。

(項目 1)

レトロウイルスと一緒に培養した細胞の形質導入効率を上昇させるための方法であって、該細胞および該レトロウイルスを、プロスタグランジン E<sub>2</sub> 受容体シグナル伝達を増加させる化合物を含む培養培地中で培養する工程を含む方法。

(項目 2)

前記細胞が幹細胞または前駆細胞である、項目 1 に記載の方法。

(項目 3)

前記幹細胞または前駆細胞が、胚性幹細胞および人工多能性幹細胞からなる群から選択される、項目 2 に記載の方法。

(項目 4)

前記幹細胞または前駆細胞が、間葉幹細胞、造血幹細胞、神経幹細胞、網膜幹細胞、心筋幹細胞、骨格筋幹細胞、脂肪組織由来幹細胞、軟骨形成幹細胞、肝幹細胞、腎幹細胞、および膵幹細胞からなる群から選択される、項目 2 に記載の方法。

(項目 5)

前記幹細胞または前駆細胞が造血幹細胞または造血前駆細胞である、項目 2 に記載の方法。

(項目 6)

前記細胞が、骨芽細胞、軟骨細胞、脂肪細胞、骨格筋、心筋、ニューロン、星状膠細胞、オリゴデンドロサイト、シュワン細胞、網膜細胞、角膜細胞、皮膚細胞、単球、マクロファージ、好中球、好塩基球、好酸球、赤血球、巨核球、樹状細胞、T リンパ球、B リンパ球、NK 細胞、胃細胞、腸細胞、平滑筋細胞、血管細胞、膀胱細胞、膵アルファ細胞、膵ベータ細胞、膵デルタ細胞、肝細胞、腎細胞、副腎細胞、および肺細胞からなる群から選択される、項目 1 に記載の方法。

(項目 7)

前記細胞が造血幹細胞または造血前駆細胞である、項目 1 に記載の方法。

(項目 8)

前記造血幹細胞または造血前駆細胞の少なくとも約 50% が形質導入されている、項目 7 に記載の方法。

(項目 9)

前記造血幹細胞または造血前駆細胞の少なくとも約 75% が形質導入されている、項目 7 に記載の方法。

(項目 10)

前記造血幹細胞または造血前駆細胞の少なくとも約 90% が形質導入されている、項目 7 に記載の方法。

(項目 11)

プロスタグランジン E<sub>2</sub> 受容体シグナル伝達を増加させる前記化合物が、PGA<sub>2</sub>; PGB<sub>2</sub>; PGD<sub>2</sub>; PGE<sub>1</sub>; PGE<sub>2</sub>; PGF<sub>2</sub>; PGI<sub>2</sub>; PGH<sub>2</sub>; PGJ<sub>2</sub>; ならびにその前駆体、代謝産物、誘導体および類似体からなる群から選択される、項目 1 から 10 までのいずれか一項に記載の方法。

(項目 12)

プロスタグランジン E<sub>2</sub> 受容体シグナル伝達を増加させる前記化合物が、15d-PGJ<sub>2</sub>; デルタ12-PGJ<sub>2</sub>; 2-ヒドロキシヘプタデカトリエン酸 (HHT); トロン

ボキサソ A 2 ; トロキサソ B 2 ; イロプロスト ; トレプロスチニル ; トラボプロスト ; カルボプロスト・トロメタミン ; タフルプロスト ; ラタノプロスト ; ビマトプロスト ; イソプロピルウノプロストン ; クロプロステノール ; エストロファン ; スーパーファン ; ミソプロストール ; プタプロスト ; リノール酸 ; 13 ( s ) - H O D E ; L Y 171883 ; ミード酸 ; エイコサトリエン酸 ; エボキシエイコサトリエン酸 ; O N O - 259 ; C a y 1039 ; P G E <sub>2</sub> 受容体アゴニスト ; 16 , 16 - ジメチル P G E <sub>2</sub> ; 19 ( R ) - ヒドロキシ P G E <sub>2</sub> ; 16 , 16 - ジメチル P G E <sub>2</sub> p - ( p - アセトアミドベンズアミド ) フェニルエステル ; 11 - デオキシ - 16 , 16 - ジメチル P G E <sub>2</sub> ; 9 - デオキシ - 9 - メチレン - 16 , 16 - ジメチル P G E <sub>2</sub> ; 9 - デオキシ - 9 - メチレン P G E <sub>2</sub> ; スルプロストン ; P G E <sub>2</sub> セリノールアミド ; P G E <sub>2</sub> メチルエステル ; 16 - フェニルテトラノール P G E <sub>2</sub> ; 15 ( S ) - 15 - メチル P G E <sub>2</sub> ; 15 ( R ) - 15 - メチル P G E <sub>2</sub> ; B I O ; 8 - プロモ - c A M P ; フォルスコリン ; B a p t a - A M ; フェンジリン ; ニカルジピン ; ニフェジピン ; ピモジド ; ストロファンチジン ; ラナトシド ; L - A r g ; ニトロプルシドナトリウム ; バナジン酸ナトリウム ; ブラジキニン ; メベベリン ; フランドレノリド ; アテノロール ; ピンドロール ; ガボキサドール ; キヌレン酸 ; ヒドララジン ; チアベンダゾール ; ピククリン ; ベサミコール ; ペルボシド ; イミブラミン ; クロルプロパミド ; 1 , 5 - ペンタメチレンテトラゾール ; 4 - アミノピリジン ; ジアゾキシド ; ベンフォチアミン ; 12 - メトキシドデセン酸 ; N - ホルミル - M e t - L e u - P h e ; ガラミン ; I A A 94 ; およびクロロトリアニセンからなる群から選択される、項目 1 から 10 までのいずれか一項に記載の方法。

( 項目 13 )

プロスタグランジン E P 受容体シグナル伝達を増加させる前記化合物が、プロスタグランジン E 2 ( P G E <sub>2</sub> )、または 16 , 16 - ジメチル P G E <sub>2</sub> からなる群から選択される、項目 1 から 10 までのいずれか一項に記載の方法。

( 項目 14 )

前記細胞およびレトロウイルスをヒストン脱アセチル化酵素 ( H D A C ) 阻害剤の存在下で培養する工程をさらに含む、項目 1 から 13 までのいずれか一項に記載の方法。

( 項目 15 )

前記 H D A C 阻害剤が、トリコスタチン A ( T S A )、バルプロ酸 ( V P A )、酪酸ナトリウム、スベロイルアニリドヒドロキサム酸 ( S A H A )、フェニル酪酸ナトリウム、デブシペプチド、トラボキシン ( T P X )、環状ヒドロキサム酸含有ペプチド 1 ( C H A P 1 )、M S - 275、L B H 589、および P X D - 101 からなる群から選択される、項目 14 に記載の方法。

( 項目 16 )

前記レトロウイルスがレンチウイルスである、項目 1 から 15 までのいずれか一項に記載の方法。

( 項目 17 )

前記レトロウイルスがヒト免疫不全ウイルス ( H I V ) ウイルスである、項目 1 から 16 までのいずれか一項に記載の方法。

( 項目 18 )

前記レトロウイルスが水疱性口内炎ウイルス G タンパク質 ( V S V - G ) エンベロープタンパク質でシュードタイピングされている、項目 1 から 17 までのいずれか一項に記載の方法。

( 項目 19 )

前記細胞を、形質導入の前にプロスタグランジン E P 受容体シグナル伝達を増加させる前記化合物の存在下で培養する、項目 1 から 18 までのいずれか一項に記載の方法。

( 項目 20 )

前記細胞を、プロスタグランジン E P 受容体シグナル伝達を増加させる前記化合物と一緒に少なくとも約 2 時間にわたって培養する、項目 19 に記載の方法。

( 項目 21 )

前記細胞を、プロスタグランジン E P 受容体シグナル伝達を増加させる前記化合物と一緒に少なくとも約 4 時間にわたって培養する、項目 19 に記載の方法。

(項目 22)

前記細胞を、形質導入の間にプロスタグランジン E P 受容体シグナル伝達を増加させる前記化合物の存在下で培養する、項目 1 から 19 までのいずれか一項に記載の方法。

(項目 23)

前記細胞を、プロスタグランジン E P 受容体シグナル伝達を増加させる前記化合物の存在下で少なくとも約 24 時間にわたって培養する、項目 22 に記載の方法。

(項目 24)

前記細胞を、形質導入の最初の 24 時間の間に、プロスタグランジン E P 受容体シグナル伝達を増加させる前記化合物の存在下で培養する、項目 21 から 23 までのいずれか一項に記載の方法。

(項目 25)

前記細胞を、形質導入の最初の 48 時間の間に、プロスタグランジン E P 受容体シグナル伝達を増加させる前記化合物の存在下で培養する、項目 21 から 24 までのいずれか一項に記載の方法。

(項目 26)

前記レトロウイルスが、

a) 左側の (5') レトロウイルス LTR と、

b) 目的の遺伝子に作動可能に連結した発現制御配列と、

c) 右側の (3') レトロウイルス LTR と

を含むベクターを含む、項目 1 から 25 までのいずれか一項に記載の方法。

(項目 27)

前記レトロウイルスが、

a) 左側の (5') HIV-1 LTR と、

b) プサイパッケージング配列 (Ψ) と、

c) HIV-1 セントラルポリプリントラクト / DNA フラップ (cPPT / FLAP) と、

d) rev 応答エレメント (RRE) と、

e) 目的の遺伝子に作動可能に連結した - グロビンプロモーターおよび - グロビン遺伝子座制御領域 (LCR) と、

f)

i) 1 つまたは複数のインスレーターエレメント、または

ii) ウサギ - グロビンポリ A 配列 (rgpA)

を含む右側の (3') レトロウイルス LTR と

を含むベクターを含む、項目 8 から 26 までのいずれか一項に記載の方法。

(項目 28)

前記造血幹細胞または造血前駆細胞を異常ヘモグロビン症に罹患している患者に投与する、項目 8 から 26 までのいずれか一項に記載の方法。

(項目 29)

前記異常ヘモグロビン症が - サラセミアまたは鎌状赤血球症である、項目 28 に記載の方法。

(項目 30)

前記レトロウイルスが、

(a) 左側の (5') HIV-1 LTR と、

(b) プサイ (Ψ) パッケージングシグナルと、

(c) cPPT / FLAP と、

(d) RRE と、

(e) ヒト ABCD1 ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに作動可能に連結した MND プロモーターと、

( f ) 右側の ( 3 ' ) H I V - 1 L T R と、  
( g ) ウサギ - グロビンポリアデニル化配列と  
を含むベクターを含む、項目 8 から 2 6 までのいずれか一項に記載の方法。

( 項目 3 1 )

前記レトロウイルスが複製欠損性である、項目 1 から 3 0 までのいずれか一項に記載の方法。

( 項目 3 2 )

前記造血幹細胞または造血前駆細胞を副腎白質ジストロフィーまたは副腎脊髄神経障害に罹患している患者に投与する、項目 3 0 に記載の方法。